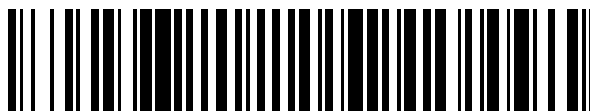


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 802 253**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.09.2013** **PCT/KR2013/008438**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.03.2014** **WO14046478**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2013** **E 13838181 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2020** **EP 2899200**

54 Título: **Péptido de penetración celular, conjugado que comprende el mismo y composición que comprende el conjugado**

30 Prioridad:

19.09.2012 KR 20120104173
19.09.2012 KR 20120104144
28.09.2012 KR 20120109207
28.09.2012 KR 20120109216
18.02.2013 KR 20130017169

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.01.2021

73 Titular/es:

GEMVAX & KAEI CO., LTD. (50.0%)
58, Techno 11-ro, Yuseong-gu
Daejeon 305-510, KR y
KIM, SANG JAE (50.0%)

72 Inventor/es:

KIM, SANG JAE

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 802 253 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

Péptido de penetración celular, conjugado que comprende el mismo y composición que comprende el conjugado

Campo de la invención

La presente invención se refiere a conjugados de un péptido de penetración celular derivados de la enzima telomerasa transcriptasa inversa humana (hTERT) y a principios activos y a composiciones que comprenden el conjugado.

Antecedentes

Aunque las sustancias de bajo peso molecular, ácidos nucleicos, proteínas, nanopartículas, etc., tienen grandes potenciales como sustancias terapéuticas a nivel molecular, sus usos son limitados debido a la incompetencia para penetrar en los tejidos y la membrana celular. El desarrollo de un sistema para suministrar tales sustancias a la célula ha sido un tema de conversación en un tratamiento de procedimiento molecular. Las sustancias de bajo peso molecular, los ácidos nucleicos o las nanopartículas se transportaron dentro de la célula por varios reactivos, electroporación o choque térmico. Sin embargo, fue difícil encontrar un procedimiento adecuado de suministro de proteínas dentro de la célula sin interrumpir la actividad y la integridad de las proteínas. En la década de 1980, en la investigación realizada sobre el estudio de la capacidad de penetración celular del VIH, se descubrió que la proteína VIH-TAT que consiste en 11 aminoácidos específicos juega un papel importante en un proceso de transporte dentro de la célula. Por lo tanto, en la década de 1990, los estudios sobre cómo encontrar el procedimiento correcto para transportar proteínas dentro de la célula han sido el área intensa de investigación.

Se sabe que un telómero es una secuencia repetitiva de material genético encontrado en los extremos de cromosomas que evita que los cromosomas se dañen o se unan a otros cromosomas. La longitud del telómero se acorta en cada división celular y, después de un determinado número de divisiones celulares, la longitud del telómero se acorta extremadamente en la medida que la célula deja de dividirse y muere. Por otro lado, se sabe que el alargamiento de los telómeros amplía el lapso de vida de una célula. Por ejemplo, las células cancerosas excretan una enzima denominada telomerasa, que evita el acortamiento de los telómeros, dando como resultado de esta manera la proliferación de células cancerosas.

El documento US 2010/003229 A1 describe una variante de la telomerasa transcriptasa inversa humana (S16hTERT) y desvela los 20 aminoácidos N-terminales de hTERT. Los últimos también se desvelan en el N.º de registro de EBI USPOP:AFQ83719.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un conjugado que se conjugan un principio activo y un péptido de penetración celular.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición que comprende un conjugado de un principio activo y un péptido de penetración celular.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprende un conjugado de un principio activo y un péptido de penetración celular.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición cosmética funcional que comprende un conjugado de un principio activo y un péptido de penetración celular.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición de alimentación saludable que comprende un conjugado de un principio activo y un péptido de penetración celular.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un agente de contraste que comprende un conjugado de un principio activo y un péptido de penetración celular.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un conjugado de un péptido vehículo de penetración celular y un principio activo, en el que el péptido vehículo es un péptido que consiste en SEQ ID NO: 48, un péptido que tiene al menos un 80 % de homología con el péptido anteriormente mencionado o un fragmento de uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente, en el que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración celular de SEQ ID NO: 48 y en el que el principio activo no es una proteína o un péptido.

En una realización, el péptido vehículo consiste en SEQ ID NO: 48.

En una realización, el péptido vehículo y el principio activo están conjugados a través de (a) un enlace covalente, opcionalmente mediado por un enlazador; o (b) un enlace no covalente.

En una realización, el principio activo es un agente de contraste.

En una realización, el agente de contraste se selecciona de un grupo que consiste en agente de contraste radioopaco, agente de contraste paramagnético, agente de contraste superparamagnético y agente de contraste CT.

En una realización, el agente de contraste se basa en hierro, opcionalmente un carboxilato de ferroceno.

5 La presente invención también se refiere al conjugado para su uso en contrastar una célula, opcionalmente una célula madre.

La presente invención también se refiere a una composición que comprende el conjugado de acuerdo con el primer aspecto, que es una composición farmacéutica, una composición cosmética o una composición de alimentos saludables que comprende un conjugado de un vehículo de penetración celular y un principio activo, en el que el péptido vehículo es un péptido que consiste en SEQ ID NO: 48, un péptido que tiene al menos un 80 % de homología con el péptido anteriormente mencionado o un fragmento de uno cualquiera de los péptidos anteriormente mencionados, en el que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración celular de SEQ ID NO: 48.

La presente invención también se refiere a la composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad.

15 La presente invención también se refiere a la composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de una enfermedad neuronal degenerativa o cáncer.

La presente invención también se refiere a un procedimiento para administrar un principio activo en una célula, opcionalmente en mitocondrias dentro de una célula, que comprende administrar el conjugado a una célula *in vitro*, en el que el péptido vehículo es un péptido que consiste en SEQ ID NO: 48, un péptido que tiene al menos un 80 % de homología con el péptido anteriormente mencionado o un fragmento de uno cualquiera de los péptidos anteriormente mencionados, en el que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración celular de SEQ ID NO: 48 y en el que el péptido vehículo es un péptido de penetración celular que logra la administración del principio activo en la célula.

25 En una realización de la composición, la composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de una enfermedad, o el método de acuerdo con la invención, el péptido vehículo consiste en SEQ ID NO: 48.

En una realización de la composición, la composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de una enfermedad, o el método de acuerdo con la invención, el principio activo es (a) al menos uno seleccionado de una proteína, un ácido nucleico, un péptido, un lípido, un glucolípido, un mineral, un azúcar, una nanopartícula, un producto biológico, un agente de contraste, un fármaco y un compuesto químico; (b) una proteína o un péptido; o (c) una citocina, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una enzima terapéutica, un receptor soluble o un ligando.

En una realización de la composición, la composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de una enfermedad, o el método de acuerdo con la invención, el péptido vehículo y el principio activo se conjugan a través de (a) un enlace covalente, opcionalmente mediado por un enlazador; o (b) un enlace no covalente.

35 En una realización de la composición, la composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de una enfermedad, o el método de acuerdo con la invención, el principio activo es un agente de contraste.

Aplicabilidad industrial

Los principios activos que son difíciles de transportar dentro de una célula pueden transportarse fácilmente dentro de una célula usando el péptido o el conjugado del péptido y los principios activos, desvelados en la presente invención. Esto significa que la efectividad de los principios activos puede aumentarse y por lo tanto la dosificación puede reducirse. Como resultado, los efectos secundarios debidos a la administración de fármacos pueden minimizarse y puede aumentarse la eficacia del tratamiento. Especialmente, como se administran los fármacos localmente en las mitocondrias, pueden mejorarse las enfermedades o los trastornos relacionados con las mitocondrias y puede aumentarse la eficacia de la profilaxis y el tratamiento de enfermedades. En un caso de cosméticos, con una pequeña cantidad de principios activos, puede crear un efecto excepcional. Al conjugar un péptido con una sustancia de contraste, puede usarse como sustancia de contraste para monitorizar un procedimiento de trasplante celular o células trasplantadas en un tratamiento celular. Especialmente, puede usarse eficazmente como sustancia de contraste para las células madre inyectadas dentro de un cuerpo.

Breve descripción de los dibujos

50 La Figura 1 a la Figura 23 representan e ilustran que la captación celular de los números de células de una célula HeLa tratada después de que FITC se fusionó con el péptido de SEQ: 1 a SEQ ID NO: 156 y se analizó por FACS. Las células de control se trataron solo con FITC. La Figura 24 a la Figura 43 representan e ilustran que la captación celular de los números de células de una célula Hur7 tratada después de que FITC se fusionó con el péptido de SEQ: 1 a SEQ ID NO: 156 y se analizó por FACS. Las células de control se trataron solo con FITC.

La Figura 44 a la Figura 58 representan e ilustran que la captación celular de los números de células de una línea celular humana de linfocitos T (Jurkat) tratada después de que FITC se fusionó con el péptido de SEQ: 1 a SEQ ID NO: 156 y se analizó por FACS. Las células de control se trataron solo con FITC.

La Figura 59 a la Figura 72 representan e ilustran que el resultado de la toxicidad y la viabilidad celular de una célula HeLa tratada después de que FITC se fusionó con el péptido de SEQ: 1 a SEQ ID NO: 156 y se analizó por citometría de flujo (Citometría de flujo). Las células de control se trataron solo con FITC.

Descripción detallada de la invención

Las proteínas, los ácidos nucleicos, los péptidos o los virus, etc. tienen un gran potencial para usarse como sustancias terapéuticas. Sin embargo, sus usos son limitados porque no pueden penetrar en los tejidos y la membrana celular debido a los tamaños del nivel molecular. Aunque, el tamaño de las moléculas es pequeño, no pueden penetrar la bicapa lipídica debido a la estructura o características de las moléculas. Por lo tanto, mediante el uso de electroporación, choque térmico, etc., hubo intentos de transportar proteínas, ácidos nucleicos, péptidos o virus dentro de la célula; fue difícil transferirlos sin dañar la membrana celular ni mantener los estados activos de las moléculas anteriores. Se han realizado muchos estudios ya que la proteína TAT (el activador Trans-Activador de la Transcripción) derivada del VIH (virus de inmunodeficiencia humana) ha demostrado funcionar como péptido penetrador celular que puede transportar enormes sustancias activas dentro de la célula. Específicamente, se han realizado estudios sobre sustancias que pueden transportar moléculas enormes tales como proteínas, ácidos nucleicos, péptidos o virus dentro de la célula sin provocar ninguna toxicidad, a diferencia de la proteína TAT que provoca toxicidad dentro de la célula. Por lo tanto, la presente invención se completó ya que los presentes inventores han descubierto que los péptidos derivados de la telomerasa tienen una efectividad sobresaliente como péptido de penetración celular sin una toxicidad notable.

Los péptidos se desvelan en SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 mostrados en la Tabla 1 a continuación. La SEQ ID NO: 8 es una secuencia de longitud completa de la proteína de la telomerasa humana. El "nombre" en la Tabla 1 a continuación se usó para la distinción de los péptidos. En una realización específica diferente de la presente divulgación más de un péptido de los péptidos mencionados en SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 puede comprender un "péptido sintético", un péptido sintetizado de áreas seleccionadas de la telomerasa. En la presente memoria descriptiva, el término "pep" en el presente documento se refiere a un péptido que tiene una cualquiera de las secuencias de aminoácidos entre la SEQ ID NO: 1 a la SEQ ID NO: 156 o un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos por encima del 80 % de homología con las secuencias anteriormente mencionadas o un fragmento peptídico de los péptidos anteriormente mencionados.

[TABLA 1]

SEQ ID NO	NOMBRE	Posición en la Telomerasa	Secuencia	Longitud
1.	pep2	[660-689]	ALFSVLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHRA	30 aa
2.	pep3	[663-677]	SVLNYERARRPGLLG	15 aa
3.	pep4	[674-683]	GLLGASVLGL	10 aa
4.	pep5	[615-624]	ALLTSRLRFI	10 aa
5.	pep6	[613-621]	RPALLTSRL	9 aa
6.	pep7	[653-661]	RLTSRVKAL	9 aa
7.	pep8	[691-705]	RTFVLRVRAQDPPE	15 aa
8.	pep9	[653-667]	RLTSRVKALFSVLNY	15 aa
9.	pep10	[651-665]	AERLTSRVKALFSVL	15 aa
10.	pep11	[667-675]	YERARRPGL	9 aa
11.	pep12	[675-683]	LLGASVLGL	9 aa
12.	pep13	[680-689]	VLGLDDIHRA	10 aa
13.	pep14	[677-686]	GASVLGLDDI	10 aa
14.	pep15	[660-669]	ALFSVLNYER	10 aa
15.	pep16	[663-672]	SVLNYERARR	10 aa
16.	pep17	[679-688]	SVLGLDDIHR	10 aa
17.	pep18	[662-671]	FSVLNYERAR	10 aa
18.	pep19	[666-675]	NYERARRPGL	10 aa
19.	pep20	[667-676]	YERARRPGLL	10 aa
20.	pep21	[672-681]	RPGLLGASVL	10 aa
21.	pep22	[668-676]	ERARRPGLL	9 aa
22.	pep23	[680-688]	VLGLDDIHR	9 aa
23.	pep24	[663-671]	SVLNYERAR	9 aa
24.	pep25	[664-672]	VLNYERARR	9 aa
25.	pep26	[670-678]	ARRPGLLGA	9 aa
26.	pep27	[673-681]	PGLLGASVL	9 aa
27.	pep28	[671-679]	RRPGLLGAS	9 aa
28.	pep29	[660-668]	ALFSVLNYE	9 aa
29.	pep30	[674-682]	GLLGASVLG	9 aa
30.	pep31	[679-687]	SVLGLDDIH	9 aa
31.	pep32	[668-675]	ERARRPGL	8 aa
32.	pep33	[670-677]	ARRPGLLG	8 aa
33.	pep34	[674-681]	GLLGASVL	8 aa
34.	pep35	[669-676]	RARRPGLL	8 aa
35.	pep36	[676-683]	LGASVLGL	8 aa
36.	pep37	[563-577]	VTETTFQKNRLFFYR	15 aa
37.	pep38	[573-587]	LFFYRKSVYSKLQSI	15 aa
38.	pep39	[583-597]	KLQSIGIRQHLKRVQ	15 aa
39.	pep40	[603-617]	EAEVRQHREARPALL	15 aa
40.	pep41	[613-627]	RPALLTSRLRFIPKP	15 aa
41.	pep42	[623-637]	FIPKPDGLRPIVNMID	15 aa
42.	pep43	[643-657]	RTFRREKRAERLTSR	15 aa
43.	pep45	[683-697]	LDDIHRAWRTFVLRV	15 aa
44.	pep46	[693-707]	FVLRVRAQDPPELY	15 aa
45.	pep47	[721-735]	PQDRLTEVIASIIKP	15 aa

ES 2 802 253 T3

46.	pep48	[578-592]	KSVWSKLQSIGIRQH	15 aa
47.	pep49	[593-608]	LKRVQLRELSEAEVRQ	16 aa
48.	pep50	[1-20]	MPRAPRCRAVRSLLRSHYRE	20 aa
49.	pep51	[21-40]	VLPLATFVRRLGPQGWRLVQ	20 aa
50.	pep52	[41-60]	RGDPAAFRALVAQCLVCVPW	20 aa
51.	pep53	[61-80]	DARPPPAAPSFQVSCSKEL	20 aa
52.	pep54	[81-100]	VARVLQRLCERGAKNVLAFG	20 aa
53.	pep55	[101-120]	FALLDGARGGPPEAFTTSVR	20 aa
54.	pep56	[121-140]	SYLPNTVTDALRGSGAWGLL	20 aa
55.	pep57	[141-160]	LRRVGDDVLVHLLARCAIFY	20 aa
56.	pep58	[161-180]	LVAPSCAYQVCGPPYQLGA	20 aa
57.	pep59	[181-200]	ATQARPPPHASGPRRLGCE	20 aa
58.	pep60	[201-220]	RAWNHSVREAGVPLGLPAPG	20 aa
59.	pep61	[221-240]	ARRRGGSASRSLPLPKRPRR	20 aa
60.	pep62	[241-260]	GAAPEPERTPVQGGSWAHPG	20 aa
61.	pep63	[261-280]	RTRGPSDRGFCVVSPARPAE	20 aa
62.	pep64	[281-300]	EATSLLEGALSGTRHSHPSVG	20 aa
63.	pep65	[301-320]	RQHHAGPPSTSRPPRPWDTP	20 aa
64.	pep66	[321-340]	CPPVYAETKHFLYSSGDKEQ	20 aa
65.	pep67	[341-360]	LRPSFLLSSLRPSLTGARRL	20 aa
66.	pep68	[361-380]	VETIFLGSRPWMPGTPRRLP	20 aa
67.	pep69	[381-400]	RLPQRYWQMRPLFLELLGNH	20 aa
68.	pep70	[401-420]	AQCPYGVLLKTHCPLRAAVT	20 aa
69.	pep71	[421-440]	PAAGVCAREKPQGSVAAPEE	20 aa
70.	pep72	[441-460]	EDTDPRLVQLLRQHSSPWQ	20 aa
71.	pep74	[481-500]	RHNERFLRNTKKFISLGKH	20 aa
72.	pep75	[501-520]	AKLSLQELTWKMSVRDCAWL	20 aa
73.	pep76	[521-540]	RRSPGVGCVPAAEHRLREBI	20 aa
74.	pep77	[541-560]	LAKFLHWLMSVYVVELLRSF	20 aa
75.	pep78	[561-580]	FVYTETTFQKNRLFFYRKSV	20 aa
76.	pep79	[581-600]	WSKLQSIGIRQHLKRVQLRE	20 aa
77.	pep80	[601-620]	LSEAEVRQHREARPALLTSR	20 aa
78.	pep81	[621-640]	LRFIPKPDGLRPVNM DYVV	20 aa
79.	pep82	[641-660]	GARTFRREKRAERLTSRVKA	20 aa
80.	pep83	[661-680]	LFSVLNYERARRPGLLGASV	20 aa
81.	pep85	[701-720]	DPPPELYFVKVDVTGAYDTI	20 aa
82.	pep86	[721-740]	PQDRLTEVIASIKPQNTYC	20 aa
83.	pep87	[741-760]	VRRYAVVQKAAHGHVRKAPK	20 aa
84.	pep88	[761-780]	SHVSTLTDLPYMRQFVAHL	20 aa
85.	pep89	[781-800]	QETSPLRDAVVIEQSSSLNE	20 aa
86.	pep90	[801-820]	ASSGLFDVFLRFMCHHAVRI	20 aa
87.	pep91	[821-840]	RGKSYVQCQGI PQGSILSTL	20 aa
88.	pep92	[841-860]	LCSLCYGDMENKLFAGIRRD	20 aa
89.	pep93	[861-880]	GLLLRLVDDFLLVTPHLTHA	20 aa
90.	pep94	[881-900]	KTFLRTLVRGVPEYGCVVNL	20 aa
91.	pep95	[901-920]	RKTVVNFPVEDEALGGTAFV	20 aa
92.	pep96	[921-940]	QMPAHGLFPWCGLLLDTRL	20 aa
93.	pep97	[941-960]	EVQSDYSSYARTSIRASLTF	20 aa
94.	pep99	[981-1000]	KCHSLFLDLQVNSLQTVCTN	20 aa

ES 2 802 253 T3

95.	pep100	[1001-1020]	IYKILLQAYRFHACVLQLP	20 aa
96.	pep101	[1021-1040]	FHQQVWKNPTFFLRVISDTA	20 aa
97.	pep102	[1041-1060]	SLCYSILKAKNAGMSLGAKG	20 aa
98.	pep103	[1061-1080]	AAGPLPSEAVQWLC HQAFLL	20 aa
99.	pep104	[1081-1100]	KLTRHRVTYVPLLGLSLRTAQ	20 aa
100.	pep105	[1101-1120]	TQLSRKLPGTTLTALEAAAN	20 aa
101.	pep106	[1121-1132]	PALPSDFKTILD	12 aa
102.	pep107	[1-10]	MPRAPRCRAV	10 aa
103.	pep108	[11-30]	RSLLRSHYREVLPLATFVRR	20 aa
104.	pep109	[31-50]	LGPQGWRLVQRGDPAAFRAL	20 aa
105.	pep110	[51-70]	VAQCLVCVPWDARPPPAAPS	20 aa
106.	pep111	[71-90]	FRQVSCLKELVARVLQRLCE	20 aa
107.	pep112	[91-110]	RGAKNVLAFGFALLDGARGG	20 aa
108.	pep113	[111-130]	PPEAFTTSVRSYLPNTVTDA	20 aa
109.	pep114	[131-150]	LRGSGAWGLLLRRVGDDVLV	20 aa
110.	pep115	[151-170]	HLLARCALFVLVAPSCAYQV	20 aa
111.	pep116	[171-190]	CGPLYQLGAATQARPPPHA	20 aa
112.	pep117	[191-210]	SGPRRRLGCERAWNHSVREA	20 aa
113.	pep118	[211-230]	GVPLGLPAPGARRRGSASR	20 aa
114.	pep119	[231-250]	SLPLPKRPRRGAPEPERTP	20 aa
115.	pep120	[251-270]	VGQGSWAHPGRTRGPSDRGF	20 aa
116.	pep121	[271-290]	CVVSPARPAEEATSLEGALS	20 aa
117.	pep122	[291-310]	GTRHSHPSVGRQHHAGPPST	20 aa
118.	pep123	[311-330]	SRPRPWTPTCPPVYAETKH	20 aa
119.	pep124	[331-350]	FLYSSGDKEQLRPSFLLSSL	20 aa
120.	pep125	[351-370]	RPSLTGARRLVETIFLGSRP	20 aa
121.	pep126	[371-390]	WMPGTPRRLPRLPQRYWQMR	20 aa
122.	pep127	[391-410]	PLFLELLGNHAQCPYGVLLK	20 aa
123.	pep128	[411-430]	THCPLRAAVTPAAGVCAREK	20 aa
124.	pep129	[431-450]	PQGSVAAPPEEDTDPRLVQ	20 aa
125.	pep130	[451-470]	LLRQHSSPWQYGFVRACLR	20 aa
126.	pep131	[471-490]	RLVPPGLWGSRHNERFLRN	20 aa
127.	pep132	[491-510]	TKKFISLGKHAKLSLQELTW	20 aa
128.	pep133	[511-530]	KMSVRDCAWLRRSPGVGCVP	20 aa
129.	pep134	[531-550]	AAEHLREEILAKFLHWLMS	20 aa
130.	pep135	[551-570]	VYVVELLRFFYVTETTFQK	20 aa
131.	pep136	[571-590]	NRLFFYRKSVWSKLQSIGIR	20 aa
132.	pep137	[591-610]	QHLKRVQLRELSEAEVRQHR	20 aa
133.	pep138	[611-630]	EARPALLTSRLRFIPKPDGL	20 aa
134.	pep139	[631-650]	RP1VNMDYVVGARTFRREKR	20 aa
135.	pep140	[651-670]	AERLTSRVKALFSLNRYERA	20 aa
136.	pep141	[671-690]	RRPGLLGASVLGLDDIHRW	20 aa
137.	pep142	[691-710]	RTFVLRVRAQPPPELYFVK	20 aa
138.	pep143	[711-730]	VDVTGAYDTIPQDRLTEVIA	20 aa
139.	pep145	[751-770]	AHGHVRKAFKSHVSTLTDLQ	20 aa
140.	pep146	[771-790]	PYMRQFVAHLQETSPLRDAV	20 aa
141.	pep147	[791-810]	VIEQSSSLNEASSGLFDVFL	20 aa
142.	pep148	[811-830]	RPMCHHAVRIRGKSYVQCQG	20 aa
143.	pep149	[831-850]	IPQGSILSTLLCSLCYGDME	20 aa
144.	pep150	[851-870]	NKLFAGIRRDGLLLRLVDDF	20 aa

145.	pep151	[871-890]	LLVTPHLTHAKTFLRTLVRG	20 aa
146.	pep152	[891-910]	VPEYGCWVNLKRTWVNFVE	20 aa
147.	pep153	[911-930]	DEALGGTAFVQMPAHGLFPW	20 aa
148.	pep154	[931-950]	CGLLLDTRTLEVQSDYSSYA	20 aa
149.	pep156	[971-990]	RRKLFGLRLKCHSLFLDLQ	20 aa
150.	pep157	[991-1010]	VNSLQTVCTNIYKILLQAY	20 aa
151.	pep158	[1011-1130]	RFHACVLQLPFHQVWKNPT	20 aa
152.	pep159	[1031-1050]	FFLRVISDTASLCYSILKAK	20 aa
153.	pep160	[1051-1070]	NAGMSLGAKGAAGPLPSEAV	20 aa
154.	pep161	[1071-1090]	QWLCHQAFLLKLTRHRVTYV	20 aa
155.	pep162	[1091-1110]	PLLGLSLRTAQTLQSRKLPGT	20 aa
156.	pep163	[1111-1132]	TLTALEAAANPALPSDFKILD	22 aa
157.	Telomerasa	[1-1132]	MPRAPRCRAVRSLRSHYREVLPATFVRRLLGPQGWRLV QRGDPAAFRALVAQCLVCVPWDARPPPAAPSFQV/SCL KELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARGGPPEAFT TSVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDVVLVHLLAR CALFVLVAPSCAYQVCGPPLYQLGAATQARPPPHASGPR RRLGCERAWNHVSVREAGVPLGLPAPGARRRGGASRSL PLPKRPRRGAAPEPERTPVGGQSWAHPGRTRGPSDRGF CWVSPARPAEEATSLLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPP STSRPPRPWDTPCPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLS SLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYW QMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTHCPLRAAVTPAAGVC AREKPQGSVAAPEEEDTPRRLVQLLRQHS SPWQVYGF VRACLRLVPPGLWGSRHNERRFLRNTKKFISLGKHAKL SLQELTWKMSVRDCAWLRRSPGVGCVPAAEHRLREEIL AKFLHWLMSVYVWELLRSFFVYTETTFQKNRLFFYRKSV WSKLQSIGIRQHLKRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTS RLRFIPKPDGLRPIVNM DYVVGARTFRREKRAERLTSRVK ALFVSLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHRAWRTFVLRVR AQDPPPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNT YCVRRYAVVQKAAHGHVRKAFKSHVSTLTDLPQYMRQF VAHLQETSPLRDAVVEIQSSSLNEASSGLFDVFLRFMCH HAVRIRGKSYVQCQGIPQGSILSTLLCSLCYGD MENKLF AGIRRDGLLLRLVDDFLVTPHLTHAKTFLRTLVRGVPEY GCWVNLKRTWVNFVVEDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCG LLDTRTLEVQSDYSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNM RKLFGLVRLKCHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYKILLQAYRF HACVLQLPFHQVWKNPTFFLRVISDTASLCYSILKAKN AGMSLGAKGAAGPLPSEAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTY VPLLGLSLRTAQTLQSRKLPGTTLTALEAAANPALPSDFKTI LD	1132
164.	Pep1	[611-626]	EARPALLTSRLRFIPK	16 aa

De acuerdo con la presente divulgación, un polinucleótido puede codificar un péptido que comprende al menos una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156, un péptido que tiene más del 80 % de homología con las secuencias anteriormente mencionadas o un péptido siendo un fragmento de los péptidos anteriormente mencionados. El polinucleótido anteriormente mencionado permite la producción de los péptidos en grandes cantidades. Por ejemplo, el cultivo de vectores que incluyen péptidos que codifican polinucleótidos permite la producción de péptidos en grandes cantidades.

Los péptidos desvelados en el presente documento pueden incluir un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos por encima del 80 %, por encima del 85 %, por encima del 90 %, por encima del 95 %, por encima del 96 %, por encima del 97 %, por encima del 98 % o por encima del 99 % de homología. Además, los péptidos desvelados pueden incluir un péptido que comprende una cualquiera de la secuencia de aminoácidos entre la SEQ ID NO: 1 a la SEQ ID NO: 6 o sus fragmentos y un péptido con más de 1 aminoácido transformado, más de 2 aminoácidos transformados, más de 3 aminoácidos transformados, más de 4 aminoácidos transformados, más de 5 aminoácidos transformados, más de 6 aminoácidos transformados o más de 7 aminoácidos transformados.

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 aminoácidos puede realizarse mejorando la estabilidad térmica del péptido, alterando la especificidad del sustrato y cambiando el pH óptimo.

El término "aminoácido" en el presente documento incluye no solamente los 22 aminoácidos convencionales que se

integran de forma natural en el péptido sino también los isómeros D y los aminoácidos transformados. Por lo tanto, en una realización específica de la presente invención, un péptido en el presente documento incluye un péptido que tiene D-aminoácidos. Por otro lado, un péptido puede incluir aminoácidos no convencionales tales como los que se han modificado post-traduccionalmente. Los ejemplos de modificación post-traduccionales incluyen fosforilación, glucosilación, acilación (incluyendo acetilación, miristoilación, palmitoilación), alquilación, carboxilación, hidroxilación, glicación, biotilación, ubicuitinilación, transformación en propiedades químicas (por ejemplo, desamidación por retirada de β , desamidación) y transformación estructural (por ejemplo formación de puentes disulfuros). Además, se incluyen cambios de aminoácidos y los cambios de aminoácidos se producen debido a una reacción química durante el procedimiento de combinación con reticuladores para la formación de un conjugado peptídico.

Un péptido desvelado en el presente documento puede ser un péptido de tipo silvestre que se ha identificado y aislado de fuentes naturales. Por otro lado, cuando se compara con los fragmentos peptídicos de una cualquiera de entre la secuencia amino SEQ ID NO: 1 a la SEQ ID NO: 156, los péptidos desvelados en el presente documento pueden ser mutantes artificiales que comprenden uno o más aminoácidos sustituidos, eliminados y/o insertados. La alteración de aminoácidos en el polipéptido de tipo silvestre - no solo en mutantes artificiales - comprende la sustitución conservativa de aminoácidos que no influyen en el plegamiento y o la activación de proteínas. Los ejemplos de sustitución conservativa pertenecen al grupo que consiste en aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparaginas), aminoácidos hidrófobos (leucina, isoleucina, valina y metionina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina y treonina). Las sustituciones de aminoácidos que generalmente no alteran la actividad específica se conocen en la técnica de la presente invención. Las alteraciones más comunes producidas son Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly y las alteraciones opuestas. Otro ejemplo de sustituciones conservativas se muestra en la siguiente Tabla 2.

[TABLA 2]

Aminoácido original	Ejemplos de sustitución de restos	Sustitución de restos preferible
Ala (A)	val; leu; ile	Val
Arg (R)	lys; gln; asn	Lys
Asn (N)	gln; his; asp; lys; arg	Gln
Asp (D)	glu; asn	Glu
Cys (C)	ser; ala	Ser
Gln (Q)	asn; glu	Asn
Glu (E)	asp; gln	Asp
Gly (G)	ala	Ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	Arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucina	Leu
Leu (L)	norleucina; ile; val; met; ala; phe	Ile
Lys (K)	arg; gln; asn	Arg
Met (M)	leu; phe; ile	Leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	Tyr
Pro (P)	ala	Ala
Ser (S)	thr	Thr
Thr (T)	ser	Ser
Trp (W)	tyr; phe	Tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	Phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucina	Leu

La transformación sustancial de las propiedades biológicas de los péptidos se realiza seleccionando una sustitución significativamente diferente en las siguientes efectividades: (a) la efectividad en el mantenimiento de la estructura del esqueleto del polipéptido en el área de sustitución, tales como láminas o estructuras helicoidales tridimensionales, (b)

la efectividad en el mantenimiento de la carga eléctrica o la hidrofobicidad de la molécula en el área diana o (c) la efectividad en el mantenimiento de la mayor parte de la cadena lateral. Los restos naturales se dividen en grupos por las propiedades generales de la cadena lateral como las siguientes:

- (1) hidrofobicidad: Norleucina, met, ala, val, leu, ile;
- (2) hidrofiliidad neutra: cys, ser, thr;
- (3) acidez: asp, glu;
- (4) basicidad: asn, gln, his, lys arg;
- (5) resto que afecta la orientación de la cadena: gly, pro; y
- (6) aromaticidad: trp, tyr, phe.

Las sustituciones no conservativas pueden realizarse intercambiando un miembro de las clases anteriores por diferentes clases. Cualquier resto de cisteína que no esté relacionado con el mantenimiento de la estructura tridimensional adecuada del péptido puede sustituirse típicamente por serina, aumentando de esta manera la estabilidad oxidativa de la molécula y evitando la reticulación inapropiada. Por el contrario, puede lograrse una mejora de la estabilidad añadiendo enlace o enlaces cisteína al péptido.

Los tipos alterados de variantes de aminoácidos de los péptidos son aquellos que cambiaron el patrón de glucosilación de anticuerpos. El término "cambio" en el presente documento se refiere a la eliminación de al menos un resto de carbohidrato que se encuentra en un péptido y/o la adición de al menos un resto glucosilado que no existe dentro de un péptido.

La glucosilación en péptidos está típicamente conectada a N o conectada a O. La expresión "conectado a N" en el presente documento se refiere a que los restos de carbohidratos están unidos a la cadena lateral de los restos de asparagina. Como secuencias de tripéptidos, asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina (en las que la X es cualquier aminoácido excepto prolina) son la secuencia de reconocimiento para unir enzimáticamente el resto de carbohidrato a la cadena lateral de la asparagina. Por lo tanto, con la presencia de una de estas secuencias de tripéptidos en un polipéptido, se crean los posibles sitios de glucosilación. "Glucosilación conectada a O" significa unir uno de azúcar N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a aminoácidos de hidroxilo. Los aminoácidos de hidroxilo son más típicamente serina o treonina, pero pueden usarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

La adición del sitio de glucosilación a un péptido se realiza convenientemente cambiando la secuencia de aminoácidos para que contenga la secuencia de tripéptidos mencionada anteriormente (para sitios de glucosilación enlazada a N). Estos cambios pueden realizarse mediante la adición de al menos un resto de serina o treonina a la primera secuencia de anticuerpos o mediante sustitución con esos restos (para sitios de glucosilación enlazados a O).

Un péptido que consiste en SEQ ID NO: 48, un fragmento del péptido mencionado anteriormente o un péptido que tiene una homología superior al 80 % con la secuencia mencionada anteriormente, es seguro y tiene una efectividad sobresaliente como péptido de penetración celular. Por lo tanto, el péptido puede conjugarse con un fármaco para transportar el fármaco dentro de la célula.

En una realización de la presente invención, se proporciona un conjugado de un péptido y un principio activo para transportarse, en el que el péptido consiste en SEQ ID NO: 48, el péptido es un fragmento del péptido anteriormente mencionado o el péptido está compuesto por 30 o menos aminoácidos y tiene más de un 80 % de homología con el péptido mencionado anteriormente, en la que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología de secuencia y el fragmento retienen la actividad de penetración celular de SEQ ID NO: 48 y en la que el principio activo no es una proteína o un péptido. En una realización de la presente invención, un principio activo puede ser al menos uno seleccionado de ácidos nucleicos, lípidos, glucolípidos, minerales, azúcares, sustancias de contraste, fármacos y compuestos químicos.

Un péptido de penetración celular desvelado en el presente documento significa un péptido que puede transportar carga desde *in vitro* y/o *in vivo* hacia el interior de la célula. Una "carga" desvelada en el presente documento comprende todas las sustancias que pueden transportarse dentro de la célula a través de conjugación con un péptido de penetración celular, por ejemplo, todas las sustancias que desean aumentar la efectividad de penetración celular, específicamente fármacos, cosméticos o principios activos de alimentos saludables, más específicamente sustancias que no pueden transportarse dentro de la célula por la vía general, más específicamente, azúcares, nanopartículas, formulación biológica, virus, sustancias de contraste u otros compuestos químicos que pueden tener proteínas, ácidos nucleicos, un péptido, minerales, glucosa como un ejemplo, pero no limitado a esos. Un "fármaco" desvelado en el presente documento es un concepto amplio que incluye una sustancia que se transportará para el alivio, la profilaxis, el tratamiento o el diagnóstico de enfermedades, heridas o un síntoma específico.

Un "péptido vehículo" desvelado en el presente documento es un péptido que puede transportar principios activos a un sitio diana a través de la conjugación con principios activos.

En una realización de la composición o el procedimiento de la presente invención, la proteína o el péptido como carga comprenden uno o más de hormonas, análogo hormonal, enzima, inhibidores enzimáticos, proteínas (o péptidos) de transferencia de señal, anticuerpo y vacuna, pero no limitado a esos. En una realización de la presente invención, un ácido nucleico es una molécula que pueden ser moléculas de ADN o de ARN espontáneas o artificiales, ya sean

monocatenarias o bicatenarias. La molécula de ácido nucleico puede ser una o más ácidos nucleicos del mismo tipo (por ejemplo, que tienen una misma secuencia de nucleótidos) o ácidos nucleicos de diferentes tipos. Las moléculas de ácido nucleico comprenden uno o más ADN, ADNc, ADN señuelo, ARN, ARNip, miARN, ARNhp, ARNtp, ARNnop, ARNnp, PNA, oligómero antisentido, plásmidos y otros ácidos nucleicos modificados, pero no limitado a esos. En una realización de la presente invención, el virus comprende el virus entero o el núcleo del virus que incluye los ácidos nucleicos del virus. En una realización de la presente invención, una sustancia química es una indicación amplia que comprende una sustancia natural o sintética que puede actuar como un fármaco.

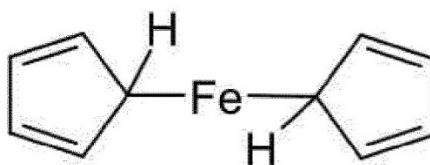
En una realización de la presente invención, el fármaco a administrar dentro de las células por un péptido permeable a células son liposomas, micelas, nanopartículas o puntos cuánticos como una administración de fármacos.

La expresión "sustancia de contraste" desvelada en el presente documento es una indicación amplia que comprende todas las sustancias usadas para contrastar estructuras o fluidos dentro del cuerpo en formaciones de imágenes médicas. Una sustancia de contraste apropiada comprende agente de contraste radioopaco, un agente de contraste paramagnético, un agente de contraste superparamagnético, CT (tomografía computarizada) y otras sustancias de contraste, pero no limitado a esos. Por ejemplo, un agente de contraste radioopaco (para formación de imágenes de rayos X) comprenderá un compuesto de yodo inorgánico y un compuesto de yodo orgánico (por ejemplo, diatrizoato), metales radiopacos y sus sales (por ejemplo, plata, oro, platino, etc.) y otros compuestos radioopacos (por ejemplo, sales de calcio, sales de bario tales como sulfato de bario, tántalo oxidado). Una sustancia de contraste paramagnético apropiada (para formación de imágenes de RM) comprende ácido gadolinio dietilén triaminopentaacético (Gd-DTPA) y sus derivados, otro gadolinio, manganeso, hierro, disprosio, cobre, europio, erbio, cromo, complejo de níquel y cobalto, por ejemplo, ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecan-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecan-N,N',N'',N'''-triacético (DO3A), ÁCIDO 1,4,7-triazaciclononano-N,N',N''-TRIAcÉTICO (NOTA), ácido 1,4,8,10-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (TETA), ácido hidroxibenciletilendiamina diacético (HBED). Una sustancia de contraste superparamagnética apropiada (para formación de imágenes de RM) comprende magnetita, óxido de hierro súper paramagnético (SPIO), óxido de hierro superparamagnético ultrapequeño (USPIO) y óxido de hierro monocristalino. Otras sustancias de contraste apropiadas son agentes de contraste CT yodados, no yodados, iónicos y no iónicos, una sustancia de contraste como etiqueta rotativa o agente eficaz para el diagnóstico.

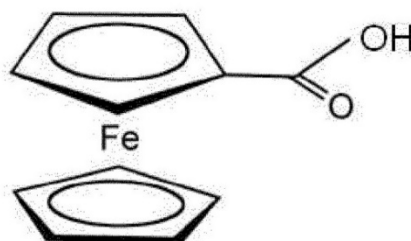
Otros ejemplos de sustancias de contraste comprenden β -galactosidasa, Proteína Verde Fluorescente, Proteína Cian Fluorescente, luciferasa, pero no limitado a esos, y un gen marcador que codifica proteínas que pueden detectarse fácilmente cuando se expresan dentro de las células. Pueden usarse varios marcadores tales como radionúclidos, harina, enzima, enzima-sustrato, cofactores enzimáticos, inhibidores enzimáticos, ligandos (especialmente hapteno).

En un ejemplo de la presente invención, una sustancia de contraste es el ácido ferrocenocarboxílico de la fórmula química 2 a continuación. La estructura del ferroceno se muestra en la fórmula química 1.

[Fórmula química 1]

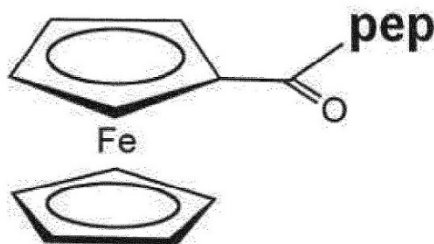


[Fórmula química 2]



En un ejemplo de la presente invención, un conjugado de péptido de penetración celular y una sustancia de contraste es Ferrocenocarboxílico-pep (Ferrocenocarboxílico-pep) que se muestra en la fórmula química 3 a continuación.

[Fórmula química 3]



En una realización de la presente invención, un péptido o composición puede fusionarse con uno o más marcadores detectables. Los marcadores pueden ser compuestos que pueden detectarse en respuestas químicas, físicas o enzimáticas, o compuestos que generan señales directa o indirectamente en las respuestas. El marcaje y la detección después de eso pueden realizarse de acuerdo con el procedimiento conocido en la técnica (por ejemplo, Sambrook, J. y Russel, D.W.(2001); y Lottspeich, F. y Zorbas H. (1998) Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg/Berlín, Alemania). Los marcadores comprenden marcador fluorescente, marcador enzimático, marcador cromogénico, marcador luminiscente, marcador de radiación, hapteno, biotina, complejo de metal, oro metal y coloidal, pero no limitado a esos. Todas las formas de estos marcadores son bien conocidas en este campo de trabajo, pueden obtenerse comercialmente de diversos proveedores.

En una realización de la presente invención, una carga puede combinarse directamente con el péptido. En otra realización de la presente divulgación, una carga puede combinarse con el péptido a través de diversos tipos de enlaces tales como enlaces covalentes o no covalentes. Una carga, por ejemplo, puede combinarse con el N-terminal o C-terminal del péptido. Por ejemplo, una carga puede estar unida al péptido mediante enlaces disulfuro o enlaces covalentes. Los enlaces covalentes son los enlaces que una carga puede unirse a la α -amina del glutamato N-terminal, o la amina de los restos de lisina C-terminales. Además, un péptido y una carga pueden combinarse mediante un enlace no covalente, que puede tener un péptido o una carga puede encapsular al otro en forma de cápsula.

En otra realización de la presente invención, un péptido puede combinarse con una carga a través de un enlazador. Por ejemplo, un péptido puede combinarse con una carga uniendo una carga a un conector después de introducir un conector tales como el conector Hynic (ácido 6-hidrazinopiridin-3-carboxílico), a la α -amina del glutamato N-terminal, o la amina de los restos de lisina C-terminales.

En otra realización de la presente invención, cuando una carga es ADN o ARN, el grupo SH (grupo tiol) se introduce en el péptido y el grupo maleimida se introduce en el ADN o ARN, después, el grupo SH del péptido y el grupo maleimida de ADN o ARN se combinan, creando así un enlace entre la carga y el péptido.

En otra realización de la composición o el procedimiento de la presente invención, cuando una carga es un péptido o proteína, el ADN que expresa una carga se combina con el ADN que expresa un péptido vehículo, y al expresar esto, una carga y un péptido pueden combinarse como una forma de proteína de fusión. Los ejemplos específicos de combinación por una proteína de fusión son los siguientes: cuando se fabrica el cebador para la producción de proteína de fusión, un nucleótido que codifica un péptido vehículo se une en frente de un nucleótido que expresa una carga y el nucleótido obtenido se inserta en un vector tales como el vector pET usando una enzima de restricción y el nucleótido se expresa mediante transformación en una célula tales como BL-21 (DE3). En este momento, una proteína de fusión debe expresarse eficazmente al tratarla con un agente inductor de la expresión como IPTG (isopropil-1-tio- β -D-galactopiranosido). Después, la proteína de fusión expresada se purifica mediante purificación con etiqueta His y se dializa con PBS y se añade a un kit para concentrarla mediante centrifugación en tal condición durante 5 a 20 minutos a 2.000 a 4.000 rpm.

En una realización de la presente invención, un péptido vehículo se combina con sustancias de tinción, sustancias fluorescentes, específicamente FITC (isotiocianato de fluoresceína) o GFP (proteína fluorescente verde). En una realización de la presente invención, FITC se combina con el grupo amino (NH_3^+) de lisina en el N-terminal o C-terminal de un péptido vehículo. En el caso de un péptido, en el que la lisina no existe en su extremo, el péptido puede combinarse con FITC a través de un conector que incluye lisina.

El péptido vehículo desvelado en el presente documento que es el péptido que consiste en una SEQ ID NO: 48 o el péptido que tiene más del 80 % de homología de secuencia de aminoácidos con el péptido mencionado anteriormente o un fragmento del péptido mencionado anteriormente, puede combinarse con una carga en una fracción molar de 1:1, pero puede combinarse en una fracción molar distinta de 1:1. Por ejemplo, una fracción molar de CPP y una carga puede ser más de 2:1, específicamente, más de 2:1, más de 3:1, más de 4:1, más de 5:1, más de 6:1, más de 7:1, más de 8:1, más de 9:1 o más de 10:1. Esto significa que numerosas moléculas de péptidos vehículo pueden combinarse con una molécula de carga. Las numerosas moléculas de péptidos vehículo pueden combinarse en serie o en paralelo. "Combinado en serie" significa que un péptido vehículo y una molécula de carga han de combinarse en los aminoácidos terminales. "Combinado en paralelo" significa que han de combinarse en un sitio distinto de los aminoácidos terminales. Por otro lado, la fracción molar de un péptido vehículo y una carga puede ser más de 1:2.

Esto significa que una molécula de péptido vehículo puede combinarse con numerosos números de una molécula de carga. Por ejemplo, una fracción molar de un péptido vehículo y una carga puede ser 1:2, específicamente, más de 1:2, más de 1:3, más de 1:4, más de 1:5, más de 1:6, más de 1:7, más de 1:8, más de 1:9 o más de 1:10.

5 Puede encontrar fácilmente una vía de movimiento del péptido combinado con isotiocianato de fluoresceína. Por lo tanto, un péptido vehículo en una realización de la presente invención se usará para obtener imágenes celulares o detectar una ruta de suministro de fármacos dentro de una célula.

10 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un uso del péptido como un vehículo de administración de fármacos para transportar más de un principio activo, en el que el péptido comprende una cualquiera de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 o el péptido es un fragmento del péptido mencionado anteriormente, o el péptido tiene más del 80 % de homología de secuencia de aminoácidos con el péptido mencionado anteriormente. El uso puede indicar un uso terapéutico o no terapéutico.

15 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un procedimiento para administrar fármacos dentro de una célula de un sujeto que comprende una etapa de administrar una composición que comprende un fármaco; y el péptido; en el que el péptido comprende una cualquiera de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 o el péptido es un fragmento del péptido mencionado anteriormente, o el péptido tiene más del 80 % de homología de secuencia de aminoácidos con el péptido mencionado anteriormente.

20 En una realización de la presente divulgación, se proporciona un procedimiento para detectar la ruta de administración del fármaco que comprende una etapa de aplicar el péptido y una sustancia de contraste a un sujeto; en el que el péptido comprende una cualquiera de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 o el péptido es un fragmento del péptido mencionado anteriormente, o el péptido tiene más del 80 % de homología de secuencia de aminoácidos con el péptido mencionado anteriormente.

En una realización la presente invención permite el conjugado de la invención para su uso en un procedimiento para detectar la ruta de administración del fármaco que comprende una etapa de aplicación del conjugado del péptido y una sustancia de contraste a un sujeto.

25 En una realización la presente invención permite un kit para la administración de fármacos a una célula de un sujeto que contiene la composición e instrucciones, en el que la composición comprende un conjugado de un péptido de la invención y un fármaco para administración, en el que el péptido comprende una cualquiera de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 o el péptido es un fragmento del péptido mencionado anteriormente, o el péptido tiene más del 80 % de homología de secuencia de aminoácidos con el péptido mencionado anteriormente, 30 en el que las instrucciones incluyen al menos una dosis de administración, la ruta de administración, la frecuencia de administración y la indicación de la composición.

35 En otra realización de la presente invención, se proporciona la composición cosmética o alimenticia que comprende un conjugado del péptido y principios activos; en la que el péptido consiste en SEQ ID NO: 48, el péptido está compuesto por 30 o menos aminoácidos y tiene una homología superior al 80 % de la secuencia de aminoácidos con la secuencia mencionada anteriormente o el péptido es un fragmento de los péptidos mencionados anteriormente, en el que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración celular de SEQ ID NO: 48.

40 En una realización de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica, cosmética o alimentaria con una capacidad sobresaliente para transportar principios activos dentro de una célula, que comprende un conjugado del péptido y un principio activo; en el que el péptido consiste en SEQ ID NO: 48, el péptido está compuesto por 30 o menos aminoácidos y tiene una homología superior al 80 % de la secuencia de aminoácidos con la secuencia mencionada anteriormente o el péptido es un fragmento de los péptidos mencionados anteriormente, en el que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración celular de SEQ ID NO: 48.

45 La mitocondria, como un orgánulo central en el metabolismo energético de una célula eucariota, es un primer orgánulo intracelular que se sabe que está relacionado con enfermedades humanas (Luft R, Ikkos D, Palmieri G, Ernster L, Afzelius B: A case of severe hypermetabolism of non thyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study, J Clin Invest 41: 1776-804, 1962).

50 Dado que las mitocondrias juegan un papel importante en el control del metabolismo energético de las células y la apoptosis, actúan como una diana principal para diversos fármacos terapéuticos. Además, este orgánulo está implicado en el control de la concentración de calcio dentro de la célula, la cadena respiratoria mitocondrial actúa como un sistema de transporte de electrones que es importante en la producción de energía y provoca la producción de especies reactivas de oxígeno. Como resultado, la función mitocondrial anormal tiene una estrecha relación con enfermedades de adultos tales como la diabetes, cardiomiopatía, infertilidad, ceguera, enfermedades 55 renales/hepáticas y accidente cerebrovascular (Modica-Napolitano KS, Singh KK: April mitochondria as targets for detection and treatment of cancer. Expert Rev Mol Med 11:1-19, 2002). Además, se está sugiriendo que las mutaciones genéticas mitocondriales estén implicadas en el estallido del envejecimiento, enfermedad neuronal degenerativa y cáncer, etc.

El sistema de administración dirigido a las mitocondrias puede proporcionarse de acuerdo con la realización de la presente invención que puede comprender uno cualquiera de los conjugados mencionados anteriormente, en el que el péptido vehículo se mueve localmente hacia las mitocondrias intracelulares y desempeña un papel de administración de los principios activos mencionados a las mitocondrias intracelulares locales, en donde el péptido compuesto por 30 o menos aminoácidos y que tiene más del 80 % de homología de la secuencia de aminoácidos con la secuencia mencionada anteriormente y el fragmento de la misma son los péptidos que mantienen el sistema de suministro dirigido a las mitocondrias, el péptido dirigido a mitocondrias mencionado anteriormente puede ser el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48.

Puede proporcionarse la composición de ajuste de la actividad mitocondrial, en la que la composición comprende un conjugado de un péptido y un péptido transportado para el suministro, en el que el péptido vehículo se mueve localmente hacia las mitocondrias intracelulares y desempeña un papel de administración de los principios activos mencionados a las mitocondrias intracelulares locales, en el que el péptido compuesto por 30 o menos aminoácidos y que tiene más del 80 % de homología de la secuencia de aminoácidos con la secuencia mencionada anteriormente y el fragmento de la misma son los péptidos que mantienen el sistema de suministro dirigido a las mitocondrias, el péptido dirigido a mitocondrias mencionado anteriormente puede ser la composición que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48.

La composición de ajuste de la actividad mitocondrial de acuerdo con una realización de la presente invención, en la que la composición para el tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con las mitocondrias, la prevención, la inhibición del progreso o el alivio de los síntomas como una composición farmacéutica, en la que el principio activo se tratará para una enfermedad o trastorno relacionado con las mitocondrias, la prevención, la inhibición del progreso o el alivio de los síntomas.

Las "enfermedades relacionadas con las mitocondrias" desveladas en el presente documento comprenden enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, MELAS (Encefalomiopatía mitocondrial con acidemia láctica y episodios similares a accidentes cerebrovasculares); MERRF (mioclonos, epilepsia y miopatía con fibras rojas irregulares); NARP/MILS (debilidad muscular neurogénica, ataxia, retinitis pigmentosa/síndrome de Leigh heredado de la madre); LHON (neuropatía óptica hereditaria de Lebers); KSS (Síndrome de Kearns-Sayre); PMPS (Síndrome de médula ósea-páncreas de Pearson); CPEO (oftalmoplegia externa progresiva crónica); Síndrome de Reye; Síndrome de Alper; Síndrome de delección de ADNmt múltiple; síndrome de agotamiento de ADNmt; Deficiencia del complejo I; Deficiencia del complejo II (SDH); Deficiencia del complejo III; Deficiencia de citocromo c oxidasa (COX, complejo IV); Deficiencia de complejo V; Deficiencia de translocador de nucleótidos de adenina (ANT); Deficiencia de piruvato deshidrogenasa (PDH); Aciduria del ácido etilmalónico con acidemia de ácido láctico; Aciduria de ácido 3-metil glutacónico con acidemia de ácido láctico; epilepsia refractaria que representa una disminución durante la infección; Síndrome de Asperger que representa una disminución durante la infección; Autismo que representa una disminución durante la infección; trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH); Parálisis cerebral que representa una disminución durante la infección; Alexia que representa una disminución durante la infección; Trombocitopenia hereditaria materna; Leucemia; MNGIE (miopatía mitocondrial, neuropatía periférica y autonómica, disfunción gastrointestinal y epilepsia); Síndrome de MARIAHS (ataxia mitocondrial, infección recrudesciente, afasia, hipouricemia/hipomielinización, convulsiones y aciduria de ácido dicarboxílico); Distonía ND6; Síndrome de vómitos cíclicos que representa una disminución durante la infección; Aciduria de ácido 3-hidroxiisobutírico que tiene acidemia de ácido láctico; Diabetes con acidemia de ácido láctico; Síndrome neural reactivo de uridina (URNS); Necrosis del estriado bilateral familiar (FBSN); Pérdida auditiva relacionada con aminoglucósidos; Miocardiopatía relajada; Linfoma de bazo; Síndrome de Wolframs; Síndrome de delecciones de ADN de mitocondrias múltiples; y Síndrome de acidosis tubular renal/diabetes/ataxia, pero no limitado a esos.

Se desvelan moléculas de ácido nucleico que codifican los polipéptidos mencionados anteriormente. Las moléculas de ácido nucleico, por ejemplo, tienen secuencias de bases de GAA GCG CGC CCG GCG CTG CTG ACC AGC CGC CTG CGC TTT ATT CCG AAA (SECUENCIA NO: 181). Los ácidos nucleicos pueden introducirse en la célula hospedadora de acuerdo con un procedimiento conocido por los expertos en la materia. Por ejemplo, los procedimientos conocidos pueden ser el procedimiento de transformación por el procedimiento de fosfato de calcio, liposoma, electroporación, poniendo en contacto un virus y una célula o microinyección directamente en la célula, etc. La célula hospedadora es una célula eucariota superior, por ejemplo, células de mamífero, o células eucariotas inferiores, tales como una célula de levadura, o células procariotas, tales como una célula bacteriana. Las células hospedadoras procariotas apropiadas para la transformación pueden ser las especies que pertenecen a *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y especies de microbacterias, como ejemplos.

El vector que incluye las moléculas de ácido nucleico mencionadas anteriormente es generalmente un vector de expresión recombinante y comprende, el origen de replicación que permite una transformación de la célula hospedadora y un marcador seleccionable (por ejemplo, dihidrofolato reductasa para el cultivo de células eucariotas o tolerancia a neomicina, tolerancia a tetraciclina o a ampicilina en *E. coli* o el gen TRP1 de *S. cerevisiae*) y el promotor para controlar la transcripción de secuencias de recubrimiento de proteínas. Los vectores de expresión disponibles son, por ejemplo, plásmidos bacterianos conocidos tales como SV40, derivados de pcDNA y plásmidos bacterianos conocidos tales como colE1, pCR1, pBR322, pMal-C2, pET, pGEX (Smith, y col., Gene 67:31-40(1988)), plásmidos tales como pMB9 y su derivado RP4, ADN de fago que es lo mismo que numerosos derivados del fago I tales como NM989, ADN de fago tales como M13 y ADN de fago monocatenario de tipo filamento; plásmido de levadura, por

- ejemplo, ADN o vector de fago inducido a partir de una combinación de plásmido modificado para usar secuencias de supresión de expresión y ADN de fago. Los vectores de expresión de mamíferos comprenden el origen de replicación, un promotor apropiado y un potenciador. Además, pueden comprender sitios obligatorios de unión a ribosomas, sitios de poliadenilación, donador de empalme y parte del receptor, secuencias de terminación de la transcripción y secuencias no transcripcionales de entablado 5'. Los vectores de expresión de mamíferos pueden comprender un promotor inducible, por ejemplo, un vector que contiene el promotor de dihidrofolato reductasa, cualquier vector de expresión que contenga casete de expresión DHFR o vector de coamplificación DHFR/metotrexato tales como pED (Randal J, kaufman, 1991, Randal J. Kaufman, Current Protocols in Molecular Biology, 16, 12(1991)). O, el vector de co-amplificación de glutamina sintetasa/metionina sulfoximina, por ejemplo, pEE14 (Celltech), Virus Epstein-Barr (VEB) o un vector que dirige la expresión episómica bajo el control del antígeno nuclear (EBNA), por ejemplo, pueden usarse pREP4 (Invitrogen), pCEP4 (Invitrogen), pMEP4 (Invitrogen), pREP8 (Invitrogen), pREP9 (Invitrogen) y pEBVHis (Invitrogen). Los vectores de expresión de mamíferos seleccionables son Rc/CMV (Invitrogen) y pRc/RSV (Invitrogen), etc. Los vectores de expresión de mamíferos del virus vacuna que pueden usarse en la presente invención son pSC11, pMJ601, pTKgptF1S, etc.
- El sistema de vector de expresión de levadura que se usará es el vector pYES2 sin fusión (Invitrogen), pYESHisA, B, C de fusión (Invitrogen), vector pRS, etc.
- Los vectores mencionados anteriormente pueden introducirse en diversas células, tales como células de mamíferos que son especialmente las células derivadas de humanos, o bacterias, levaduras, hongos, insectos, nematodos y células vegetales. Los ejemplos de células apropiadas son células VERO, células HeLa, por ejemplo, N.º de ATCC CCL2, línea celular CHO, por ejemplo, N.º de ATCC CCL61, células COS, por ejemplo célula COS-7 y célula N.º de ATCC CRL 1650, W138, BHK, HepG2, 3T3, por ejemplo, N.º de ATCC CRL6361, A549, PC12, célula K562, célula 293, célula Sf9, por ejemplo, N.º de ATCC CRL1711 y célula Cv1, tales como N.º de ATCC CCL70, etc.
- Otras células apropiadas para su uso son cepas de células hospedadoras procariotas, por ejemplo, las cepas pertenecientes a *E. coli* (por ejemplo, cepa DH5- α), *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Staphylococcus*.
- En una realización de la presente invención, la composición puede contener 0,1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a 1 mg/mg , específicamente 1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a 0,5 mg/mg , más específicamente 10 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a 0,1 mg/mg del péptido. Cuando el péptido está contenido en el intervalo mencionado anteriormente, toda la seguridad y estabilidad de la composición puede satisfacerse y ser apropiada en términos de rentabilidad.
- En una realización de la presente invención, la composición puede tener aplicación con todos los animales incluyendo humano, perro, pollo, cerdo, vaca, oveja, cobaya y mono.
- En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica puede administrarse a través de vía oral, rectal, transdérmica, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, en la médula ósea, por medios epidurales o subcutáneos.
- Las formas de administración oral pueden ser, pero no se limitan a, comprimidos, píldoras, cápsulas blandas o duras, gránulos, polvos, solución o emulsión. Las formas de administración no oral pueden ser, pero no se limitan a, inyecciones, goteos, 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, aromáticos o edulcorantes. En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica puede fabricarse por procedimientos convencionales de la industria en la técnica.
- En una realización de la presente invención, el principio activo de la composición médica puede variar de acuerdo con la edad del paciente, el sexo, el peso, la patología y el estado, la vía de administración o el juicio del prescriptor. La dosificación basada en estos factores se determina dentro de los niveles de los expertos en la materia y la dosis diaria, por ejemplo, puede ser, pero no se limita a, 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ a 1 $\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, específicamente 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ a 10 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$, más específicamente 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ a 1 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$, más específicamente los 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, pero no se limita a, 1 a 3 veces al día.
- En una realización de la presente invención, la composición cosmética puede proporcionarse en todas las formas apropiadas para aplicaciones tópicas. Por ejemplo, las formas pueden proporcionarse como soluciones, emulsiones obtenidas por dispersión de fase oleaginosas en agua, emulsión obtenida por dispersión de agua en fase oleaginosas, suspensión, sólido, gel, polvo, pasta, espuma o aerosol. Estas formas pueden fabricarse por procedimientos convencionales de la industria en la técnica.
- En una realización de la presente invención, la composición cosmética puede incluir, dentro de niveles que no dañarán el efecto principal, otros ingredientes que pueden aumentar deseablemente el efecto principal. En una realización de la presente invención, la composición cosmética puede incluir adicionalmente humectante, agentes emolientes, tensioactivos, absorbentes de UV, conservantes, fungicidas, antioxidantes, agente de ajuste de pH, pigmentos

orgánicos o inorgánicos, aromáticos, agente refrigerante o antitranspirante. Los expertos en la materia pueden decidir la proporción de formulación de los ingredientes mencionados anteriormente dentro de niveles que no perjudiquen el fin y los efectos de la presente invención, y la proporción de formulación basada en el peso total de la composición cosmética puede ser del 0,01 al 5 % en peso, específicamente del 0,01 al 3 % en peso.

- 5 En una realización de la presente invención, la composición alimentaria no se limita a las formas, pero por ejemplo pueden ser gránulos, polvo, formas líquidas y sólidas. Cada forma puede formarse con ingredientes comúnmente usados en la industria elegidos apropiadamente por los expertos en la materia, además del principio activo, y puede aumentar el efecto con otros ingredientes.

- 10 La decisión de dosificación sobre el principio activo mencionado anteriormente está dentro del nivel de los expertos en la materia y la dosificación diaria por ejemplo puede ser de 1 µg/kg/día a 10 mg/kg/día, más específicamente 10 µg/kg/día a 1 mg/kg/día, más específicamente 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, complicaciones y otros diversos factores.

- 15 Los términos usados en el presente documento pretenden usarse 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" y "que comprende" se interpretarán abiertamente (es decir, "incluyendo pero no limitado a").

- 20 Se usa la mención del intervalo de números en lugar de indicar números separados dentro del intervalo, así que a menos que se indique explícitamente, cada número puede leerse como números separados integrados en el presente documento. Los valores finales de todos los intervalos se incluyen en el intervalo y pueden combinarse de forma independiente.

- 25 A menos que se indique lo contrario o se contradiga claramente en contexto, todos los procedimientos mencionados en el presente documento pueden realizarse en el orden apropiado. El uso de una realización cualquiera y todas las realizaciones o lenguaje ejemplar (por ejemplo, que usa "como ~"), a menos que esté incluido 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 debe interpretarse como una necesidad de la presente invención. A menos que se defina de otra manera, los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen un significado normalmente entendido por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

- 30 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 materia después de leer las declaraciones antes de las variaciones en las realizaciones preferidas. Los presentes inventores esperan que aquellos expertos en la materia puedan usar las variaciones adecuadamente y que la presente invención se lleve a cabo de otras maneras distintas a las listadas en el presente documento. Por lo tanto, la presente invención, según lo permitido por la ley de patentes, incluye equivalentes y variaciones de los mismos, de los puntos clave de la invención establecidos en las reivindicaciones adjuntas. Además, todas las variaciones posibles dentro de cualquier combinación de los componentes anteriormente mencionados se incluyen en la presente invención, salvo que se indique explícitamente de otra manera o contradiciendo el contexto.

Ejemplo 1: Síntesis de péptido

- 40 Los péptidos de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 se sintetizaron de acuerdo con el procedimiento existente de síntesis de péptidos en fase sólida. En detalle, los péptidos se sintetizaron acoplando cada aminoácido del C-terminal a través de la síntesis de péptidos en fase sólida Fmoc, SPPS, usando ASP48S (Peptron, Inc., Daejeon ROK). Los péptidos con su primer aminoácido en el C-terminal uniéndose a la resina se usaron de la siguiente manera:

Resina NH₂-Lys(Boc)-2-cloro-tritilo

Resina NH₂-Ala-2-cloro-tritilo

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

Todos los materiales de aminoácidos para sintetizar el péptido estaban protegidos por Fmoc en el 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 pueden disolverse en ácido. Tales como:

- 50 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, ácido Trt-Mercaptoacético.

- 55 HBTU[2-(1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetametilaminio hexafluorofosfato]/HOBt [N-hidroxibenzotriazol]/NMM[4-metilmorfolina] se usaron como reactivos de acoplamiento. En el 20 % de DMF, se usó piperidina para retirar Fmoc. Para retirar la protección del resto o para separar el péptido sintetizado de la resina, se usó cóctel de escisión [TFA (ácido trifluoroacético)/TIS (triisopropilsilano)/EDT (etanoditiol)/H₂O = 92,5/2,5/2,5/2,5].

Los péptidos se sintetizaron usando el armazón de fase sólida añadiendo cada aminoácido con los procedimientos secuenciales como sigue; protección de aminoácidos, reacción de acoplamiento, lavado y desprotección. Después de cortar el péptido sintetizado de la resina, se purificó por HPLC y se verificó la síntesis por MS y después se secó por congelación.

- 5 El procedimiento de síntesis de péptidos específico se describe mediante lo siguiente con el ejemplo de Pep1 de SEQ ID NO: 164 (EARPALLTSRLRFIPK):

1) Acoplamiento

10 El aminoácido (8 equivalentes) protegido con Resina NH₂-Lys(Boc)-2-cloro-tritilo se fundió en el agente de acoplamiento HBTU (8 equiv.)/HOBt (8 equiv.)/NMM (16 equiv.) y tras la adición de DMF, la mezcla de reacción se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se lavó secuencialmente con DMF, MeOH y DMF.

2) Desprotección de Fmoc

Después de la adición de piperidina al 20 % en DMF, la mezcla de reacción se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos 2 veces, después se lavó secuencialmente con DMF, MeOH y DMF.

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

- 15 4) Escisión: Añadir el Cóctel de Escisión al péptido completamente sintetizado y separar el péptido de la resina.

5) Añadir éter dietílico pre-enfriado a la mezcla y después centrifugar la mezcla de reacción para precipitar los péptidos.

6) Después de la purificación por Prep-HPLC, comprobar el peso molecular por CL/EM y liofilizar para obtener los péptidos en forma de polvo.

20 **Ejemplo 2: Preparación de conjugado pep(CPP)-FITC**

(1) Preparación del conjugado FITC-CPP

Un conjugado de los péptidos con SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 combinado con FITC se fabricó como sigue, por ejemplo, un conjugado de pep1 (SEQ ID NO: 157) y FITC, en otras palabras, se fabricó FITC-enlazador-pep1 como sigue.

25 El marco básico del péptido, (Resina NH₂-enlazador-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Boc)-2-cloro-Tritilo) que se obtuvo de acuerdo con los procedimientos de fabricación descritos en el Ejemplo 1, se hizo reaccionar con FITC. Específicamente, FITC (fluoresceína-5-isotiocianato) (8 equivalentes) y DIPEA (N, N-diisopropiletilamina) (16 equivalentes) se fundieron en DMF. Se añadió la solución de DMF y se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas, después se lavó secuencialmente con DMF, MeOH y DMF. Como resultado, se obtuvo la resina FITC-enlazador-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Boc)-2-cloro-tritilo. El enlazador en el presente documento es ácido 6-aminohexanoico, Ahx. Se añadió TFA/TIS/H₂O = 95/2,5/2,5 al péptido fabricado sobre la resina y el conjugado se separó de la resina. Se añadió un éter dietílico pre-enfriado a la mezcla obtenida y se usó centrifugación para precipitar los conjugados peptídicos. Después de la purificación por Prep-HPLC, la pureza se confirmó con la HPLC analítica y el peso molecular se determinó por CL/EM. El péptido sintetizado como se describió anteriormente se verificó como FITC-pep1 mediante la confirmación del peso molecular por CL/EM. Después los conjugados se liofilizaron. SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 de péptidos fusionados FITC con conjugado también se prepararon de la misma manera que pep 1 de SEQ ID NO: 157.

(2) Preparación de un conjugado CPP-FITC

40 El marco básico del péptido, (Resina NH₂-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Dde)-2-cloro-Tritilo) se generó de acuerdo con los procedimientos de fabricación descritos en el Ejemplo 2 1. (1). Para introducir selectivamente FITC al C-terminal del péptido, el N-terminal del péptido estaba protegido de Boc. Después, el di-*terc*-dicarbonato de butilo (30 equivalentes) y DIPEA (30 equivalentes) se fundieron en DMF. La solución de DMF se añadió al péptido y se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas y el péptido se lavó secuencialmente con DMF, MeOH y DMF. Como resultado, se obtuvo la resina Boc-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Dde)-2-cloro-tritilo. Se usó hidrazina en 2 % de DMF para retirar Dde, que es el grupo protector del resto Lys C-terminal para añadir FITC al C-terminal de Lys. Después, FITC (8 equivalentes) y DIPEA (16 equivalentes) se fundieron en DMF que se añadió a la mezcla de reacción peptídica y la mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se lavó secuencialmente con DMF, MeOH, DMF. Como resultado, se obtuvo la resina Boc-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(FITC)-2-cloro-tritilo. Se añadió TFA/TIS/H₂O = 95/2,5/2,5 para separar el péptido de la resina. Se añadió éter dietílico preenfriado a la mezcla, y se usó centrifugación para precipitar los péptidos. Después de la purificación por Prep-HPLC, La pureza se confirmó con la HPLC analítica y el peso molecular se confirmó con CL/EM. Las sustancias obtenidas se verificaron como pep1-FITC mediante la confirmación del peso molecular por CL/EM. Después los conjugados se liofilizaron. SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 de conjugados péptido-FITC también se prepararon de la misma manera que pep1-FITC descrito anteriormente.

Ejemplo 3: Penetración celular experimental del conjugado pep(CPP)-FITC

(1) Penetración celular experimental de la línea celular HeLa

Cultivo celular

5 La línea celular de adenocarcinoma de cuello uterino de Homo sapiens como líneas celulares HeLa se adquirieron de ATCC (American Type Cell Culture). Las células se cultivaron en MEM suplementado con suero bovino fetal al 10 % (Invitrogen, EE.UU.), sales de Earle, aminoácidos no esenciales, piruvato sódico y 100 µg/ml de penicilina y 10 unidades/ml de estreptomycin y se cultivaron a 37 °C, en una incubadora de CO₂ al 5 %.

Análisis de citometría de flujo y microscopía confocal de penetración celular

10 La citometría de flujo y el análisis de microscopio confocal se realizaron para comparar el grado de captación celular de las células que se trataron con la SEQ ID NO: 1 con la SEQ ID NO: 156, pep (CPP) y control.

15 La línea celular se dividió en una placa de 6 pocillos y se cultivó en un medio que contenía suero bovino fetal al 10 % (Invitrogen, EE.UU.), 100 µg/ml de penicilina, 100 unidades/ml de estreptomycin a 37 °C, incubadora al 5 % de CO₂ durante 12 horas. Después de lavar la línea celular con PBS, se indujeron ayunas en Medio Esencial Mínimo durante una hora. Se trataron 20 µM de cada péptido vehículo y se cultivaron a 37 °C durante una hora. Después de repetir la etapa de lavar las células con PBS tres veces, se trató con tripsina-EDTA durante 10 minutos a 37 °C para separar el péptido vehículo en el exterior de la célula. Las células se recogieron con PBS refrigerado y se realizó una centrifugación para repetir la etapa de lavar las células tres veces. Después de eso, las células se suspendieron en 0,5 ml de PBS que contenía 4 % de paraformaldehído y se analizó la fluorescencia de las células usando FACS Calibur (Becton Dickinson). Se comparó el aspecto de la captación celular del control y diversos péptidos combinados con FITC y se analizó por IFM (Intensidad de fluorescencia media).

20

Los resultados son como se muestra en las Figuras 1 a 23. Los resultados del análisis mostrado en la Figura 1 a la Figura 23 se dan con detalle en la Tabla 3 a continuación.

[TABLA 3]

	pep2	pep3	pep4	pep5	pep6	pep7	pep8
control	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	37,6±1,89	18,23±3,21	28,35±2,54	19,06±1,33	15,81 ±1,59	9,51±2,95	17,75±1,96
	pep10	pep11	pep12	pep13	pep14	pep15	pep16
control	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	559,78±3,41	10,46± 1,99	22±2,6	14,01 ±1,32	10,51 ±3,71	35,61±1,29	20,12±1,84
	pep17	pep18	pep19	pep20	pep21	pep22	pep23
control	3,98±0,87	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	15,26±2,23	18,7±1,21	13,04±3,41	20,73±2,45	13,22±1,67	13,56±0,23	15,68±2,03
	pep24	pep25	pep26	pep27	pep28	pep29	pep30
control	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	13,78±1,07	18,62±0,69	14,81 ±1,77	9,89±2,51	14,08±3,11	33,5±2,48	14,37±1,73
	pep31	pep32	pep33	pep34	pep35	pep36	pep37
control	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	14,93±2,05	11,98±2,92	14,36±1,63	14,41 ± 3,44	15,54±1,38	15,37±2,65	20,81±1,02
	pep38	pep39	pep40	pep41	pep42	pep43	pep45
control	3,31 ±0,62	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,31±0,62
péptido	380,4±2,6	21,4±0,99	11,63±1,11	28,97±3,44	20,82±1,93	29,88±2,35	203,77±3,26
	pep46	pep47	pep48	pep49	pep50	pep51	pep52
control	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	24,67±2,02	15,85±1,03	26,51 ±2,36	13,91 ±0,51	2228,76±3,68	59,81±1,38	16,67±2,22
	pep53	pep54	pep56	pep57	pep58	pep59	pep60
control	3,98±0,87	2,52±0,41	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	16,16±0,66	388,45±2,94	28,61 ±0,44	568,02±3,01	19,87±0,94	18,58±0,52	15,79±1,63

(continuación)

	pep62	pep63	pep65	pep66	pep68	pep70	pep71
control	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	2,52±0,41	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87
	pep62	pep63	pep65	pep66	pep68	pep70	pep71
péptido	14,55±3,71	21 3±1,55	12,72±1,36	20,7±2,57	27,28±1,28	21,82±1,76	16,61±0,88
	pep72	pep76	pep79	pep80	pep81	pep82	pep83
control	3,98±0,87	2,52±0,41	3,98±0,87	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	17,57±2,31	13,98±0,11	31,2±1,52	12,45±0,46	29,69±2,49	22,44±3,32	24,57±1,36
	pep87	pep88	pep89	pep91	pep92	pep94	pep95
control	2,52±0,41	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87
péptido	38,35±2,27	16,43±0,55	13,54±0,75	24,41 ±2,79	19,91 ±0,51	117,76±4,24	10,92±0,07
	pep96	pep102	pep103	pep104	pep105	pep106	pep107
control	2,39±0,23	2,52±0,41	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	308,53±3,61	45,84±1,58	126,88±2,14	36,74±1,11	13,23±2,21	12,45±0,38	23,11 ±0,56
	pep108	pep109	pep110	pep113	pep116	pep117	pep118
control	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	3,98±0,87	2,53±0,17
péptido	22,53±0,95	12,46±1,32	22,04±0,77	16,09±2,5	20,5±0,97	23,11 ±2,46	14,69±0,33
	pep119	pep123	pep124	pep125	pep126	pep128	pep131
control	2,53±0,17	3,98±0,87	2,53±0,17	2,53±0,17	2,53±0,17	3,98±0,87	2,39±0,23
péptido	13,23±0,64	18,03±2,83	23,74±3,62	28,62±2,12	3362,29±3,2 4	14,36±1,21	32,51 ±2,38
	pep132	pep133	pep134	pep138	pep139	pep141	pep145
control	3,98±0,87	2,53±0,17	2,39±0,23	3,98±0,87	2,39±0,23	3,98±0,87	3,98±0,87
péptido	26,39±0,95	46,79±1,92	78,05±2,26	16,43±0,91	29,95±0,28	20,89±0,31	11,97±0,78
	pep146	pep150	pep151	pep153	pep158	pep160	

(continuación)

control	2,53±0,17	3,98±0,87	3,98±0,87	2,53±0,17	3,98±0,87	2,53±0,17	
péptido	18,32±1,82	17,46±0,24	23,52±0,56	31,72±1,74	87,75±2,51	9,860,23	

(2) Propiedad de penetración celular de la línea celular Huh7

Cultivo celular

La línea celular de carcinoma hepatocelular humano como líneas Huh7 se adquirió de ATCC (American Type Cell Culture) y se usó como células suspendidas. Las células se cultivaron en MEM suplementado con suero bovino fetal al 10 % (Invitrogen, EE.UU.), EarleSA), las líneas Huh7 de Earle se obtuvieron de AT piruvato y 100 µg/ml de penicilina y 10 unidades/ml de estreptomycin y se cultivaron a 37 °C, en una incubadora de CO₂ al 5 %.

El análisis de detección de penetración celular usado por citometría de flujo

Para confirmar la penetración celular de los péptidos, las líneas celulares Huh7 se trataron con SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 y se analizaron por citometría de flujo. El procedimiento analizado también se confirmó de la misma manera que se describió anteriormente en el ejemplo (1) en líneas celulares Hela. Además, El resultado se mostró en la Figura 24 a la Figura 43.

(3) Penetración celular experimental en líneas celulares de linfocitos T humanos

Cultivo celular

La línea celular de leucemia de linfocitos T humanos como Jurket se adquirió de ATCC (American Type Cell Culture) y se usó como células suspendidas. Las células se cultivaron en RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal al 10 % (Invitrogen, EE.UU.), Earle SA), EarleC (American Type Cell Culture) y piruvato y 100 e ATCC (American Type unidades/ml de estreptomycin y se cultivaron a 37 °C, en una incubadora de CO₂ al 5 %. Los linfocitos derivados de humanos (linfocitos) se separaron de la sangre humana sana (50 ml) y después se recogió la capa de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y los linfocitos se usaron mediante solución de separación Biocoll (Biochrom AG, Berlín, Alemania).

El análisis de detección de penetración celular usado por citometría de flujo

Para confirmar la penetración celular de los péptidos, las líneas celulares de leucemia de linfocitos T humanos se trataron con SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 156 y se analizaron por citometría de flujo. El procedimiento analizado también se confirmó de la misma manera que se describió anteriormente en el ejemplo (1) en líneas celulares Hela. Además, El resultado se mostró en la Figura 44 a la Figura 58.

(4) Análisis de viabilidad celular y toxicidad

La línea celular se dividió en una placa de 96 pocillos y se cultivaron en un medio que contenía suero bovino fetal al 10 % (Invitrogen, EE.UU.), 100 µg/ml de penicilina, 100 unidades/ml de estreptomycin a 37 °C, incubadora al 5 % de CO₂ durante 12 horas. Después de lavar la línea celular con PBS, se indujeron ayunas en Medio Esencial Mínimo durante una hora. Se trataron 20 µM de cada péptido vehículo y se cultivaron a 37 °C durante una hora. Después de cultivar las células, se analizó la viabilidad celular y la toxicidad usada por el ensayo MTT. Los resultados se mostraron en la Figura 59 a la Figura 72.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 35 <110> KAEI-GEMVAX CO., LTD. KIM, Sang Jae
- <120> Péptido de penetración celular y conjugado y composición que comprende el mismo
- <130> OF13P179PCT
- <150> KR10-2012-0104173
- <151> 19-09-2012
- 40 <150> KR10-2012-0104144
- <151> 19-09-2012
- <150> KR10-2012-0109207
- <151> 28-09-2012
- 45 <150> KR10-2012-0109216
- <151> 28-09-2012
- <150> KR10-2013-0017169
- <151> 18-02-2013
- <160> 164
- <170> PatentIn versión 3.2
- <210> 1

ES 2 802 253 T3

<211> 30
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <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
 5
 <210> 2
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <400> 2
 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
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 3
 Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 4
 Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
 1 5 10
 <210> 5
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 5
 Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
 1 5
 30 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 6
 Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu
 1 5
 35 <210> 7
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 7

ES 2 802 253 T3

	Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu	
	1 5 10 15	
5	<210> 8 <211> 15 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 8	
	Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr	
	1 5 10 15	
10	<210> 9 <211> 15 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 9	
	Ala Glu Arg Leu Thr Ser Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu	
	1 5 10 15	
15	<210> 10 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 10	
	Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu	
	1 5	
20	<210> 11 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 11	
	Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu	
	1 5	
25	<210> 12 <211> 10 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 12	
	Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg Ala	
	1 5 10	
30	<210> 13 <211> 10 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 13	
	Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile	
	1 5 10	
35	<210> 14 <211> 10 <212> PRT	
40	<213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 802 253 T3

<213> *Homo sapiens*
 <400> 14
 Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg
 1 5 10
 5
 <210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 15
 Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
 1 5 10
 10
 <210> 16
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 16
 Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
 1 5 10
 15
 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 17
 Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg
 1 5 10
 20
 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 18
 Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu
 1 5 10
 25
 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 19
 Tyr Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu
 1 5 10
 30
 <210> 20
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 20
 Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu
 1 5 10
 35

ES 2 802 253 T3

	<210> 21 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>
5	<400> 21 Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu 1 5
10	<210> 22 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 22 Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg 1 5
15	<210> 23 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 23 Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg 1 5
20	<210> 24 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 24 Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg 1 5
25	<210> 25 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 25 Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala 1 5
30	<210> 26 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 26 Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu 1 5
35	<210> 27 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>
40	<210> 27 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>

ES 2 802 253 T3

	<400> 27		Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser
		1	5
5	<210> 28 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 28		
		Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu	
		1	5
10	<210> 29 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 29		
		Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly	
		1	5
15	<210> 30 <211> 9 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 30		
		Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His	
		1	5
20	<210> 31 <211> 8 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 31		
		Glu Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu	
		1	5
30	<210> 32 <211> 8 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 32		
		Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu Gly	
		1	5
35	<210> 33 <211> 8 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 33		
		Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu	
		1	5

<210> 34
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 34
 Arg Ala Arg Arg Pro Gly Leu Leu
 1 5

 <210> 35
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> *Homo sapiens*
 <400> 35
 Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu
 1 5

 <210> 36
 <211> 15
 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

 <210> 37
 <211> 15
 20 <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

 <210> 38
 <211> 15
 25 <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
 30
 <210> 39
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 35 <400> 39
 Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu
 1 5 10 15

 <210> 40
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 40

ES 2 802 253 T3

```

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

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
5 <213> Homo sapiens

<400> 41
        Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp
          1             5             10             15

<210> 42
<211> 15
10 <212> PRT
<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
<211> 15
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

20 <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

25 <210> 45
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30 <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
35 <212> PRT
<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
<211> 16
40 <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

<210> 48
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 48
 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

10 <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

15 <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

20 <210> 51
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <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

30 <210> 52
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 52

ES 2 802 253 T3

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

Leu Ala Phe Gly
20

<210> 53
<211> 20
<212> PRT
5 <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

<210> 54
<211> 20
10 <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

<210> 55
15 <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

<210> 56
20 <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
25 20

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

30 <400> 57

ES 2 802 253 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

<210> 58
<211> 20
<212> PRT
5 <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

<210> 59
<211> 20
10 <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

<210> 60
15 <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

<210> 61
20 <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 <210> 62
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 62

ES 2 802 253 T3

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
 5 <213> *Homo sapiens*
 <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
 10 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <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
 15 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <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
 20 <210> 66
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 66
 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
 25 <210> 67
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 30 <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

<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

<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

<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

Ser Pro Trp Gln
20

<210> 71
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 71

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

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

<400> 72

ES 2 802 253 T3

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

<210> 73
<211> 20
<212> PRT
5 <213> *Homo sapiens*
<400> 73

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

<210> 74
10 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 74

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

<210> 75
15 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 75

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

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

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

Gln Leu Arg Glu
25 20

<210> 77
30 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 77

ES 2 802 253 T3

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
 <210> 78
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 78
 Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met
 1 5 10 15
 Asp Tyr Val Val
 20
 <210> 79
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 79
 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
 <210> 80
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 80
 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
 <210> 81
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 81
 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
 <210> 82
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 82

ES 2 802 253 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

<210> 83
<211> 20
<212> PRT
5 <213> *Homo sapiens*

<400> 83

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

<210> 84
<211> 20
10 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 84

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

<210> 85
15 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 85

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

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

<400> 86

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> 87
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 87

ES 2 802 253 T3

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
 <210> 88
 <211> 20
 <212> PRT
 5 <213> *Homo sapiens*
 <400> 88
 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
 <210> 89
 <211> 20
 10 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 89
 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
 <210> 90
 <211> 20
 15 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 90
 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
 <210> 91
 <211> 20
 20 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 91
 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
 25
 <210> 92
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 802 253 T3

<400> 92
 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
 <210> 93
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 93
 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
 <210> 94
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 94
 Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr
 1 5 10 15
 Val Cys Thr Asn
 20
 <210> 95
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 95
 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
 <210> 96
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 96
 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
 <210> 97
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 97

ES 2 802 253 T3

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
 <210> 98
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 98
 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
 <210> 99
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <400> 99
 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
 <210> 100
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 100
 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
 <210> 101
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 20 <400> 101
 Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
 1 5 10
 25 <210> 102
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 102
 Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val
 1 5 10

ES 2 802 253 T3

<210> 103
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 103
 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
 <210> 104
 <211> 20
 <212> PRT
 10 <213> *Homo sapiens*
 <400> 104
 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
 <210> 105
 <211> 20
 <212> PRT
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 105
 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
 <210> 106
 <211> 20
 <212> PRT
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 106
 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
 20
 <210> 107
 <211> 20
 <212> PRT
 25 <213> *Homo sapiens*
 <400> 107
 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
 30

ES 2 802 253 T3

<210> 108
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 108
 Pro Pro Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr
 1 5 10 15
 Val Thr Asp Ala
 20
 <210> 109
 <211> 20
 <212> PRT
 10 <213> *Homo sapiens*
 <400> 109
 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
 <210> 110
 <211> 20
 <212> PRT
 15 <213> *Homo sapiens*
 <400> 110
 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
 <210> 111
 <211> 20
 <212> PRT
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 111
 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
 <210> 112
 <211> 20
 <212> PRT
 25 <213> *Homo sapiens*
 <400> 112
 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
 30 <210> 113
 <211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 113

Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg Gly Gly
1 5 10 15
Ser Ala Ser Arg
20

5

<210> 114

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 114

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> 115

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

15

<400> 115

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

<210> 116

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

20

<400> 116

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

<210> 117

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

25

<400> 117

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

30

<210> 118

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 118

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> 119
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 119

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> 120
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 120

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> 121
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 121

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

25 <210> 122
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 122

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

30 <210> 123
<211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

ES 2 802 253 T3

<400> 123

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

<210> 124

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 124

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

<210> 125

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 125

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

<210> 126

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 126

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

<210> 127

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 127

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

<210> 128

<211> 20

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 128

ES 2 802 253 T3

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
 <210> 129
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 129
 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
 <210> 130
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 130
 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
 <210> 131
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 131
 Asn Arg Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser
 1 5 10 15
 Ile Gly Ile Arg
 20
 <210> 132
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 132
 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
 <210> 133
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 133

ES 2 802 253 T3

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
 <210> 134
 <211> 20
 <212> PRT
 5 <213> *Homo sapiens*
 <400> 134
 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
 <210> 135
 <211> 20
 10 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 135
 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
 <210> 136
 <211> 20
 15 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 136
 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
 <210> 137
 <211> 20
 20 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 137
 Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro Glu Leu
 1 5 10 15
 Tyr Phe Val Lys
 25 20
 <210> 138
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 138

ES 2 802 253 T3

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

<210> 139
<211> 20
<212> PRT
5 <213> *Homo sapiens*
<400> 139

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

Thr Asp Leu Gln
20

<210> 140
<211> 20
10 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 140

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

<210> 141
15 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 141

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

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

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

Gln Cys Gln Gly
25 20

<210> 143
<211> 20
<212> PRT
30 <213> *Homo sapiens*
<400> 143

ES 2 802 253 T3

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

<210> 144
<211> 20
<212> PRT
5 <213> *Homo sapiens*
<400> 144

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

<210> 145
<211> 20
10 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 145

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

<210> 146
15 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 146

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

<210> 147
20 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 147

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

<210> 148
25 <211> 20
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
30 <400> 148

ES 2 802 253 T3

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
 <210> 149
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 149
 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
 <210> 150
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 150
 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
 <210> 151
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 151
 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
 <210> 152
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 152
 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
 <210> 153
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 153

ES 2 802 253 T3

	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													
	<210> 154																
	<211> 20																
	<212> PRT																
5	<213> <i>Homo sapiens</i>																
	<400> 154																
	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													
	<210> 155																
	<211> 20																
	<212> PRT																
10	<213> <i>Homo sapiens</i>																
	<400> 155																
	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													
	<210> 156																
	<211> 22																
	<212> PRT																
15	<213> <i>Homo sapiens</i>																
	<400> 156																
	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													
	<210> 157																
	<211> 1132																
	<212> PRT																
20	<213> <i>Homo sapiens</i>																
	<400> 157																

ES 2 802 253 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				

ES 2 802 253 T3

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
		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

ES 2 802 253 T3

515					520					525					
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
					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			
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

ES 2 802 253 T3

850		855		860
Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala				
865		870		875
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
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 Gln				
		1010		1015
				1020
Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala				
		1025		1030
				1035
Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu				
		1045		1050
				1055
Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp				
		1060		1065
				1070
Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr				
		1075		1080
				1085
Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser				
		1090		1095
				1100
Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn				
		1105		1110
				1115
Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp				
		1125		1130

<210> 158

<211> 239

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteina Fluorescente Verde

<400> 158

ES 2 802 253 T3

```

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

Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly
          20          25          30

Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile
          35          40          45

Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr
 50          55          60

Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys
 65          70          75          80

Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu
          85          90          95

Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu
          100          105          110

Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly
          115          120          125

Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr
          130          135          140

Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn
          145          150          155          160

Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser
          165          170          175

Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly
          180          185          190

Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu
          195          200          205

Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe
          210          215          220

Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
          225          230          235

```

<210> 159

<211> 720

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína Fluorescente Verde

<400> 159

atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac	60
ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac	120
ggcaagctga ccctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc	180
ctcgtgacca ccctgaccta cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag	240
cagcagcact tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc	300
ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg	360
gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac	420
aagctggagt acaactacaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac	480
ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc	540
gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac	600
tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcg tcatatggtc	660
ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca tggacgagct gtacaagtaa	720
	720

5	<210> 160 <211> 21 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNip sentido	
10	<220> <221> variación <222> (20)..(21) <223> n es desoxitimidina (dT) <400> 160 cuuacgcuga guacuucgan n	21
15	<210> 161 <211> 21 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> ARNip antisentido	
20	<220> <221> variación <222> (20)..(21) <223> n es desoxitimidina (dT)	
25	<400> 161 ucgaaguacu cagcguaagn n	21
30	<210> 162 <211> 21 <212> ARN <213> Secuencia artificial <220> <223> siCont sentido	

	<220> <221> variación <222> (20)..(21) <223> n es desoxitimidina (dT)	
5	<400> 162 gcaccuauaa caacgguagn n	21
	<210> 163 <211> 21 <212> ARN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> siCont antisentido	
	<220> <221> variación <222> (20)..(21) <223> n es desoxitimidina (dT)	
15	<400> 163 cuaccguugu uauaggugcn n	21
	<210> 164 <211> 16 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 164	
	Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys 1 5 10 15	
25		

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado de un péptido vehículo de penetración celular y un principio activo,
 en el que el péptido vehículo es un péptido que consiste en SEQ ID NO: 48,
 un péptido compuesto por 30 o menos aminoácidos y que tiene al menos un 80 % de homología con el péptido
 anteriormente mencionado o un fragmento de uno cualquiera de los péptidos anteriormente mencionados,
 en el que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración
 celular de SEQ ID NO: 48 y
 en el que el principio activo no es una proteína ni un péptido.
2. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido vehículo consiste en SEQ ID NO: 48.
3. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido vehículo y el principio activo están conjugados
 a través de
 - a) un enlace covalente, opcionalmente mediado por un enlazador; o
 - b) un enlace no covalente.
4. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el principio activo es un agente de contraste.
5. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el agente de contraste se selecciona del grupo que
 consiste en agente de contraste radioopaco, agente de contraste paramagnético, agente de contraste
 superparamagnético y agente de contraste CT.
6. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el agente de contraste se basa en hierro, opcionalmente
 un carboxilato de ferroceno.
7. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, para su uso en el contraste de una célula,
 opcionalmente una célula madre.
8. Una composición que es una composición farmacéutica, una composición cosmética o una composición de
 alimentos saludables, comprendiendo la composición un conjugado de un vehículo de penetración celular y un
 principio activo, en el que el péptido vehículo es un péptido que consiste en SEQ ID NO: 48,
 un péptido compuesto por 30 o menos aminoácidos y que tiene al menos un 80 % de homología con el péptido
 anteriormente mencionado o un fragmento de uno cualquiera de los péptidos anteriormente mencionados,
 en el que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración
 celular de SEQ ID NO: 48.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, para su uso en el tratamiento o la prevención de una
 enfermedad.
10. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que la enfermedad es una
 enfermedad neuronal degenerativa o cáncer.
11. Un procedimiento para administrar un principio activo en una célula, opcionalmente en mitocondrias dentro de una
 célula, que comprende administrar a una célula *in vitro* un conjugado de un péptido vehículo de penetración celular y
 el principio activo,
 en el que el péptido vehículo es un péptido que consiste en SEQ ID NO: 48,
 un péptido compuesto por 30 o menos aminoácidos y que tiene al menos un 80 % de homología con el péptido
 anteriormente mencionado o un fragmento de uno cualquiera de los péptidos anteriormente mencionados, en el
 que el péptido que tiene al menos un 80 % de homología y el fragmento retienen la capacidad de penetración
 celular de SEQ ID NO: 48 y
 en el que el péptido vehículo es un péptido de penetración celular que logra la administración del principio activo
 en la célula.
12. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con las
 reivindicaciones 9 o 10 o el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en los que el péptido vehículo consiste
 en SEQ ID NO: 48.
13. La composición de acuerdo con la reivindicación 8 o 12; la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con
 las reivindicaciones 9, 10 o 12; o el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, en los que el principio
 activo es
 - a) al menos uno seleccionado de una proteína, un ácido nucleico, un péptido, un lípido, un glucolípido, un mineral,
 un azúcar, una nanopartícula, un producto biológico, un agente de contraste, un fármaco y un compuesto químico;
 - b) una proteína o un péptido; o
 - c) una citocina, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una enzima terapéutica, un receptor soluble o un

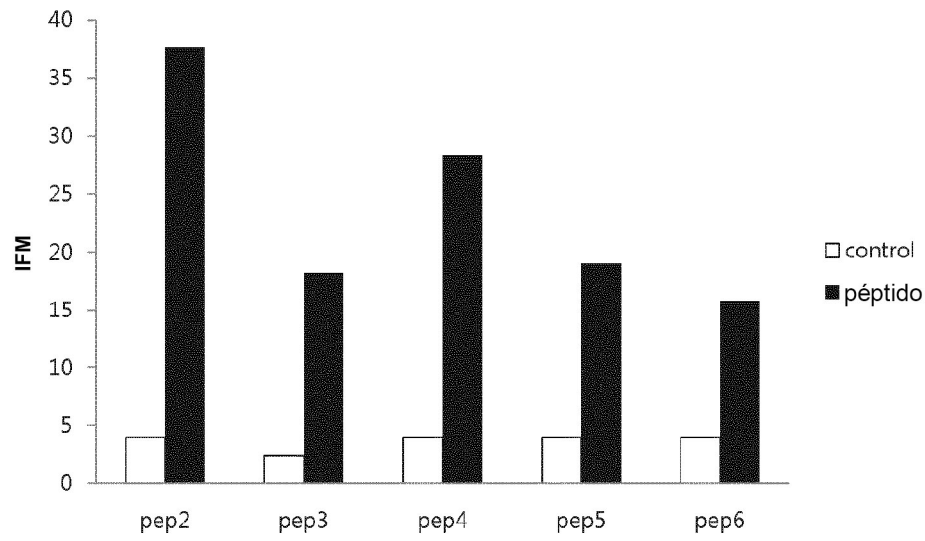
ligando.

14. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, 12 o 13; la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 9, 10, 12 o 13; o el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, 12 o 13, en los que el péptido vehículo y el principio activo se conjugan a través de

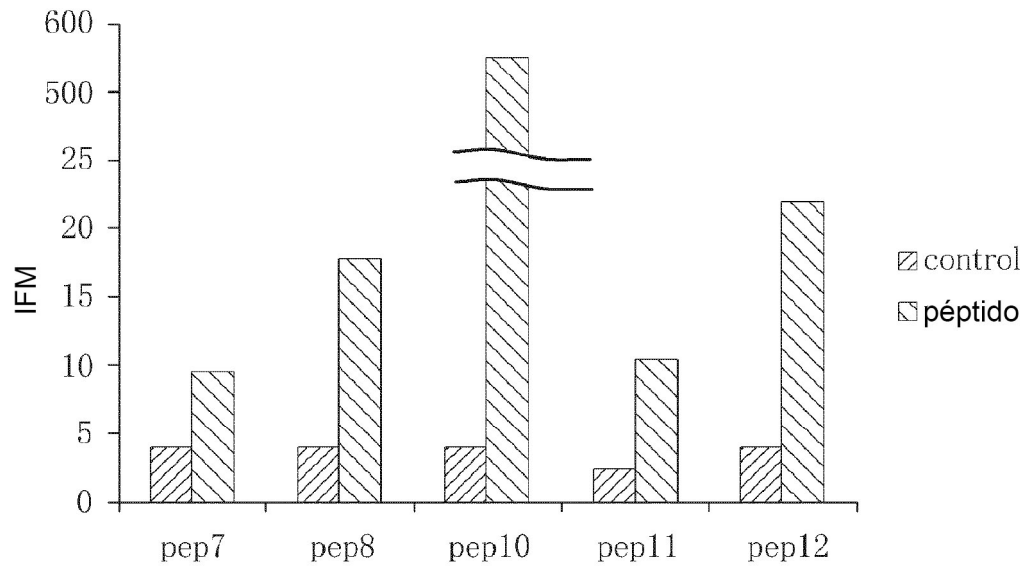
- 5 a) un enlace covalente, opcionalmente mediado por un enlazador; o
 b) un enlace no covalente.

15. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, 12, 13 o 14; la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 9, 10, 12, 13 o 14; o el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, 12, 13 o 14, en los que el principio activo es un agente de contraste.

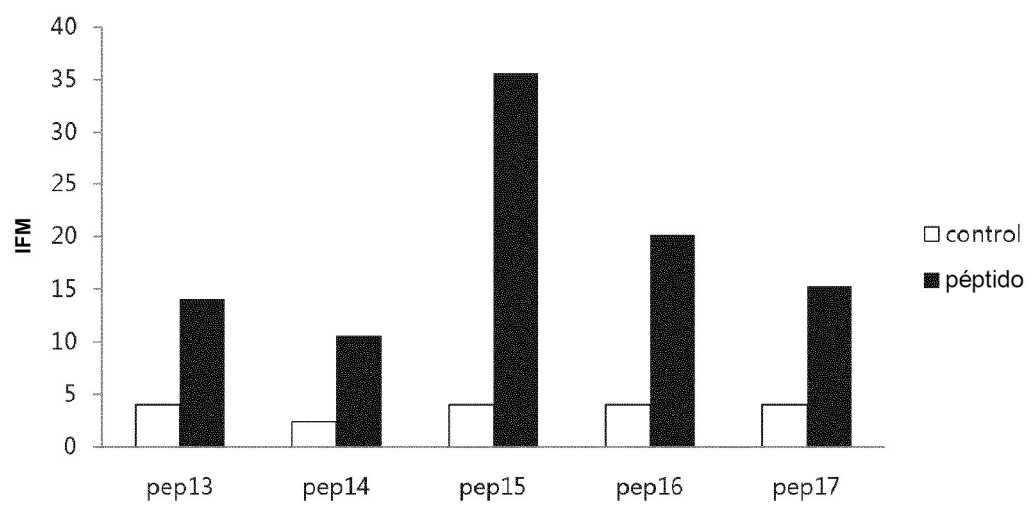
[Fig. 1]



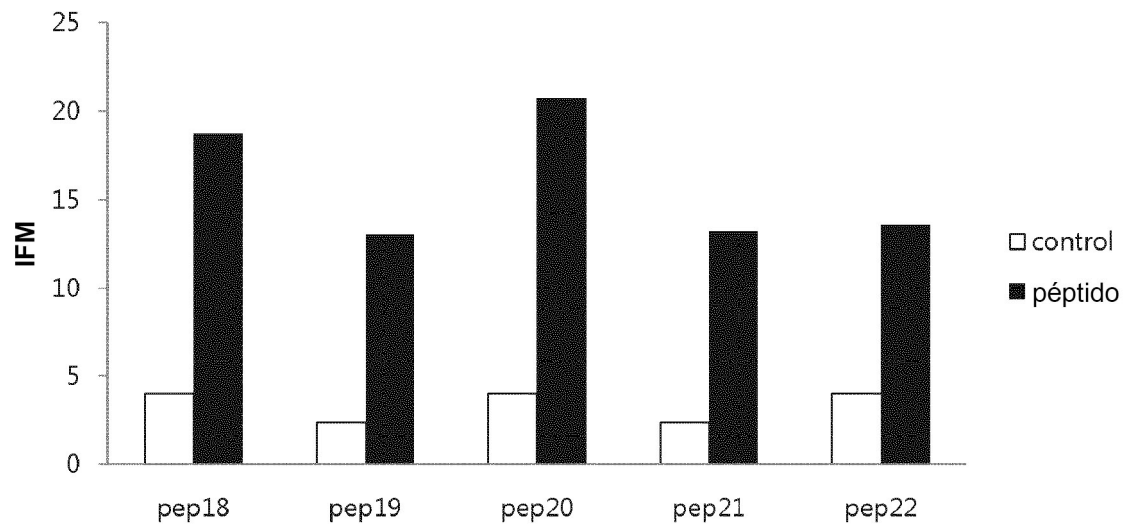
[Fig. 2]



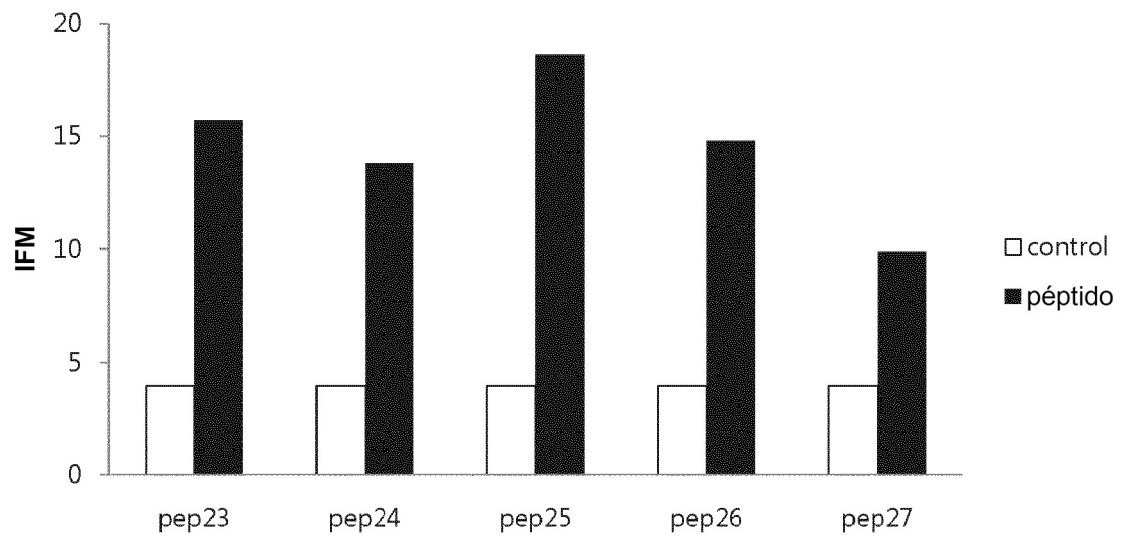
[Fig. 3]



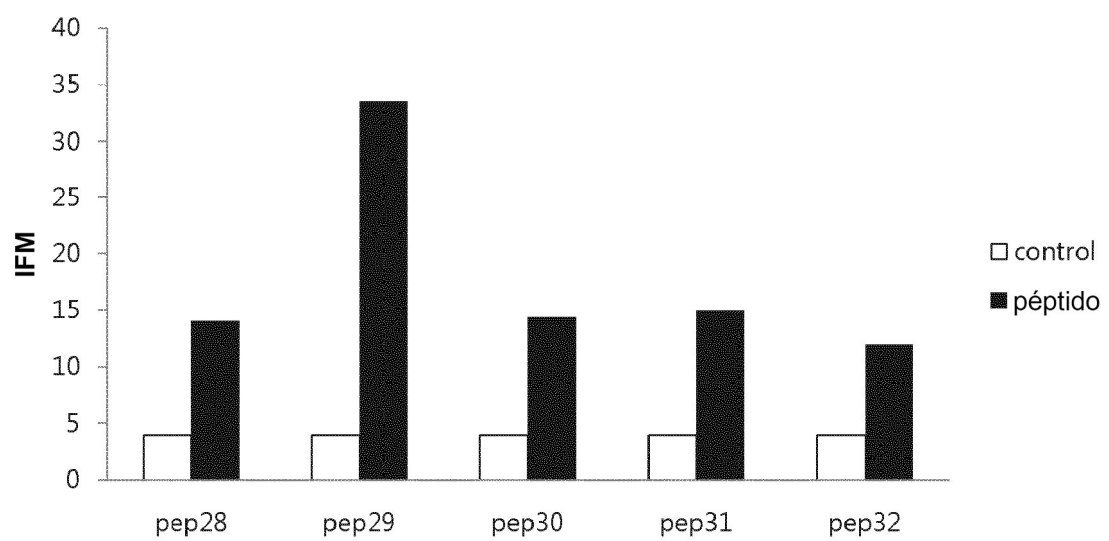
[Fig. 4]



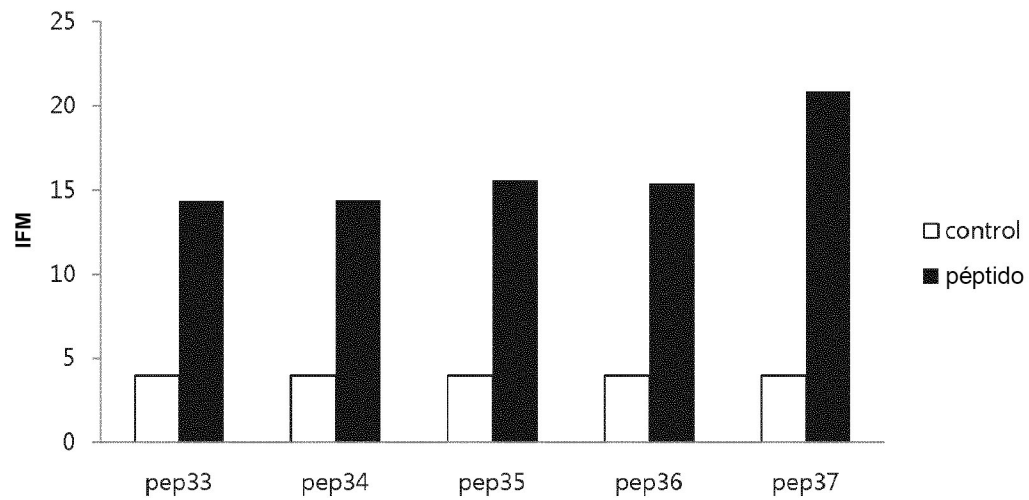
[Fig. 5]



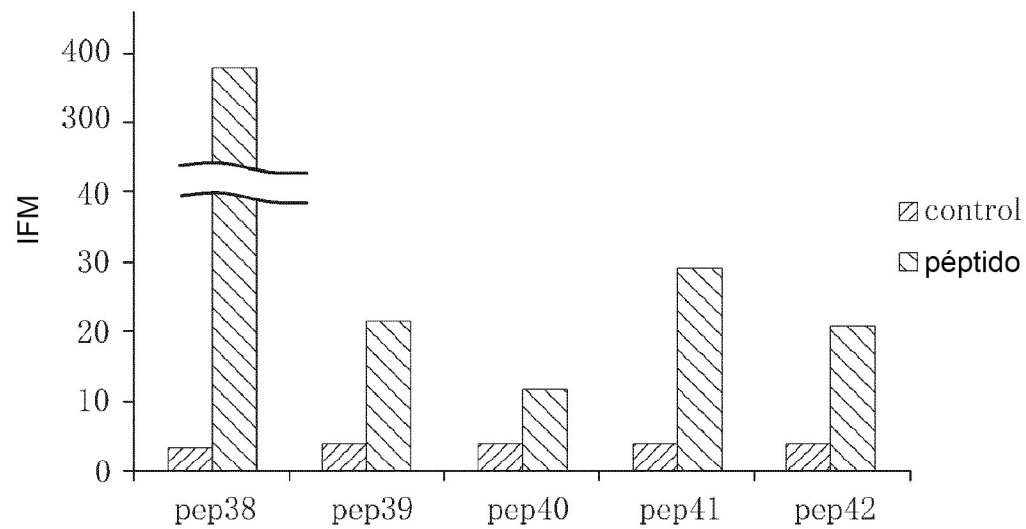
[Fig. 6]



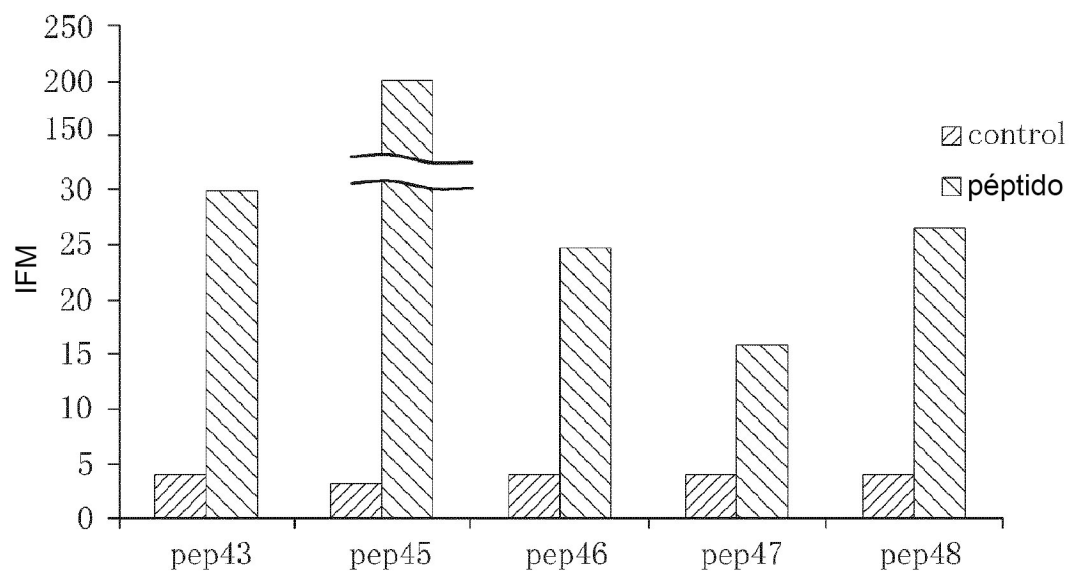
[Fig. 7]



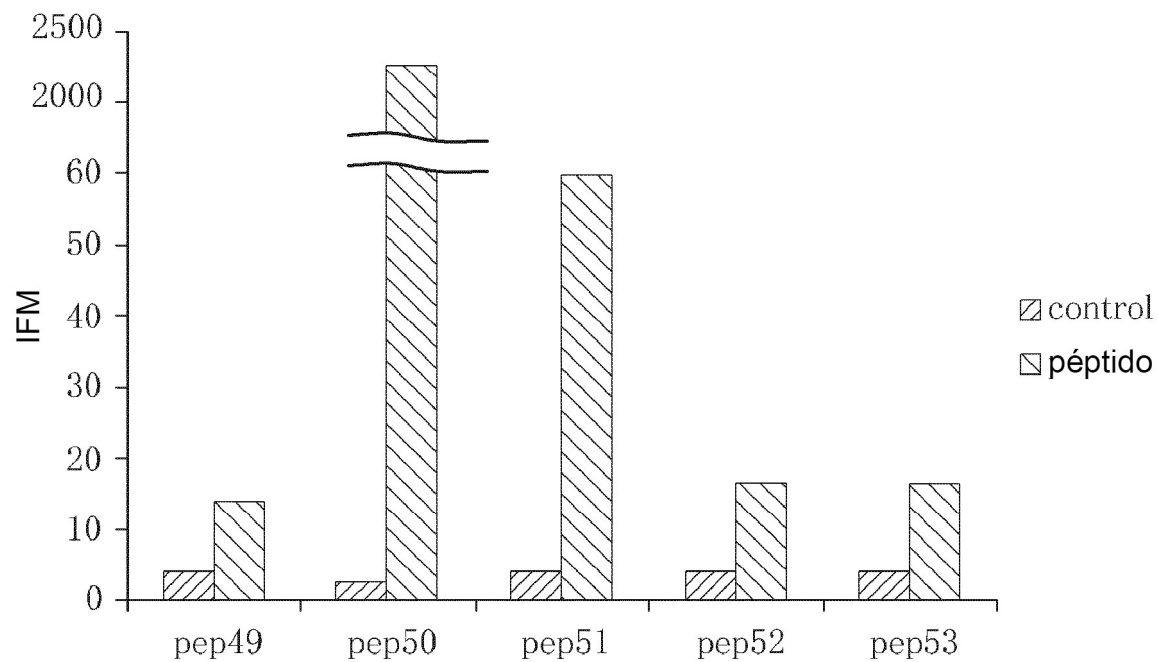
[Fig. 8]



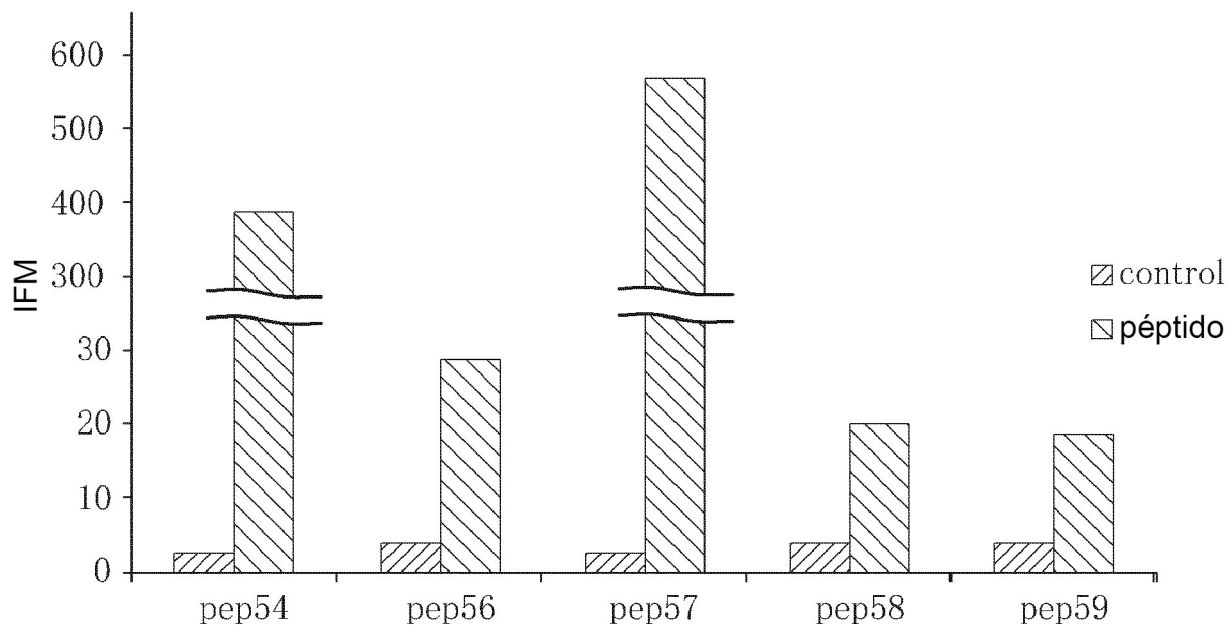
[Fig. 9]



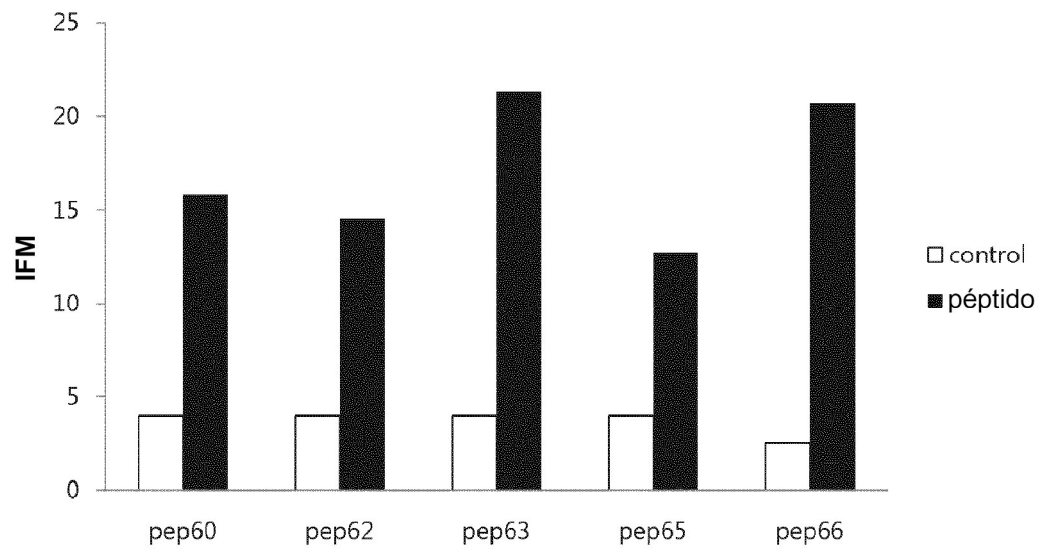
[Fig. 10]



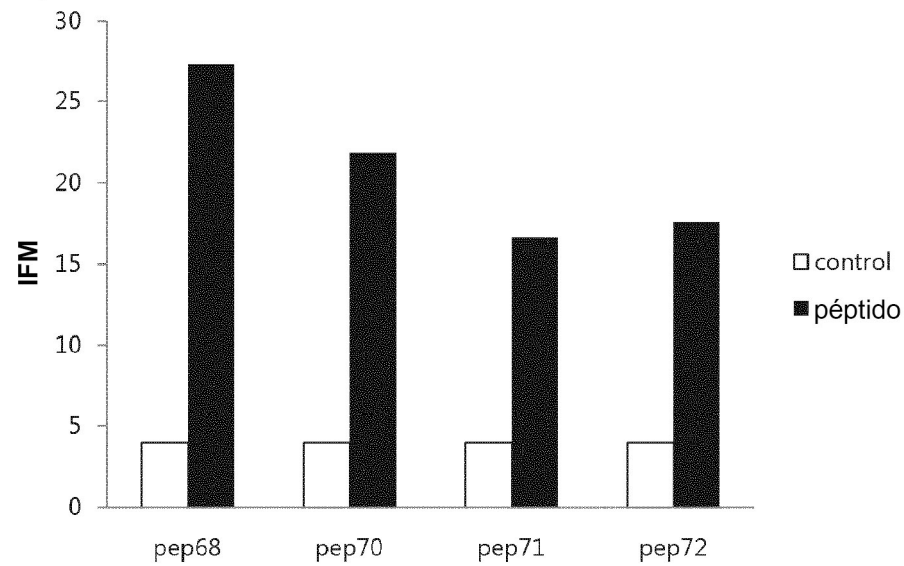
[Fig. 11]



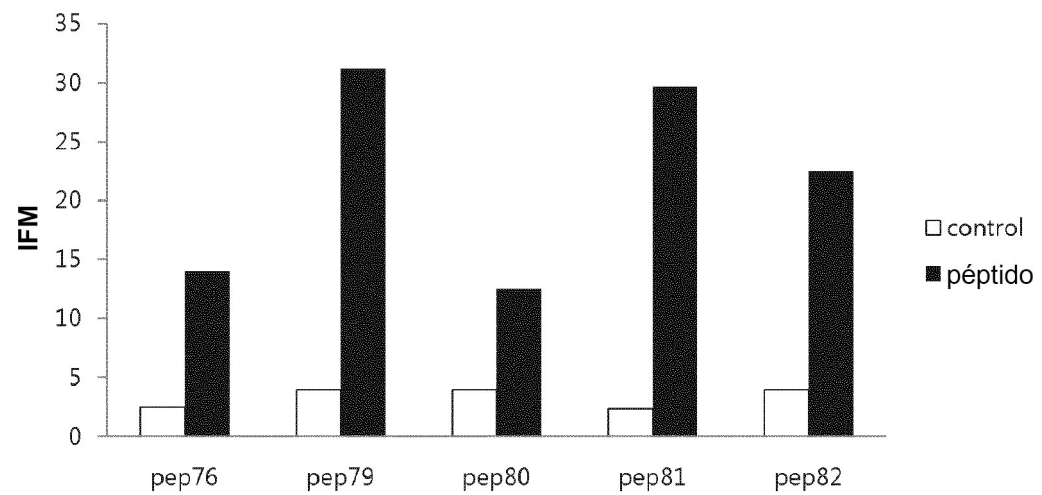
[Fig. 12]



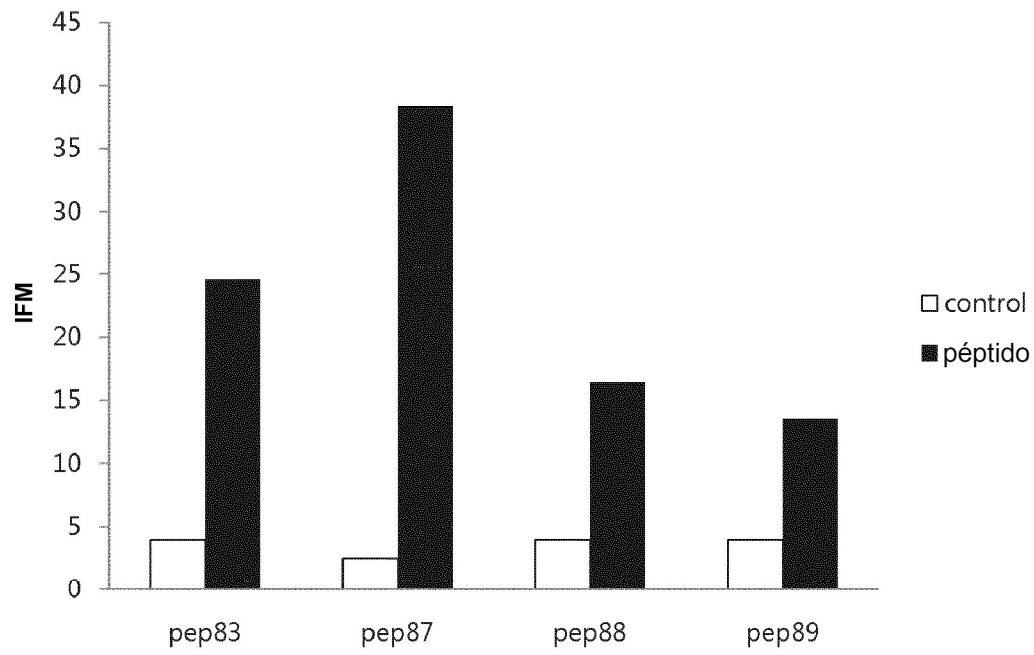
[Fig. 13]



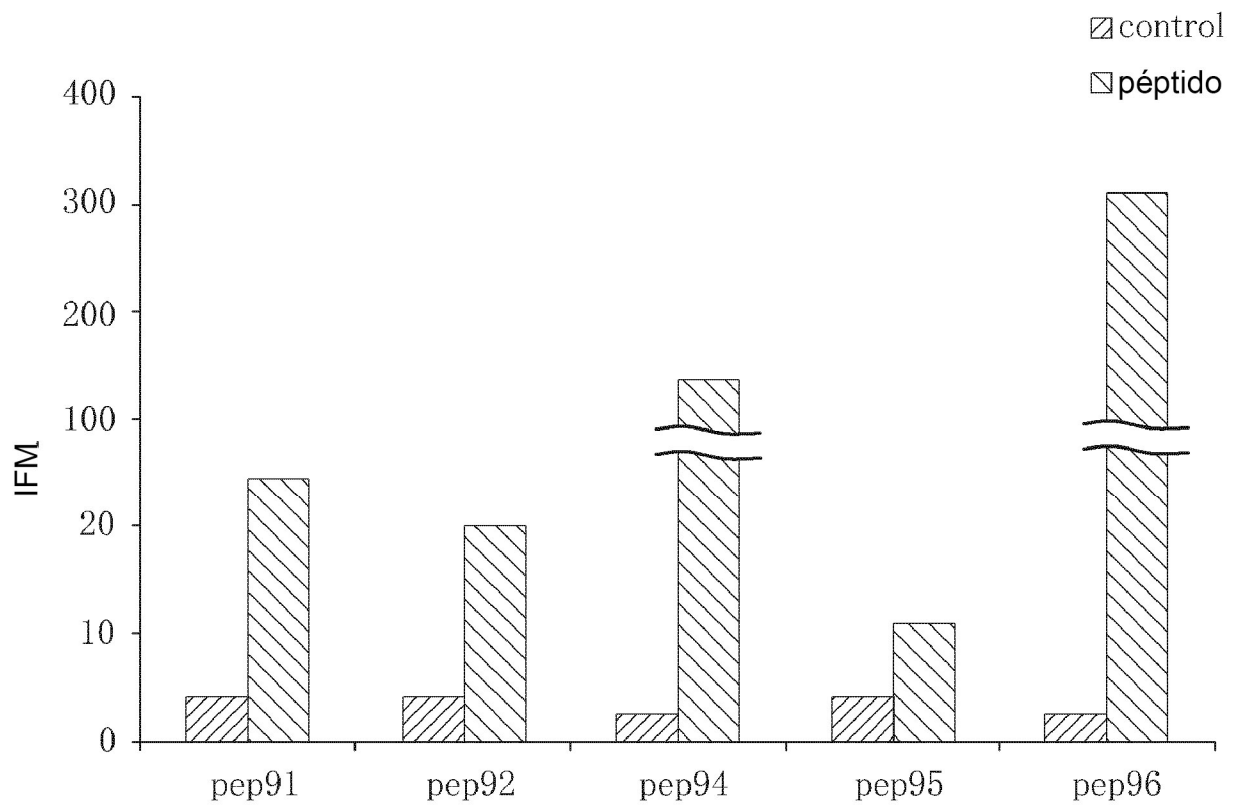
[Fig. 14]



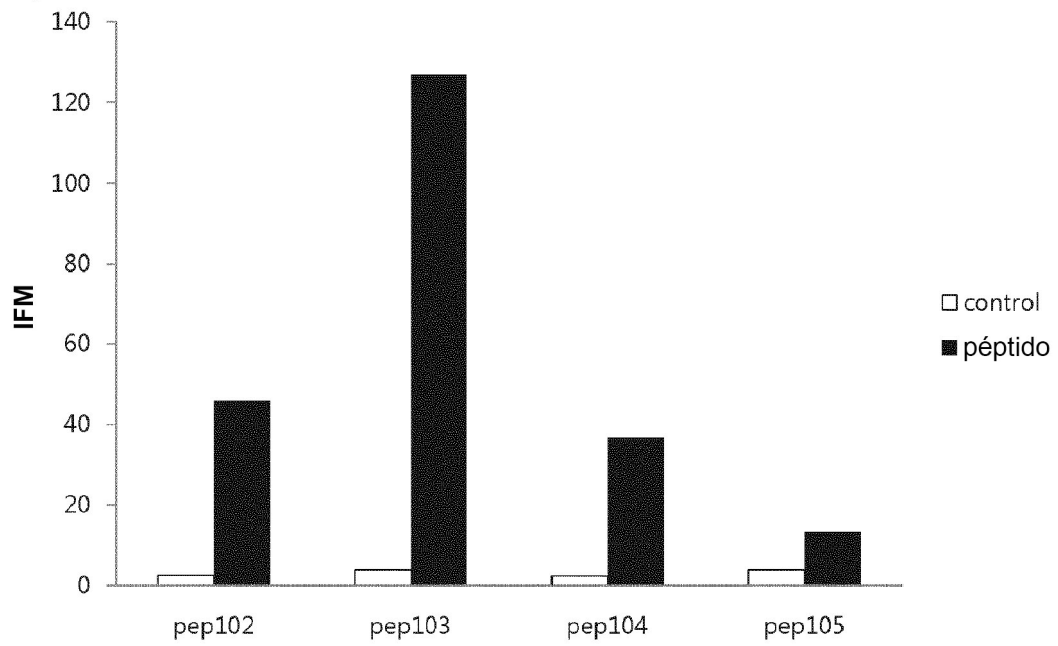
[Fig. 15]



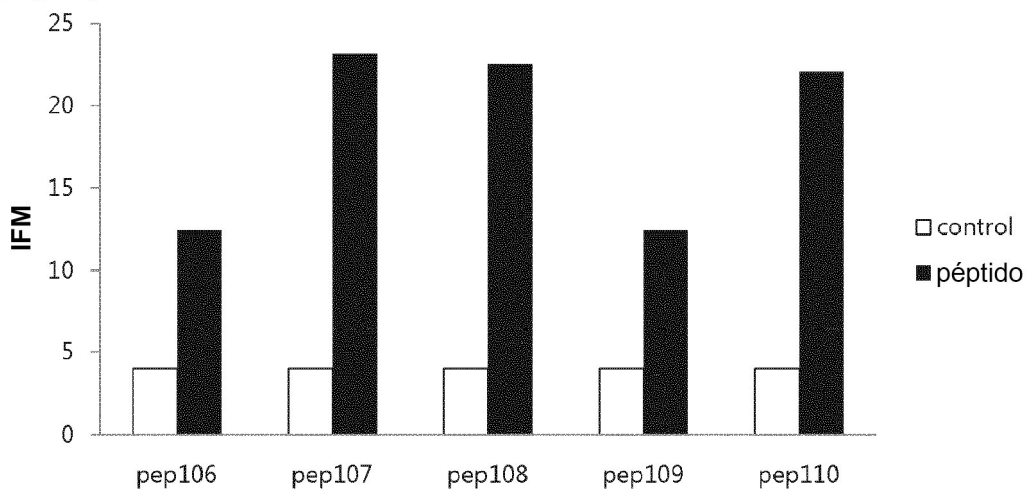
[Fig. 16]



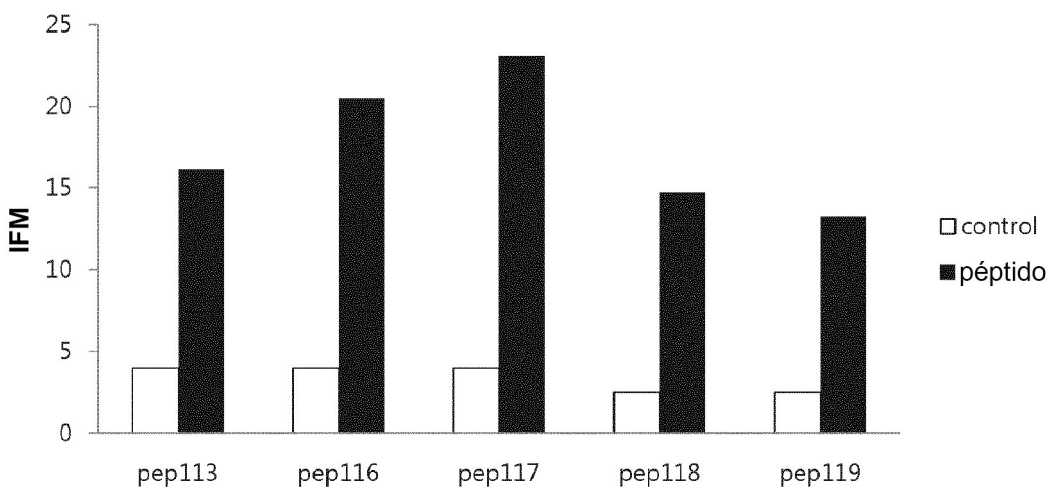
[Fig. 17]



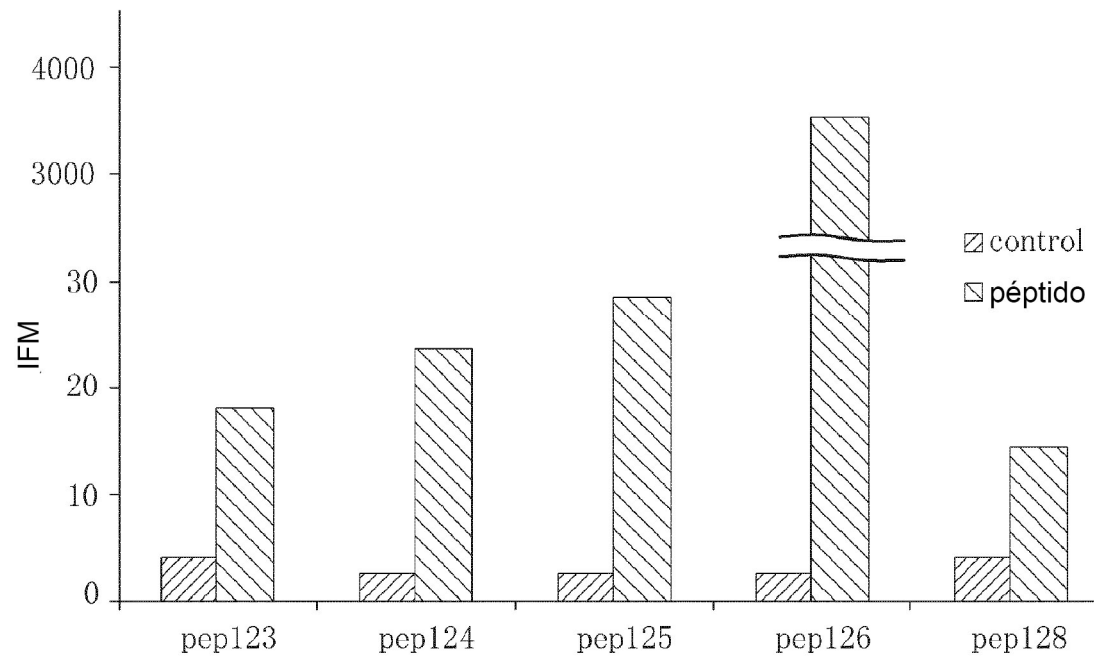
[Fig. 18]



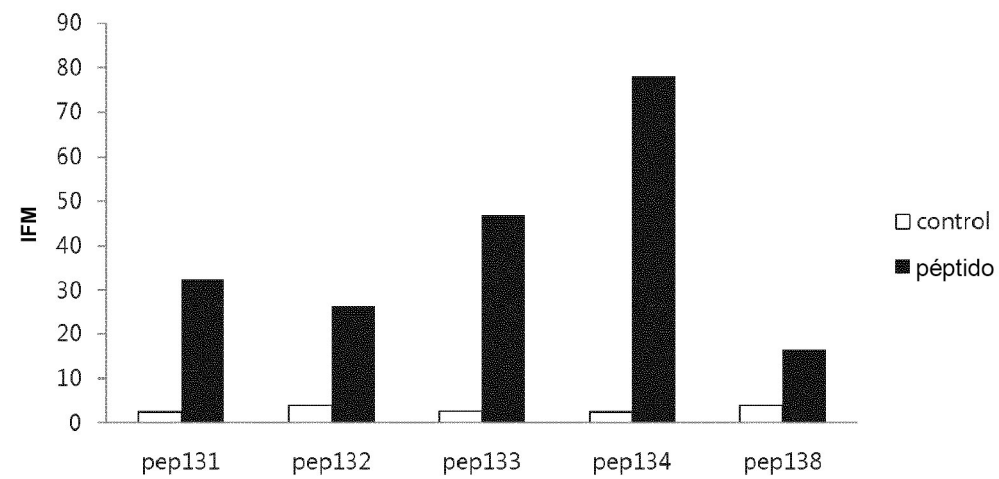
[Fig. 19]



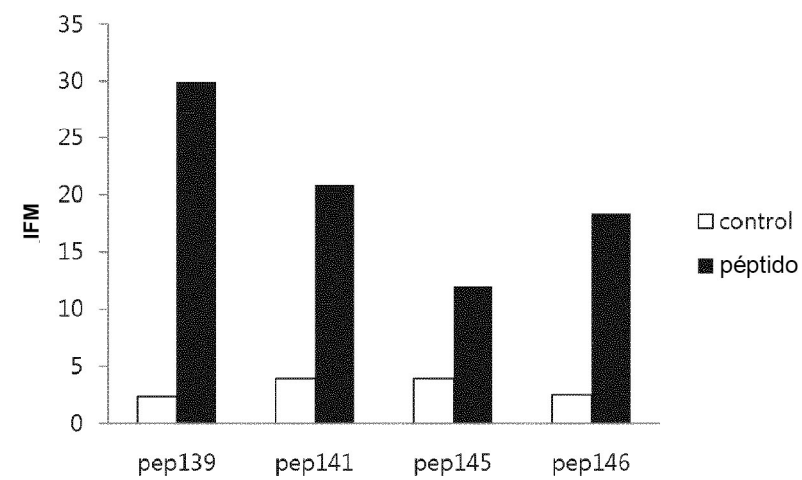
[Fig. 20]



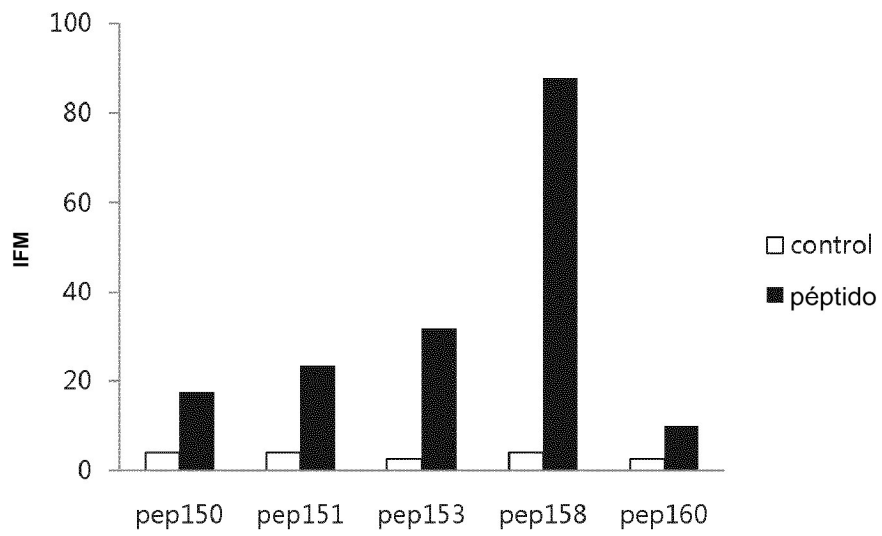
[Fig. 21]



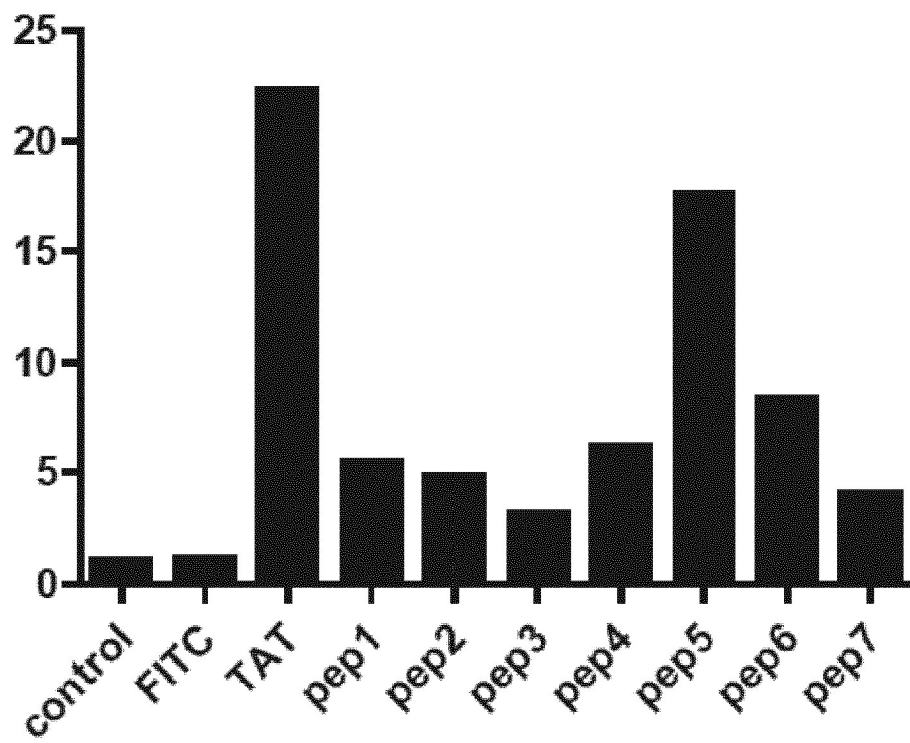
[Fig. 22]



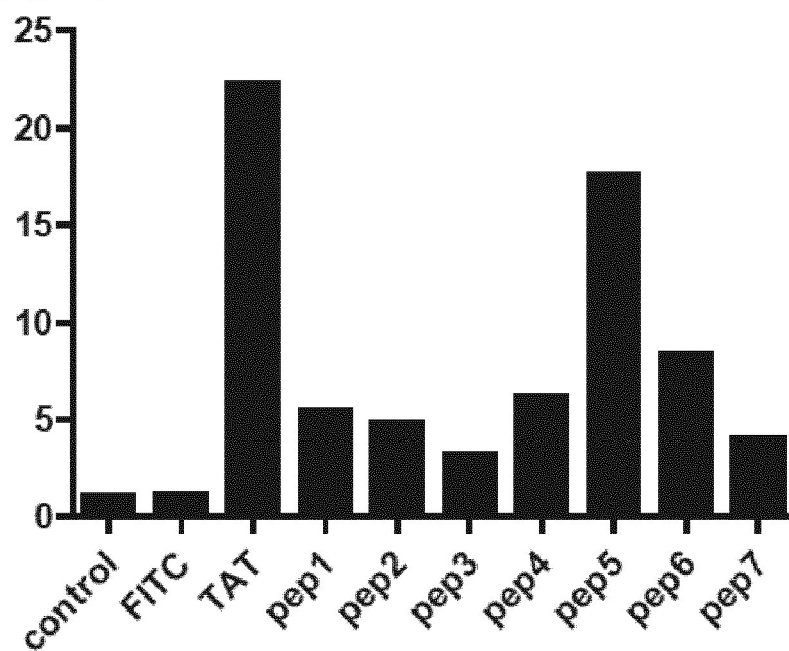
[Fig. 23]



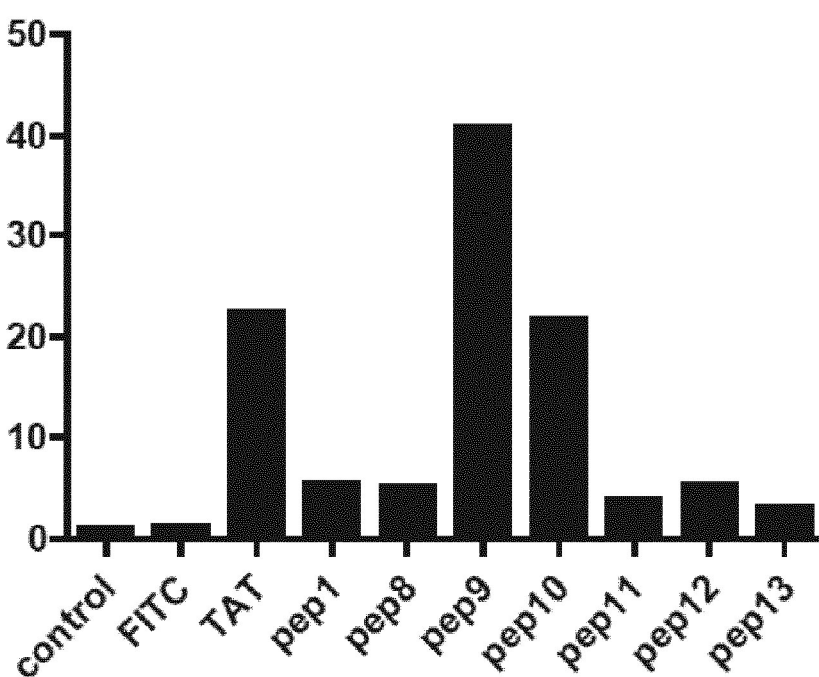
[Fig. 24]



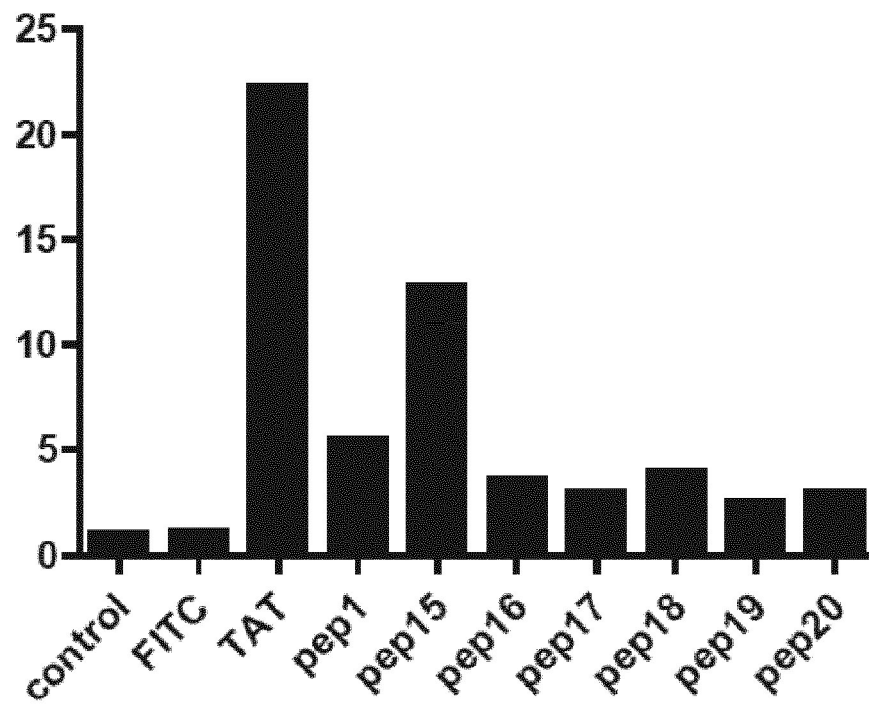
[Fig. 25]



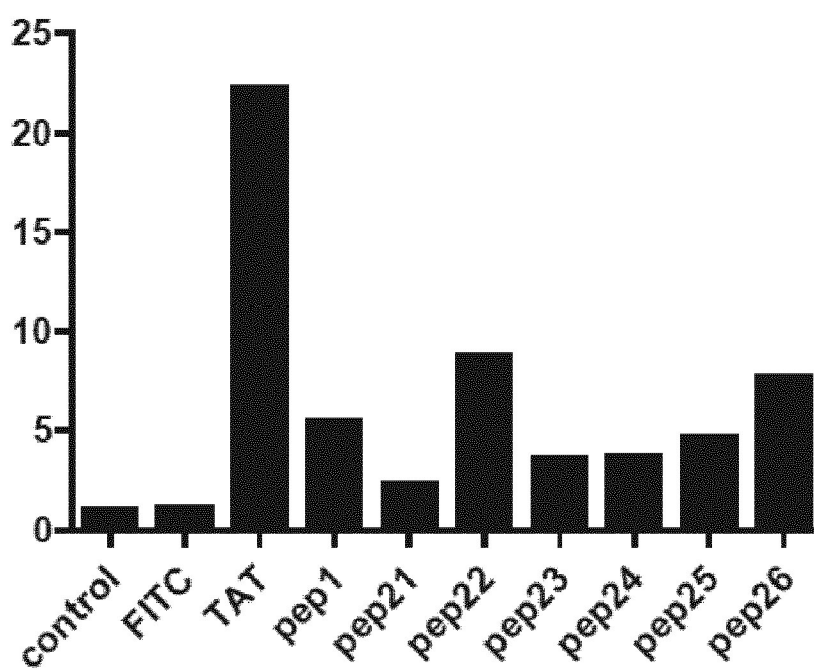
[Fig. 26]



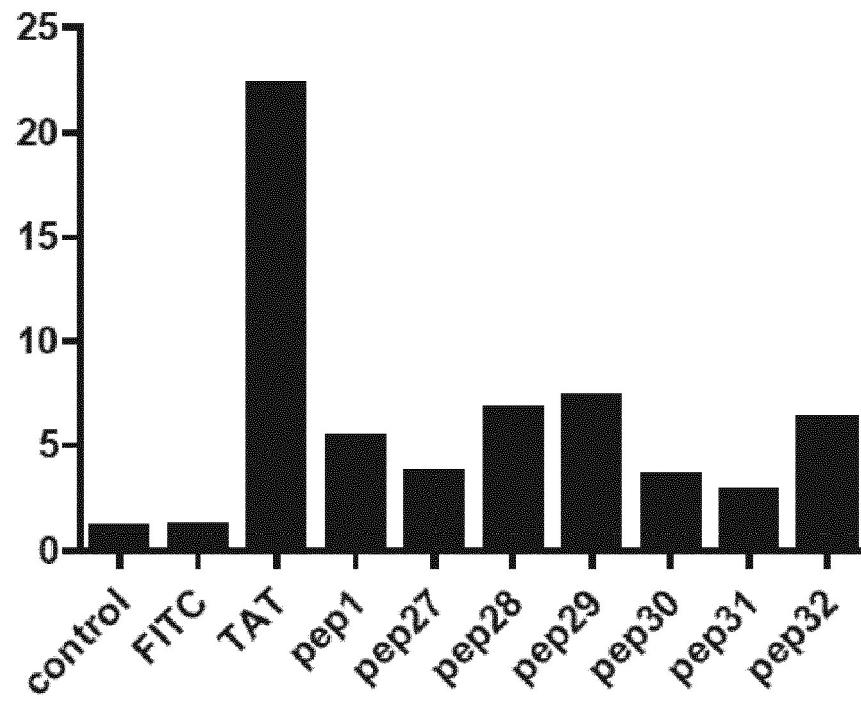
[Fig. 27]



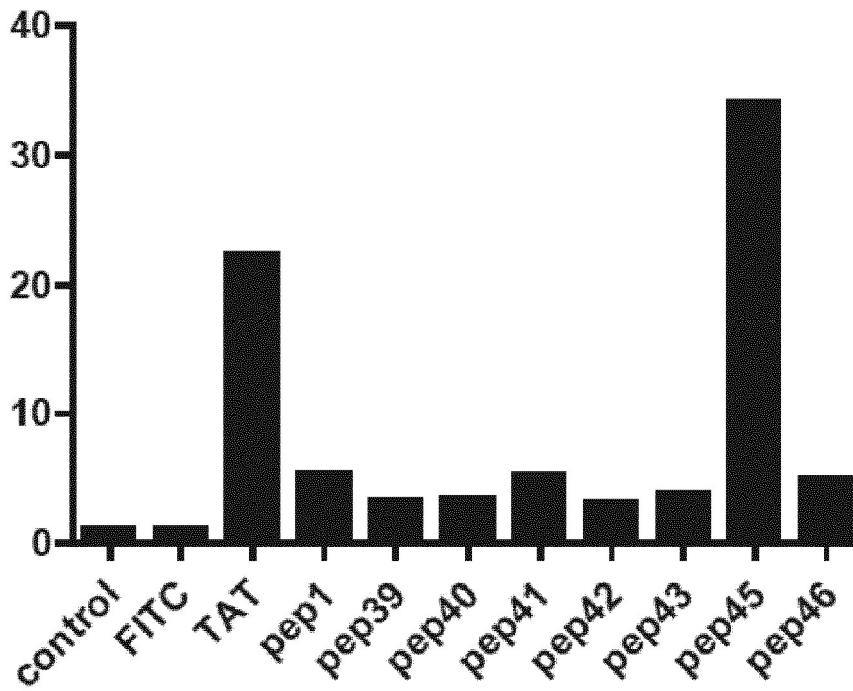
[Fig. 28]



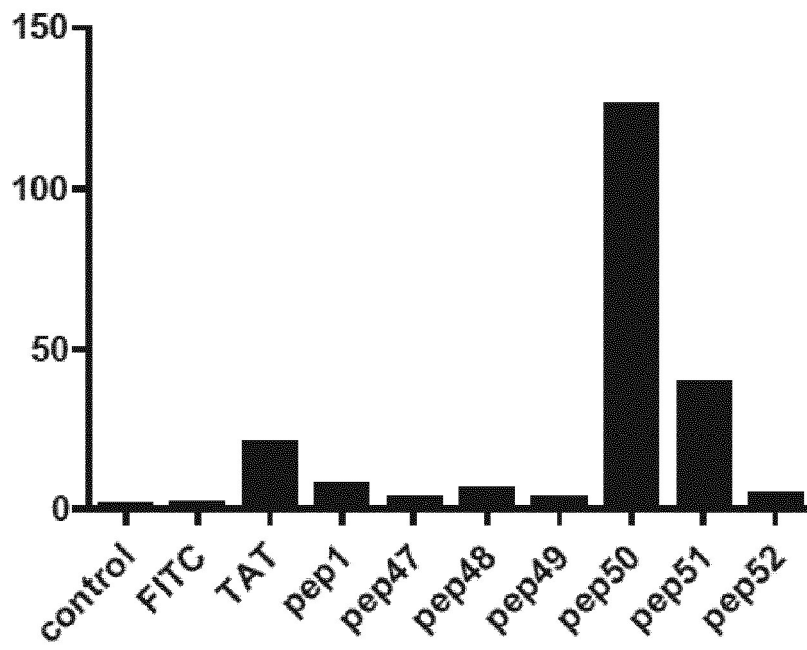
[Fig. 29]



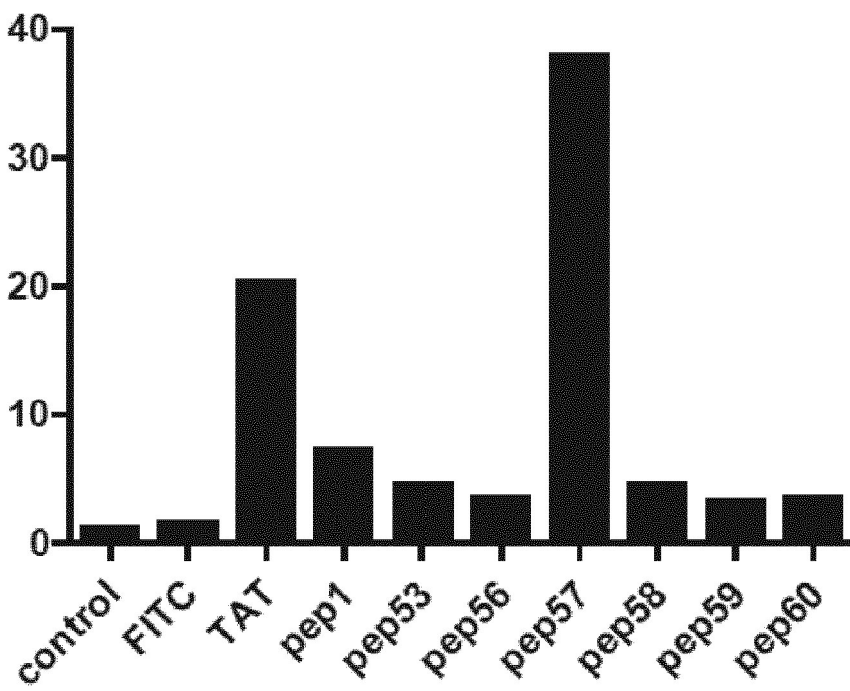
[Fig. 30]



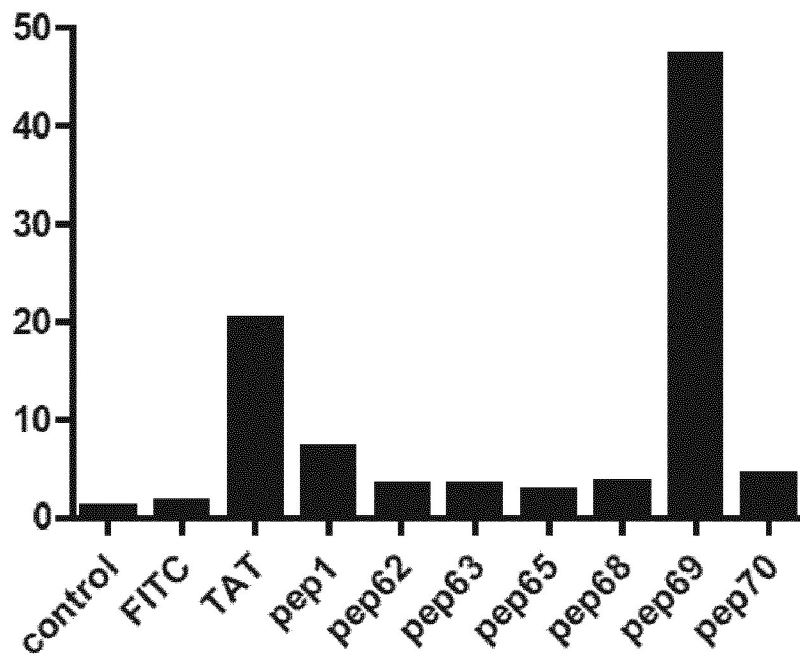
[Fig. 31]



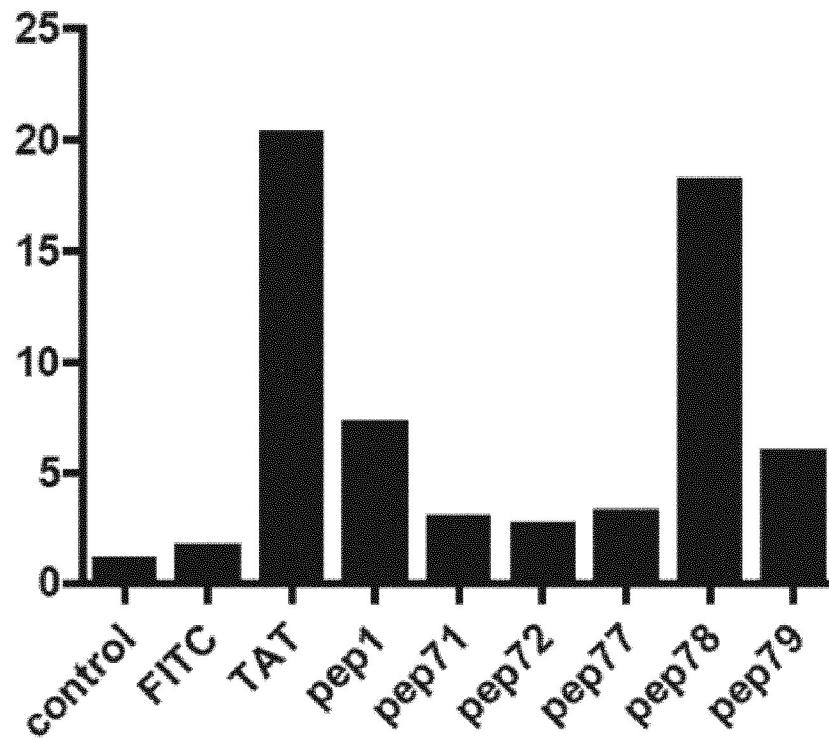
[Fig. 32]



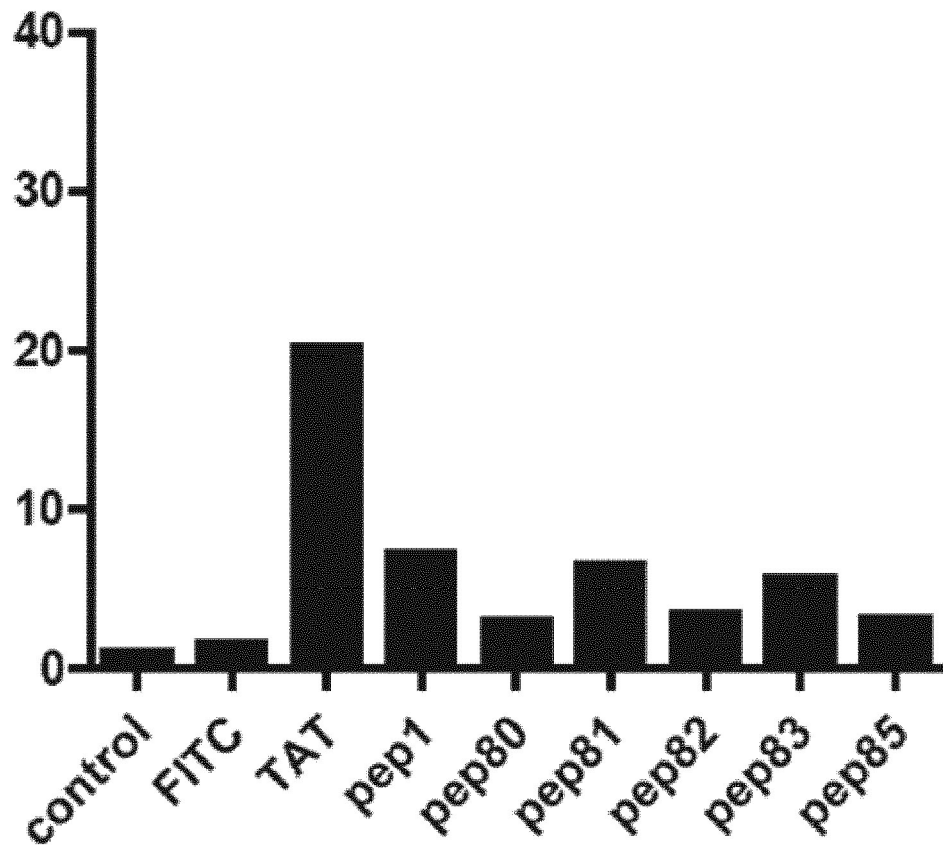
[Fig. 33]



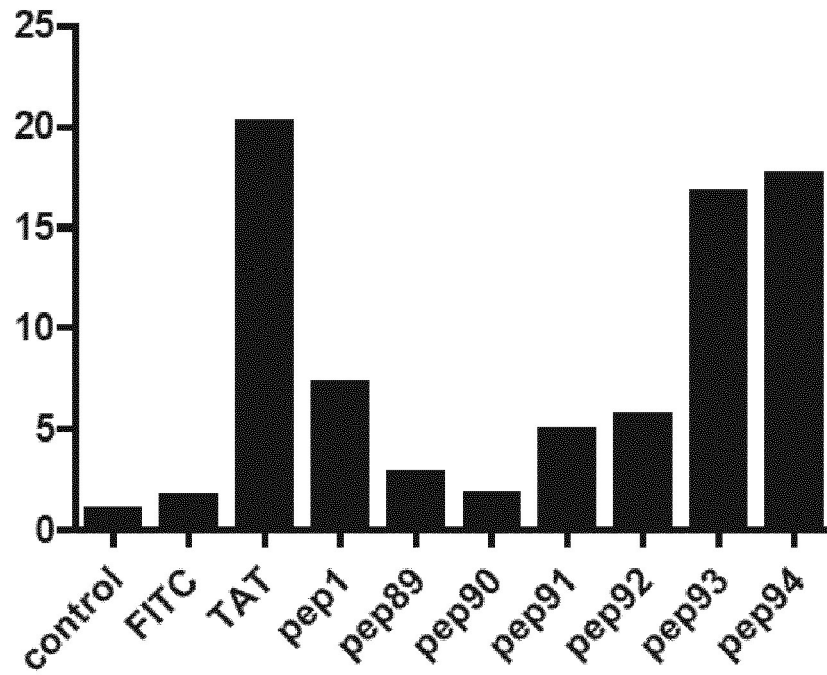
[Fig. 34]



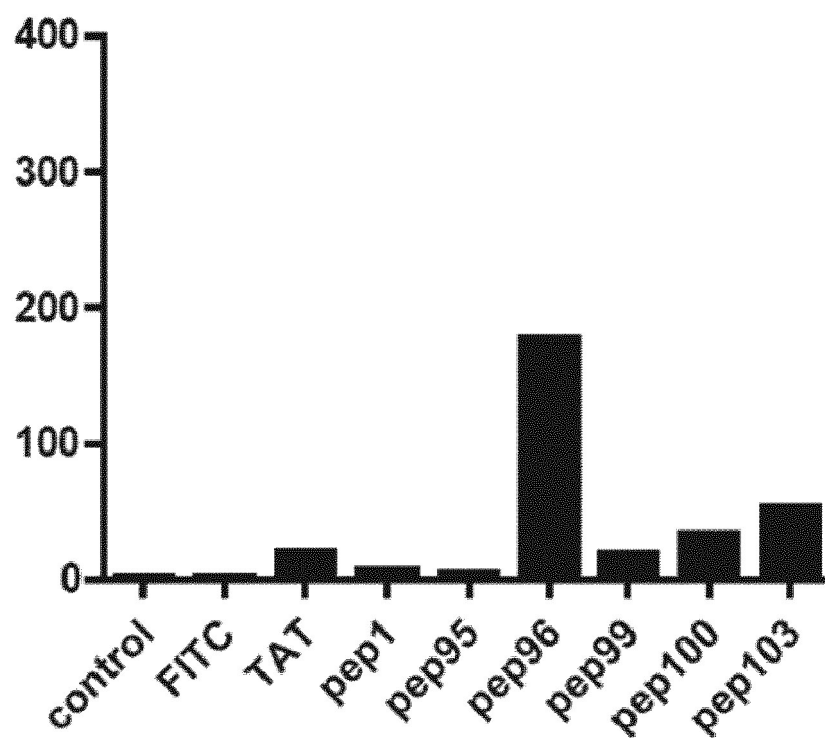
[Fig. 35]



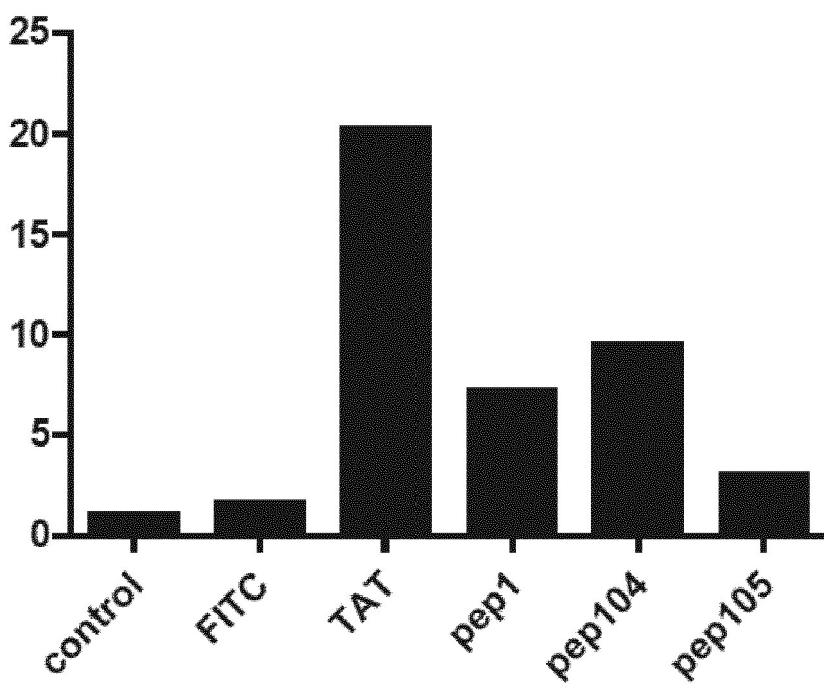
[Fig. 36]



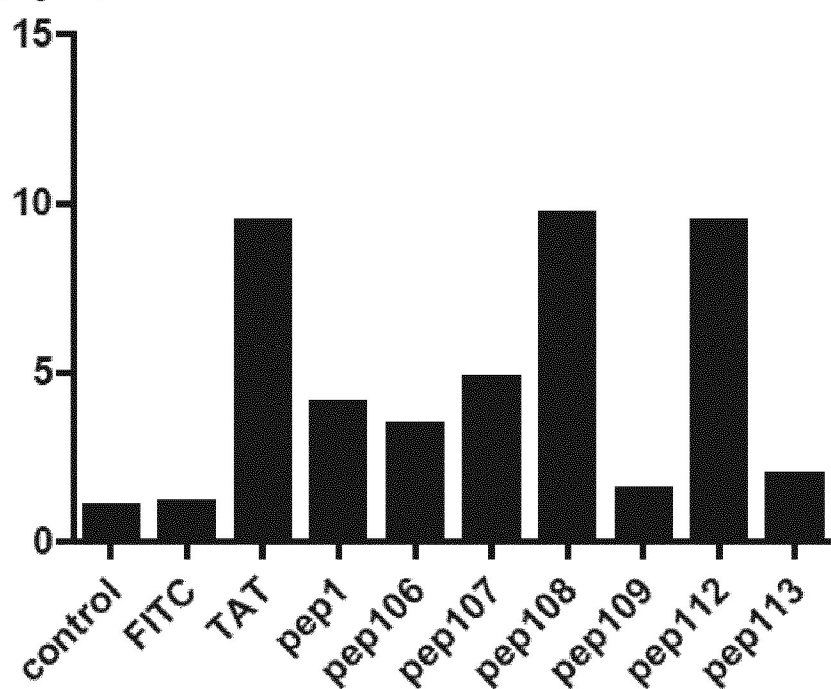
[Fig. 37]



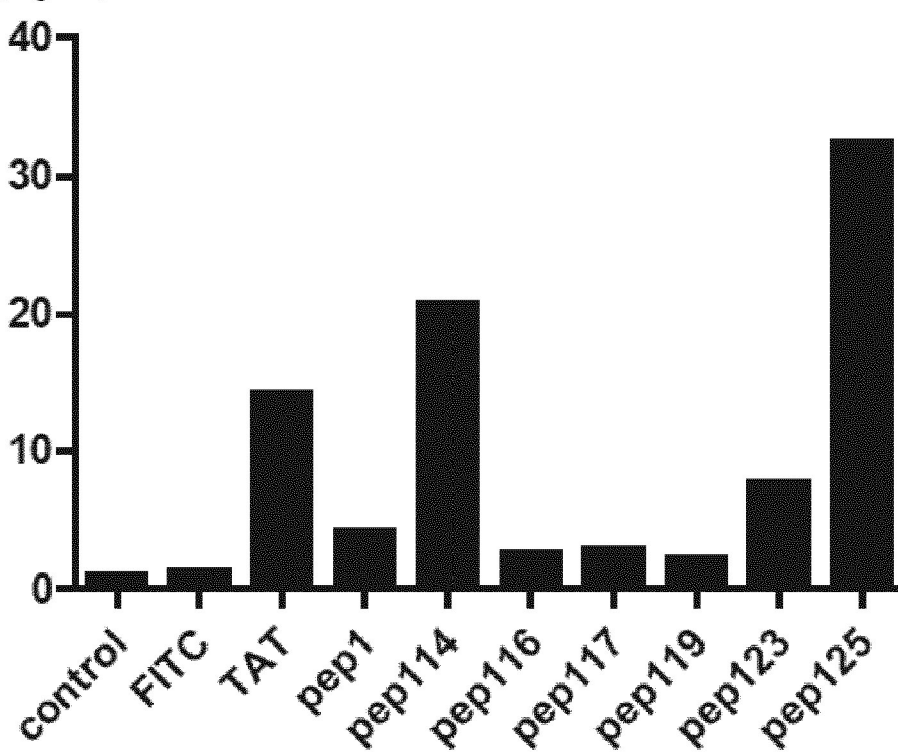
[Fig. 38]



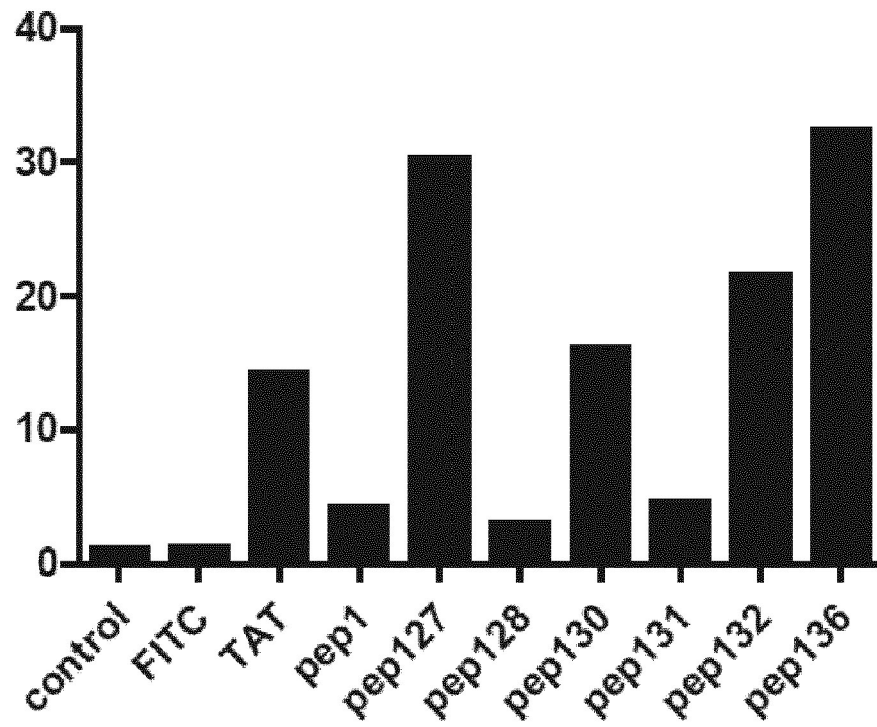
[Fig. 39]



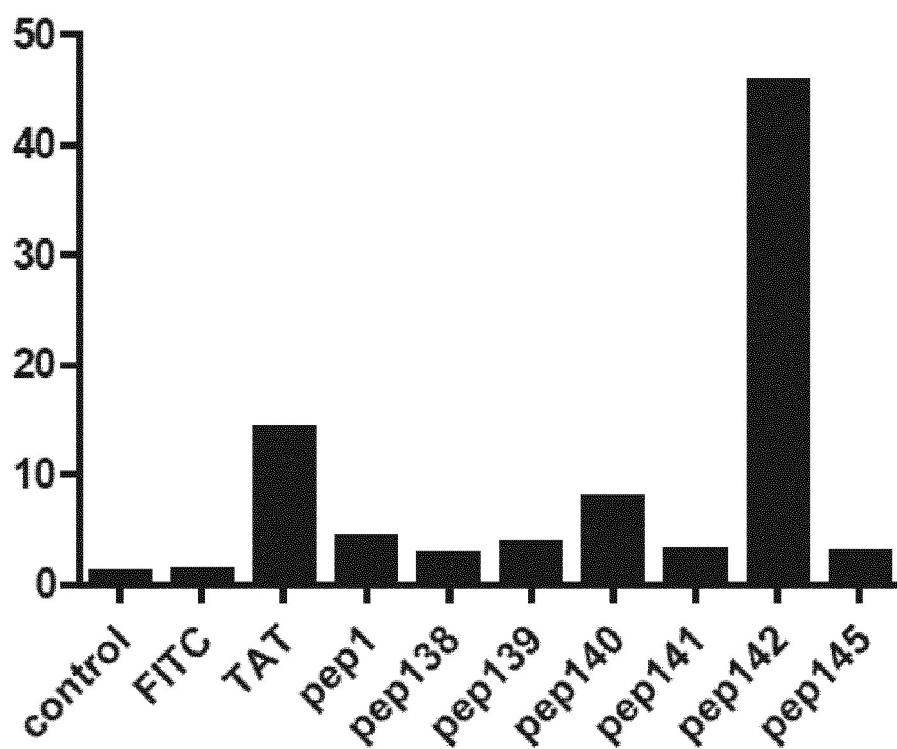
[Fig. 40]



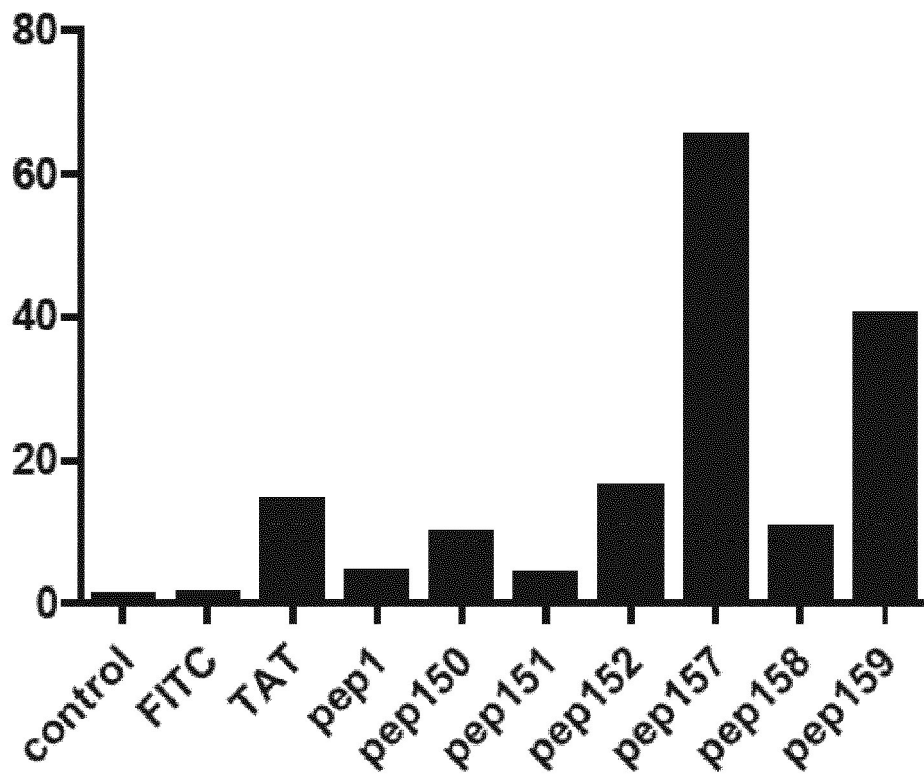
[Fig. 41]



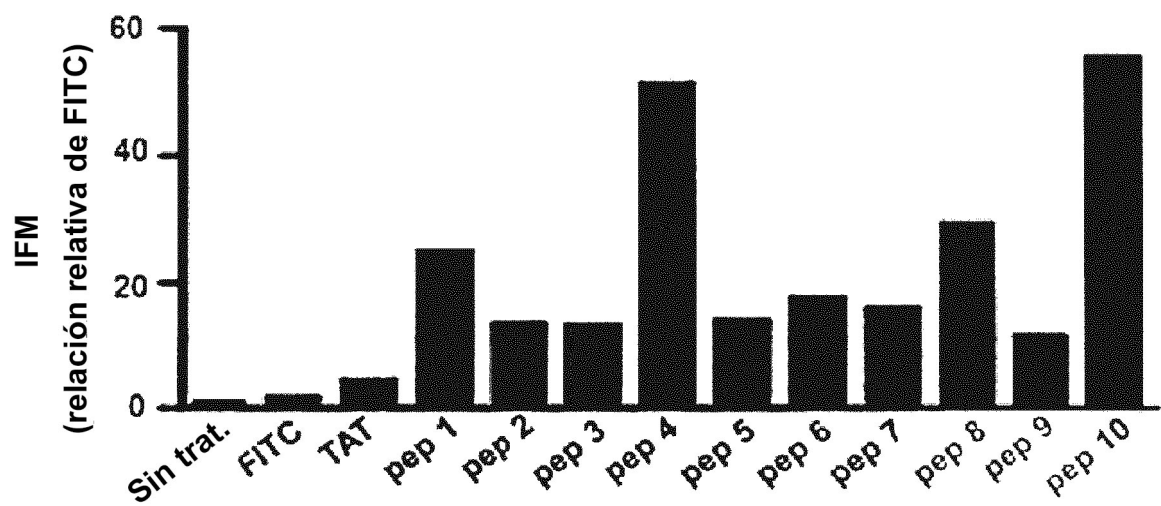
[Fig. 42]



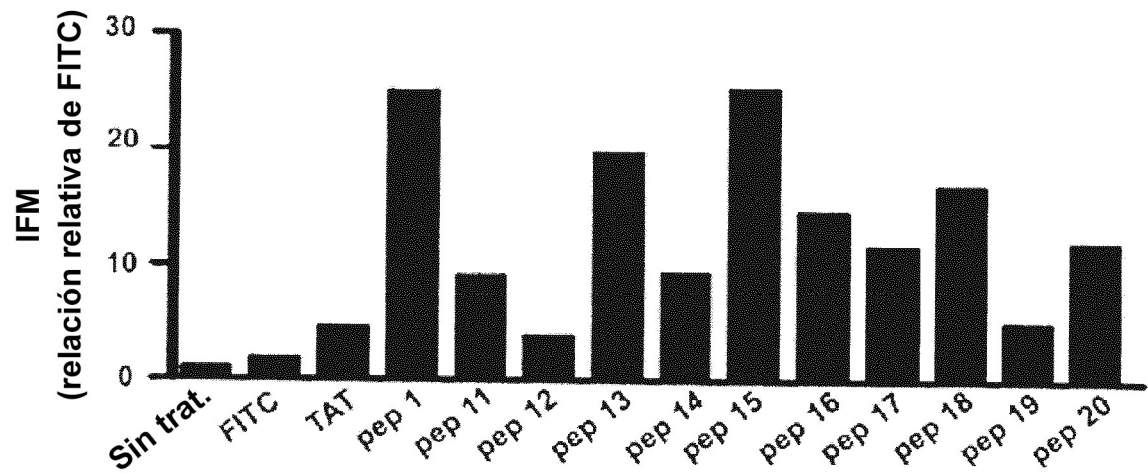
[Fig. 43]



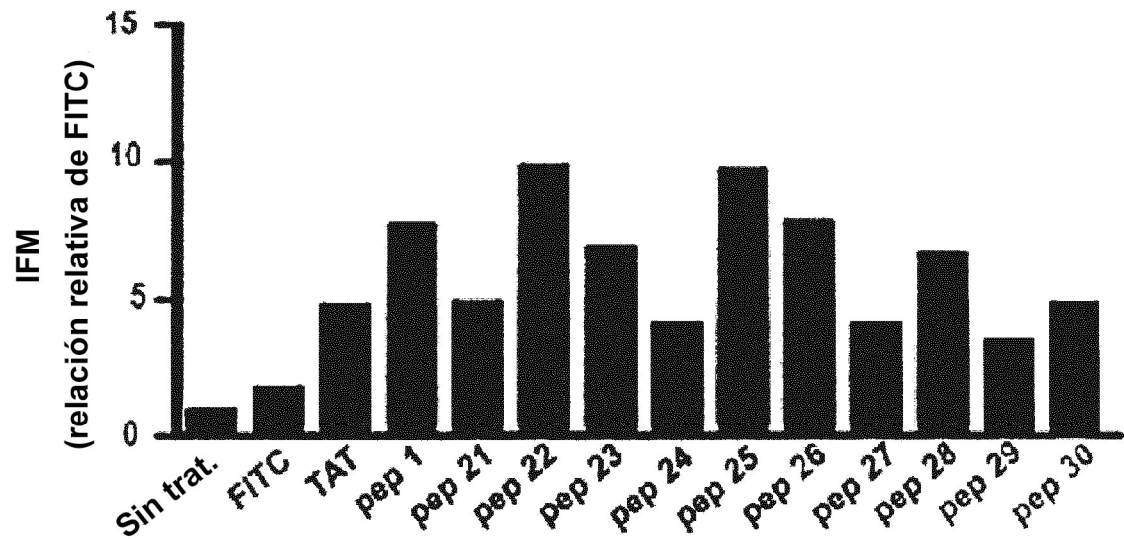
[Fig. 44]



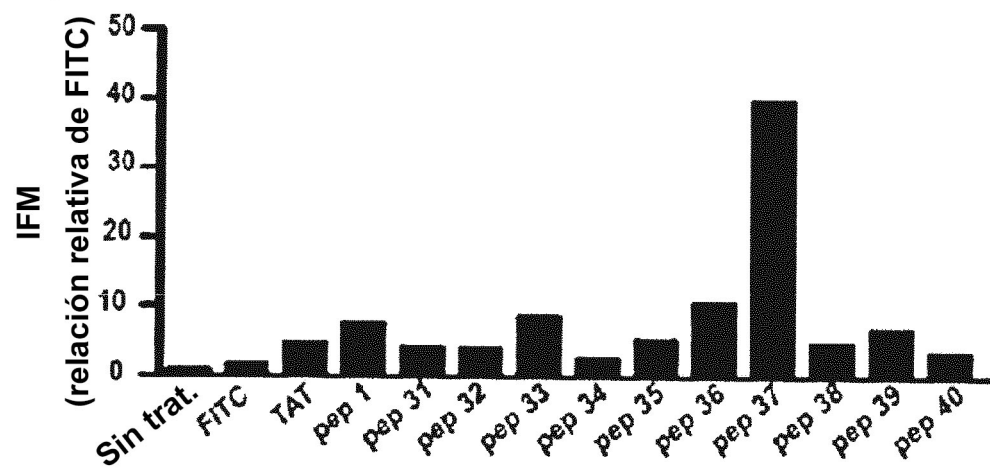
[Fig. 45]



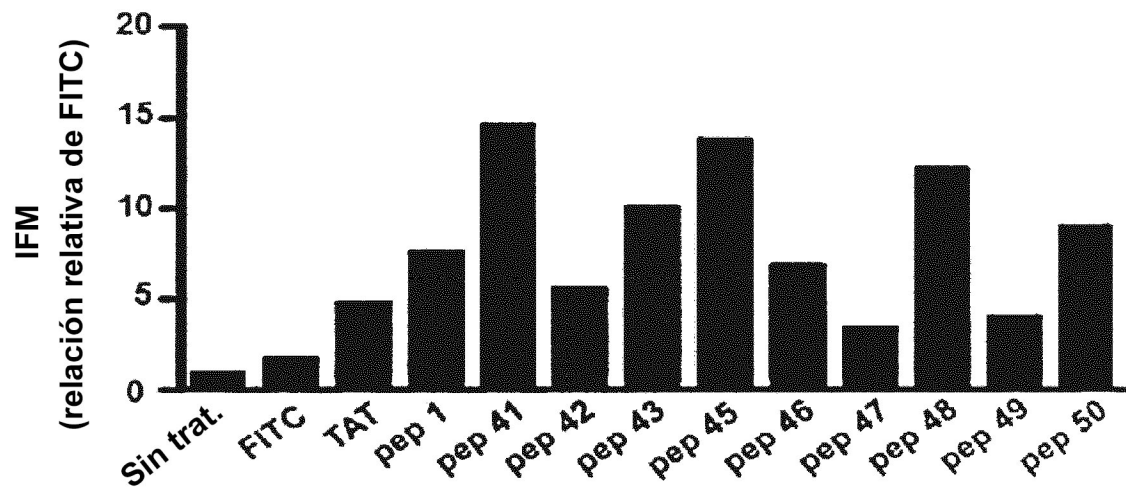
[Fig. 46]



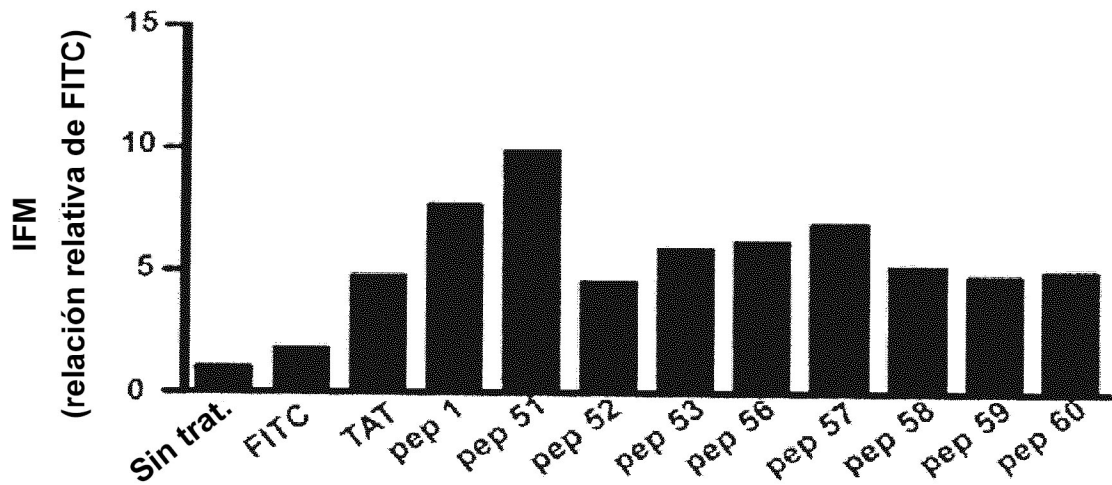
[Fig. 47]



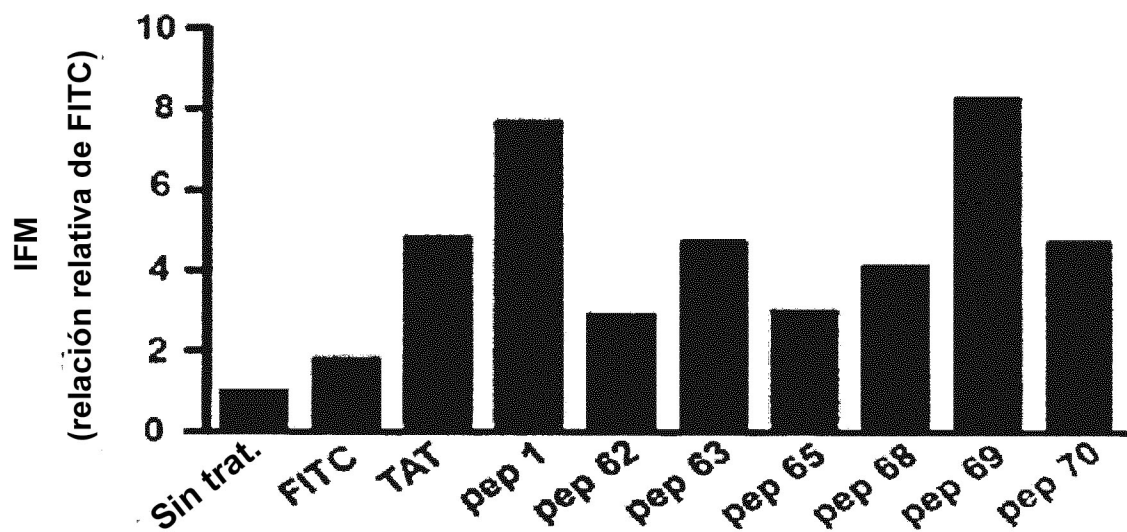
[Fig. 48]



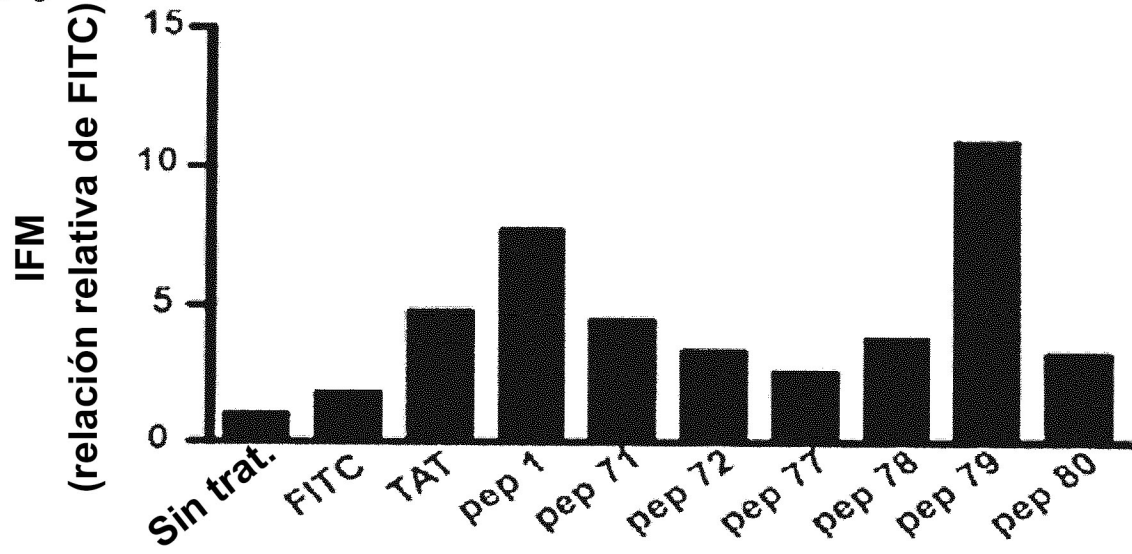
[Fig. 49]



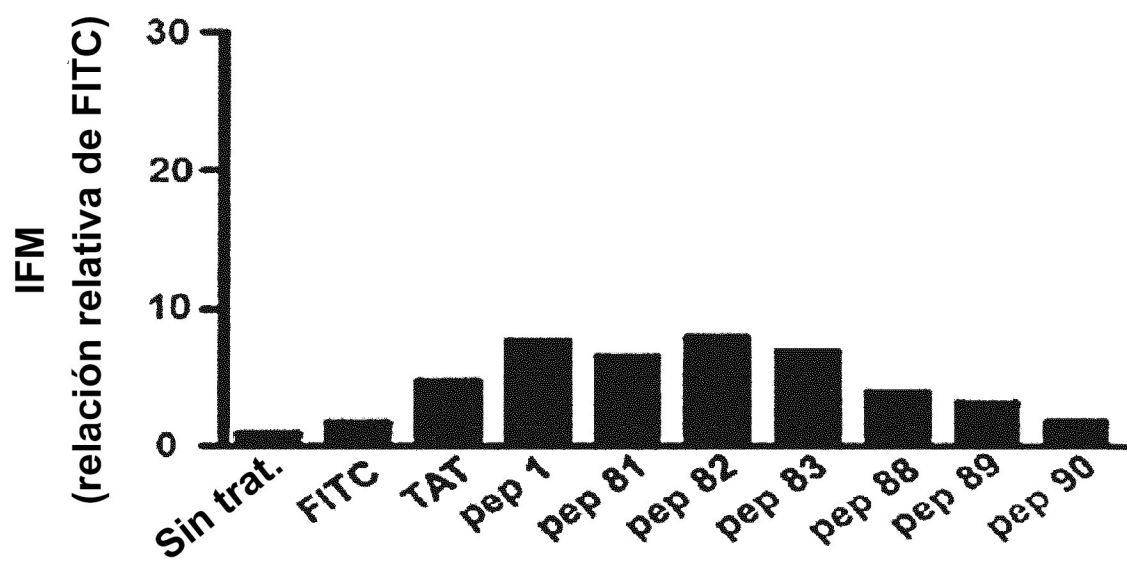
[Fig. 50]



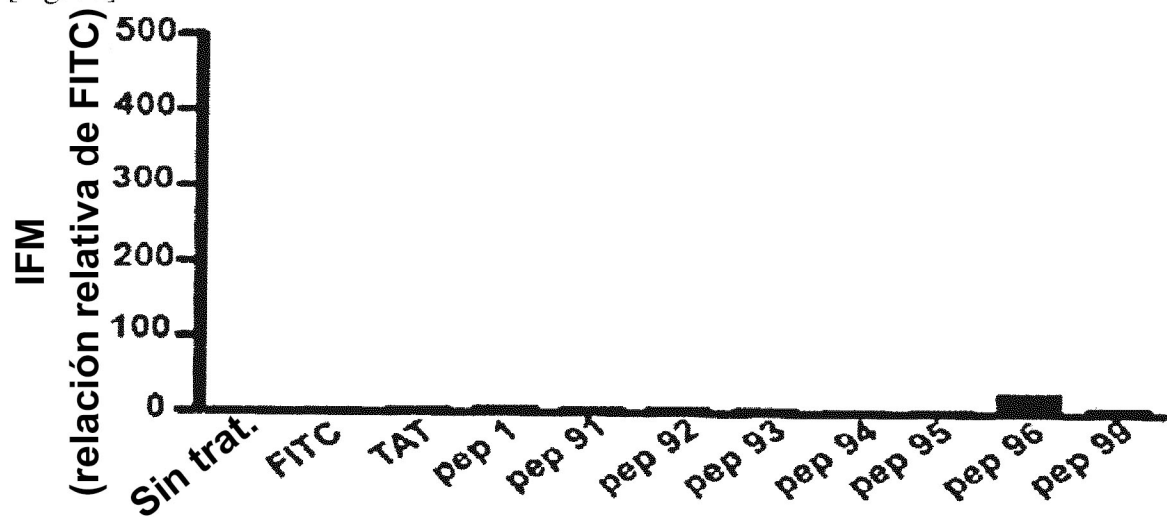
[Fig. 51]



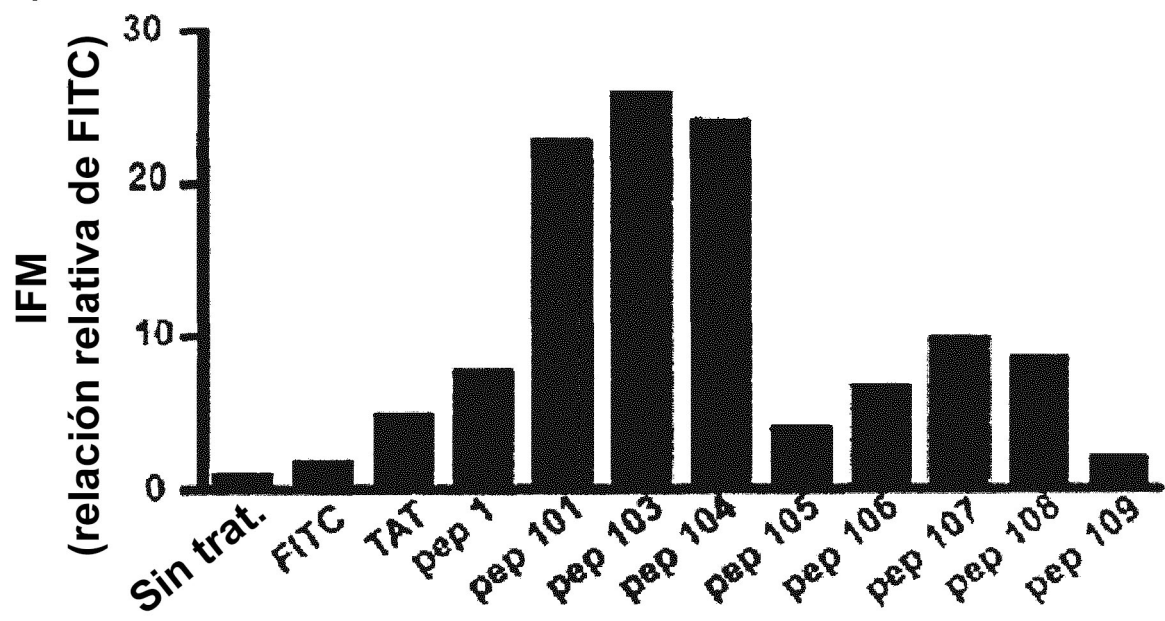
[Fig. 52]



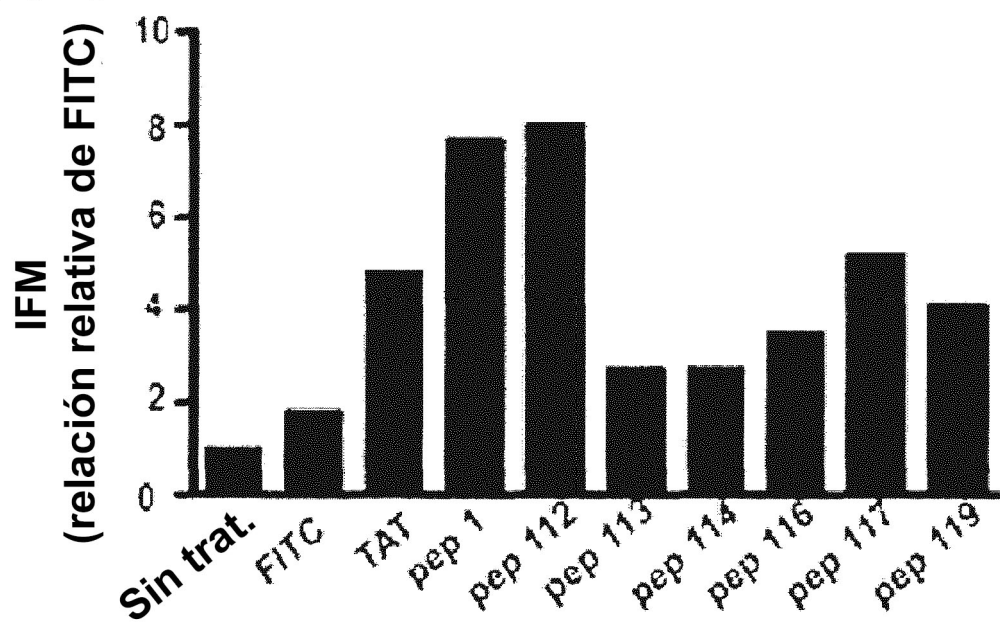
[Fig. 53]



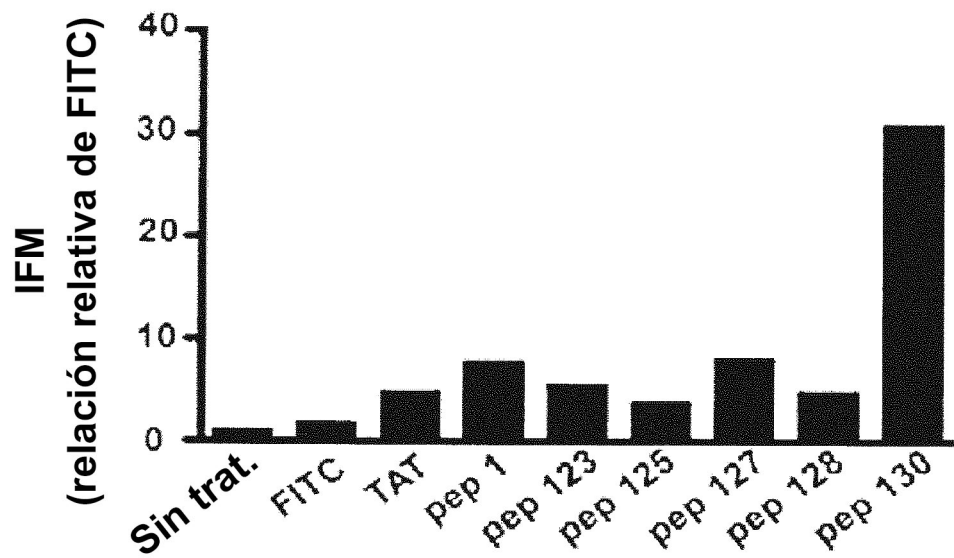
[Fig. 54]



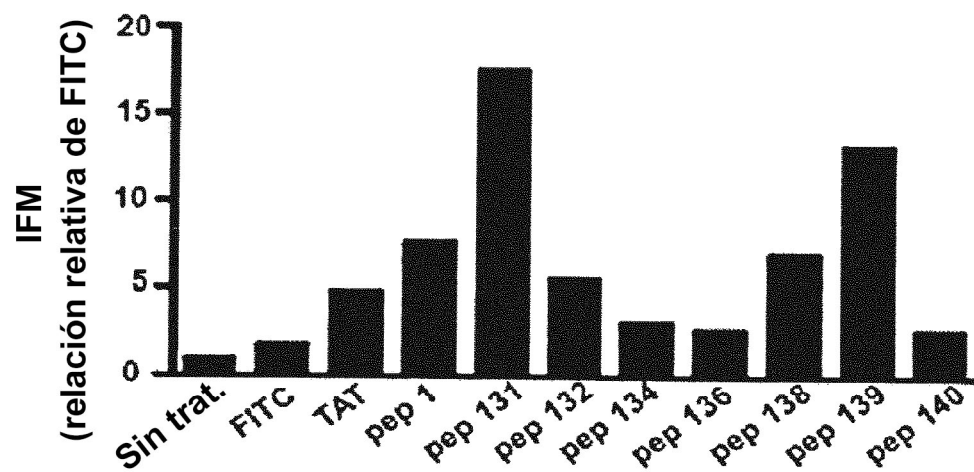
[Fig. 55]



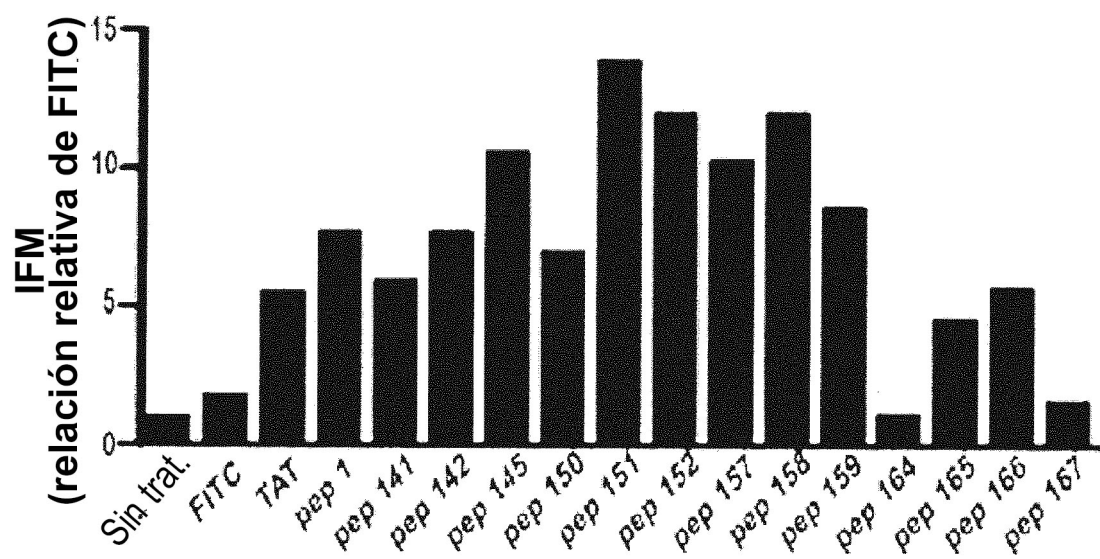
[Fig. 56]



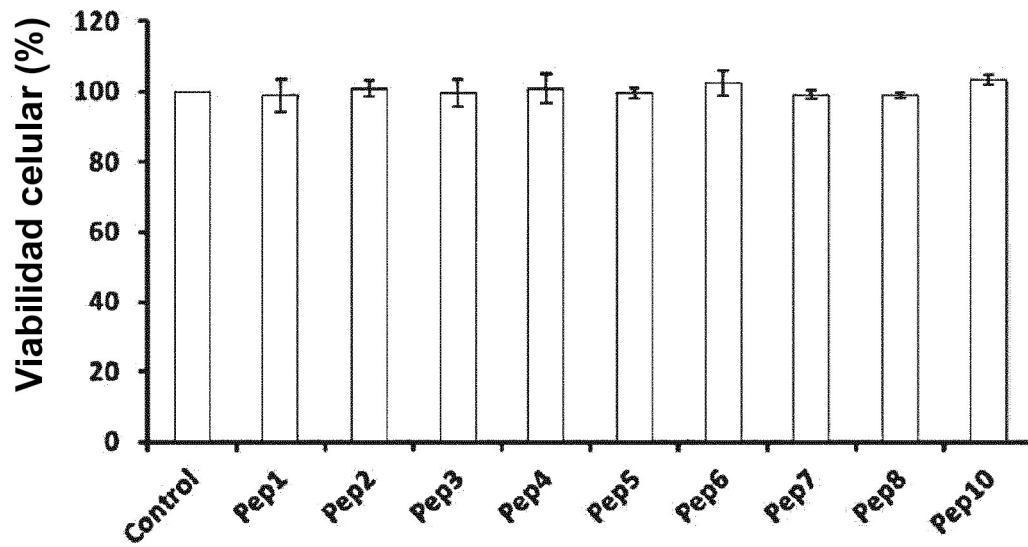
[Fig. 57]



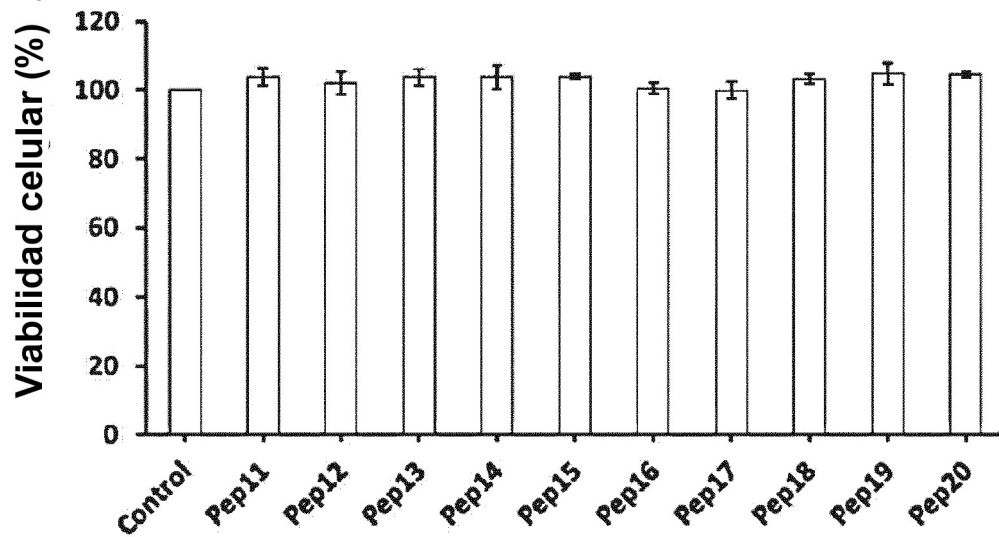
[Fig. 58]



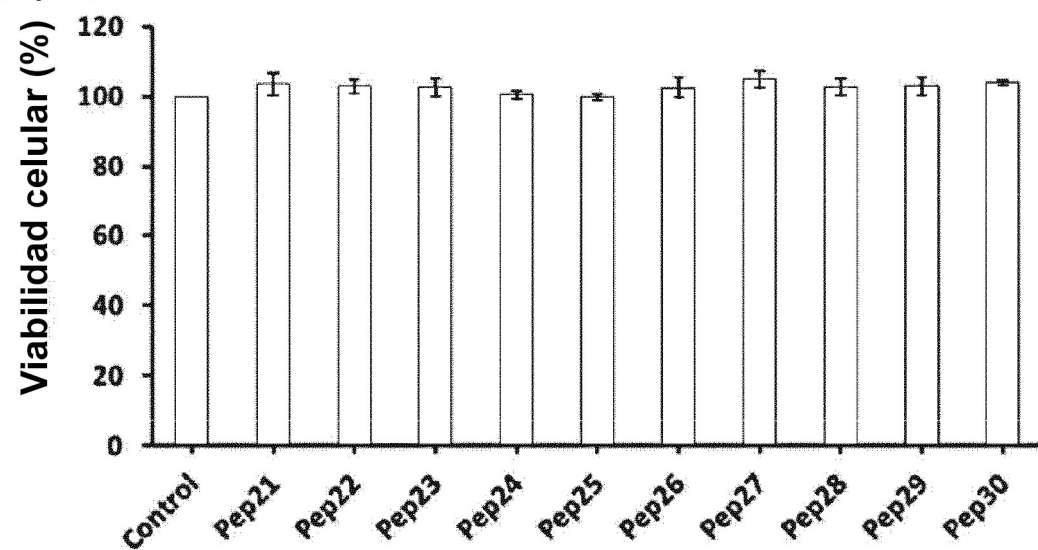
[Fig. 59]



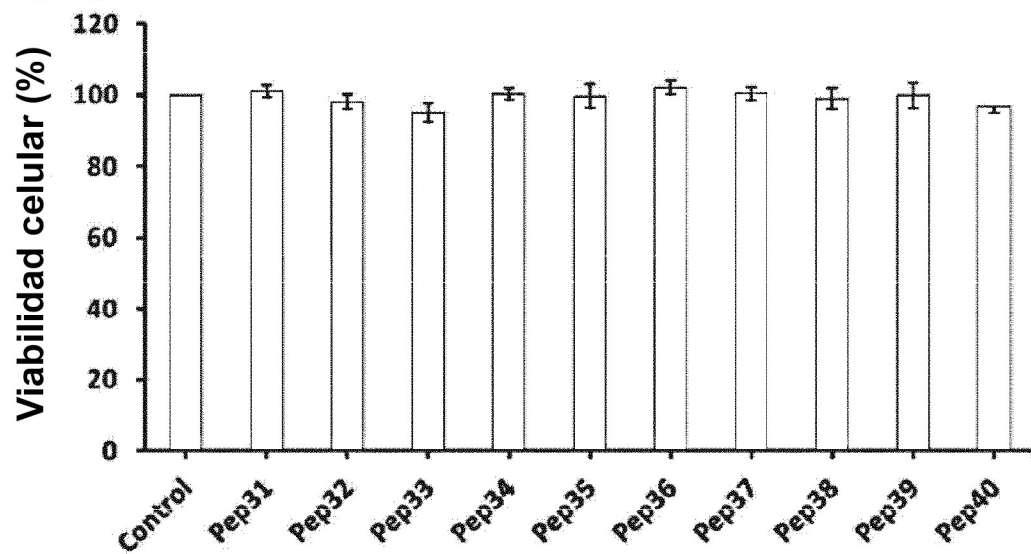
[Fig. 60]



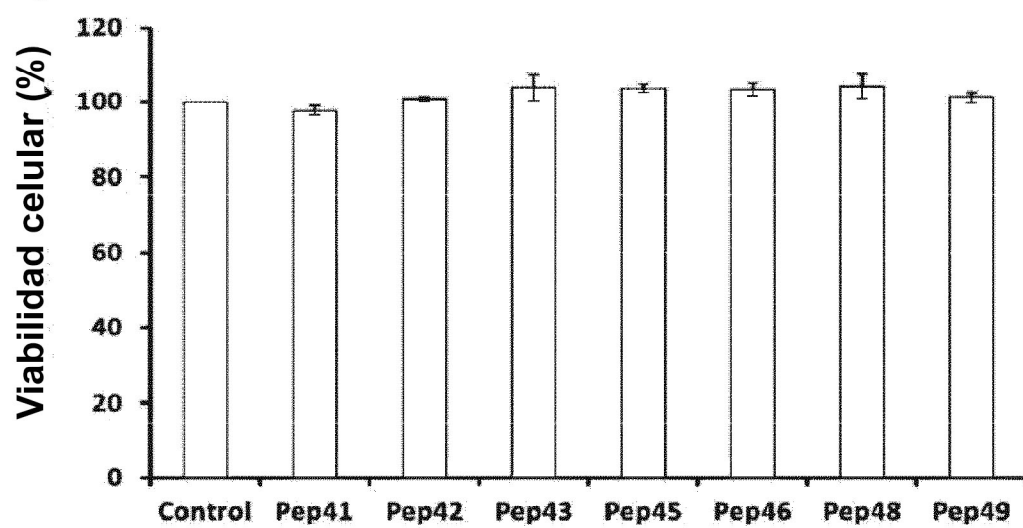
[Fig. 61]



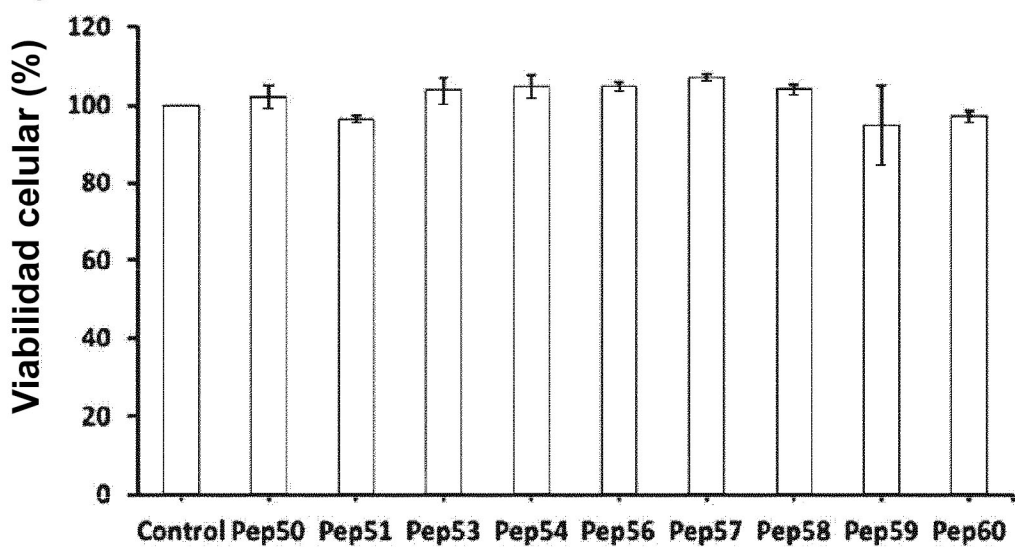
[Fig. 62]



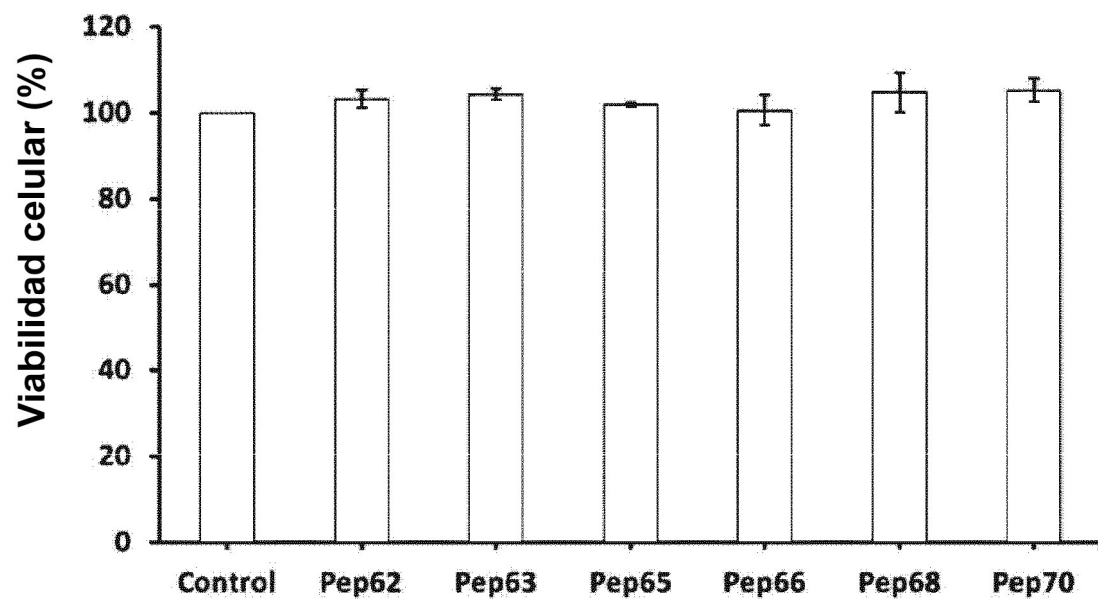
[Fig. 63]



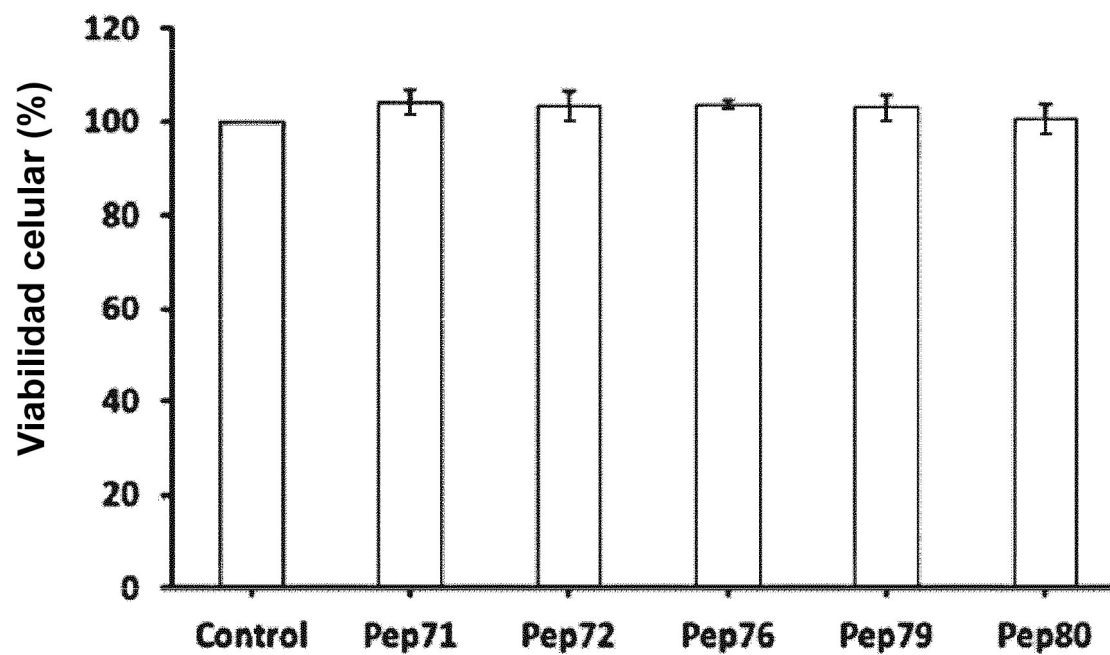
[Fig. 64]



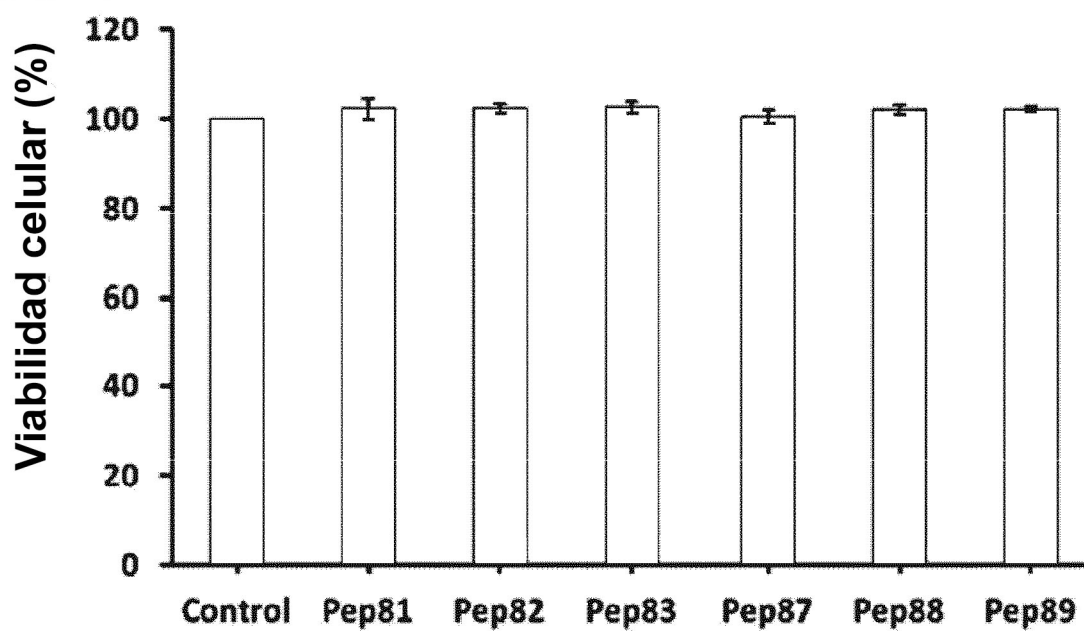
[Fig. 65]



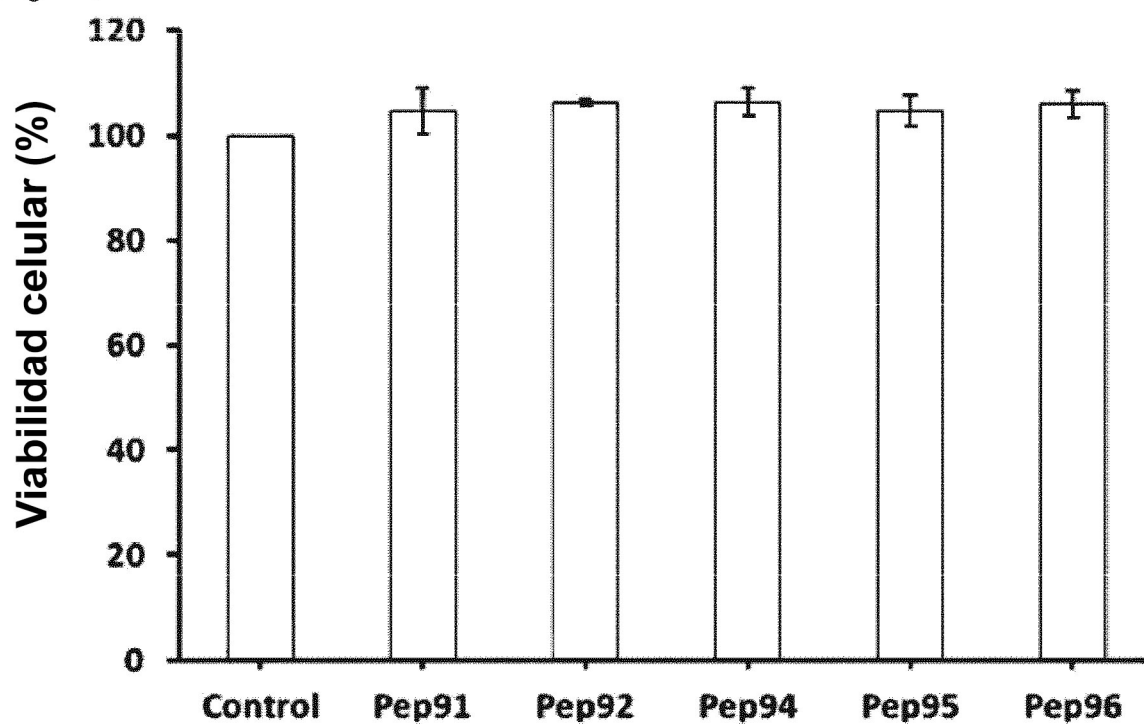
[Fig. 66]



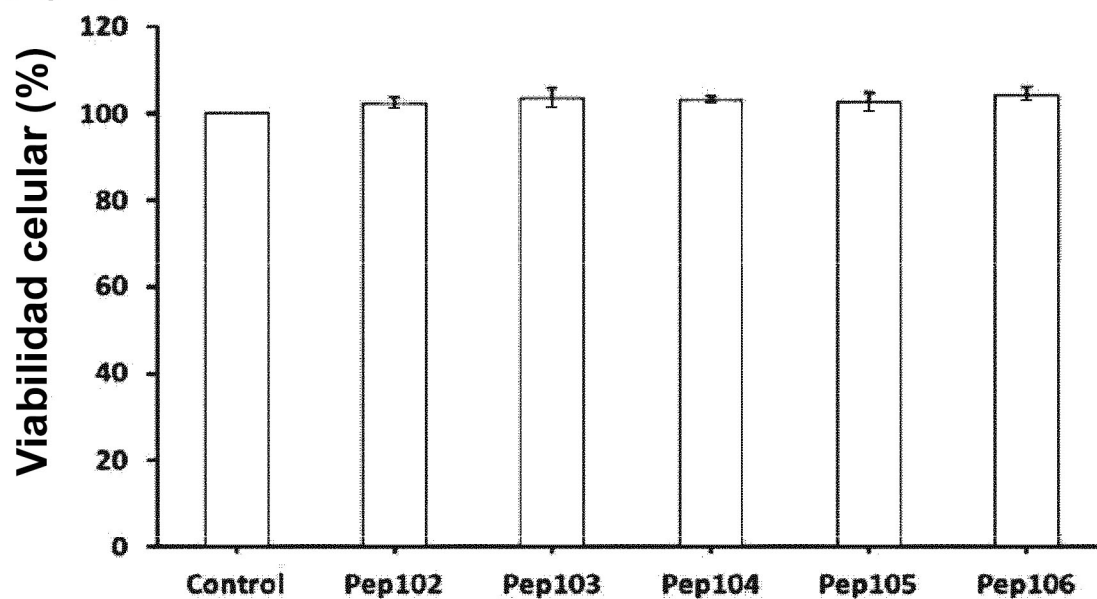
[Fig. 67]



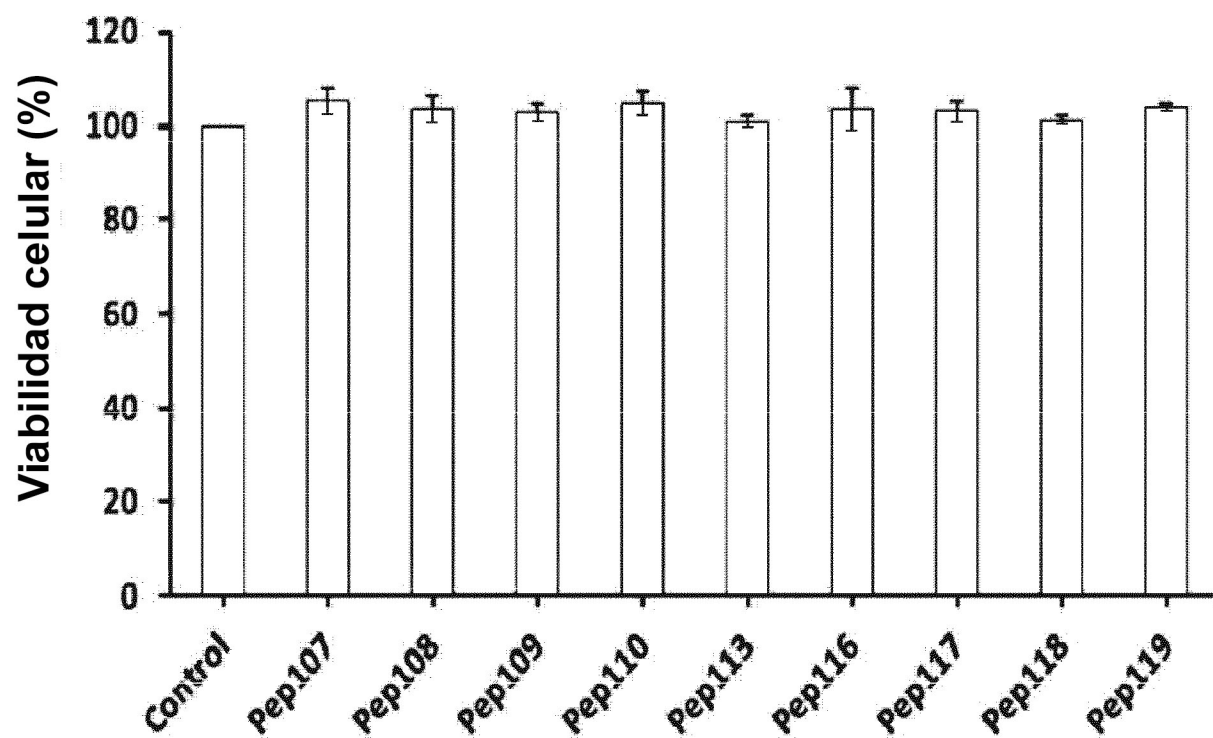
[Fig. 68]



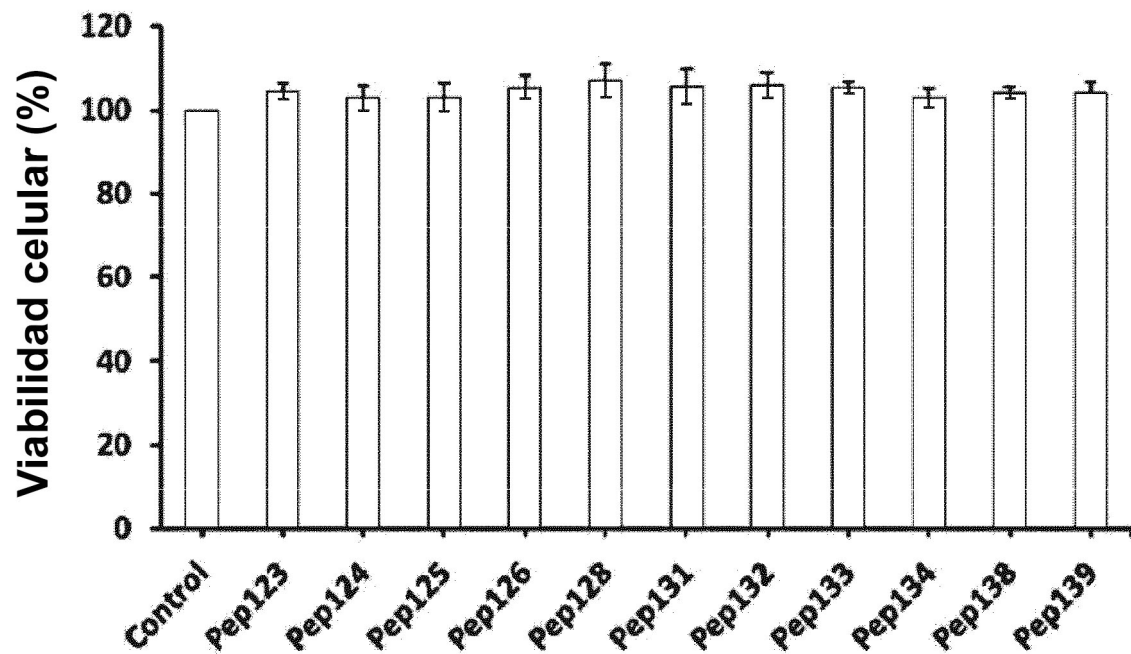
[Fig. 69]



[Fig. 70]



[Fig. 71]



[Fig. 72]

