

REIVINDICACIONES

1. Un péptido mutante de SPINK2 caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID NO.: 61 (Figura 69) e inhibe la actividad proteasa de KLK5 humana activa.

2. El péptido de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque inhibe la actividad proteasa de KLK7 humana o KLK14 humana.

3. El péptido de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque inhibe selectivamente KLK5 humana y, opcionalmente, KLK7 o KLK14 humana.

4. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque Xaa16 (X_1) es Ala, Asp, Gly, Gln, Leu, Ser o Thr.

5. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque Xaa17 (X_2) es Arg, Glu, Asn, Gln o Ser.

6. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque Xaa18 (X_3) es Asp, Gln, Ile, Thr, Trp o Tyr.

7. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque Xaa19 (X_4) es Arg, Gly, Met, Gln o Thr.

8. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque Xaa20 (X_5) es Asp, Glu, Leu,

Lys, Thr o Tyr.

9. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque Xaa21 (X_6) es Glu, Gly, His, Leu, Ser, Gln o Tyr.

10. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque Xaa22 (X_7) es Asp, Gly, Gln, Ser o Tyr.

11. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque Xaa24 (X_8) es Ala, Asp, Glu, Gly, Asn, Ser o Thr.

12. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque Xaa25 (X_9) es Arg o Lys.

13. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizado porque Xaa26 (X_{10}) es Asp, Glu, Gln, Ser o Val.

14. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizado porque Xaa27 (X_{11}) es Phe o Tyr.

15. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, caracterizado porque Xaa28 (X_{12}) es Asp o Glu.

16. El péptido de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, caracterizado porque comprende los aminoácidos en las posiciones 1 a 63 en la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEC. ID NOs.: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 (Figuras 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 y 28).

17. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque Xaa16 (X_1) es Gly, Met o Tyr.

18. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17, caracterizado porque Xaa17 (X_2) es Glu, Gln o Thr.

19. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 17 y 18, caracterizado porque Xaa18 (X_3) es His, Met o Tyr.

20. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 19, caracterizado porque Xaa19 (X_4) es Ala, Arg, Lys o Gln.

21. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 20, caracterizado porque Xaa20 (X_5) es Gly, Arg o Ser.

22. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 21, caracterizado porque Xaa21 (X_6) es Arg, Lys, Gln o Ser.

23. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 22, caracterizado porque Xaa22 (X_7) es Gly.

24. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 23, caracterizado porque Xaa24 (X_8) es His, Thr o Tyr.

25. El péptido de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 24, caracterizado porque Xaa25 (X_9) es His o Tyr.

26. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 25, caracterizado porque Xaa26 (X_{10}) es Asp, Glu o His.

27. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 26, caracterizado porque Xaa27 (X_{11}) es Tyr.

28. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 27, caracterizado porque Xaa28 (X_{12}) es Asp o Glu.

29. El péptido de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 17 a 28, caracterizado porque el péptido comprende los aminoácidos en las posiciones 1 a 63 en la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEC. ID NOs.: 22, 24, 26 y 28 (Figuras 30, 32, 34 y 36).

30. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque Xaa16 (X_1) es Gly, Ser o Tyr.

31. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30, caracterizado porque Xaa17 (X_2) es Asp o Gln.

32. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 30 y 31, caracterizado porque Xaa18 (X_3) es Thr o Val.

33. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 32, caracterizado porque Xaa19 (X₄) es Thr o Val.

34. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 33, caracterizado porque Xaa20 (X₅) es Glu o Thr.

35. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 34, caracterizado porque Xaa21 (X₆) es His o Thr.

36. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 35, caracterizado porque Xaa22 (X₇) es Tyr.

37. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 36, caracterizado porque Xaa24 (X₈) es Asn o Ser.

38. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 37, caracterizado porque Xaa25 (X₉) es Arg.

39. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 38, caracterizado porque Xaa26 (X₁₀) es Asp o Glu.

40. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 39, caracterizado porque Xaa27 (X₁₁) es Tyr.

41. El péptido de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 40, caracterizado porque Xaa28 (X₁₂) es

Asp.

42. El péptido de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 30 a 41, caracterizado porque comprende los aminoácidos en las posiciones 1 a 63 en la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEC. ID NOs.: 30 y 32 (Figuras 38 y 40).

43. El péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 42, caracterizado porque tiene tres enlaces disulfuro y tiene una estructura tridimensional que se distingue por incluir una estructura de bucle, una hélice α y una lámina β .

44. Un polinucleótido caracterizado porque comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para la secuencia de aminoácidos comprendida en el péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43.

45. Un vector caracterizado porque comprende el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 44.

46. Una célula caracterizada porque comprende el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 44 o el vector de conformidad con la reivindicación 45 o produce el péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43.

47. Un método para producir un péptido mutante de SPINK2, caracterizado porque comprende los pasos (i) y (ii) a continuación:

(i) cultivar la célula de conformidad con la reivindicación 46; y

(ii) recolectar el péptido mutante de SPINK2 del cultivo.

48. Un método para producir el péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43, caracterizado porque comprende un paso de preparación del péptido mediante síntesis química o traducción *in vitro*.

49. Un péptido mutante de SPINK2 caracterizado porque es obtenido por el método de conformidad con la reivindicación 47 o 48.

50. Un conjugado caracterizado porque comprende el péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43 y 49, en donde el péptido está unido por uno y opcionalmente más de un resto.

51. El conjugado de conformidad con la reivindicación 50, caracterizado porque el uno o más restos opcionales comprenden un segundo péptido que no es el mutante de SPINK2.

52. El conjugado de conformidad con la reivindicación 51, caracterizado porque el segundo péptido está ubicado en el lado amino-terminal del mutante de SPINK2.

53. El conjugado de conformidad con la reivindicación 51, caracterizado porque el segundo péptido está ubicado en el lado carboxi-terminal del mutante de SPINK2.

54. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 51 a 53, caracterizado porque el segundo péptido es un anticuerpo o un fragmento del mismo y comprende una o más regiones Fc.

55. El conjugado de conformidad con la reivindicación 54, caracterizado porque la o cada región Fc es una región Fc de inmunoglobulina humana, o un fragmento de la misma.

56. El conjugado de conformidad con la reivindicación 54 o 55, caracterizado porque la o cada región Fc es una región Fc de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD y/o IgE, o un fragmento de las mismas.

57. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54 a 56, caracterizado porque la o cada región Fc es una región Fc de IgG1 humana, o un fragmento de la misma.

58. El conjugado de conformidad con la reivindicación 57, caracterizado porque la o cada región Fc de IgG1 humana comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 87 (Figura 95).

59. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 54 a 57, caracterizado porque la o cada región Fc es una región Fc tipo salvaje o mutante.

60. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 51 a 59, caracterizado porque comprende de uno a varios ácidos aspárticos y/o ácidos glutámicos añadidos al extremo amino-terminal del mismo.

61. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 50 a 60, caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos descrita en (i) o (ii) a continuación:

(i) la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEC. ID N0s.: 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60 y 96 (Figuras 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68 y 106); o

(ii) la secuencia de aminoácidos comprendida en un conjugado que es 90% o más idéntica a la secuencia de aminoácidos descrita en (i) anteriormente e inhibe la actividad proteasa de KLK5.

62. El conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 51 a 61, caracterizado porque el mutante de SPINK2 y el segundo péptido están unidos entre sí mediante un enlazador.

63. El conjugado de conformidad con la reivindicación 62, caracterizado porque el enlazador es un tercer péptido que no es el mutante de SPINK2 ni el segundo péptido.

64. Un método para producir el conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 50 a 63, caracterizado porque comprende los pasos (i) y (ii) siguientes:

(i) cultivar una célula que comprenda un polinucleótido que comprenda una secuencia de nucleótidos que codifique para una secuencia de aminoácidos comprendida en el conjugado o un vector en el que se inserte el polinucleótido; y

(ii) recolectar un conjugado de péptido mutante de SPINK2 o un resto de péptido comprendido en el conjugado del cultivo.

65. Un método para producir el conjugado de péptido mutante de SPINK2 de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 50 a 63, caracterizado porque comprende un paso de preparación del conjugado o un resto peptídico comprendido en el conjugado mediante síntesis química o traducción *in vitro*.

66. Un conjugado de péptido mutante de SPINK2, caracterizado porque es obtenido por el método de conformidad con la reivindicación 64 o 65.

67. Un anticuerpo o un fragmento de unión del mismo caracterizado porque se une al péptido de conformidad con cualquiera de

las reivindicaciones 1 a 43 y 49.

68. Una composición caracterizada porque comprende el péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43 y 49, el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 44, el vector de conformidad con la reivindicación 45, la célula de conformidad con la reivindicación 46, el conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 50 a 63 y 66, y/o el anticuerpo o el fragmento de unión del mismo de conformidad con la reivindicación 67.

69. Una composición farmacéutica caracterizado porque comprende el péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43 y 49, el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 44, el vector de conformidad con la reivindicación 45, la célula de conformidad con la reivindicación 46 y/o el conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 50 a 63 y 66.

70. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 69, caracterizada porque es para tratar o prevenir una enfermedad relacionada con KLK5.

71. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 70, caracterizada porque la enfermedad relacionada con KLK5 es síndrome de Netherton, dermatitis atópica, rosácea, lesión cutánea inducida por UV, psoriasis, asma, lesión de la médula espinal, cáncer o esófago de Barrett.

72. La composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 69 a 71, para usarse en combinación con un producto farmacéutico adicional.

73. Una composición para ensayo o diagnóstico caracterizada porque comprende el péptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43 y 49, el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 44, el vector de conformidad con la reivindicación 45, la célula de conformidad con la reivindicación 46, el conjugado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 50 a 63 y 66, y/o el anticuerpo o el fragmento de unión del mismo de conformidad con la reivindicación 67.

74. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 47, 48, 64 y 65, caracterizado porque comprende un paso de llevar a cabo purificación por afinidad usando el anticuerpo o el fragmento de unión del mismo de conformidad con la reivindicación 67.

75. Un método para identificar un péptido mutante de SPINK2 inhibidor de KLK5, caracterizado porque comprende los pasos (i) a (iii) a continuación:

(i) incubar una proteasa KLK5 y un sustrato en presencia y ausencia de un péptido mutante de SPINK2 de prueba;

(ii) medir la actividad proteasa de KLK5 en presencia y ausencia del péptido mutante de SPINK2 de prueba; y

(iii) determinar que el péptido sea positivo cuando la actividad proteasa de KLK5 en presencia del péptido sea menor que la actividad proteasa de KLK5 en ausencia del péptido.

76. Un método para identificar un compuesto inhibidor de KLK5, caracterizado porque comprende los pasos (i) a (iii) a continuación, usando un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos establecida

en cualquiera de SEC. ID N0s.: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 y 32 (Figuras 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 40) o conjugado que comprenda el péptido como compuesto de referencia:

(i) incubar una proteasa KLK5 y un sustrato en presencia y ausencia de un compuesto de prueba;

(ii) medir la actividad proteasa de KLK5 en presencia y ausencia del compuesto de prueba; y

(iii) determinar que el compuesto de prueba sea positivo cuando la actividad de proteasa de KLK5 en presencia del compuesto de prueba sea menor que la actividad de proteasa de KLK5 en ausencia del compuesto de prueba.

77. Un método para identificar un compuesto inhibidor de KLK5, caracterizado porque comprende los pasos (i) a (iii) siguientes:

(i) medir una actividad inhibidora de proteasa contra KLK5 de un compuesto de prueba;

(ii) medir una actividad inhibidora de proteasa contra KLK5 de un compuesto de referencia que sea un péptido que comprenda la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEC. ID N0s.: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 y 32 (Figuras 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 40) o un conjugado que comprenda el péptido; y

(iii) determinar que el compuesto de prueba sea positivo cuando la actividad inhibidora de proteasa contra KLK5 del compuesto de prueba sea equivalente o superior a la actividad inhibidora de proteasa contra KLK5 del compuesto de referencia.

78. Un método para medir la actividad de la proteasa KLK5, caracterizado porque comprende los pasos (i) y (ii) a continuación, usando un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de SEC. ID N0s.: 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 y 32 (Figuras 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 y 40) o conjugado que comprenda el péptido como compuesto de referencia:

(i) incubar una proteasa KLK5 con un sustrato y, opcionalmente, otro componente; y

(ii) medir una cantidad de sustrato y/o una cantidad de un producto después del paso (i).

79. Un péptido mutante de SPINK2 inhibidor de KLK5 o un péptido conjugado de péptido mutante de SPINK2, caracterizado porque tiene una constante de disociación (K_D) para KLK5, medida por análisis de resonancia de plasmón de superficie inmovilizando el péptido o el conjugado y agregando KLK5, de 1×10^{-9} M o menos.

80. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 34 (Figura 42).

81. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 36 (Figura 44).

82. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 38 (Figura 46).

83. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 40 (Figura 48).

84. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia

de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 42 (Figura 50).

85. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 44 (Figura 52).

86. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 46 (Figura 54).

87. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 48 (Figura 56).

88. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 50 (Figura 58).

89. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 52 (Figura 60).

90. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 54 (Figura 62).

91. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 56 (Figura 64).

92. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 58 (Figura 66).

93. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 60 (Figura 68).

94. Un conjugado caracterizado porque comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEC. ID N0.: 96 (Figura 106).