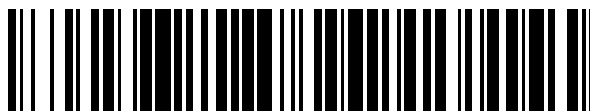


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 443**

51 Int. Cl.:
A61K 39/21 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C07K 14/16 (2006.01)
C12N 15/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07754313 .0**
96 Fecha de presentación: **28.03.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2001459**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.12.2008**

54 Título: **Métodos y composiciones para inducir una respuesta inmune frente a VIH y modelos para ensayo**

30 Prioridad:
29.03.2006 US 787270 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
15.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
15.10.2012

73 Titular/es:
DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.
44 BINNEY STREET
BOSTON, MA 02115, US

72 Inventor/es:
RUPRECHT, Ruth

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 388 443 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

Métodos y composiciones para inducir una respuesta inmune frente a VIH y modelos para ensayo

ANTECEDENTES

- 5 El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una amenaza sanitaria importante en todo el mundo. El VIH es la causa principal de SIDA. Hasta la fecha, no existen vacunas eficaces para el SIDA. Por estas razones, se están haciendo grandes esfuerzos para crear vacunas y modelos adecuados para ensayar las vacunas. Una diana de las vacunas terapéuticas es la proteína de la cubierta de VIH (gp160). Durante la infección, gp160 es escindida por las proteasas de la célula del huésped para formar gp120 y gp41. Barnett et al. (US2002/0146683) describe numerosos polipéptidos de la cubierta de VIH en los que al menos una de las configuraciones en lámina B nativas ha sido modificada. Se enseña que las construcciones se usan en las composiciones de vacuna. Vajdy et al. 10 (US2005/0175631) enseña composiciones farmacéuticas para el tratamiento de SIDA en las que las composiciones tienen un antígeno de VIH y un adyuvante mucosal. WO 2005/028625 describe virus VIH de clado C y aplicaciones de éstos.

RESUMEN DE LA INVENCION

- 15 Se describen métodos y composiciones para incitar una respuesta inmune en un sujeto por la administración de un antígeno de VIH. Los antígenos de VIH incluyen polinucleótidos y polipéptidos de VIH de clado C, partículas virales VIH recombinantes y composiciones. Las partículas virales VIH recombinantes son particularmente útiles en modelos animales para estudiar VIH.

Los aspectos y realizaciones de la presente invención se presentan en las reivindicaciones adjuntas.

20 DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 representa un alineamiento de la secuencia de aminoácidos de la región consenso de la cubierta de VIH (SEQ ID NO:12) con las regiones de la cubierta de las cepas 1084i (SEQ ID NO:13), 1157ip de longitud completa (SEQ ID NO:2), 1157ip con deleciones en las regiones variables de la cubierta 1, 2 y 3 (SEQ ID NO:6) y 1157ip con deleciones en las regiones variables de la cubierta 1, 2, 3 y 4 (SEQ ID NO:8).

- 25 La Figura 2 representa un alineamiento de la secuencia de ácido nucleico de la región consenso de la cubierta de VIH (SEQ ID NO:14) con las regiones de la cubierta de las cepas 1084i (SEQ ID NO:15), 1157ip de longitud completa (SEQ ID NO:1), 1157ip con deleciones en las regiones variables de la cubierta 1, 2 y 3 (SEQ ID NO:5) y 1157ip con deleciones en las regiones variables de la cubierta 1, 2, 3 y 4 (SEQ ID NO:7).

La Figura 3 ilustra la actividad de anticuerpo neutralizante frente a SHIV-1157ip y SHIV89.6P.

- 30 La Figura 4 ilustra los recuentos de células T CD4+ y cargas de ARN viral en Monos Rhesus.

La Figura 5 ilustra la construcción de SHIV-1157ipd3.

La Figura 6 ilustra los niveles de expresión de luciferasa en construcciones con números crecientes de sitios NF-κB y replicación de SHIV-1157ipd3 frente a SHIV-1157ipd3N4.

La Figura 7a ilustra el uso de correceptor de SHIV-1157ipd3 y SHIV-1157ipd3N4.

- 35 Las Figuras 7b y c ilustran la neutralización del virus con varios nAb humanos ampliamente reactivos: b12, 2G12, 2F5 y 4E10, y b12, 2G12, 2F5, 4E10 y 4X, respectivamente.

La Figura 8 representa la secuencia de nucleótidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ip env (SEQ ID NO: 1).

- 40 La Figura 9 representa la secuencia de aminoácidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ip env (SEQ ID NO: 2).

La Figura 10 representa la secuencia de nucleótidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipdv12 (SEQ ID NO: 3).

La Figura 11 representa la secuencia de aminoácidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipdv12 (SEQ ID NO: 4).

- 45 La Figura 12 representa la secuencia de nucleótidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipdv123 (SEQ ID NO: 5).

La Figura 13 representa la secuencia de aminoácidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipdv123 (SEQ ID NO: 6).

La Figura 14 representa la secuencia de nucleótidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipdv1234 (SEQ ID NO: 7).

La Figura 15 representa la secuencia de aminoácidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipdv1234 (SEQ ID NO: 8).

5 La Figura 16 representa la secuencia de nucleótidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipd3 (SEQ ID NO: 9).

La Figura 17 representa la secuencia de aminoácidos de la región de la cubierta de la construcción designada 1157ipd3 (SEQ ID NO: 10).

10 La Figura 18 representa la secuencia de aminoácidos de la región Nef de la construcción designada 1157ipd (SEQ ID NO: 11).

La Figura 19 es una ilustración de la estrategia de clonación para SHIV-1157i.

La Figura 20 es una ilustración de la viremia en macacos vacunados y control.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Definiciones

15 Tal y como se usa en la presente memoria, un "polinucleótido" se refiere a una secuencia de nucleótidos unida covalentemente (es decir, ribonucleótidos para ARN y desoxirribonucleótidos para ADN) en la que la posición 3' de la pentosa de un nucleótido se une por un enlace fosfodiéster a la posición 5 de la pentosa del nucleótido siguiente. El término "polinucleótido" incluye polinucleótidos mono y bicatenarios. "Polinucleótido" también engloba un polinucleótido corto, referido frecuentemente como un oligonucleótido (por ejemplo, un cebador o una sonda). Un polinucleótido tiene un "extremo 5'" y un "extremo 3'" porque los enlaces fosfodiéster de los polinucleótidos se producen entre el carbono 5' y el carbono 3' del anillo de pentosa de los mononucleótidos sustituyentes. El extremo de un polinucleótido en el que una nueva unión sería en un carbono 5' es su nucleótido 5' terminal. El extremo de un polinucleótido en el que una nueva unión sería en su carbono 3' es su nucleótido 3' terminal. Tal y como se usa en la presente memoria, una secuencia de polinucleótido, incluso si es interna a un polinucleótido mayor (por ejemplo, una región de secuencia en un polinucleótido), también puede decirse que tiene extremos 5' y 3'.

El término "polinucleótido" tal y como se emplea en la presente memoria engloba formas de un polinucleótido modificadas químicamente, enzimáticamente o metabólicamente. El término también captura secuencias que incluyen cualquiera de los análogos de base conocidos de ADN y ARN, e incluye modificaciones tales como deleciones, adiciones y sustituciones (generalmente de naturaleza conservativa) en la secuencia nativa, siempre que la molécula de ácido nucleico codifique una proteína terapéutica o antigénica. Las modificaciones de los polinucleótidos pueden tener varios efectos incluyendo, por ejemplo, facilitar la expresión del producto polipeptídico en una célula huésped.

30 Los polinucleótidos usados en la presente invención incluyen polinucleótidos que codifican un fragmento inmunogénico o derivado de éste. Dichos fragmentos inmunogénicos o derivados de éstos incluyen fragmentos que codifican un epítipo de célula B o un epítipo de célula T. Los polinucleótidos usados en la presente invención también incluyen polinucleótidos que codifican un gen env o partícula viral VIH recombinante.

40 Tal y como se usa en la presente memoria un "polipéptido" es una cadena molecular de aminoácidos y no se refiere a una longitud específica del producto. Así, los péptidos, dímeros de oligopéptidos, multímeros y semejantes están incluidos en la definición de polipéptido. Este término también se pretende que incluya polipéptido que ha sido sometido a modificaciones post-expresión tales como, por ejemplo, glicosilaciones, acetilaciones, fosforilaciones y semejantes. Además, para los propósitos de la presente invención, un "polipéptido" se refiere a una proteína que incluye modificaciones, tales como deleciones, adiciones y sustituciones (generalmente de naturaleza conservativa) en la secuencia nativa, siempre que la proteína mantenga la actividad deseada.

45 Tal y como se usa en la presente memoria, "aislado" quiere decir, cuando se refiere a un polinucleótido o un polipéptido, que la molécula indicada se separa y diferencia del organismo completo con el que la molécula se encuentra en la naturaleza o, cuando el polinucleótido o polipéptido no se encuentra en la naturaleza, está lo suficientemente libre de otras macromoléculas biológicas de manera que el polinucleótido o polipéptido puede usarse para su propósito pretendido.

50 Tal y como se usa en la presente memoria, "antígeno" se refiere a una molécula que contiene uno o más epítopos (bien lineales, conformacionales o ambos) que estimularán el sistema inmune de un huésped para obtener una respuesta específica de antígeno humoral y/o celular. El término se usa indistintamente con el término "inmunógeno". Normalmente, un epítipo de célula B incluirá al menos aproximadamente 5 aminoácidos pero puede ser tan pequeño como 3-4 aminoácidos. Un epítipo de célula T, tal como un epítipo CTL, incluirá al menos

aproximadamente 7-9 aminoácidos y un epítipo de célula T auxiliar al menos aproximadamente 12-20 aminoácidos. Normalmente, un epítipo incluirá entre aproximadamente 7 y 15 aminoácidos, tal como 9, 10, 12 ó 15 aminoácidos. El término "antígeno" indica tanto antígenos de subunidad (es decir, antígenos que están separados y diferenciados de un organismo completo con el que el antígeno está asociado en la naturaleza), así como bacterias, virus, hongos, parásitos muertos, atenuados o inactivados u otros microbios.

También para los propósitos de la presente descripción, un "antígeno" se refiere a una proteína que incluye modificaciones, tales como deleciones, adiciones y sustituciones (generalmente de naturaleza conservativa), de la secuencia nativa, siempre que la proteína mantenga la capacidad de incitar una respuesta inmunológica, como se define en la presente memoria. Los antígenos incluyen los polipéptidos de SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10 y 11 y variantes de éstos.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "que induce una respuesta inmune" frente a un antígeno o composición es el desarrollo en un sujeto de una respuesta inmune humoral y/o celular frente a un antígeno presente en la composición de interés. Una "respuesta inmune humoral" se refiere a una respuesta inmune mediada por moléculas de anticuerpo, mientras que una "respuesta inmune celular" es una mediada por linfocitos T y/o otras células sanguíneas blancas. El antígeno de interés también puede incitar una respuesta inmune mediada por anticuerpos. Por lo tanto, una respuesta inmunológica puede incluir uno o más de los efectos siguientes: la producción de anticuerpos por las células B; y/o la activación de células T supresoras, citotóxicas o auxiliares y/o células T dirigidas específicamente a un antígeno o antígenos presentes en la composición o vacuna de interés. Estas respuestas pueden servir para neutralizar la infectividad y/o mediar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo-complemento o anticuerpo (ADCC) para proporcionar protección a un huésped inmunizado. Dichas respuestas pueden determinarse usando inmunoensayos y ensayos de neutralización estándar, muy conocidos en la técnica.

Una respuesta inmune celular implica una respuesta específica de antígeno por células T citotóxicas ("CTL"). Las CTL tienen especificidad para antígenos peptídicos que se presentan en asociación con proteínas codificadas por el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y se expresan en las superficies de las células. Las CTL ayudan a inducir y estimular la destrucción de microbios intracelulares o la lisis de células infectadas con dichos microbios. Otro aspecto de la inmunidad celular implica una respuesta específica de antígeno por las células T auxiliares. Las células T auxiliares actúan para ayudar a estimular la función, y centrar la actividad de, células efectoras específicas, tales como células B y plasmáticas así como células T citotóxicas, frente a células que presentan antígenos peptídicos en asociación con moléculas de MHC en su superficie. Una "respuesta inmune celular" también se refiere a la producción de citoquinas, quimioquinas y otras moléculas como éstas producidas por células T activadas y/o otras células sanguíneas blancas, incluyendo las derivadas de células T CD4+ y CD8+. Además, una respuesta de quimioquinas también puede inducirse por varias células sanguíneas blancas o endoteliales en respuesta a un antígeno administrado.

Una composición o vacuna que incita una respuesta inmune celular puede servir para sensibilizar a un sujeto vertebrado por la presentación de un antígeno en asociación con moléculas de MHC en la superficie celular. La respuesta inmune mediada por células está dirigida a, o cerca de, células que presentan el antígeno en su superficie. Además, los linfocitos T específicos de antígeno pueden generarse para permitir la protección futura de un huésped inmunizado.

Una respuesta inmunológica mediada por células puede determinarse por varios ensayos conocidos en la técnica incluyendo, ensayos de linfoproliferación (activación de linfocitos), ensayos de células citotóxicas CTL, o ensayando para linfocitos T específicos para el antígeno en un sujeto sensibilizado. Dichos ensayos son muy conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, Erickson et al., *J. Immunol.* (1993) 151: 4189-4199; Doe et al., *Eur. J. Immunol.* (1994) 24: 2369-2376. La respuesta inmune mediada por células también puede determinarse por la medida de citoquinas intracelulares o secreción de citoquinas por poblaciones de células T (por ejemplo, por la técnica ELISPOT) o por la medida de células T específicas de epítipo (por ejemplo, por la técnica del tetrámero) (revisada por McMichael, A. J., y O'Callaghan, C. A., *J. Exp. Med.* 187(9): 1367-1371, 1998; Mcheyzer-Williams, M. G., et al., *Immunol. Rev.* 150: 5-21, 1996; Lalvani, A., et al., *J. Exp. Med.* 186: 859-865, 1997).

Tal y como se usan en la presente memoria, los términos "polipéptido Env" o "polipéptido de la cubierta" se refieren a una molécula derivada de una proteína de la cubierta, por ejemplo, de HIV Env (SEQ ID NO:2 o variantes de ésta). La proteína de la cubierta de VIH-1 es una glicoproteína de aproximadamente 160 kd (gp160). Durante la infección de la célula huésped por el virus, gp160 es escindida por las proteasas de la célula huésped para formar gp120 y la proteína de membrana integral, gp41. La parte gp41 están anclada en (y abarca) la bicapa de la membrana del virión, mientras que el segmento gp120 sobresale en el entorno circundante. Como no existe una unión covalente entre gp120 y gp41, gp120 libre se libera de la superficie de los viriones e infecta a las células. Los polipéptidos Env también pueden incluir polipéptidos gp140. Los polipéptidos Env pueden existir como monómeros, dímeros o multímeros.

Tal y como se usa en la presente memoria, un "polipéptido gp120" quiere decir una molécula derivada de una región gp120 del polipéptido Env. La secuencia primaria de aminoácidos de gp120 tiene aproximadamente 511

aminoácidos. La secuencia de aminoácidos de gp120 contiene cinco dominios relativamente conservados interrumpidos por cinco dominios variables. Los dominios variables contienen sustituciones, inserciones y deleciones extensas de aminoácidos. Un "polipéptido gp120" incluye tanto subunidades únicas como multímeros.

5 Un "polipéptido Env" o "polipéptido gp120" como se define en la presente memoria no está limitado a un polipéptido que tiene la secuencia exacta descrita en la presente memoria, sino que incluye proteínas que tienen

10 Además, el término "polipéptido Env" (por ejemplo, "polipéptido gp120") engloba proteínas que incluyen modificaciones adicionales en la secuencia nativa, tales como deleciones, adiciones y sustituciones internas adicionales. Estas modificaciones pueden ser intencionadas, como mediante mutagénesis dirigida a sitio, o pueden ser accidentales, tales como mediante eventos mutacionales naturales. Así, por ejemplo, el polipéptido Env que se va a usar en las composiciones de vacuna, las modificaciones deben ser tales que la actividad inmunológica (es decir, la capacidad de incitar una respuesta de anticuerpos frente al polipéptido) no se pierda.

15 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "polipéptido Env modificado" es un polipéptido Env (por ejemplo, gp120 como se ha definido anteriormente), que se ha manipulado para delecionar o reemplazar todo o una parte de las regiones variables V1, V1/V2, V1-V3 o V1-V4. Generalmente, los polipéptidos Env modificados (por ejemplo, gp120) tienen eliminado lo suficiente de las regiones variables como para exponer el sitio de unión CD4, pero dejan lo suficiente de la estructura como para permitir el plegamiento correcto. Aunque en la presente memoria no se han ejemplificado todas las modificaciones posibles de la región variable, debe entenderse que pueden considerarse otras modificaciones. El polipéptido Env modificado puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 6, 8 ó 10. El polipéptido Env modificado está codificado por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3, 5, 7 ó 9 o una variante de ésta.

20 Una variante de un "polipéptido Env modificado" o "polipéptido Env" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una secuencia de aminoácidos que está alterada por uno o más aminoácidos. La variante puede tener cambios "conservativos", en los que un aminoácido sustituido tiene propiedades estructurales o químicas similares, por ejemplo, el reemplazo de leucina con isoleucina. Más raramente, una variante puede tener cambios "no conservativos", por ejemplo, el reemplazo de una glicina con un triptófano. Las variaciones menores similares también pueden incluir deleciones o inserciones de aminoácidos, o ambas siempre que la variante sea capaz de inducir una respuesta inmune. La guía para determinar qué residuos de aminoácidos pueden sustituirse, insertarse o delecionarse sin suprimir la actividad biológica o inmunológica puede encontrarse usando programas informáticos muy conocidos en la técnica, por ejemplo, software DNASTAR. Las variantes de la presente invención incluyen "polipéptidos Env modificados" o "polipéptidos Env" que son al menos 80%, preferiblemente 85%, más preferiblemente 90%, incluso más preferiblemente 95% y lo más preferiblemente 96%, 97%, 98% ó 99% homólogos a una secuencia de aminoácidos de referencia.

35 "VIH" es el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, un virus que causa inmunodeficiencia atacando a las células CD4+ en el cuerpo. La presente invención está centrada principalmente en VIH clado C. VIH está organizado en grupos y subtipos (clados). La guía para la aplicación de la invención a diferentes clados también puede encontrarse en HIV Sequence Compendium 2002 Kuiken C, Foley B, Freed E, Hahn B, Marx P, McCutchan F, Mellors J, Wolinsky S, y Korber B, editores. Publicado por el Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, LA-UR número 03-364. En particular, los datos de la secuencia consenso para los clados de VIH-1 A, B, C y D y un número para los aislados puede encontrarse en las páginas 490 a 550; los datos de la secuencia consenso para los clados de VIH-2 A, B, C y D y un número de aislados puede encontrarse en las páginas 554 a 578.

40 En una realización de la descripción, el polipéptido env del clado c de VIH está codificado por la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 ó 9 o una variante de ésta. En otras realizaciones de la descripción, el polipéptido env del clado C de VIH tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 ó 10 o una variante de ésta.

45 Se describen métodos y composiciones para incitar una respuesta inmune en un sujeto mediante la administración de un antígeno VIH. Los antígenos VIH incluyen los polinucleótidos y polipéptidos del clado C de VIH. También se describen métodos y composiciones para tratar o prevenir una infección por VIH.

50 Los términos "prevenir", "que previene" y "prevención", tal y como se usan en la presente memoria, se refieren a una disminución en la aparición de VIH en un animal. La prevención puede ser completa, por ejemplo, la ausencia total de VIH en un sujeto. La prevención también puede ser parcial, de manera que la aparición de VIH en un sujeto es menor de la que habría ocurrido sin la presente invención.

55 También se describe un método para inducir una respuesta inmune en un sujeto que comprende administrar un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH en una cantidad suficiente para inducir una respuesta inmune en el sujeto. En una realización, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. El polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificado de manera que la región V1 está delecionada. El polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificado de manera que las regiones V1/V2 están

delecionadas. En una posibilidad más adicional, el polipéptido puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4. El polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificado de manera que las regiones V1, V2 y V3 están delecionadas. En una posibilidad más adicional, el polipéptido puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. El polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificado de manera que las regiones V1, V2, V3 y V4 están delecionadas. El polipéptido puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. El método puede incluir además la administración de un segundo antígeno VIH. El segundo antígeno VIH incluye gp120 y gp160.

También se describe un método para inducir una respuesta inmune en un sujeto que comprende administrar un polinucleótido que codifica un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH en una cantidad suficiente para inducir una respuesta inmune en el sujeto. El polinucleótido puede comprender la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1. La región del polinucleótido que codifica la región V1 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificada de manera que la región V1 está delecionada. La región del polinucleótido que codifica las regiones V1/V2 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificada de manera que las regiones V1/V2 están delecionadas. El polinucleótido puede comprender la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3. Las regiones del polinucleótido que codifican las regiones V1, V2 y V3 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH pueden estar modificadas de manera que las regiones V1, V2 y V3 están delecionadas. El polinucleótido puede comprender la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5. La región del polinucleótido que codifica las regiones V1, V2, V3 y V4 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificada de manera que las regiones V1, V2, V3 y V4 están delecionadas. El polinucleótido puede comprender la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7. El método puede incluir además la administración de un segundo antígeno VIH. El segundo antígeno VIH incluye gp120 y gp160.

Se describen polipéptidos de la cubierta del clado C de VIH aislados y modificados. También se describe un polipéptido de la cubierta de VIH aislado. En una realización de la invención, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

Se describe un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH modificado en el que la región V1 está delecionada y un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH modificado en el que las regiones V1/V2 están delecionadas. En una realización de la invención, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4. También se describe un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH modificado en el que las regiones V1, V2 y V3 están delecionadas. En una realización de la invención, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. Se describe un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH modificado en el que las regiones V1, V2, V3 y V4 están delecionadas. En una realización de la invención, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.

Se describen polinucleótidos aislados y modificados que codifican un polipéptido de la cubierta de VIH. También se describe un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH. En una realización de la invención, el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1. La región del polinucleótido que codifica la región V1 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH puede estar modificada de manera que la región V1 está delecionada. Las regiones del polinucleótido que codifican las regiones V1/V2 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH pueden estar modificadas de manera que las regiones V1/V2 están delecionadas. En una realización de la invención más adicional, el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3. Las regiones del polinucleótido que codifican las regiones V1, V2 y V3 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH pueden estar modificadas de manera que las regiones V1, V2 y V3 están delecionadas. En una realización de la invención más adicional, el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 5. Las regiones del polinucleótido que codifican las regiones V1, V2, V3 y V4 del polipéptido de la cubierta del clado C de VIH pueden estar modificadas de manera que las regiones V1, V2, V3 y V4 están delecionadas. En una realización de la invención más adicional, el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 7.

La invención también proporciona vectores y composiciones que incluyen los polinucleótidos y polipéptidos de la cubierta del clado C de VIH de la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona una partícula viral VIH recombinante que tiene una región de la cubierta 1157ipd que tiene la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 9. En otro aspecto, la invención proporciona una partícula viral VIH recombinante que incluye una región de la cubierta 1157 ipd3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En cualquiera de los dos últimos aspectos, la partícula viral VIH recombinante puede incluir además la secuencia de aminoácidos de Nef de SEQ ID NO: 11. En realizaciones adicionales de la invención, la partícula viral recombinante tiene dos o más regiones NF- κ B. Las partículas virales VIH recombinantes pueden estar incluidas en una composición y pueden usarse en un método para evaluar la eficacia de una vacuna de SIDA candidata en un sujeto. El método incluye las etapas de administrar una vacuna de SIDA candidata a un primate no humano, infectar al primate no humano con la partícula viral y detectar la progresión de la enfermedad.

Polipéptidos y polinucleótidos de la invención

Un polinucleótido de la presente invención puede emplearse para producir un polipéptido por técnicas recombinantes. Dicho polipéptido puede ser útil, por ejemplo, como un antígeno para la inducción de una respuesta inmune o como un reactivo para la purificación por afinidad de dicho anticuerpo.

5 En una realización, los polipéptidos se generan usando técnicas recombinantes, muy conocidas en la técnica. A este respecto, pueden considerarse sondas oligonucleotídicas basadas en las secuencias conocidas del genoma del polipéptido Env y usarse para sondar bibliotecas genómicas o de ADNc para genes Env. El gen puede aislarse además usando técnicas estándar y, por ejemplo, enzimas de restricción empleadas para trincar el gen en partes
10 deseadas de la secuencia de longitud completa. De manera similar, el o los genes Env pueden aislarse directamente de las células y tejidos que contienen el mismo, usando técnicas conocidas, tales como extracción con fenol y la secuencia manipularse además para producir los truncamientos deseados. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., supra, para una descripción de las técnicas usadas para obtener y aislar ADN.

Los genes que codifican los polipéptidos Env (por ejemplo, longitud completa y delección de la región variable) pueden producirse sintéticamente, tomando como base las secuencias conocidas, por ejemplo, secuencias descritas
15 en la presente memoria. La secuencia de nucleótidos puede diseñarse con los codones apropiados para la secuencia de aminoácidos deseada particular. La secuencia completa se ensambla generalmente a partir de oligonucleótidos superpuestos preparados por métodos estándar y ensamblados en una secuencia codificadora completa. Véanse, por ejemplo, Edge (1981) Nature 292: 756; Nambair et al. (1984) Science 223: 1299; Jay et al. (1984) J. Biol. Chem. 259: 6311; Stemmer et al. (1995) Gene 164: 49-53.

Las técnicas recombinantes se usan fácilmente para clonar un gen que codifica un gen de polipéptido Env que puede mutagenizarse in vitro por el reemplazo del o de los pares de bases apropiados para resultar en el codón para el aminoácido deseado. Dicho cambio puede incluir tan poco como un par de bases, que produce un cambio en un
20 único aminoácido, o puede englobar varios cambios de pares de bases. Alternativamente, las mutaciones pueden producirse usando un cebador con emparejamiento erróneo que hibrida con la secuencia de nucleótidos parental (generalmente ADNc correspondiente a la secuencia de ARN), a una temperatura por debajo de la temperatura de fusión del dúplex con emparejamiento erróneo. El cebador puede hacerse específico manteniendo la longitud del cebador y la composición de bases en límites relativamente estrechos y manteniendo la base mutante localizada de forma centrada. Véanse, por ejemplo, Innis et al. (1990) PCR Applications: Protocols for Functional Genomics; Zoller
25 y Smith, Methods Enzymol. (1983) 100: 468. La extensión con cebador se produce usando ADN polimerasa, clonándose el producto y seleccionándose los clones que contienen el ADN mutado, derivado por segregación de la cadena extendida por cebador. La selección puede conseguirse usando el cebador mutante como una sonda de hibridación. La técnica también es aplicable para generar múltiples mutaciones puntuales. Véase, por ejemplo, Dalbie-McFarland et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982) 79: 6409.

Una vez que las secuencias codificadoras para las proteínas deseadas se han aislado o sintetizado, pueden clonarse en cualquier vector o replicón adecuado para expresión. Puede generarse una amplia variedad de vectores
35 que codifican polipéptidos modificados creando construcciones de expresión que unen de manera operativa los polinucleótidos de la invención. La construcción se introduce en una célula huésped para la expresión del polipéptido. Los ejemplos no limitativos de dichas combinaciones se discuten en los Ejemplos.

Numerosos vectores de clonación son conocidos para los expertos en la técnica y la selección de un vector de clonación apropiado es un objeto de elección. Los ejemplos de vectores de ADN recombinantes para la clonación y las células huésped que puedan ser transformadas por éstos incluyen el bacteriófago lambda (E. coli), pBR322 (E. coli), pACYC177 (E. coli), pKT230 (bacterias gram-negativas), pGV1106 (bacterias gram-negativas), pLAFR1 (bacterias gram-negativas), pME290 (bacterias gram-negativas no E. coli), pHV14 (E. coli y Bacillus subtilis), pBD9 (Bacillus), pIJ61 (Streptomyces), pUC6 (Streptomyces), Ylp5 (Saccharomyces), YCp19 (Saccharomyces) y virus del papiloma bovino (células de mamíferos). Véase, generalmente, DNA Cloning: Vols. I y II, supra; Sambrook et al., supra; B. Perbal, supra.

Los sistemas de expresión de células de insecto, tales como los sistemas de baculovirus, también pueden usarse y son conocidos para los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Summers y Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 (1987). Los materiales y métodos para los sistemas de expresión de baculovirus/células de insecto están disponibles comercialmente en forma de kit, entre otros, de Invitrogen, San Diego Calif. (kit "MaxBac").

Los sistemas virales, tales como un sistema de infección/transfección basado en vaccinia, como se describe en Tomei et al., J. Virol. (1993) 67: 4017-4026 y Selby et al., J. Gen. Virol. (1993) 74: 1103-1113, encontrarán también uso con la presente invención. En este sistema, las células se transfectan en primer lugar in vitro con un virus vaccinia recombinante que codifica la ARN polimerasa del bacteriófago T7. Después de la infección, las células se transfectan con el ADN de interés, dirigido por un promotor T7. La polimerasa expresada en el citoplasma del virus vaccinia recombinante transcribe el ADN transfectado en ARN que se traduce en proteína por la maquinaria de

traducción del huésped. El método proporciona un alto nivel de producción transitoria, citoplásmica de grandes cantidades de ARN y su o sus productos de traducción.

5 El gen puede ponerse bajo el control de un promotor, sitio de unión a ribosoma (para la expresión bacteriana) y, opcionalmente, un operador (referidos colectivamente en la presente memoria como elementos de "control"), de manera que la secuencia de ADN que codifica el polipéptido de la cubierta del clado C de VIH deseado se transcribe en ARN en la célula huésped transformada por un vector que contiene esta construcción de expresión. La secuencia codificadora puede contener o no un péptido señal o secuencia líder. Con la presente invención, pueden usarse tanto los péptidos señal naturales como las secuencias heterólogas. Las secuencias líder pueden eliminarse por el huésped en el procesamiento post-traducción. Véase, por ejemplo, las Pat. U.S. Nos. 4.431.739; 4.425.437; 10 4.338.397. Dichas secuencias incluyen, pero no están limitadas a, el líder TPA, así como la secuencia señal de la melitina de abeja.

Otras secuencias reguladoras también pueden ser deseables para permitir la regulación de la expresión de las secuencias proteicas relativas al crecimiento de la célula huésped. Dichas secuencias reguladoras son conocidas para los expertos en la técnica y los ejemplos incluyen aquellas que causan que la expresión de un gen se active o 15 inactiva en respuesta a un estímulo químico o físico, incluyendo la presencia de un compuesto regulador. Otros tipos de elementos reguladores también pueden estar presentes en el vector, por ejemplo, secuencias amplificadoras.

Las secuencias control y otras secuencias reguladoras pueden ligarse a la secuencia codificadora antes de la inserción en un vector. Alternativamente, la secuencia codificadora puede clonarse directamente en un vector de expresión que ya contiene las secuencias control y un sitio de restricción apropiado.

20 En algunos casos puede ser necesario modificar la secuencia codificadora de manera que pueda unirse a las secuencias control con la orientación apropiada; es decir, para mantener el marco de lectura apropiado. Los mutantes o análogos pueden prepararse por la delección de una parte de la secuencia que codifica la proteína, por inserción de una secuencia, y/o por sustitución de uno o más nucleótidos en la secuencia. Las técnicas para modificar las secuencias de nucleótidos, tales como mutagénesis dirigida a sitio, son muy conocidas para los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., supra; DNA Cloning, Vols. I y II, supra; Nucleic Acid 25 Hybridization, supra.

El vector de expresión se usa entonces para transformar una célula huésped apropiada. Se conocen en la técnica varias líneas celulares de mamíferos e incluyen líneas celulares inmortalizadas de la American Type Culture Collection (ATCC), tales como, pero no limitadas a, células de ovario de hámster chino (CHO), células HeLa, células de riñón de cría de hámster (BHK), células de riñón de mono (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2), células Vero293, así como otras. De manera similar, los huéspedes bacterianos tales como E. coli, Bacillus subtilis y Streptococcus sp., encontrarán uso con las presentes construcciones de expresión. El huésped de levadura útiles en la presente invención incluyen entre otros, Saccharomyces cerevisiae, Candida albicans, Candida maltosa, Hansenula polymorpha, Kluyveromyces fragilis, Kluyveromyces lactis, Pichia guilliermondii, Pichia pastoris, Schizosaccharomyces pombe y Yarrowia lipolytica. Las células de insecto para usarse con vectores de expresión baculovirus incluyen, entre otras, Aedes aegypti, Autographa californica, Bombyx mori, 35 Drosophila melanogaster, Spodoptera frugiperda y Trichoplusia ni.

40 Dependiendo del sistema de expresión y del huésped seleccionado, las proteínas de la presente invención se producen por células huésped que crecen transformadas por un vector de expresión descrito anteriormente bajo condiciones en las que la proteína de interés se expresa. La selección de las condiciones de crecimiento apropiadas está dentro de la experiencia en la técnica.

En una realización, las células transformadas secretan el producto polipeptídico en el medio circundante. Determinadas secuencias reguladoras pueden incluirse en el vector para aumentar la secreción del producto proteico, por ejemplo usando una secuencia líder del activador de plasminógeno tisular (TPA), una secuencia señal de interferón gamma u otras secuencias peptídicas señal de proteínas secretoras conocidas. El producto polipeptídico secretado puede aislarse por varias técnicas descritas en la presente memoria, por ejemplo, usando técnicas de purificación estándar tales como, pero no limitadas a, resinas de hidroxapatito, cromatografía en columna, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de exclusión por tamaño, electroforesis, HPLC, técnicas inmunoabsorbentes, cromatografía de afinidad, inmunoprecipitación y semejantes.

50 Alternativamente, las células transformadas se rompen usando medios químicos, físicos o mecánicos, que lisan las células manteniendo todavía el polipéptido de la cubierta del clado C de VIH sustancialmente intacto. Las proteínas intracelulares también pueden obtenerse eliminando componentes de la pared o membrana celular, por ejemplo, por el uso de detergentes o disolventes orgánicos, de manera que se produzca la salida de los polipéptidos Env. Dichos métodos son conocidos para los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Protein Purification Applications: A Practical Approach, (E. L. V. Harris y S. Angal, Eds., 1990).

Por ejemplo, los métodos para romper células para usarse con la presente invención incluyen pero no están limitados a: sonicación o ultrasonificación; agitación; extrusión líquida o sólida; tratamiento con calor; liofilización; desecado;

decompresión explosiva; choque osmótico; tratamiento con enzimas líticas incluyendo proteasas tales como tripsina, neuraminidasa y lisozima; tratamiento con álcali; y el uso de detergentes y disolventes tales como sales biliares, dodecilsulfato de sodio, Tritón, NP40 y CHAPS. La técnica particular usada para romper las células es en gran medida un objeto de elección y dependerá del tipo de célula en la que se expresa el polipéptido, condiciones de cultivo y cualquier pre-tratamiento usado.

Después de la rotura de las células, se eliminan los restos celulares, generalmente por centrifugación, y los polipéptidos Env producidos intracelularmente se purifican mas, usando técnicas de purificación estándar tales como pero no limitadas a, cromatografía en columna, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de exclusión por tamaño, electroforesis, HPLC, técnicas inmunoabsorbentes, cromatografía de afinidad, inmunoprecipitación y semejantes.

Por ejemplo, un método para obtener los polipéptidos de la cubierta del clado C de VIH intracelulares de la presente invención implica la purificación por afinidad, tal como por cromatografía de inmovilizada afinidad usando anticuerpos anti-Env específicos o por cromatografía de afinidad de lectina. Las resinas de lectina particularmente preferidas son aquellas que reconocen restos de manosa tales como pero no limitadas a resinas derivadas de la aglutinina de *Galanthus nivalis* (GNA), aglutinina de *Lens culinaris* (LCA o lectina de lenteja), aglutinina de *Pisum sativum* (PSA o lectina de guisante), aglutinina de *Narcissus pseudonarcissus* (NPA) y aglutinina de *Allium ursinum* (AUA). La elección de una resina de afinidad adecuada está dentro de la experiencia en la técnica. Después de la purificación por afinidad, los polipéptidos Env pueden purificarse más usando técnicas convencionales muy conocidas en la técnica, tales como por cualquiera de las técnicas descritas anteriormente.

Los polipéptidos relativamente pequeños, es decir, con una longitud de hasta aproximadamente 50 aminoácidos, pueden sintetizarse químicamente convenientemente, por ejemplo, por cualquiera de varias técnicas que son conocidas para los expertos en la técnica de péptidos. En general, estos métodos emplean la adición secuencial de uno o más aminoácidos a una cadena peptídica creciente. Normalmente, bien el grupo amino o carboxilo del primer aminoácido se protege con un grupo protector adecuado. El aminoácido protegido o derivatizado puede unirse a un soporte sólido inerte o utilizarse en disolución añadiendo el siguiente aminoácido en la secuencia que tiene el grupo complementario (amino o carboxilo) protegido adecuadamente, bajo condiciones que permiten la formación de una unión amida. El grupo protector se elimina del residuo de aminoácido recién añadido y se añade el siguiente aminoácido (protegido adecuadamente) y así sucesivamente. Después de que los aminoácidos deseados se han unido en la secuencia apropiada, se eliminan cualesquiera grupos protectores restantes (y cualquier soporte sólido, si se usan técnicas de síntesis en fase sólida) secuencialmente o simultáneamente, para rendir el polipéptido final. Por la modificación simple de este procedimiento general, es posible añadir más de un aminoácido a la vez a una cadena en crecimiento, por ejemplo, acoplado (bajo condiciones que no racemizan centros quirales) un tripéptido protegido con un dipéptido protegido apropiadamente para formar, después de desprotección, un pentapéptido. Véanse, por ejemplo, J. M. Stewart y J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis* (Pierce Chemical Co., Rockford, Ill. 1984) y G. Barany y R. B. Merrifield, *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, editores E. Gross y J. Meienhofer, Vol. 2, (Academic Press, Nueva York, 1980), p. 3-254, para técnicas de síntesis de péptidos en fase sólida; y M. Bodansky, *Principles of Peptide Synthesis*, (Springer-Verlag, Berlín 1984) y E. Gross y J. Meienhofer, Eds., *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 1, para síntesis en disolución clásica.

Los polipéptidos de la presente invención también pueden prepararse químicamente por otros métodos tales como por el método de síntesis peptídica múltiple simultánea. Véanse, por ejemplo, *Houghten Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1985) 82: 5131-5135; Pat. U.S. No. 4.631.211.

Preparaciones farmacéuticas

En una realización, los antígenos de la invención están presentes en preparaciones farmacéuticas. Generalmente, están en la forma de un polipéptido que puede prepararse por los distintos métodos descritos en la presente memoria y conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, los antígenos se proporcionan como polinucleótidos que codifican el antígeno.

Los polipéptidos de la cubierta del clado C de VIH y los polinucleótidos que los codifican son útiles, por ejemplo, como composiciones de vacuna. Las composiciones de la invención pueden usarse como composiciones de vacuna, por ejemplo, para aumentar o inducir una respuesta inmune de un sujeto frente a un VIH. Las respuestas inmunes que pueden aumentarse o inducirse incluyen tanto respuestas humorales como mediadas por células. Las composiciones que comprenden preparaciones particulares de moléculas de la cubierta del clado C de VIH pueden ensayarse para la capacidad de inducir una respuesta inmune usando ensayos muy conocidos en la técnica. Por ejemplo, una composición puede inyectarse en un animal de laboratorio, tal como una rata o ratón, y el animal puede monitorizarse para la aparición de reactantes inmunes, tales como anticuerpos, dirigidos frente al polipéptido Env. Alternativamente, pueden realizarse ensayos tales como ensayos de linfocitos T citotóxicos para determinar si una composición particular de molécula Env es inmunogénica.

Para usarse como una vacuna, una composición de la invención comprende un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH o un polipéptido de la cubierta del clado C de VIH como se define en las reivindicaciones. Las composiciones

de vacuna de la invención comprenden típicamente un vehículo fisiológicamente compatible. Los vehículos fisiológicamente compatibles son muy conocidos para los expertos en la técnica. Dichos vehículos incluyen, pero no están limitados a, una disolución simple con bajo contenido en sal que permite la conservación de la integridad del polipéptido Env, por ejemplo, 10 mM NaCl, 0,1 mM EDTA o macromoléculas grandes que se metabolizan lentamente tales como proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivas. Las sales farmacéuticamente aceptables también pueden usarse en las composiciones de Env, por ejemplo, sales minerales tales como hidroclouros, hidrobromuros, fosfatos, o sulfatos, así como sales de ácidos orgánicos tales como acetatos, propionatos, malonatos o benzoatos. Las composiciones de la invención también pueden contener líquidos, tales como agua, disolución salina, glicerol, y etanol, así como sustancias tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes o agentes tamponadores del pH.

Pueden usarse varios métodos para administrar una composición de vacuna de molécula de la cubierta del clado C de VIH a un ser humano, incluyendo inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea. Las composiciones de vacuna de la invención se administran a una dosis eficaz para inducir una respuesta inmune frente al polipéptido Env. Las dosificaciones particulares de la composición usadas para aumentar una respuesta inmune variarán, por ejemplo, según las composiciones de Env que se están usando y del mamífero al que se administra la composición. Generalmente, aproximadamente 5ug a aproximadamente 50 ug de polipéptido Env por kg de peso corporal del paciente, aproximadamente 50ug a aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 100ug a aproximadamente 500ug/kg o aproximadamente 200 a aproximadamente 250ug/kg se administrarán a un adulto humano. Dichos intervalos no evitan de ninguna manera el uso de una cantidad más alta o más baja de un componente, como podría garantizarse en una aplicación particular. Por ejemplo, la dosis y esquema real puede variar dependiendo de si las composiciones se administran en combinación con otras composiciones farmacéuticas, o dependiendo de diferencias individuales en farmacocinética, disposición del fármaco y metabolismo.

Los antígenos y/o adyuvantes de la invención también pueden administrarse usando uno o más vectores génicos, administrados mediante la inmunización con ácidos nucleicos o semejantes usando protocolos de administración génica estándar. Los métodos para la administración génica son conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, las Pat. U.S. Nos. 5.399.346, 5.580.859, 5.589.466. Las construcciones pueden administrarse bien por vía subcutánea, epidérmica, intradérmica, intramuscular, intravenosa, mucosal (tal como nasal, rectal y vaginal), intraperitoneal, oral o combinación de éstas.

Un vehículo de administración génica deficiente en replicación ejemplar que puede usarse en la práctica de la presente invención es cualquiera de los vectores alfavirus, descritos, por ejemplo, en las Pat. U.S. Nos. 6.342.372; 6.329.201 y en la Publicación Internacional WO 01/92552.

Se han desarrollado varios sistemas basados en virus para la transferencia génica en células de mamíferos. Por ejemplo, los retrovirus proporcionan una plataforma conveniente para los sistemas de administración génica. Las secuencias seleccionadas pueden insertarse en un vector y empaquetarse en partículas retrovirales usando técnicas conocidas en la técnica. Los virus recombinantes pueden aislarse y administrarse a células del sujeto bien in vivo o ex vivo. Se han descrito varios sistemas retrovirales (Pat. U.S. No. 5.219.740; Miller y Rosman, *BioTechniques* (1989) 7: 980-990; Miller, A. D., *Human Gene Therapy* (1990) 1: 5-14; Scarpa et al., *Virology* (1991) 180: 849-852; Burns et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1993) 90: 8033-8037; y Boris-Lawrie y Temin, *Cur. Opin. Genet. Develop.* (1993) 3: 102-109.

También se han descrito varios vectores de adenovirus. A diferencia de los retrovirus que se integran en el genoma del huésped, los adenovirus persisten extracromosómicamente minimizando así los riesgos asociados con la mutagénesis insercional (Haj-Ahmad y Graham, *J. Virol.* (1986) 57: 267-274; Bett et al., *J. Virol.* (1993) 67: 5911-5921; Mittereder et al., *Human Gene Therapy* (1994) 5: 717-729; Seth et al., *J. Virol.* (1994) 68: 933-940; Barr et al., *Gene Therapy* (1994) 1: 51-58; Berkner, K. L. *BioTechniques* (1988) 6: 616-629; y Rich et al., *Human Gene Therapy* (1993) 4: 461-476).

Además, se han desarrollado varios sistemas de vectores de virus adeno-asociados (AAV) para la administración génica. Los vectores AAV pueden construirse fácilmente usando técnicas muy conocidas en la técnica. Véanse, por ejemplo, las Pat. U.S. Nos. 5.173.414 y 5.139.941; las Publicaciones Internacionales Nos. WO 92/01070 (publicada el 23 de enero, 1992) y WO 93/03769 (publicada el 4 de marzo, 1993); Lebkowski et al., *Molec. Cell. Biol.* (1988) 8: 3988-3996; Vincent et al., *Vaccines* 90 (1990) (Cold Spring Harbor Laboratory Press); Carter, B. J. *Current Opinion in Biotechnology* (1992) 3: 533-539; Muzyczka, N. *Current Topics in Microbiol. and Immunol.* (1992) 158: 97-129; Kotin, R. M. *Human Gene Therapy* (1994) 5: 793-801; Shelling y Smith, *Gene Therapy* (1994) 1: 165-169; y Zhou et al., *J. Exp. Med.* (1994) 179: 1867-1875.

Otro sistema de vector útil para administrar polinucleótidos, por vía mucosal y de otra manera, es las vacunas de poxvirus recombinantes administradas por vía entérica descritas por Small, Jr., P. A. et al. (Pat. U.S. No. 5.676.950, presentada el 14 de octubre, 1997) así como el virus vaccinia y los poxvirus aviares. Como ejemplo, el virus vaccinia recombinante que expresa los genes puede construirse como sigue. El ADN que codifica los antígenos y/o los adyuvantes de la invención se inserta en primer lugar en un vector apropiado de manera que está adyacente a un

promotor de vaccinia y secuencias de ADN de vaccinia flanqueantes, como la secuencia que codifica la timidina quinasa (TK). Este vector se usa para transfectar células que se infectan simultáneamente con vaccinia. La recombinación homóloga sirve para insertar el promotor de vaccinia más el gen que codifica las secuencias codificadoras de interés en el genoma viral. El recombinante TK resultante puede seleccionarse cultivando las células en presencia de 5-bromodesoxiuridina y eligiendo las placas virales resistentes a ésta.

Alternativamente, los poxvirus aviares, tales como los virus de la viruela aviar y viruela del canario, también pueden usarse para administrar genes que codifican los antígenos y/o adyuvantes de la invención. Los virus avipox recombinantes, que expresan inmunógenos de patógenos de mamíferos, se sabe que confieren una inmunidad protectora cuando se administran a especies no aviares; El uso de un vector avipox es particularmente deseable en el ser humano y otras especies de mamíferos ya que los miembros del género avipox sólo pueden replicarse productivamente en especies aviares susceptibles y por lo tanto no son infectivos en células de mamífero. Los métodos para producir virus avipox recombinantes son conocidos en la técnica y emplean la recombinación genética, como se ha descrito anteriormente respecto a la producción de virus vaccinia. Véanse, por ejemplo, WO 91/12882; WO 89/03429; y WO 92/03545. Los vectores derivados de picornavirus también pueden usarse (Véanse, por ejemplo, las Pat. U.S. Nos. 5.614.413 y 6.063.384). Los vectores de conjugados moleculares, tales como los vectores quiméricos de adenovirus descritos en Michael et al., J. Biol. Chem. (1993) 268: 6866-6869 y Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992) 89: 6099-6103, también pueden usarse para la administración génica.

Un sistema de infección/transfección basado en vaccinia puede usarse convenientemente para proporcionar una expresión inducible, transitoria de las secuencias codificadoras de interés (por ejemplo, secuencias que codifican los antígenos o adyuvantes de la invención) en una célula huésped. En este sistema, las células se infectan en primer lugar in vitro con un virus vaccinia recombinante que codifica la ARN polimerasa del bacteriófago T7. Esta polimerasa presenta una especificidad exquisita ya que sólo transcribe moldes que presentan promotores T7. Después de la infección, las células se transfectan con el polinucleótido de interés, dirigido por un promotor T7. La polimerasa expresada en el citoplasma del virus vaccinia recombinante transcribe el ADN transfectado en ARN que se traduce en proteína por la maquinaria de traducción del huésped. El método proporciona un alto nivel de producción transitoria, citoplasmática de grandes cantidades de ARN y sus productos de traducción. Véanse, por ejemplo, Elroy-Stein y Moss, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87: 6743-6747; Fuerst et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1986) 83: 8122-8126.

Como una estrategia alternativa a la infección con virus recombinantes vaccinia o avipox o a la administración de genes usando otros vectores virales, puede usarse un sistema de amplificación que dará lugar a un alto nivel de expresión después de la introducción en las células huésped. Específicamente, un promotor de la ARN polimerasa T7 que precede la región codificadora para la ARN polimerasa T7 puede prepararse por ingeniería. La traducción del ARN derivado de este molde generará ARN polimerasa T7 que a su vez transcribirá más molde. Simultáneamente, habrá un ADNc cuya expresión está bajo el control del promotor T7. Así, parte de la ARN polimerasa T7 generada a partir de la traducción del ARN molde amplificado dará lugar a la transcripción del gen deseado. Como parte de la ARN polimerasa T7 se requiere para iniciar la amplificación, la ARN polimerasa T7 puede introducirse en las células junto con el o los moldes para cebar la reacción de transcripción. La polimerasa puede introducirse como una proteína o en un plásmido que codifica la ARN polimerasa. Para una discusión adicional de los sistemas de T7 y su uso para transformar células, véanse, por ejemplo, la Publicación Internacional No. WO 94/26911; Studier y Moffart, J. Mol. Biol. (1986) 189: 113-130; Deng y Wolff, Gene (1994) 143: 245-249; Gao et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. (1994) 200: 1201-1206; Gao y Huang, Nuc. Acids Res. (1993) 21: 2867-2872; Chen et al., Nuc. Acids Res. (1994) 22: 2114-2120; y Pat. U.S. No. 5.135.855.

Uno o más antígenos VIH adicionales pueden usarse en la composición de esta invención. Por ejemplo, los antígenos env del clado C de VIH pueden usarse con antígenos VIH adicionales. Los antígenos VIH adicionales pueden administrarse simultáneamente, antes o después de la administración del antígeno env del clado C de VIH.

Además, puede añadirse un factor inmunomodulador a la composición farmacéutica. Un "factor inmunomodulador" se refiere a una molécula, por ejemplo una proteína, que es capaz de modular una respuesta inmune o a vectores de ADN que codifican un factor inmunomodulador dado. Los ejemplos no limitativos de factores inmunomoduladores incluyen linfoquinas (también conocidas como citoquinas) tales como IL-6, TGF-beta, IL-1, IL-2, IL-3, etc.); y quimioquinas (por ejemplo, proteínas secretadas tales como el factor inhibidor de macrófagos). Determinadas citoquinas, por ejemplo TRANCE, flt-3L y una forma secretada de CD40L, son capaces de aumentar la capacidad inmunoestimuladora de las APC. Los ejemplos no limitativos de citoquinas que pueden usarse solas o en combinación en la práctica de la presente invención incluyen, interleuquina-2 (IL-2), factor de células madre (SCF), interleuquina 3 (IL-3), interleuquina 6 (IL-6), interleuquina 12 (IL-12), G-CSF, factor estimulador de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), interleuquina-1 alfa (IL-1.alfa), interleuquina-11 (IL-11), MIP-1.gamma, factor inhibidor de leucemia (LIF), ligando c-kit, trombopoyetina (TPO), ligando CD40 (CD40L), citoquina que induce la activación relacionada con el factor de necrosis tumoral (TRANCE) y ligando flt3 (flt-3L). Las citoquinas están disponibles comercialmente de varios vendedores tales como, por ejemplo, Genzyme (Framingham, Mass.), Amgen (Thousand Oaks, Calif.), R&D Systems e Immunex (Seattle, Wash.). Las secuencias de muchas de estas moléculas también están disponibles, por ejemplo, en la base de datos GenBank. Se pretende, aunque no siempre se indica explícitamente, que las moléculas que tienen una actividad biológica similar como citoquinas de tipo salvaje o

purificadas (por ejemplo, producidas de manera recombinante o mutantes de éstas) y los ácidos nucleicos que codifican estas moléculas se pretende que se usen.

5 Las composiciones de la invención se formularán típicamente con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Tal y como se usa en la presente memoria, el término “vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a un vehículo para la administración de los antígenos que por sí mismo no induce la producción de anticuerpos dañinos para el individuo que recibe la composición, y que puede administrarse sin toxicidad excesiva. Los vehículos adecuados pueden ser macromoléculas grandes, que se metabolizan lentamente tales como proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivas. Los ejemplos de vehículos en partículas incluyen aquellos derivados de polímeros de polimetil metacrilato, así como micropartículas derivadas de poli(láctidos) y poli(láctido-co-glicólidos), conocidos como PLG. Véanse, por ejemplo, Jeffery et al., Pharm. Res. (1993) 10: 362-368; McGee et al. (1997) J. Microencapsul. 14(2): 197-210; O'Hagan et al. (1993) Vaccine 1(2): 149-54. Dichos vehículos son muy conocidos para los expertos en la técnica. Además, estos vehículos pueden funcionar como agentes inmunoestimulantes (“adyuvantes”). Además, el antígeno puede conjugarse con un toxoide bacteriano, tal como toxoide de difteria, tétanos, cólera, etc., así como toxinas derivadas de E. coli.

En la presente memoria pueden usarse sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo sales de ácidos minerales tales como hidroclouros, hidrobromuros, fosfatos, sulfatos y semejantes; y las sales de ácidos orgánicos tales como acetatos, propionatos, malonatos, benzoatos y semejantes. Una discusión en profundidad de los excipientes aceptables está disponible en la muy conocida Remington's Pharmaceutical Sciences.

20 Los vehículos farmacéuticamente aceptables en composiciones terapéuticas pueden contener líquidos tales como agua, disolución salina, glicerol y etanol. Además, pueden estar presentes en dichos vehículos sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, sustancias tamponadoras del pH y semejantes.

25 Por “farmacéuticamente aceptable” o “farmacológicamente aceptable” se quiere decir un material que no es biológicamente o de otra manera indeseable, es decir, el material puede administrarse a un individuo en una formulación o composición sin causar ningún efecto biológico indeseable o interactuar de una manera perjudicial con ninguno de los componentes de la composición en la que está contenido.

Administración

30 Las composiciones descritas en la presente memoria pueden administrarse a un sujeto para generar una respuesta inmune. Preferiblemente, la composición puede usarse como una vacuna para tratar o prevenir una infección por VIH.

35 Tal y como se usa en la presente memoria, “sujeto” quiere decir cualquier miembro de cordata subphylum, incluyendo, sin limitación, seres humanos y otros primates, incluyendo primates no humanos, tales como chimpancés y otros monos y especies de monos; animales de granja tales como ganado, ovejas, cerdos, cabras y caballos; mamíferos domésticos tales como perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores tales como ratones, ratas y cobayas; pájaros, incluyendo pájaros domésticos, salvajes y de caza, tales como pollos, pavos y otros pájaros gallináceos, patos, gansos y semejantes. El término no indica una edad particular. Así, se pretende que estén cubiertos tanto los individuos adultos como recién nacidos. El sistema descrito anteriormente se pretende para uso en cualquiera de las especies de vertebrados anteriores, ya que los sistemas inmunes de todos estos vertebrados operan de manera similar.

40 Las composiciones incluirán “cantidades inmunológicamente eficaces” de antígeno VIH, es decir, cantidades suficientes para incitar una respuesta inmune específica o, más preferiblemente, para tratar, reducir o prevenir una infección por VIH. Una respuesta inmune puede detectarse buscando anticuerpos frente al antígeno VIH usado (por ejemplo, IgG o IgA) en muestras de pacientes (por ejemplo, en sangre o suero, en ganglios linfáticos mesentéricos, en bazo, en mucosa gástrica y/o en heces). La cantidad eficaz precisa para un paciente dado dependerá de la edad, tamaño, salud del paciente, la naturaleza y gravedad de la afección, la composición precisa seleccionada para administración, el grupo taxonómico del paciente, la capacidad del sistema inmune del paciente para sintetizar anticuerpos, el grado de protección deseado, la formulación de la vacuna, la evaluación del médico que trata la situación médica y otros factores relevantes. Así, no es útil especificar una cantidad eficaz exacta con antelación, sino que la cantidad estará en un intervalo relativamente amplio que puede determinarse mediante ensayos rutinarios y estará dentro del criterio del médico. Una dosis eficaz será típicamente de aproximadamente 0,01 mg/kg a 50 mg/kg en el individuo al que se administra.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. SHIVenvC con el bucle V delecionado induce respuestas de nAb cruzadas entre clados en ratones.

55 Se preparó un vector de expresión SHIV-1157ipenv con el bucle V delecionado como sigue: la secuencia completa de gp160 SHIV-1157ip se optimizó en codones y se clonó en el vector de mutagénesis pTPS (Xu et al., 2002). Se

usaron cebadores mutagénicos para delecionar separadamente los bucles V1/V2 y el bucle V3. Los cebadores mutagénicos se sintetizaron e incluyeron secuencias conectoras GAG para mantener la estructura de núcleo de Env (Johnson et al., 2002). La mutagénesis se confirmó por secuenciación de ADN y el gen mutante gp160 se clonó en el vector de expresión pJW4303. El plásmido resultante, pJW1157ipenv Δ 123 se ensayó para pureza por digestión de restricción/electroforesis en gel y para expresión in vitro por transfección en células 293T seguido de análisis por transferencia Western. El análisis por transferencia Western mostró un banda de proteína de aproximadamente 135 kb.

Se preparó un virus vaccinia recombinante expresando 1157ipenv Δ 123 y se usó para infectar la línea celular de osteosarcoma humano, 143 B. Se preparó SHIV-1157ip Δ 123 Env a partir de lisados celulares por exclusión por tamaño y cromatografía de lectina de lenteja (Earl et al., 1994).

Cinco ratones BALB/c se inocularon por vía subcutánea 2x con 20 ug de SHIV-1157ip Δ 123 Env formulado en emulsión MPL + TDM. Los sueros de ratones inmunizados se ensayaron para actividad de anticuerpo neutralizante frente a SHIV-1157ip homólogo y frente a SHIV89.6P heterólogo (Fig 3). Tres de 5 ratones mostraron actividad de anticuerpo neutralizante frente a SHIV-1157ip y 4 de los 5 ratones mostraron actividad de anticuerpo neutralizante frente a SHIV89.6P clado B heterólogo.

Los resultados demuestran que la inmunización con una Env clado C con bucle V delecionado, preparada a partir del genoma de gp160 de longitud completa por metodología que mantiene la integridad estructural de la forma multimérica de la glicoproteína Env, es inmunogénica y puede inducir respuestas de nAb cruzadas entre clados.

Ejemplo 2. Construcción y Adaptación de SHIV-1157i a Macacos Rhesus

Un virus de ensayo biológicamente relevante se creó para evaluar profilaxis inmune anti-VIH clado C.

Construcción SHIV-1157i

SHIV-1157i se construyó sobre el núcleo de SHIV-vpu⁺ (Li et al., *J. Virol.* (1995), 69: 7061-67) (Fig. 19a) y contenía la mayor parte de gp120 así como el dominio extracelular y región transmembrana completos de gp41 del aislado primario, original HIV1157i. El aislado HIV1157i es un aislado VIH clado C pediátrico recientemente transmitido de un niño de Zambia de seis meses.

La preparación madre inicial sin células SHIV-1157i se generó transfectando células 293T con ADN proviral y recogiendo los sobrenadantes. El virus se replicó en PBMC humanos y de mono rhesus y en células Ghost.CD4.CCR5.GFP pero no infectaron células CEMx174 o CEMx174.GFP, que no expresan CCR5, lo que indica que SHIV-1157i, como el HIV1157i original, usa CCR5 como correceptor.

Adaptación de SHIV-1157i a macacos rhesus

Para adaptar SHIV-1157i a macacos rhesus, una cría de mono rhesus RPn-8 se inoculó por vía intravenosa (i.v.) con 6 ml de virus. La RT-PCR en tiempo real reveló que SHIV-1157i se replicaba en este animal; el pico de viremia alcanzó 6×10^4 copias de ARN/ml en la semana 4 después de la inoculación (p.i.). Este primer animal nunca aclaró el virus y permaneció virémico desde el principio hasta el fin. Cuatro animales adicionales se sometieron a transferencia sanguínea seriada (Fig. 19b), mediante las cuales 1 ml de sangre completa recogido en el pico de la viremia (semana 2 p.i.) se transfirió directamente a los monos receptores siguientes: RAO-8 y RII-8 neonatos, RTs-7 juveniles y RKI-8 infantiles. Comparado con el primer receptor del virus RPn-8, las cargas de ARN viral en el pico se incrementaron entre 1 a 2 logs en receptores posteriores (Fig. 19c). Los cinco monos en esta cohorte se seroconvirtieron en la semana 4. En la semana 6 p.i., el virus pasado, denominado SHIV-1157ip, se aisló de PBMC del último receptor, RKI-8 y se creció una gran preparación madre en PBMC de monos rhesus. Los virus de esta preparación madre eran competentes para la replicación en PBMC de otros monos rhesus donantes sin tratar.

SHIV-1157ip no se replicó en células CEMx174 ni CEMx174-GFP ni en células U87.CD4 o U87.CD4 que expresan CCR1, CCR2, CCR3, o CXCR4. SHIV-1157ip tampoco se replicó en células Ghost-BOB y Ghost-Bonzo. Sólo se observó infección productiva en células U87.CD4.CCR5, lo que indica que SHIV-1157ip usaba exclusivamente CCR5 como correceptor, incluso después de varios pasos en una especie diferente.

Ejemplo 3. Patogenicidad de SHIV-1157ip.

Se observaron signos de enfermedad temprana (depleción de células T de memoria en sangre periférica y proporciones persistentemente bajas de CD4⁺/CD8⁺) en dos monos, RPn-8 y RKI-8, en el primer año después de la inoculación. Esto se siguió por depleción de células T CD4⁺ absolutas en sangre periférica. En el animal RPn-8, se desarrolló SIDA, como se define por células T CD4⁺ persistentemente <200 células/ μ l, en la semana 135 p.1.; en los otros dos animales, RKI-8 y RTs-7, los recuentos absolutos de células T CD4⁺ fueron persistentemente <500 células/ μ l (Fig. 4). Como un signo adicional de enfermedad inducida por lentivirus, se desarrolló una trombocitopenia grave, persistente en el animal RPn-8, aunque hasta la fecha no se ha observado hemorragia.

Con el fin de determinar si ha surgido un virus más agresivo en el animal RPn-8 después de desarrollar SIDA, 10 ml de sangre se transfundieron en un receptor sin tratar, RBg-9. Tres meses después, este animal receptor desarrolló trombocitopenia y depleción de células T de memoria en sangre periférica. Estas dos anomalías han persistido después de los 18 meses siguientes. Tanto el donante como el receptor han permanecido persistentemente virémicos.

Ejemplo 4. Construcción y Transmisión Mucosal de SHIV-1157ipd3N4.

Después de que el primer mono (RPn-8) infectado con SHIV-1157i hubo progresado a SIDA, el virus se re-aisló con el fin de generar otro clon molecular. El virus re-aislado, denominado SHIV-1157ipd, se aisló cuatro semanas después de que el recuento absoluto de células T CD4⁺ del animal RPn-8 cayera hasta <200 células/μl. El clon 3 dio lugar al nivel más alto de virus infecciosos y se seleccionó para estudios adicionales (Figs. 4, 5). El análisis genético de las secuencias *env* de SHIV-1157ipd reveló varias mutaciones que resultaron en sustituciones de un único aminoácido en gp120, especialmente en V1, V2 y V4. También se observaron mutaciones en gp41. Cinco de los cinco clones secuenciados contenían una delección de 118 pb en el extremo 3' de *env*. Esta delección de 118 pb estaba localizada en el dominio intracelular de gp41 y dio lugar a una pérdida de 35 de los aminoácidos (aa) originales y, debido a un desplazamiento del marco, a una ganancia de 57 aa. La cubierta permaneció infecciosa.

Con el fin de maximizar la capacidad replicativa y aumentar las cargas virales in vivo, se añadieron elementos de control de la transcripción en el LTR lentiviral. Así, el LTR de SHIV-1157ipd3 se modificó para incrementar el número de sitios NF-κB. En un conjunto de construcciones solo-LTR unidas al gen informador luciferasa, se demostró una correlación directa entre la expresión génica mediada por LTR y el número de sitios NF-κB en ensayos de transfección transitoria (Fig. 6a). El efecto fue especialmente pronunciado cuando un plásmido de expresión *tat* se cotransfectó y se añadió TNF-α al medio, consistente con la cascada de transducción de la señal activada por esta citoquina. Después de la transfección y liberación del virus infeccioso, las modificaciones introducidas por ingeniería en el LTR 3' se copiarán en el LTR 5' en el ciclo de replicación viral posterior. Las cinéticas de replicación de los virus de estadio tardío que codifican dos sitios NF-κB produjeron niveles de producción mayores de p27 Gag y/o picos más tempranos para la estimulación con TNF-α que los virus que sólo contienen un sitio (Fig. 6b).

El virus SHIV-1157ipd3 no se replicó en células CEMx174 ni CEMx174-GFP ni en células U87.CD4, U87.CD4.CCR1, U87.CD4.CCR2, U87.CD4.CCR3, U87.CD4.CXCR4, GHOST-BOB y GHOST-BONZO. Sólo ocurrió infección productiva en células U87.CD4.CCR5 (Fig. 7a), lo que indica que SHIV-1157ipd3 de estadio tardío y su equivalente de 2 sitios NF-κB, SHIV-1157ipd3N4, todavía usan CCR5 como correceptor exclusivamente.

Con el fin de determinar si el virus tardío era susceptible de neutralización por los nmAb humanos ampliamente reactivos b12, 2G12, 2F5 y 4E10 (Fig. 7b) se realizaron ensayos en PBMC humanas. El virus tardío había perdido su sensibilidad a 2G12 que estaba correlacionado con la pérdida de un sitio clave de glicosilación unido a N en la posición de aa 295 que se requiere para formar el complejo de epítipo 2G12 (Scanlan et al., 2002); el nmAb 2G12 es único porque está dirigido a una estructura de carbohidrato pura que consiste en varios residuos de manano. Sin embargo, SHIV-1157ipd3N4 tardío no ha desarrollado resistencia global a la neutralización.

Así, se prepararon varias cepas SHIVenvC que codifican una de varias formas del gen *env* que se clonó originalmente a partir de R5 HIV1157i, una cepa de clado C. El virus se aisló a partir de un niño de Zambia que se descubrió que no tenía progresión a largo plazo (LTNP) durante el seguimiento prospectivo. Las construcciones SHIV y sus designaciones son como sigue:

- SHIV-1157i clon molecular infeccioso, todavía no adaptado a monos rhesus; "i" designa una cepa del virus (o gen *env*) aislada de un niño
- SHIV-1157ip aislado biológico obtenido después de paso a través de varios monos rhesus; "p" designa un virus pasado, adaptado a mono
- SHIV-1157ipd aislado biológico, "d" indica que el virus se re-aisló de un mono infectado con la enfermedad
- SHIV-1157ipd3 clon molecular infeccioso #3. La mitad 3' del provirus se derivó de un mono con enfermedad inducida por el virus
- SHIV-1157ipd3N4 idéntico a SHIV-1157ipd3 excepto en que cada LTR tiene 2 en lugar del 1 sitio NF-κB habitual.

Ejemplo 5. Ensayo de vacunación en animales expuestos a SHIV-1157ipd3N4.

Dos grupos de macacos recién nacidos se vacunaron (Grupo 1 y Grupo 3). A los animales del Grupo 1 se les proporcionó una combinación de plásmidos de expresión de ADN que codifican SIVgag-proteasal, HIVtat y HIV1084ienv. A los animales del Grupo 3 (controles) se les proporcionó vector de ADN vacío. El ADN se proporcionó en 2 puntos de tiempo – en el nacimiento y a las 6 semanas. Los animales descansaron y se les proporcionó refuerzos de proteína solubles que consisten en partículas SIV Gag-Pol derivadas de células infectadas con virus

- 5 vaccinia recombinantes, HIV Tat y HIV1084i gp160. A los animales del Grupo 2 con edad equivalente se les proporcionó proteínas solubles sin sensibilización con ADN. Las proteínas se proporcionaron en el mes 9, mes 11 y en el mes 24. Se evaluaron la inmunidad celular y humoral 2 semanas después de cada punto de tiempo de vacunación. Los animales se expusieron oralmente con SHIV-1157ip (Fig. 20, paneles A, B y C). Todos los RM recibieron una dosis relativamente baja de 3,7 AID₅₀ que podría ser responsable de menos del 100% de infección entre los controles. In vitro, PBMC deplecionadas de células T CD8⁺ de RM que habían permanecido sin infectar después de la exposición oral, fueron completamente susceptibles a infección por SHIV-1157i y SHIV-1157ipd3N4, descartando así la resistencia inherente a estos virus.
- 10 Como algunos vacunados parecen haber contenido SHIV-1157ip, se re-expusieron i.r. con 20 AID₅₀ de SHIV-1157ipd3N4. Los animales reexpuestos incluyeron un animal del Grupo 1 (sensibilización con ADN/refuerzo de proteína), 3 animales el Grupo 2 (inmunización de proteínas solo) y un animal del grupo control, RAr-9. Se muestran los niveles plasmáticos de vARN para RAr-9 después de la reexposición (Fig. 20E, rojo) y para un grupo de 8 animales control no vacunados adicionales expuestos de manera idéntica a SHIV-1157ipd3N4. En la semana 1, todos los animales control estaban infectados y los niveles de los picos de viremia variaron de 1,3 – 7,7 x 10⁷ copias de vARN/ml. Por el contrario, sólo 1 de 4 RM vacunados previamente tuvo virus detectable en la semana 1 (Fig. 15 20D). De los que estaban infectados, los niveles de los picos de viremia fueron un log menores que en controles (p=0,003). De manera importante, uno de los animales vacunados sólo con proteína, RAt-9, todavía no tenía evidencia de infección después de la reexposición a SHIV-1157ipd3N4. En el momento de la reexposición, este RM tenía una inmunidad celular fuerte frente a SIV Gag y HIV Tat.
- 20 Para conservar RM, la reexposición descrita fue paralela a una exposición i.r. de SHIV-1157ipd3N4 de los vacunados. Todos los RM en los 3 grupos de vacunas estuvieron infectados pero los niveles medios de los picos de viremia para los animales de los 3 grupos de vacuna combinados fueron significativamente menores que los controles (2,4 x 10⁷ frente a 4, x 10⁷ copias de vARN/ml; p= 0,006). Los niveles plasmáticos medios de viremia para el Grupo 3 RM solo que se sensibilizaron con ADN con clado C *env* y se reforzaron con clado B gp160 heterólogo 25 fueron los menores a 1,5 x 10⁷ copias de ARN/ml (p= 0,014).

LISTA DE SECUENCIAS

- 5 <110> DANA FARBER CANCER INSTITUTE, INC.
- <120> Métodos y composiciones para inducir una respuesta inmune frente a VIH y modelos para ensayo
- <130> 207032-67925
- 10 <140>
- <141>
- <150> 60/787.270
- 15 <151> 29-03-2006
- <160> 16
- <170> PatentIn Ver. 3.3
- 20 <210> 1
- <211> 2547
- <212> DNA
- 25 <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de nucleotido sintético
- <400> 1
- atgcgcggtga aggagaagta ccagcacctg tggcgctggg gctggcgctg gggcaccatg 60
- ctgctgggca tgctgatgat ctgctccgcc accgagaagc tgtgggtgac cgtgtactac 120
- ggcgtgcccg tgtggaagga ggccaagacc accctgttct gcgcctccga cgccaaggcc 180
- tacgagaagg aggtgcacaa catctgggcc acccagcctt gcgtgcccac cgaccccaac 240
- ccccaggaga tcgtgctgga gaacgtgacc gagaacttca acatgtggaa ggacgacatg 300
- gtggaccaga tgcacgagga catcatctcc ctgtgggacc agtccctgaa gccctgctgt 360
- aagctgaccc ccctgtgctg gaccctgaag tgctccaact tcacccgcga gggcaacgtg 420
- acctacaagg aggagatgga caaggtgaag aactgtctct tcaacgtgac caccggcatc 480
- cgcgacaaga agcagaaggt gaacgcccctg ttctaccgcc tggacatcac ccccctggac 540
- gagaacaaca acaactcctc cgagtaccgc ttgatcaact gcaagtcctc caccatcacc 600
- caggcctgcc ccaaggtgaa cttcgacccc atcccctcc actactgcgc ccgcccgcgc 660
- tacgccatcc tgaagtgcaa caacaagacc ttcaacggca ccggcccctg ccacaacgtg 720
- tccaccgtgc agtgcaccca cggcatcaag cccgtgggtg ccaccagct gctgctgaac 780
- ggctccctgg ccgagcgcga gatcatcatc cgtccgaga acctgaccga caacgtgaag 840
- accatcatcg tgcacttcaa cgagtccgtg gagatcaact gcacccgccc caacaacaac 900
- accgcgaagt ccatccgcat cggccccggc caggccttct acgccaccgg cgacatcatc 960
- ggcgacatcc gccaggcca ctgcaacatc tccaaggaga actggaacaa gaccctgcag 1020
- tgggtgctcg gcaagctgga ggagcacttc cccaacaaga ccatcgtgtt caagccctcc 1080
- tccggcggcg acctggagat caccacccac tccttcaact gccgcggcga gttcttctac 1140
- tgcaaacact ccaagctgtt caacggcacc gacaactcca cccacatgga caccggcaac 1200
- gacaccgtga tcaccatccc ctgccgcate aagcagatca tcaacatgtg gcaggaggtg 1260
- gggcgcgcca tgtacgcccc ccccatcgag ggcaacatca cctgcaagtc caacatcacc 1320
- ggcctgctgc tgggtgctgga cggcgccag gacaactcca ccaacaacac cgagaccttc 1380
- cgccccggcg gcgcgacat gcgcaacaac tggcgctccg agctgtacaa gtacaaggtg 1440
- gtggagatca agcccctggg catcgcccc accaaggcca agcgcgcgtt ggtggagctg 1500
- gagaagcgcg ccgtgggcat cggcgccgtg ttccctgggt tcctgggcgc cgccggctcc 1560
- accatgggcg ccgcctccat caccctgacc gtgcaggccc gccagctgct gtccggcatc 1620
- gtgcagcagc aggacaacct gctgcgcgcc atcgaggccc agcagcacat gctgcagctg 1680
- 30 accgtgtggg gcatcaaaca gctgcaggcc cgcgtgctgg ccatcgagcg ctacctgcag 1740


```

gaccagcagc tgctgggcat ctggggctgc tccggcaagc tgatctgcac caccgccgtg 1800
ccctggaacg cctcctggtc caacaagtcc cagaccgaca tctgggagaa catgacctgg 1860
atgcagtggg acaaggagat ctccaagcac accgacacca tctaccgect gctggaggac 1920
tcccagaacc agcaggagaa gaacgagaag gacctgctgg ccctggactc ctgggagaac 1980
ctgtggaact ggttctccat caccaagtgg ctgtggtaca tcaagatctt catcatgac 2040
gtgggcggcc tgatcggcct gcgcatcatc ttcgcccgtgc tgtccatcgt gtcccgcgtg 2100
cgccagggct actccccctt gtccttccag acccacctgc ccaccccccg cggccccgac 2160
cgccccgagg gcatcgagga ggagggcggc gagcgcgacc gcgaccgctc catccgcctg 2220
gtgaacggct ccctggcctt gatctgggac gacctgcgct ccctgtgcct gttctcctac 2280
caccgcctgc gcgacctgct gctgacgtg acccgcacgt tggagctgct gggccgcgcg 2340
ggctgggagg ccctgaagta ctggtggaac ctgctgcagt actggtcca ggagctgaag 2400
aactccgceg tgccctgct gaacgccacc gccatcgccg tggccgaggg caccgaccgc 2460
gtgatcgagg tgggtcaggg cgctgccgc gccatccgcc acatcccccg ccgcatgcgc 2520
cagggcctgg agcgcacact gctgtga 2547
    
```

<210> 2

<211> 848

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de proteína sintético

10

<400> 2

```

Met Arg Val Lys Glu Lys Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp Gly Trp Arg
  1                    5                10                15

Trp Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu
                20                25                30

Lys Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
                35                40                45

Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu
  50                55                60

Val His Asn Ile Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
  65                70                75                80

Pro Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
                85                90                95

Lys Asp Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
                100                105                110

Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr
  115                120                125

Leu Lys Cys Ser Asn Phe Thr Arg Glu Gly Asn Val Thr Tyr Lys Glu
  130                135                140

Glu Met Asp Lys Val Lys Asn Cys Ser Phe Asn Val Thr Thr Gly Ile
  145                150                155                160

Arg Asp Lys Lys Gln Lys Val Asn Ala Leu Phe Tyr Arg Leu Asp Ile
                165                170                175
    
```

Thr Pro Leu Asp Glu Asn Asn Asn Asn Ser Ser Glu Tyr Arg Leu Ile
 180 185 190
 Asn Cys Lys Ser Ser Thr Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Asn Phe
 195 200 205
 Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu
 210 215 220
 Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys His Asn Val
 225 230 235 240
 Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln
 245 250 255
 Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Arg Glu Ile Ile Ile Arg Ser
 260 265 270
 Glu Asn Leu Thr Asp Asn Val Lys Thr Ile Ile Val His Phe Asn Glu
 275 280 285
 Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser
 290 295 300
 Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile
 305 310 315 320
 Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn Ile Ser Lys Glu Asn Trp Asn
 325 330 335
 Lys Thr Leu Gln Trp Val Arg Gly Lys Leu Glu Glu His Phe Pro Asn
 340 345 350
 Lys Thr Ile Val Phe Lys Pro Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr
 355 360 365
 Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser
 370 375 380
 Lys Leu Phe Asn Gly Thr Asp Asn Ser Thr His Met Asp Thr Gly Asn
 385 390 395 400
 Asp Thr Val Ile Thr Ile Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met
 405 410 415
 Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Glu Gly Asn
 420 425 430
 Ile Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Val Arg Asp Gly
 435 440 445
 Gly Gln Asp Asn Ser Thr Asn Asn Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly
 450 455 460
 Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val
 465 470 475 480

Val Glu Ile Lys Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg
485 490 495

Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu
500 505 510

Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr
515 520 525

Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln
530 535 540

Asp Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu
545 550 555 560

Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Ile Glu
565 570 575

Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly
580 585 590

Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn
595 600 605

Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Glu Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp
610 615 620

Lys Glu Ile Ser Lys His Thr Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Asp
625 630 635 640

Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp
645 650 655

Ser Trp Glu Asn Leu Trp Asn Trp Phe Ser Ile Thr Lys Trp Leu Trp
660 665 670

Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg
675 680 685

Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val Ser Arg Val Arg Gln Gly Tyr
690 695 700

Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr His Leu Pro Thr Pro Arg Gly Pro Asp
705 710 715 720

Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Arg Asp Arg Asp Arg
725 730 735

Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Ser Leu Ala Leu Ile Trp Asp Asp Leu
740 745 750

Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu
755 760 765

Ile Val Thr Arg Ile Val Glu Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp Glu Ala
770 775 780

Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu Leu Gln Tyr Trp Ser Gln Glu Leu Lys
 785 790 795 800

Asn Ser Ala Val Ser Leu Leu Asn Ala Thr Ala Ile Ala Val Ala Glu
 805 810 815

Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Val Val Gln Gly Ala Cys Arg Ala Ile
 820 825 830

Arg His Ile Pro Arg Arg Met Arg Gln Gly Leu Glu Arg Ile Leu Leu
 835 840 845

<210> 3
 <211> 2313
 5 <212> DNA
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de nucleotido sintético

10 <400> 3

```

atgcgcgtga aggagaagta ccagcacctg tggcgcctggg gctggcgctg gggcaccatg 60
ctgctgggca tgctgatgat ctgctccgcc accgagaagc tgtgggtgac cgtgtactac 120
ggcgtgcccg tgtggaagga ggccaagacc accctgttct gcgcctccga cgccaaggcc 180
tacgagaagg aggtgcacaa catctgggcc acccagcctt gcgtgcccac cgaccccaac 240
ccccaggaga tcgtgctgga gaacgtgacc gagaacttca acatgtggaa ggacgacatg 300
gtggaccaga tgcacgagga catcatctcc ctgtgggacc agtccctgaa gccctgcctg 360
ggcgcggcg cctgcccaca ggtgaacttc gaccccatcc ccatccacta ctgcgcccc 420
gccggctacg ccatcctgaa gtgcaacaac aagaccttca acggcaaccg cccctgccac 480
aacgtgtcca ccgtgcagtg caccacggc atcaagcccg tgggtgtccac ccagctgctg 540
ctgaacggct ccctggccga gcgcgagatc atcatccgct ccgagaacct gaccgacaac 600
gtgaagacca tcatcgtgca cttcaacgag tccgtggaga tcaactgcac ccgcccacaac 660
aacaacaccc gcaagtccat ccgcatcggc cccggccagg ccttctacgc caccggcgac 720
atcatcggcg acatccgcca ggcccactgc aacatctcca aggagaactg gaacaagacc 780
ctgcagtggg tgcgcggcaa gctggaggag cacttcccca acaagaccat cgtgttcaag 840
ccctcctccg gcggcgacct ggagatcacc acccactcct tcaactgccg cggcgagttc 900
ttctactgca acacctcaa gctgttcaac ggcaccgaca actccacca catggacacc 960
ggcaaccgaca ccgtgatcac catcccctgc cgcacaaagc agatcatcaa catgtggcag 1020
gaggtggggc gcgccatgta ccccccccc atcgagggca acatcacctg caagtccaac 1080
atcacgggce tgetgctggt gcgcgacggc ggccaggaca actccacca caacaccgag 1140
accttccgcc ccggcgggcg cgacatgcgc aacaactggc gctccgagct gtacaagtae 1200
aaggtggtgg agatcaagcc cctgggcate gccccacca aggccaagcg ccgctggtg 1260
gagcgcgaga agcgcgccgt gggcatcggc gccgtgttcc tgggettcct gggcgccgcc 1320
ggctccacca tgggcgccgc ctccatcacc ctgaccgtgc aggcccgcca gctgctgtcc 1380
ggcatcgtgc agcagcagga caacctgctg cgcgccatcg aggccagca gcacatgctg 1440
cagctgaccg tgtggggcat caaacagctg caggcccgcg tgetggccat cgagcgctac 1500
ctgcaggacc agcagctgct gggcatctgg ggctgctccg gcaagctgat ctgcaccacc 1560
gccgtgccct ggaacgcctc ctggtccaac aagtcccaga cgcacatctg ggagaacatg 1620
acctggatgc agtgggacaa ggagatctcc aagcacaccg acaccatcta ccgcctgctg 1680
gaggactccc agaaccagca ggagaagaac gagaaggacc tgetggccct ggactcctgg 1740
gagaacctgt ggaactggtt ctccatcacc aagtggctgt ggtacatcaa gatcttcatc 1800
atgatcgtgg gggcctgat cggcctgcgc atcatcttcg ccgtgctgtc catcgtgtcc 1860
cgcgtgcgcc agggctactc cccctgtcc ttcagaccc acctgccac cccccgggc 1920
cccgaccgcc ccgagggatc cgaggaggag ggcggcgagc gcgaccgca ccgctccatc 1980
cgctggtgga acggctccct ggccctgatc tgggacgacc tgcgctccct gtgectgttc 2040
tcctaccacc gcctgcgcga cctgctgctg atcgtgacc gcacgtgga gctgctgggc 2100
cgccgcggtc gggaggccct gaagtactgg tggaaacctgc tgcagtactg gtcccaggag 2160
ctgaagaact ccgctgtgtc cctgctgaac gccaccgcca tcgcccgtggc cgagggcacc 2220
gaccgcgtga tcgaggtggt gcagggcgcc tggcgcgcca tccgccacat cccccgggc 2280
atgcgccagg gcctggagcg catcctgctg tga 2313
    
```

<210> 4
 <211> 770
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de proteína sintético

10 <400> 4
Met Arg Val Lys Glu Lys Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp Gly Trp Arg
1 5 10 15

Trp Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu
20 25 30

Lys Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
35 40 45

Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu
50 55 60

Val His Asn Ile Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
65 70 75 80

Pro Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
85 90 95

Lys Asp Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
100 105 110

Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Gly Ala Gly Ala Cys Pro Lys Val
115 120 125

Asn Phe Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala
130 135 140

Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys His
145 150 155 160

Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser
165 170 175

Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Arg Glu Ile Ile Ile
180 185 190

Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asp Asn Val Lys Thr Ile Ile Val His Phe
195 200 205

Asn Glu Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg
 210 215 220
 Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Asp
 225 230 235 240
 Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn Ile Ser Lys Glu Asn
 245 250 255
 Trp Asn Lys Thr Leu Gln Trp Val Arg Gly Lys Leu Glu Glu His Phe
 260 265 270
 Pro Asn Lys Thr Ile Val Phe Lys Pro Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu
 275 280 285
 Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn
 290 295 300
 Thr Ser Lys Leu Phe Asn Gly Thr Asp Asn Ser Thr His Met Asp Thr
 305 310 315 320
 Gly Asn Asp Thr Val Ile Thr Ile Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile
 325 330 335
 Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Glu
 340 345 350
 Gly Asn Ile Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Val Arg
 355 360 365
 Asp Gly Gly Gln Asp Asn Ser Thr Asn Asn Thr Glu Thr Phe Arg Pro
 370 375 380
 Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr
 385 390 395 400
 Lys Val Val Glu Ile Lys Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Lys Ala Lys
 405 410 415
 Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val
 420 425 430
 Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser
 435 440 445
 Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln
 450 455 460
 Gln Gln Asp Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu
 465 470 475 480
 Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala
 485 490 495
 Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys
 500 505 510

Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp
 515 520 525

Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Glu Asn Met Thr Trp Met Gln
 530 535 540

Trp Asp Lys Glu Ile Ser Lys His Thr Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu
 545 550 555 560

Glu Asp Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala
 565 570 575

Leu Asp Ser Trp Glu Asn Leu Trp Asn Trp Phe Ser Ile Thr Lys Trp
 580 585 590

Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly
 595 600 605

Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val Ser Arg Val Arg Gln
 610 615 620

Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr His Leu Pro Thr Pro Arg Gly
 625 630 635 640

Pro Asp Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Arg Asp Arg
 645 650 655

Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Ser Leu Ala Leu Ile Trp Asp
 660 665 670

Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu
 675 680 685

Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp
 690 695 700

Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu Leu Gln Tyr Trp Ser Gln Glu
 705 710 715 720

Leu Lys Asn Ser Ala Val Ser Leu Leu Asn Ala Thr Ala Ile Ala Val
 725 730 735

Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Val Val Gln Gly Ala Cys Arg
 740 745 750

Ala Ile Arg His Ile Pro Arg Arg Met Arg Gln Gly Leu Glu Arg Ile
 755 760 765

Leu Leu
 770

<210> 5
 <211> 2232
 <212> DNA
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de nucleotido sintético

<400> 5

```

atgcgcgtga aggagaagta ccagcacctg tggcgctggg gctggcgctg gggcaccatg 60
ctgctgggca tgctgatgat ctgctccgcc accgagaagc tgtgggtgac cgtgtactac 120
ggcgtgcccg tgtggaagga ggccaagacc accctgttct gcgcctccga cgccaaggcc 180
tacgagaagg aggtgcacaa catctgggcc acccacgcct gcgtgcccac cgaccccaac 240
ccccaggaga tcgtgctgga gaacgtgacc gagaacttca acatgtggaa ggacgacatg 300
gtggaccaga tgcacgagga catcatctcc ctgtgggacc agtccctgaa gccctgcgtg 360
ggcgccggcg cctgccccaa ggtgaacttc gaccccatcc ccatccacta ctgcgcccc 420
gcccggctacg ccatcctgaa gtgcaacaac aagaccttca acggcaccgg cccctgccac 480
aacgtgtcca ccgtgcagtg caccacggc atcaagcccg tgggtgtccac ccagctgctg 540
ctgaacggct ccctggccga gcgcgagatc atcatccgct ccgagaacct gaccgacaac 600
gtgaagacca tcatcgtgca cttcaacgag tccgtggaga tcaactgcac cggcgccggc 660
gcccactgca acatctccaa ggagaactgg aacaagacce tgcagtgggt gcgcgccaag 720
ctggaggagc acttccccaa caagaccatc gtgttcaagc cctcctccgg cgggcaccctg 780
gagatcacca cccactcctt caactgcccgc ggcgagttct tctactgcaa cacctccaag 840
ctgttcaacg gcaccgacaa ctccacccac atggacaccg gcaacgacac cgtgatcacc 900
atccccctgcc gcatcaagca gatcatcaac atgtggcagg aggtggggcg gccatggtg 960
gcccccccga tgcagggcaa catcacctgc aagtccaaca tcaccggcct gctgctggtg 1020
cgcgacggcg gccagggcaa ctccaccaac aacaccgaga ccttccgccc cgggcgccggc 1080
gacatgcgca acaactggcg ctccgagctg tacaagtaca aggtgggtga gatcaagccc 1140
ctgggcatcg cccccaccaa ggccaagcgc cgcgtggtgg agcgcgagaa gcgcgccgtg 1200
ggcatcggcg ccgtgttctt gggcttctct ggcgcccgcg gctccaccat gggcgccgce 1260
tccatcacc ctgaccgtgca ggcccgcag ctgctgtccg gcatcgtgca gcagcaggac 1320
aacctgctgc gcgccatcga ggcccagcag cacatgctgc agctgaccgt gtggggcatc 1380
aaacagctgc aggcccgct gctggccatc gagcgctacc tgcaggacca gcagctgctg 1440
ggcatctggg gctgctccgg caagctgatc tgcaccaccg ccgtgccctg gaacgcctcc 1500
tggtecaaca agteccagac cgacatctgg gagaacatga cctggatgca gtgggacaag 1560
gagatctcca agcacaccga caccatctac cgcctgctgg aggactcca gaaccagcag 1620
gagaagaacg agaagacct gctggccctg gactcctggg agaacctgtg gaactgggtc 1680
tccatcacca agtggctgtg gtacatcaag atcttcatca tgatcgtggg cggcctgatc 1740
ggcctgcgca tcatcttcgc cgtgctgtcc atcgtgtccc gcgtgcgcca gggctactcc 1800
cccctgtcct tccagaccca cctgcccacc ccccgcggcc ccgaccgcc cgaggggatc 1860
gaggaggagg gcggcgagcg cgaccgcgac cgctccatcc gcctggtgaa cggctccctg 1920
gccctgatct gggacgacct gcgctccctg tgctgttct cctaccaccg cctgcgcgac 1980
ctgctgctga tcgtgaccgg catcgtggag ctgctgggce gccgcggtg ggaggccctg 2040
aagtactggg ggaacctgct gcagtaactg tcccaggagc tgaagaacte cgccgtgtcc 2100
ctgctgaacg ccaccgccat cgccgtggcc gagggcaccg acccgctgat cgagggtggtg 2160
cagggcgcc tccgcgccat ccgccaacat ccccgcgca tgcgccaggg cctggagcgc 2220
atcctgctgt ga 2232
    
```

5

<210> 6

<211> 743

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de proteína sintético

15 <400> 6

```

Met Arg Val Lys Glu Lys Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp Gly Trp Arg
  1           5           10           15
    
```


Trp Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu
 20 25 30
 Lys Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
 35 40 45
 Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu
 50 55 60
 Val His Asn Ile Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
 65 70 75 80
 Pro Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
 85 90 95
 Lys Asp Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
 100 105 110
 Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Gly Ala Gly Ala Cys Pro Lys Val
 115 120 125
 Asn Phe Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala
 130 135 140
 Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys His
 145 150 155 160
 Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser
 165 170 175
 Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Arg Glu Ile Ile Ile
 180 185 190
 Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asp Asn Val Lys Thr Ile Ile Val His Phe
 195 200 205
 Asn Glu Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Gly Ala Gly Ala His Cys Asn
 210 215 220
 Ile Ser Lys Glu Asn Trp Asn Lys Thr Leu Gln Trp Val Arg Gly Lys
 225 230 235 240
 Leu Glu Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Val Phe Lys Pro Ser Ser
 245 250 255
 Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu
 260 265 270
 Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Lys Leu Phe Asn Gly Thr Asp Asn Ser
 275 280 285
 Thr His Met Asp Thr Gly Asn Asp Thr Val Ile Thr Ile Pro Cys Arg
 290 295 300
 Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Met Tyr
 305 310 315 320

Ala Pro Pro Ile Glu Gly Asn Ile Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly
 325 330 335

Leu Leu Leu Val Arg Asp Gly Gly Gln Asp Asn Ser Thr Asn Asn Thr
 340 345 350

Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser
 355 360 365

Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Ile Lys Pro Leu Gly Ile Ala
 370 375 380

Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val
 385 390 395 400

Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr
 405 410 415

Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu
 420 425 430

Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asp Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala
 435 440 445

Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln
 450 455 460

Ala Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu
 465 470 475 480

Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro
 485 490 495

Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Glu Asn
 500 505 510

Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Ser Lys His Thr Asp Thr
 515 520 525

Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Asp Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu
 530 535 540

Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Glu Asn Leu Trp Asn Trp Phe
 545 550 555 560

Ser Ile Thr Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val
 565 570 575

Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val
 580 585 590

Ser Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr His Leu
 595 600 605

Pro Thr Pro Arg Gly Pro Asp Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu Glu Gly
 610 615 620

Gly Glu Arg Asp Arg Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Ser Leu
625 630 635 640

Ala Leu Ile Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His
645 650 655

Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu Leu Leu
660 665 670

Gly Arg Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu Leu Gln
675 680 685

Tyr Trp Ser Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Val Ser Leu Leu Asn Ala
690 695 700

Thr Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Val Val
705 710 715 720

Gln Gly Ala Cys Arg Ala Ile Arg His Ile Pro Arg Arg Met Arg Gln
725 730 735

Gly Leu Glu Arg Ile Leu Leu
740

<210> 7
<211> 2169
5 <212> DNA
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de nucleotido sintético

<400> 7
atgCGcgtga aggagaagta ccagcacctg tggcgctggg gctggcgctg gggcaccatg 60
ctgctgggca tgetgatgat ctgctccgcc accgagaagc tgtgggtgac cgtgtactac 120
ggcgtgcccg tgtggaagga ggccaagacc accctgttct gcgcctccga cgccaaggcc 180
tacgagaagg aggtgcacaa catctgggcc acccacgctt gcgtgcccac cgaccccaac 240
ccccaggaga tegtgtctgga gaacgtgacc gagaacttca acatgtggaa ggacgacatg 300
gtggaccaga tgcacgagga catcatctcc ctgtgggacc agtccctgaa gccctgctgtg 360
ggcgccggcg cctgccccaa ggtgaacttc gaccccatcc ccatcacta ctgCGcccc 420
gccggctacg ccatacctgaa gtgcaacaac aagaccttca acggcaccgg cccctgccac 480
aacgtgtcca ccgtgcagtg caccacggc atcaagcccg tgggtgtccac ccagctgctg 540
ctgaacggct ccctggccga gcgcgagatc atcatccgct ccgagaacct gaccgacaac 600
gtgaagacca tcatcgtgca cttcaacgag tccgtggaga tcaactgcac cggcgccggc 660
gcccactgca acatctccaa ggagaactgg aacaagacc tgcagtgggt gcgCGgcaag 720
ctggaggagc acttccccaa caagaccatc gtgttcaagc cctcctccgg cggcgacctg 780
gagatcacca cccactcctt caactgccgc ggcgagtctt tctactgcaa cggcgccggc 840
ccctgccgca tcaagcagat catcaacatg tggcaggagg tggggcgcgc catgtacgcc 900
ccccccatcg agggcaacat cacctgcaag tccaacatca ccggcctgct gctgggtgcgc 960
gacggcgggc aggacaactc caccaacaac accgagacct tccgccccgg cggcgggcgc 1020
atgcgcaaca actggcgctc cgagctgtac aagtacaagg tgggtggagat caagcccctg 1080
ggcatcgccc ccaccaaggc caagcgccgc gtgggtggagc gcgagaagcg cgccgtgggc 1140
atcgcgcccg tgttcctggg ctctctgggc gccgcccggc ccaccatggg cgccgcctcc 1200
atcaccctga ccgtgcagge ccgccagctg ctgtccggca tctgtgcagca gcaggacaac 1260
ctgctgcgcg ccatacagge ccagcagcac atgctgcagc tgaccgtgtg gggcatcaaa 1320
cagctgcagg cccgcgtgct ggccatcgag cgctacctgc aggaccagca gctgctgggc 1380

```

atctggggct gctccggcaa gctgatctgc accaccgceg tgccctggaa cgcctcctgg 1440
tccaacaagt cccagaccga catctgggag aacatgacct ggatgcagtg ggacaaggag 1500
atctccaagc acaccgacac catctaccgc ctgctggagg actcccagaa ccagcaggag 1560
aagaacgaga aggacctgct ggccctggac tcctgggaga acctgtggaa ctggttctcc 1620
atcaccaagt ggctgtggta catcaagatc ttcatcatga tcgtgggcgg cctgatcggc 1680
ctgcgcacatca tcttcgccgt gctgtccatc gtgtcccgcg tgcgccaggg ctactcccc 1740
ctgtccttcc agaccacct gccaccctcc cgcggccccg accgccccga gggcatcgag 1800
gaggagggcg gcgagcgcga ccgcgaccgc tccatccgcc tgggtaacgg ctccctggcc 1860
ctgatctggg acgacctgcg ctccctgtgc ctggttctct accaccgct gcgcgacctg 1920
ctgctgatcg tgaccgcgat cgtggagctg ctgggcccgc gcggtggga ggccctgaag 1980
tactggtgga acctgctgca gtactggtcc caggagetga agaactccgc cgtgtccctg 2040
ctgaacgccca ccgccatcgc cgtggccgag ggcaccgacc gcgtgatcga ggtggtgcag 2100
ggcgccctgcc gcgccatccg ccacatcccc cgcgcgatgc gccagggcct ggagcgcate 2160
ctgctgtga                                     2169
    
```

<210> 8
 <211> 722
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de proteína sintético

10

```

<400> 8
Met Arg Val Lys Glu Lys Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp Gly Trp Arg
  1                    5                10                15

Trp Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu
      20                25                30

Lys Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
      35                40                45

Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu
      50                55                60

Val His Asn Ile Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
      65                70                75                80

Pro Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
      85                90                95

Lys Asp Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
      100                105                110

Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Gly Ala Gly Ala Cys Pro Lys Val
      115                120                125

Asn Phe Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala
      130                135                140

Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys His
      145                150                155                160

Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser
      165                170                175
    
```

Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Arg Glu Ile Ile Ile
 180 185 190
 Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asp Asn Val Lys Thr Ile Ile Val His Phe
 195 200 205
 Asn Glu Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Gly Ala Gly Ala His Cys Asn
 210 215 220
 Ile Ser Lys Glu Asn Trp Asn Lys Thr Leu Gln Trp Val Arg Gly Lys
 225 230 235 240
 Leu Glu Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Val Phe Lys Pro Ser Ser
 245 250 255
 Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu
 260 265 270
 Phe Phe Tyr Cys Asn Gly Ala Gly Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile
 275 280 285
 Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Glu
 290 295 300
 Gly Asn Ile Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Val Arg
 305 310 315 320
 Asp Gly Gly Gln Asp Asn Ser Thr Asn Asn Thr Glu Thr Phe Arg Pro
 325 330 335
 Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr
 340 345 350
 Lys Val Val Glu Ile Lys Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Lys Ala Lys
 355 360 365
 Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val
 370 375 380
 Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser
 385 390 395 400
 Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln
 405 410 415
 Gln Gln Asp Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu
 420 425 430
 Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala
 435 440 445
 Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys
 450 455 460
 Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp
 465 470 475 480

Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Glu Asn Met Thr Trp Met Gln
 485 490 495

Trp Asp Lys Glu Ile Ser Lys His Thr Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu
 500 505 510

Glu Asp Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala
 515 520 525

Leu Asp Ser Trp Glu Asn Leu Trp Asn Trp Phe Ser Ile Thr Lys Trp
 530 535 540

Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly
 545 550 555 560

Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val Ser Arg Val Arg Gln
 565 570 575

Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr His Leu Pro Thr Pro Arg Gly
 580 585 590

Pro Asp Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Arg Asp Arg
 595 600 605

Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Ser Leu Ala Leu Ile Trp Asp
 610 615 620

Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu
 625 630 635 640

Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp
 645 650 655

Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu Leu Gln Tyr Trp Ser Gln Glu
 660 665 670

Leu Lys Asn Ser Ala Val Ser Leu Leu Asn Ala Thr Ala Ile Ala Val
 675 680 685

Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Val Val Gln Gly Ala Cys Arg
 690 695 700

Ala Ile Arg His Ile Pro Arg Arg Met Arg Gln Gly Leu Glu Arg Ile
 705 710 715 720

Leu Leu

<210> 9
 <211> 3925
 <212> DNA
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de nucleotido sintético

<400> 9

gcatgctgta	gagcaagaaa	tggagccagt	agatcctaga	ctagagccct	ggaagcatcc	60
aggaagcagg	cctaaaactg	cttgtaccaa	ttgctattgt	aaaaagtgtt	gctttcattg	120
ccaagtttgt	ttcataacaa	aagccctagg	catctcctat	ggcaggaaga	agcggagaca	180
gcgacgaaga	gctcatcaga	acagtcagac	tcatcaagct	tctctatcaa	agcagtaagt	240
agtacatgta	atgcaatcta	tacaaataga	aatagtagca	ttagtagtag	caataataat	300
agcaatagtt	gtgtgggtcca	tagtaatcat	agaatatagg	aaaatattaa	gacaaagaaa	360
aatagacagg	ttaattaata	gactaataga	aagagcagaa	gacagtggca	atgagagtga	420
aggagaaata	tcagcacttg	tggagatggg	ggaggagatg	gggcatcatg	ctccttggga	480
tgttgatgat	ctgtagtgct	acagaaaaat	gtgtgggtcac	agtctattat	ggggtagctg	540
tatgaaaaga	agcaaaaact	actttattct	gtgcatcaaa	tgctaaagca	tatgagaaag	600
aagtacataa	catctgggct	acacatgcct	gtgtaccac	agacccaac	ccacaagaaa	660
tagttttggg	aaatgtaaca	gaaaatttta	acatgtggaa	aaatgacatg	gtggatcaga	720
tgcatgagga	tataatcagt	ttatgggatc	aaagcctaaa	gccatgtgta	aagttgactt	780
cactctgtgt	cactttaaag	tgtagtaatt	ttaccgggaa	gagtaatggt	acctacaaag	840
gggatatgga	agtaaaaaat	tgctctttca	atgtaaccac	agaaataaga	gataagaagc	900
agaaagtgta	tgctcttttt	tatagacttg	atataacacc	acttgatgac	aactctagtg	960
agtatatatt	aataaattgc	aattcctcaa	ccataacaca	agcctgtcca	aaggtcaatt	1020
ttgacccaat	tcctatacat	tattgtgctc	cagctggtta	tgcgattcta	aagtgtaata	1080
ataagacatt	taatgggaca	ggaccatgcc	ataatgtcag	tacagtacaa	tgtacacatg	1140
gaattaagcc	agtggatca	actcaactac	tgtaaacgg	tagcctagca	gaaggggaga	1200
taataattag	atctgaaaat	ctgacagaca	atgtcaaac	aataatagta	cactttaatg	1260
aatctgtaga	aattacttgt	acaagaccca	acaataatac	aagaaaaagt	ataagcatag	1320
gaccaggaca	agcaatctat	gccacaggtg	atataatagg	agacataaga	caagcacact	1380
gtaacattag	taaagaaaaat	tggaacaaaa	ctttacaatg	ggtaagggga	aaattaaaaag	1440
aacacttccc	taataaaaaca	atagtattta	aaccatcctc	aggaggggat	ctagaaatta	1500
caacacatag	ctttaattgt	agaggagaat	ttttctattg	caacacatca	aaactgttta	1560
atagtcaga	caatagtaca	cacatgggta	cagaaaaata	tacaatcatc	acaatccctg	1620
gtagaataaa	acaaattata	aacatgtggc	aggaggtagg	acgagcaatg	tatgcccccc	1680
ccatagaagg	aaacataaca	tgtaaatcaa	atatcacagg	actactactg	gtacgtgatg	1740
gaggatggga	caacagtaca	aatgacacag	aaacattcag	gcctggagga	ggagatatga	1800
gggacaattg	gagaagtgaa	ttatataaat	ataaggtggt	agaagtcaag	ccattgggga	1860
tagcaccac	taaggcaaaa	aggagagtgg	tggagagaga	aaaaagagca	gtgggaatag	1920
gagctgtggt	ccttgggttc	ttgggagcag	caggaagcac	tatgggcgcg	gcgtcaataa	1980
cgctgacggt	acaggccaga	caactgttgt	ctgggtatagt	gcagcagcaa	gacaatttgc	2040
tgagagctat	agagcgcgaa	caacatagt	tgcaactcac	agtctggggc	attaagcagc	2100
tccagcagag	agtcctggct	atagaaagat	acctacagga	tcaacagctc	ctagggattt	2160
ggggctgctc	tggaaaaactc	atctgcacca	ctgctgtgcc	ttggaacgac	agttggagta	2220
ataaatctca	aacagatatt	tgggagaaca	tgacctggat	gcagtgggat	agagaaatta	2280
gtagacacac	agacacaata	tacaggttgc	ttgaagactc	acaaaaccag	caggagaaaa	2340
atgaaaaaga	tttattagca	ttggacagtt	ggaaaaattt	gtggaattgg	tttagcataa	2400
caaggtggct	gtgggtatata	aaaatattca	taatgatagt	aggaggcctg	ataggtttga	2460
gaataatftt	tgctgtgctc	tcgatagtga	atagagttag	gcagggatac	tcaccattat	2520
cgtttcagac	ccacctcca	cttccgaggg	gagccgacag	gcccgaagga	atagaagaag	2580
aaggtggaga	gagagacaga	gacagatcca	ttcgattagt	gaccggatcc	ttagcactta	2640
tctgggacga	tctgaggagc	ctgtgcctct	tcagctacca	ccgcttgaga	gacttactct	2700
tgattgtaac	gaggactgtg	gaactcctgg	gacgcagagg	gtgggaagcc	ctcaaatatt	2760
ggtggaatct	cctactgtat	tggagtcagg	aactaaagaa	tagtgctgtt	agcttgctca	2820
acgccacagc	catagcagta	agacaatatg	ggtggagcta	tttccatgag	gcggtccagg	2880
ccgtctggag	atctgcgaca	gagactcttg	cgggcgcgtg	gggagactta	tgggagattc	2940
ttaggagagg	tggaaagatgg	atactcgcaa	tcccaggag	gattagacaa	gggctcgagc	3000
tcactctctt	gtgagggaca	gaaatacaat	cagggacagc	atatgaatac	tccatggaga	3060
aaccagctg	aagagggaga	aaaattagca	tacagaaaac	aaaatatgga	tgatatagat	3120
gaggaagatg	atgacttgg	aggggtatca	gtgagggcaa	aagttctcct	agaacaatg	3180
agttacaaat	tggcaataga	catgtctcat	tttataaaaag	aaaagggggg	actggaaggg	3240
atftattaca	gtgcaagaag	acatagaatc	ttagacatat	acttagaaaa	ggaagaaggg	3300
atcataccag	attggcagga	ttacacctca	ggaccaggaa	ttagataccc	aaagacattt	3360
ggctggctat	ggaaattagt	ccctgtagat	gtatcagatg	aggcacagga	ggatgaggag	3420

```

cattacttaa tgcattccagc tcaaacttec cagtgggatg acccttgggg agaggttcta 3480
gcatggaagt ttgatccaac tctggcctac acttatgagg catatgtag ataccagaa 3540
gagtttgaa gcaagtcagg cctgtcagag gaagaggta gaagaaggct aaccgcaaga 3600
ggccttetta acatggctga caagaaggaa actcgctgaa acagcagga cttccacaa 3660
ggggatgta cggggaggta ctggggagga gccggtcggg aacgccact ttcttgatgt 3720
ataaatatca ctgcatttcg ctctgtatc agtcgctctg cggagaggct ggcagattga 3780
gccctgggag gttctctcca gactagcag gtagagcctg ggtgttcctt gctagactct 3840
caccagcact tggccgggtgc tgggcagagt gactccacgc ttgcttactt aaagccctct 3900
tcaataaagc tgccatttag aagta 3925

```

<210> 10

<211> 867

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de proteína sintético

<400> 10

```

Met Arg Val Lys Glu Lys Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp Gly Trp Arg
  1          5          10          15

Trp Gly Ile Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu
      20          25          30

Lys Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
      35          40          45

Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asn Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu
      50          55          60

Val His Asn Ile Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
      65          70          75

Pro Gln Glu Ile Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
      85          90          95

Lys Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
      100         105         110

Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Ser Leu Cys Val Thr
      115         120         125

Leu Lys Cys Ser Asn Phe Thr Gly Lys Ser Asn Val Thr Tyr Lys Gly
      130         135         140

Asp Met Glu Val Lys Asn Cys Ser Phe Asn Val Thr Thr Glu Ile Arg
      145         150         155         160

Asp Lys Lys Gln Lys Val Tyr Ala Leu Phe Tyr Arg Leu Asp Ile Thr
      165         170         175

Pro Leu Asp Asp Asn Ser Ser Glu Tyr Ile Leu Ile Asn Cys Asn Ser
      180         185         190

```


Ser Thr Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Pro
 195 200 205

Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn
 210 215 220

Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys His Asn Val Ser Thr Val Gln
 225 230 235 240

Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn
 245 250 255

Gly Ser Leu Ala Glu Gly Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr
 260 265 270

Asp Asn Val Lys Thr Ile Ile Val His Phe Asn Glu Ser Val Glu Ile
 275 280 285

Thr Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Ser Ile Gly
 290 295 300

Pro Gly Gln Ala Ile Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg
 305 310 315 320

Gln Ala His Cys Asn Ile Ser Lys Glu Asn Trp Asn Lys Thr Leu Gln
 325 330 335

Trp Val Arg Gly Lys Leu Lys Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Val
 340 345 350

Phe Lys Pro Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe
 355 360 365

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

Ser Thr Asp Asn Ser Thr His Met Gly Thr Glu Asn Asn Thr Ile Ile
 385 390 395 400

Thr Ile Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val
 405 410 415

Gly Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Glu Gly Asn Ile Thr Cys Lys
 420 425 430

Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Val Arg Asp Gly Gly Trp Asp Asn
 435 440 445

Ser Thr Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg
 450 455 460

Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys
 465 470 475 480

Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg
 485 490 495

Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu Gly
 500 505 510
 Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln
 515 520 525
 Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asp Asn Leu Leu
 530 535 540
 Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly
 545 550 555 560
 Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln
 565 570 575
 Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys
 580 585 590
 Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Asp Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr
 595 600 605
 Asp Ile Trp Glu Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Arg Glu Ile Ser
 610 615 620
 Arg His Thr Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Asp Ser Gln Asn Gln
 625 630 635 640
 Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn
 645 650 655
 Leu Trp Asn Trp Phe Ser Ile Thr Arg Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile
 660 665 670
 Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala
 675 680 685
 Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser
 690 695 700
 Phe Gln Thr His Leu Pro Leu Pro Arg Gly Ala Asp Arg Pro Glu Gly
 705 710 715 720
 Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Arg Asp Arg Asp Arg Ser Ile Arg Leu
 725 730 735
 Val Thr Gly Ser Leu Ala Leu Ile Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys
 740 745 750
 Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg
 755 760 765
 Thr Val Glu Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp
 770 775 780
 Trp Asn Leu Leu Leu Tyr Trp Ser Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Val
 785 790 795 800

Ser Leu Leu Asn Ala Thr Ala Ile Ala Val Arg Gln Tyr Gly Trp Ser
 805 810 815

Tyr Phe His Glu Ala Val Gln Ala Val Trp Arg Ser Ala Thr Glu Thr
 820 825 830

Leu Ala Gly Ala Trp Gly Asp Leu Trp Glu Ile Leu Arg Arg Gly Gly
 835 840 845

Arg Trp Ile Leu Ala Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Leu Glu Leu
 850 855 860

Thr Leu Leu
 865

<210> 11
 <211> 263
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de proteína sintético

<400> 11

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

Leu Val Pro Val Asp Val Ser Asp Glu Ala Gln Glu Asp Glu Glu His
 180 185 190

Tyr Leu Met His Pro Ala Gln Thr Ser Gln Trp Asp Asp Pro Trp Gly
 195 200 205

Glu Val Leu Ala Trp Lys Phe Asp Pro Thr Leu Ala Tyr Thr Tyr Glu
 210 215 220

Ala Tyr Val Arg Tyr Pro Glu Glu Phe Gly Ser Lys Ser Gly Leu Ser
 225 230 235 240

Glu Glu Glu Val Arg Arg Arg Leu Thr Ala Arg Gly Leu Leu Asn Met
 245 250 255

Ala Asp Lys Lys Glu Thr Arg
 260

<210> 12
 <211> 597
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: proteína consenso sintética

<400> 12

Met Arg Val Trp Trp Trp Gly Leu Gly Leu Met Ile Leu Trp Val Thr
 1 5 10 15

Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys Thr Thr Leu Phe
 20 25 30

Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Glu Val His Asn Ile Trp Ala
 35 40 45

Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro Gln Glu Val Leu Glu
 50 55 60

Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Asp Met Val Asp Gln Met His
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Ala
 85 90 95

Cys Pro Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro
 100 105 110

Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Gly
 115 120 125

Pro Cys Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val
 130 135 140

Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Ile Ile Ile
 145 150 155 160
 Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn Val Lys Thr Ile Ile Val His Val Ile
 165 170 175
 Cys Thr Gly Gly Ala His Cys Asn Ile Ser Trp Asn Thr Leu Gln Val
 180 185 190
 Lys Leu Glu His Phe Pro Asn Thr Val Phe Lys Pro Ser Ser Gly Gly
 195 200 205
 Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu Phe Phe
 210 215 220
 Tyr Cys Asn Pro Cys Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Val Gly
 225 230 235 240
 Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Gly Asn Ile Thr Cys Lys Ser Asn
 245 250 255
 Ile Thr Gly Leu Leu Leu Arg Asp Gly Gly Asn Thr Glu Phe Arg Pro
 260 265 270
 Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys
 275 280 285
 Val Val Ile Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Lys Val
 290 295 300
 Val Glu Arg Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Phe Leu Gly Phe Leu
 305 310 315 320
 Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Thr Leu Thr Val Gln
 325 330 335
 Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Leu Leu Arg
 340 345 350
 Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile
 355 360 365
 Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp
 370 375 380
 Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr
 385 390 395 400
 Thr Val Pro Trp Asn Ser Trp Ser Lys Ser Asp Ile Trp Asn Met Thr
 405 410 415
 Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Thr Thr Ile Tyr Leu Leu Asp Ser
 420 425 430
 Gln Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Asn
 435 440 445

Leu Trp Asn Trp Phe Ile Thr Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile
 450 455 460

Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu
 465 470 475 480

Ser Val Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr Pro
 485 490 495

Pro Arg Gly Pro Asp Arg Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Asp Arg Asp
 500 505 510

Arg Ser Ile Arg Leu Val Gly Leu Ala Leu Trp Asp Asp Leu Arg Ser
 515 520 525

Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu Ile Val Arg Glu
 530 535 540

Leu Leu Gly Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Leu Gln Tyr Trp Glu
 545 550 555 560

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

Thr Asp Arg Val Ile Glu Val Gln Cys Arg Ala Ile Ile Pro Arg Arg
 580 585 590

Arg Gln Gly Glu Leu
 595

<210> 13
 <211> 839
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: constructo sintético

<400> 13
 Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Tyr Pro Gln Trp Trp Ile Trp
 1 5 10 15

Gly Ile Leu Gly Phe Leu Met Ile Tyr Asn Gly Met Gly Ser Leu Trp
 20 25 30

Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys Thr Thr
 35 40 45

Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Arg Glu Val His Asn
 50 55 60

Ile Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro Gln Glu
 65 70 75 80

Leu Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Glu Asn Asp
 85 90 95

Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser
 100 105 110

Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu Asn Cys
 115 120 125

Thr Asp Val Lys Ser Ala Asn Ser Thr Ser Glu Asp Met Arg Asn Cys
 130 135 140

Ser Phe Asn Val Thr Thr Glu Ile Lys Asp Arg Lys Lys Leu Glu Gln
 145 150 155 160

Ala Leu Phe Tyr Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Lys Asn Ser Ser Ser
 165 170 175

Ser Asn Phe Ser Glu Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser Thr Val
 180 185 190

Ser Gln Ala Cys Pro Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr
 195 200 205

Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe
 210 215 220

Asn Gly Ser Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His
 225 230 235 240

Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu
 245 250 255

Ala Glu Glu Asp Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn Asn Val
 260 265 270

Lys Thr Ile Ile Val His Leu Lys Asp Tyr Val Lys Ile Val Cys Thr
 275 280 285

Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Met Arg Ile Gly Pro Gly Gln
 290 295 300

Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Glu Ile Ile Gly Asn Ile Arg Glu Ala His
 305 310 315 320

Cys Asn Ile Ser Gly Ser Lys Trp Asn Asn Thr Leu Gln Arg Val Lys
 325 330 335

Lys Lys Leu Gly Glu His Phe Pro Asn Asn Thr Thr Val Asp Phe Lys
 340 345 350

Pro Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys
 355 360 365

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

Ser Glu Ser Asn Ser Thr Ile Thr Leu Pro Cys Lys Ile Lys Gln Ile
 385 390 395 400

Ile Asn Met Trp Gln Gly Val Gly Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile
 405 410 415
 Ala Gly Asn Ile Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr
 420 425 430
 Arg Asp Gly Gly Asn Gly Asn Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly
 435 440 445
 Gly Asp Met Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val
 450 455 460
 Val Lys Ile Glu Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg
 465 470 475 480
 Val Val Arg Arg Gly Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Leu Phe Leu
 485 490 495
 Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Leu Thr
 500 505 510
 Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln
 515 520 525
 Asn Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu
 530 535 540
 Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Ile Glu
 545 550 555 560
 Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly
 565 570 575
 Lys Leu Ile Cys Thr Thr Asp Val Pro Trp Asn Ser Ser Trp Ser Ser
 580 585 590
 Lys Ser Tyr Glu Asp Ile Trp Thr Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp
 595 600 605
 Lys Glu Ile Asn Asn Tyr Thr Asn Thr Ile Tyr Gln Leu Leu Val Asp
 610 615 620
 Ser Gln Thr Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Glu Leu Leu Ala Leu Asp
 625 630 635 640
 Ser Trp Lys Asn Leu Trp Asn Trp Phe Asn Ile Thr Asn Trp Leu Trp
 645 650 655
 Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg
 660 665 670
 Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Met Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr
 675 680 685
 Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr Leu Thr Pro Asn Pro Arg Gly Pro Asp
 690 695 700

Arg Leu Gly Arg Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Gln Asp Arg Asp Arg
 705 710 715 720

Ser Ile Arg Leu Val Ser Gly Phe Leu Ala Leu Ala Trp Asp Asp Leu
 725 730 735

Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Cys Ile Leu
 740 745 750

Ile Val Ala Arg Ala Ala Glu Leu Leu Gly Arg Ser Ser Leu Arg Gly
 755 760 765

Leu Gln Lys Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Leu Gly Ser Leu Val Gln
 770 775 780

Tyr Trp Gly Leu Glu Leu Lys Lys Ser Ala Val Ser Leu Leu Asp Thr
 785 790 795 800

Thr Ala Thr Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Leu Val
 805 810 815

Gln Arg Ile Cys Arg Ala Ile Cys Asn Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln
 820 825 830

Gly Phe Glu Ala Ala Leu Gln
 835

<210> 14

<211> 1727

5 <212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: nucleótido consenso sintético

10

<400> 14

caggagcgag cgctcgggtgg cgatgcccac gggcctgacg cgtgtggcga cctcccagcc 60
 aaatcccacg cacggagtgc tacgagacca cccgcaacct cccgcctgcc ccaaggtagaa 120
 cttegacccc atcccacatcc actactgcgc ccccgcgggc tacgccaatcc tgaagtgcaa 180
 caacaagacc ttcaacggcc cggcccctgc acaacgtgtc caccgtgcag tgcaccacg 240
 gcatcaagcc cgtgggtgtcc acccagctgc tgctgaacgg ctcccctggcc gaggaatcat 300
 catccgctcc gagaacctga ccacaacgtg aagaccatca tcgtgacta agatcgtgag 360
 atctgcaccg ccccgcccaac tgcaacatct ccaatggaac aaaccctgca gggtagaagct 420
 gggagcactt cccaacaaa ccatacgttca agccctcctc cggcggcgac ctggagatca 480
 ccaccactc cttcaactgc cgcggcgagt tcttctactg caaccccccc tgcataaagc 540
 agatcatcaa catgtggcag ggtgggcgcg ccatgtacgc cccccccatc gggcaacatc 600
 acctgcaagt ccaacatcac cggcctgctg ctgctgcgacg gcggcaccac ccaccgagac 660
 tccgccccg gcggcggcga catgcccaca actggcctc cgagctgtac aagtacaagg 720
 tggtagatc agcccctggg catgcccc accaaggcca agcgcgcgt ggtggagcgc 780
 gaagcgcgcc gtgggcatcg gcgcctgttc ctgggcttcc tgggcggccg cggtccacc 840
 atgggcgccc cctcctaacc tgaccgtgca ggcccggcag ctgctgtccg gcatcgtgca 900
 gcagcagaca acctgctgcg cgccatcgag gccccagcag acatgctgca gctgaccgtg 960
 tggggcatca acagctgcag gcccgctgc tgcccacga gcgctacctg caggcaggaa 1020
 agctgctggg catctggggc tgcctcggca agctgatctg caccaccgcg tggcctggaa 1080
 cctcctggg cccaagtcca gacatctgga acatgacctg gatgcagtg gacaaggaga 1140
 tccaaacacc acaccatcta ccctgctggg gactcccaga ccagcaggag aagaacgaga 1200

```

aggactgctg gccctggact cctggagaac ctgtggaact ggttccatca ccaatggctg 1260
tggtagatca agatcttcat catgatcgtg ggcgccctga tcggcctgcg catcatcttc 1320
gccgtgctgt ccatgtgccg cgtgcccag ggctactccc cctgtcctt ccagaccccc 1380
cacccccgcg gccccgaccg ccggcatcga ggaggagggc ggcgagcgac cgcgaccgct 1440
ccatccgctt ggtgcggttc ctggccctgc tgggacgacc tgcgctccct gtgctgttc 1500
tcctaccacc gcctgcgcga ctctgatcgt gcccgcggga gctgctgggc cgcggctgg 1560
gaggecctga agtacggcct gtgcagtact ggccggagct gaagaatccg ccttccttgc 1620
tgaccacccg ccatcgccgt ggccgagggc accgaccgct atcgagtgtc aggctgccc 1680
cgccatcgca catcccccg cgcacgcca gggctgagcc ctgcgta 1727

```

<210> 15

<211> 2520

5 <212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de nucleótido sintético

10

<400> 15

```

atgcgctg gcggcatcca gcgcaactac cccagtggt ggatctgggg catcctgggc 60
ttcctgatga tctacaacgg catgggctcc ctgtgggtga ccgtgacta cggcgtgccc 120
gtgtggaagg aggccaagac caccctgttc tgcctcccg acgccaaggc ctacgagcgc 180
gaggtgcaca acatctgggc caccacgccc tgcggtccca ccgaccccaa ccccaggag 240
ctggtgctgg agaacgtgac cgagaacttc aacatgtggg agaacgacat ggtggaccag 300
atgacagagg acatcatctc cctgtgggac cagtccctga agcctgctg gaagctgacc 360
cccctgtgcg tgaccctgaa ctgcaaccgac gtgaagtccg ccaactccac ctccgaggac 420
atgegcaact gtccttcaa cgtgaccacc gagatcaagg accgcaagaa gctggagcag 480
gccctgttct accgctgga catcgtgccc ctgaagaact cctcctcctc caacttctcc 540
gagtaccgce tgatcaactg caacacctcc accgtgtccc aggcctgccc caaggtgaac 600
ttcgacccca tccccatcca ctactgcgce cccgcccggc acgcatcct gaagtgaac 660
aacaagacct tcaacggctc cggcccctgc aacaacgtgt ccaccgtgca gtgacccac 720
ggcatcaagc ccgtggtgtc caccagctg ctgctgaacg gtcctctggc cgaggaggac 780
atcatcatcc gtcggagaa cctgaccaac aacgtgaaga ccatcatcgt gcacctgaag 840
gactacgtga agatcgtgtg caccgcccc aacaacaaca cccgcaagtc catgctgcatc 900
ggccccggcc aggccttcta cgcaccggc gagatcatcg gcaacatccg cgaggcccac 960
tgcaacatct ccggtccaa gtggaacaac accctgcagc gcgtgaagaa gaagctgggc 1020
gagcacttcc ccaacaacac caccatcgac tcaagccct cctccggcg gcacctggag 1080
atcaccacc actccttcaa ctgcccggc gagttcttct actgcaaac ctccaagctg 1140
ttcaacggca cctccgagtc caactccacc atcaccctgc cctgcaagat caagcagatc 1200
atcaacatgt ggcagggcgt gggccgcgcc atgtacgccc cccccatcgc cggcaacatc 1260
acctgcaagt ccaacatcac cggcctgctg ctgaccgcg acggcggcaa cggcaacggc 1320
accgagatct tccgccccgg cggcggcgac atgcccgaca actggcgctc cgagctgtac 1380
aagtacaagg tggtgaagat cgagcccctg ggcacgccc ccaccaaggc caagcggcgc 1440
gtggtggagc gcggcaagcg cgccgtgggc atcggcgccc tgttcctggg cttcctgggc 1500
gccgcccggc ccaccatggg cgcgcctcc ctgaccctga ccgtgcaggc ccgcccagctg 1560
ctgtccggca tcgtgcagca gcagaacaac ctgctgcccg ccatcgaggc ccagcagcac 1620
atgetgcagc tgaccgtgtg gggcatcaag cagctgcagg cccgctgtct ggccatcgag 1680
cgctacctgc aggaccagca gctgtggggc atctggggct gctccggcaa gctgatctgc 1740
accaccgacg tgccctggaa ctctcctg tctccaagt cctacgagga catctggacc 1800
aacatgacct ggatgcagtg ggacaaggag atcaacaact acaccaaac catctaccag 1860
ctgctggtgg actcccagac ccagcaggag aagaacgaga aggagctgct ggccctggac 1920
tctggaaga acctgtggaa ctggttcaac atcaccaact ggctgtggta catcaagatc 1980
ttcatcatga tcgtgggccc cctgatcggc ctgcccata tcttcgccc gctgtccatg 2040
gtgaaccgcg tgcgccagg ctactcccc ctgtccttcc agaccctgac cccaacccc 2100
cgcggccccg accgctggg ccgcatcgag gaggagggcg gcgagcagga ccgacccgc 2160
tccatccgce tggtgtccgg ctctcctggc ctggcctggg acgacctgct ctccctgtgc 2220

```

ctgttctcct accaccgcct gcgcgactgc atcctgatcg tggcccgcgc cgccgagctg 2280
 ctgggecget cctccctgcg cggectgcag aagggtgagg aggcctgaa gtacctgggc 2340
 tccctgggag agtactgggg cctggagctg aagaagtccg ccatctccct gctggacacc 2400
 accgccatcg ccgtggccga gggcaccgac cgcacatcgc agctgatcca gcgcacatcgc 2460
 cgcgccatct gcaacatccc ccgcccgate cgccagggtt tcgaggccgc cctgcagtaa 2520

<210> 16

<211> 263

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: constructo de proteína sintético

10

<400> 16

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

ES 2 388 443 T3

Ala Tyr Val Arg Tyr Pro Glu Glu Phe Gly Ser Lys Ser Gly Leu Ser
225 230 235 240

Glu Glu Glu Val Arg Arg Arg Leu Thr Ala Arg Gly Leu Leu Asn Met
245 250 255

Ala Asp Lys Lys Glu Thr Arg
260

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido de la cubierta de VIH de clado C aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:2.
- 5 2. Un polipéptido de la cubierta de VIH de clado C modificado en el que la región V1/V2 ha sido delecionada, comprendiendo dicho polipéptido modificado la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4.
3. Un polipéptido de la cubierta de VIH de clado C modificado en el que las regiones V1/V2 y V3 han sido delecionadas, comprendiendo dicho polipéptido modificado la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6.
- 10 4. Un polipéptido de la cubierta de VIH de clado C modificado en el que las regiones V1/V2, V3 y V4 han sido delecionadas, comprendiendo dicho polipéptido modificado la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8.
5. Un polinucleótido aislado que comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:1, que codifica el polipéptido de la reivindicación 1.
6. Un polinucleótido aislado que comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:3, que codifica el polipéptido de la reivindicación 2.
- 15 7. Un polinucleótido aislado que comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:5, que codifica el polipéptido de la reivindicación 3.
8. Un polinucleótido aislado que comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:7, que codifica el polipéptido de la reivindicación 4.
9. Una construcción que comprende el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 5-8.
- 20 10. Una composición que comprende el polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 5-8, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
11. Una composición según la reivindicación 10 para inducir una respuesta inmune en un sujeto.
12. Una composición según la reivindicación 10 para la fabricación de un medicamento para inducir una respuesta inmune en un sujeto.
- 25 13. Una composición para usarse como se define en la reivindicación 11 o reivindicación 12, en la que la composición o medicamento es para administrarse con un segundo antígeno VIH.
14. Una composición para usarse como se define en la reivindicación 13, en la que dicho segundo antígeno VIH es gp120 o gp160.
- 30 15. Una partícula viral VIH recombinante que comprende una región de la cubierta que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:10 o está codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:9.
16. La partícula viral recombinante de la reivindicación 15, en la que la partícula viral comprende además la secuencia de aminoácidos Nef de SEQ ID NO:11.
17. La partícula viral recombinante de la reivindicación 15 o reivindicación 16, que comprende dos o más regiones NF-κB.
- 35 18. La partícula viral recombinante de la reivindicación 17, que comprende tres o más regiones NF-κB.
19. Una composición que comprende la partícula viral recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 15-18.

PRETTYBOX de : aa2.msF(*) 9 de febrero , 2006 11:32:04.33

1157ipenvd123-codon-op	HRVKEKYYQHL	WRWCGWRWGTW	LLGMLMI	CSA	TEKLNVT	VVY	GVPVWKEAKT	50
157ipenvd1234-codon-op	MRVKEKYYQHL	WRWCGWRWGTW	LLGMLMI	CSA	TEKLNVT	VVY	GVPVWKEAKT	50
iv-1157ip-env-codon-op	MRVKEKYYQHL	WRWCGWRWGTW	LLGMLMI	CSA	TEKLNVT	VVY	GVPVWKEAKT	50
hiv10841env-codon-op	NRVRCGIQRNY	PQWNIWG	ILGFLMI	YNG	MGS	LNVT	GVPVWKEAKT	47
Consenso	NRV---	---W-W-G-	---L-G-L-M-I---	---	---	LNVT	GVPVWKEAKT	50
1157ipenvd123-codon-op	TLFCASDAKA	YEVHNIWA	THACVPTDPN		POEIVLE	NVT	ENENMMKDDM	100
157ipenvd1234-codon-op	TLFCASDAKA	YEVHNIWA	THACVPTDPN		POEIVLE	NVT	ENENMMKDDM	100
iv-1157ip-env-codon-op	TLFCASDAKA	YEVHNIWA	THACVPTDPN		POEIVLE	NVT	ENENMMKDDM	100
hiv10841env-codon-op	TLFCASDAKA	YEVHNIWA	THACVPTDPN		POEIVLE	NVT	ENENMMKDDM	97
Consenso	TLFCASDAKA	YEVHNIWA	THACVPTDPN		POEIVLE	NVT	ENENMMKDDM	100
1157ipenvd123-codon-op	VDQMHEDIIS	LWDQSLKPCV						120
157ipenvd1234-codon-op	VDQMHEDIIS	LWDQSLKPCV						120
iv-1157ip-env-codon-op	VDQMHEDIIS	LWDQSLKPCV						150
hiv10841env-codon-op	VDQMHEDIIS	LWDQSLKPCV						142
Consenso	VDQMHEDIIS	LWDQSLKPCV						150
1157ipenvd123-codon-op	NCSENVTTGI	RDRKKRVNAL	FYRLDI	TPL	DENNNS	SSSY	RLINCK	121
157ipenvd1234-codon-op	NCSENVTTGI	RDRKKRVNAL	FYRLDI	TPL	DENNNS	SSSY	RLINCK	121
iv-1157ip-env-codon-op	NCSENVTTGI	RDRKKRVNAL	FYRLDI	TPL	DENNNS	SSSY	RLINCK	199
hiv10841env-codon-op	NCSENVTTGI	RDRKKRVNAL	FYRLDI	TPL	DENNNS	SSSY	RLINCK	192
Consenso	NCSENVTTGI	RDRKKRVNAL	FYRLDI	TPL	DENNNS	SSSY	RLINCK	200
1157ipenvd123-codon-op	AGACPKNVNF	PIPIHYCAPA	GYAILK	CNNK	TFNG	IGPC	HN	171
157ipenvd1234-codon-op	AGACPKNVNF	PIPIHYCAPA	GYAILK	CNNK	TFNG	IGPC	HN	171
iv-1157ip-env-codon-op	AGACPKNVNF	PIPIHYCAPA	GYAILK	CNNK	TFNG	IGPC	HN	249
hiv10841env-codon-op	AGACPKNVNF	PIPIHYCAPA	GYAILK	CNNK	TFNG	IGPC	HN	242
Consenso	AGACPKNVNF	PIPIHYCAPA	GYAILK	CNNK	TFNG	IGPC	HN	250

FIGURA 1

PRETTYBOX de: aa2.msaf (*) 9 de febrero, 2006 11:32:04.33

1157ipenvd123-codon-op	KPVVSTQLLL	NGSLAERREII	IRSENLTDMV	KTIIVHPNES	VEINCT...	217
157ipenvd1234-codon-op	KPVVSTQLLL	NGSLAERREII	IRSENLTDMV	KTIIVHPNES	VEINCT...	217
iv-1157ip-env-codon-op	KPVVSTQLLL	NGSLAERREII	IRSENLTDMV	KTIIVHPNES	VEINCTTRPNN	299
hiv10841env-codon-op	KPVVSTQLLL	NGSLAERREII	IRSENLTDMV	KTIIVHPNES	VKIVCTTRPNN	292
Consenso	KPVVSTQLLL	NGSLAERREII	IRSENLTDMV	KTIIVHPNES	V-I-C-P--	300
1157ipenvd123-codon-op	GA	GA	AHCN	TSKENWKKTL	QWVRGKLEEH	244
157ipenvd1234-codon-op	GA	GA	AHCN	TSKENWKKTL	QWVRGKLEEH	244
iv-1157ip-env-codon-op	NRRKSRICP	QAFTATGDI	IGDIRQAHCN	TSKENWKKTL	QWVRGKLEEH	349
hiv10841env-codon-op	NRRKSRICP	QAFTATGDI	IGDIRQAHCN	TSKENWKKTL	QWVRGKLEEH	342
Consenso	GA	GA	AHCN	TSKENWKKTL	Q-V--KL-EH	350
1157ipenvd123-codon-op	FPNKIIV	PSGGDLLEIT	TSFNCRCGEF	FYCNTRRLEN	GTDNSTHMDT	293
157ipenvd1234-codon-op	FPNKIIV	PSGGDLLEIT	TSFNCRCGEF	FYCNTRRLEN	GTDNSTHMDT	293
iv-1157ip-env-codon-op	FPNKIIV	PSGGDLLEIT	TSFNCRCGEF	FYCNTRRLEN	GTDNSTHMDT	279
hiv10841env-codon-op	FPNKIIV	PSGGDLLEIT	TSFNCRCGEF	FYCNTRRLEN	GTDNSTHMDT	398
Consenso	FPNKIIV	PSGGDLLEIT	TSFNCRCGEF	FYCNTRRLEN	G-T-S-E-S	387
1157ipenvd123-codon-op	GNDTVITIPC	RIKQIINMWQ	EVGRAMYAPP	ISGNIYCKSN	ITGLLLVRDG	343
157ipenvd1234-codon-op	GNDTVITIPC	RIKQIINMWQ	EVGRAMYAPP	ISGNIYCKSN	ITGLLLVRDG	322
iv-1157ip-env-codon-op	GNDTVITIPC	RIKQIINMWQ	EVGRAMYAPP	ISGNIYCKSN	ITGLLLVRDG	448
hiv10841env-codon-op	GNDTVITIPC	RIKQIINMWQ	EVGRAMYAPP	ISGNIYCKSN	ITGLLLVRDG	435
Consenso	GNDTVITIPC	RIKQIINMWQ	EVGRAMYAPP	ISGNIYCKSN	I-T-G-L-L-L-R-D-G	450
1157ipenvd123-codon-op	QDNSTNNTTE	TFRPGCCDMR	NNWRSELYRY	KVVEIKPLGI	APTAKARRVV	393
157ipenvd1234-codon-op	QDNSTNNTTE	TFRPGCCDMR	NNWRSELYRY	KVVEIKPLGI	APTAKARRVV	372
iv-1157ip-env-codon-op	QDNSTNNTTE	TFRPGCCDMR	NNWRSELYRY	KVVEIKPLGI	APTAKARRVV	498
hiv10841env-codon-op	QDNSTNNTTE	TFRPGCCDMR	NNWRSELYRY	KVVEIKPLGI	APTAKARRVV	482
Consenso	QDNSTNNTTE	TFRPGCCDMR	NNWRSELYRY	KVVEIKPLGI	A-P-T-K-A-K-R-R-V-V	500

FIGURA 1 (CONTINUACIÓN)

PRETTYBOX de: aa2.msE(*) 9 de febrero, 2006 11:32:04.33

1157ipenvd123-codon-op	ERERKRAVGI	AVFLGFLGAA	GSTMGAASIT	LTVQARQLLS	GIVQQQDNLL	443
157ipenvd1234-codon-op	ERERKRAVGI	AVFLGFLGAA	GSTMGAASIT	LTVQARQLLS	GIVQQQDNLL	422
iv-1157ip-env-codon-op	ERERKRAVGI	AVFLGFLGAA	GSTMGAASIT	LTVQARQLLS	GIVQQQDNLL	548
hiv1084ienv-codon-op	ERERKRAVGI	AVFLGFLGAA	GSTMGAASIT	LTVQARQLLS	GIVQQQDNLL	532
Consenso	ER-KRAVGI	A-FLGFLGAA	GSTMGAAS-T	LTVQARQLLS	GIVQQQ-NLL	550
1157ipenvd123-codon-op	RAIEAQQHML	QLTVWGIKQL	QARVLAIERY	LQDQQLLGIW	GC8GKLICTT	493
157ipenvd1234-codon-op	RAIEAQQHML	QLTVWGIKQL	QARVLAIERY	LQDQQLLGIW	GC8GKLICTT	472
iv-1157ip-env-codon-op	RAIEAQQHML	QLTVWGIKQL	QARVLAIERY	LQDQQLLGIW	GC8GKLICTT	598
hiv1084ienv-codon-op	RAIEAQQHML	QLTVWGIKQL	QARVLAIERY	LQDQQLLGIW	GC8GKLICTT	582
Consenso	RAIEAQQHML	QLTVWGIKQL	QARVLAIERY	LQDQQLLGIW	GC8GKLICTT	600
1157ipenvd123-codon-op	AVPWNASWSN	KSQTDIWFNM	TWMQWDKEIS	KKTDTIYRLL	ED8QNQQEKN	543
157ipenvd1234-codon-op	AVPWNASWSN	KSQTDIWFNM	TWMQWDKEIS	KKTDTIYRLL	ED8QNQQEKN	522
iv-1157ip-env-codon-op	AVPWNASWSN	KSQTDIWFNM	TWMQWDKEIS	KKTDTIYRLL	ED8QNQQEKN	648
hiv1084ienv-codon-op	DVPWNSSWSB	KSQTDIWFNM	TWMQWDKEIN	NYRNTIYQLL	VDSQTQQEKN	632
Consenso	-V PWN-SWS-	KS--DIW-NM	TWMQWDKEI-	--T-TIY-LL	-D8Q-QQEKN	650
1157ipenvd123-codon-op	EKDLALD8W	ENLWNWFSIT	NWLWYIKIFI	MIVGGLIGLR	IIFAVLSIVS	593
157ipenvd1234-codon-op	EKDLALD8W	ENLWNWFSIT	NWLWYIKIFI	MIVGGLIGLR	IIFAVLSIVS	572
iv-1157ip-env-codon-op	EKDLALD8W	ENLWNWFSIT	NWLWYIKIFI	MIVGGLIGLR	IIFAVLSIVS	698
hiv1084ienv-codon-op	EKDLALD8W	ENLWNWFSIT	NWLWYIKIFI	MIVGGLIGLR	IIFAVLSMVN	682
Consenso	EK-LALD8W	-NLWNWF-IF	-NLWYIKIFI	MIVGGLIGLR	IIFAVLS-V-	700
1157ipenvd123-codon-op	RVRQGY8PLS	FQTHLPTPRG	PDRPEGIEEE	GG8RDRDRSI	RLVNG8LALI	643
157ipenvd1234-codon-op	RVRQGY8PLS	FQTHLPTPRG	PDRPEGIEEE	GG8RDRDRSI	RLVNG8LALI	622
iv-1157ip-env-codon-op	RVRQGY8PLS	FQTHLPTPRG	PDRPEGIEEE	GG8RDRDRSI	RLVNG8LALI	748
hiv1084ienv-codon-op	RVRQGY8PLS	FQTLTPNPRG	PDRLGRIEEE	GG8QDRDRSI	RLV8GFLALA	732
Consenso	RVRQGY8PLS	FQT--P-PRG	PDR--I3EE	GG8-DRDRSI	RLV-G-LAL-	750

FIGURA 1 (CONTINUACIÓN)

PETTYBOX de: aa2.msrf(*) 9 de febrero, 2006 11:32:04.33

1157ipenvd123-codon-op	WDDLRBLCLEF	SYHRLRD LLL	IVTR IV ELLG	R.....RG	WEALKY WNNL	696
157ipenvd1234-codon-op	WDDLRSLCLEF	SYHRLRD LLL	IVTR IV ELLG	R.....RG	WEALKY WNNL	665
iv-1157ip-env-codon-op	WDDLRBLCLEF	SYHRLRD LLL	IVTR IV ELLG	R.....RG	WEALKY WNNL	791
hiv1084ienv-codon-op	WDDLRSLCLEF	SYHRLRD CIL	IVABAAELLG	RS SLRG LQG	WEALKY LGS L	782
Consenso	WDDLRBLCLEF	SYHRLRD --L	IV-R--ELLG	R-----G	WEALKY--L	800
1157ipenvd123-codon-op	LQYWSQELKX	SAVSLLNATA	IAVAEGTDRV	IEVVGACRA	IRH IPRRMRQ	736
157ipenvd1234-codon-op	LQYWSQELKX	SAVSLLNATA	IAVAEGTDRV	IEVVGACRA	IRH IPRRMRQ	715
iv-1157ip-env-codon-op	LQYWSQELKX	SAVSLLNATA	IAVAEGTDRV	IEVVGACRA	IRH IPRRMRQ	841
hiv1084ienv-codon-op	VQYWGLELKK	BAVSLLDTTA	IAVAEGTDRV	IELVQRICRA	ICN IPRRI RQ	832
Consenso	-QYW--ELK-	SAVSLL--TA	IAVAEGTDRV	IE-VQ--CRA	I--IPRR-RQ	850
1157ipenvd123-codon-op	GLERILL * 743					
157ipenvd1234-codon-op	GLERILL * 722					
iv-1157ip-env-codon-op	GLERILL * 848					
hiv1084ienv-codon-op	SEBAALQ * 839					
Consenso	G-E-L-L--					

FIGURA 1 (CONTINUACIÓN)


```

251          dna2.msf{11571penvd123-codon-op}          300
          dna2.msf{11571penvd1234-codon-op}          agtacCaGcA cctgtGcgC tgGggCTggc gCtgGgGcac catgctgcTG
          dna2.msf{shiv-11571p-env-codon-op}          agtacCaGcA cctgtGcgC tgGggCTggc gCtgGgGcac catgctgcTG
          dna2.msf{shiv-11571p-env-codon-op}          tcgtgCtGgA gaacgtGacC gaGaaCTtca aCatGtGgaa ggacgacaTG
          dna2.msf{hiv10841env-codon-op}             tggtgCtGgA gaacgtGacC gaGaaCTtca aCatGtGgaa gaacgacaTG
          Consenso                                     -----G--C --G--CT--- -C--G-G--- -----TG
301          dna2.msf{11571penvd123-codon-op}          350
          dna2.msf{11571penvd1234-codon-op}          GgcatgCtGA TGatCtGctc CgcCACcGag aaGctGtggg tGaCCgTGtA
          dna2.msf{shiv-11571p-env-codon-op}          GgcatgCtGA TGatCtGctc CgcCACcGag aaGctGtggg tGaCCgTGtA
          dna2.msf{hiv10841env-codon-op}             GtggacCaGA TGcaCgagga CatCATctcc ctGtgGgacc aGtCCcTGaA
          Consenso                                     G-----C-GA TG--C----- C--CA-C--- --G--G---- -G-CC-TG-A
351          dna2.msf{11571penvd123-codon-op}          400
          dna2.msf{11571penvd1234-codon-op}          ctaCgGCGTG cccgTGtggg aggaGgcCaa GACCaccctg TtctgcccT
          dna2.msf{shiv-11571p-env-codon-op}          ctaCgGCGTG cccgTGtggg aggaGgcCaa GACCaccctg TtctgcccT
          dna2.msf{hiv10841env-codon-op}             gccCtGCCGTg aagTGacc cccTGTgCgt GACCctgaag TgctccaaCt
          Consenso                                     ---C-GCGTG ----TG---- ----G--C-- GACC----- T-----C-
401          dna2.msf{11571penvd123-codon-op}          450
          dna2.msf{11571penvd1234-codon-op}          cGyaCgccaA GgcCtaCgag aaggaggtgc AcaAcATctg ggccaccacc
          dna2.msf{shiv-11571p-env-codon-op}          cGyaCgccaA GgcCtaCgag aaggaggtgc AcaAcATctg ggccaccacc
          dna2.msf{hiv10841env-codon-op}             cCaaCCcgcgA GggCaaCgtg acctacaagg AggAgATgga caaggtgaaG
          Consenso                                     -C--C-----A G--C--C--- -----A--A-AT--- -----
451          dna2.msf{11571penvd123-codon-op}          500
          dna2.msf{11571penvd1234-codon-op}          gcCtgCgtgc cACCGaccC CAaccCcaag gagatcgtGc tGgAGaacgT
          dna2.msf{shiv-11571p-env-codon-op}          aaCtgCtccT tCAaCGtgac CAccggCatac cgcgacaaGa aGcAGaacgT
          dna2.msf{hiv10841env-codon-op}             ttCaaCgtga cCAcCGagat CAaggaCcgG aagaagctGg aGcAGaacgT
          Consenso                                     --C--C----- -CA-CG---- CA-----G- -G-AG----T

```

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

```

501          dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
          dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
          dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
          dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
          Consenso
          GacCgagaac tTcaACatgt gGaaggacga CatggtGgAC cagatgcaCg
          GacCgagaac tTcaACatgt gGaaggacga CatggtGgAC cagatgcaCg
          GaaCgcctg tTctACcgc tGgacatcac CccctGgAC gagaacaaCa
          GttCtaccgc cTgGACatcg tG.....cc CctgaaGaaC tctctctcCt
          G--C----- -T--AC--- -G----- C-----G-AC -----C-
          550

          dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
          dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
          dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
          dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
          Consenso
          aggACatCat CtccctgtGg gaccagtcCc tgAAGcCCTg CgtggggcGC
          aggACatCat CtccctgtGg gaccagtcCc tgAAGcCCTg CgtggggcGC
          acaACTcCtc CgagtaccGc ttgatcaaCt gAAAgCCTc CaccatcaCC
          ccaACTtCtc CgagtaccGc ctgatcaaCt gAAAcCCTc CaccgtgtCC
          ---AC--C-- C-----G- ---AA--CCT- C-----CC-
          600

          dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
          dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
          dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
          dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
          Consenso
          ggCGCCTGCC CCAAGGTGAA CTTGACCCc ATCCCCATCC ACTACTGCGC
          ggCGCCTGCC CCAAGGTGAA CTTGACCCc ATCCCCATCC ACTACTGCGC
          cagGCCTGCC CCAAGGTGAA CTTGACCCc ATCCCCATCC ACTACTGCGC
          cagGCCTGCC CCAAGGTGAA CTTGACCCc ATCCCCATCC ACTACTGCGC
          ---GCCTGCC CCAAGGTGAA CTTGACCCc ATCCCCATCC ACTACTGCGC
          650

          dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
          dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
          dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
          dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
          Consenso
          CCCC GCCGGC TACGCCATCC TGAAGTGCAA CAACAAGACC TTCAACGGCa
          CCCC GCCGGC TACGCCATCC TGAAGTGCAA CAACAAGACC TTCAACGGCa
          CCCC GCCGGC TACGCCATCC TGAAGTGCAA CAACAAGACC TTCAACGGCa
          CCCC GCCGGC TACGCCATCC TGAAGTGCAA CAACAAGACC TTCAACGGCt
          CCCC GCCGGC TACGCCATCC TGAAGTGCAA CAACAAGACC TTCAACGGC-
          700

          dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
          dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
          dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
          dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
          Consenso
          CCGGCCCTTG CcACAACGTG TCCACCGTGC AGTGCACCCa CGGCATCAAG
          CCGGCCCTTG CcACAACGTG TCCACCGTGC AGTGCACCCa CGGCATCAAG
          CCGGCCCTTG CcACAACGTG TCCACCGTGC AGTGCACCCa CGGCATCAAG
          CCGGCCCTTG CcACAACGTG TCCACCGTGC AGTGCACCCa CGGCATCAAG
          CCGGCCCTTG C-ACAACGTG TCCACCGTGC AGTGCACCCa CGGCATCAAG
          Consenso
          750
    
```

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)


```

1001 dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
      ActTGAACAA gACCTGCAG tGgGTGcGg 9cAAGCTGGa 9GAGCACTTC
1050 dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
      ActTGAACAA gACCTGCAG tGgGTGcGg 9cAAGCTGGa 9GAGCACTTC
      dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
      ActTGAACAA gACCTGCAG tGgGTGcGg 9cAAGCTGGa 9GAGCACTTC
      dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
      AgTGAACAA cACCTGCAG cGcGTGaag 9gAAGCTGGg cGAGCACTTC
      Consenso
      A-TGAACAA -ACCTGCAG -G-GTG----- --AAGCTGG- -GAGCACTTC

1051 dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
      CCCAACAA.. ,gACCATCGt gTTCaAGCCc TCCTCCGGcG GCGACCTGGa
1100 dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
      CCCAACAA.. ,gACCATCGt gTTCaAGCCc TCCTCCGGcG GCGACCTGGa
      dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
      CCCAACAA.. ,gACCATCGt gTTCaAGCCc TCCTCCGGcG GCGACCTGGa
      dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
      CCCAACAAc cACCATCGa cTTCaAGCCc TCCTCCGGcG GCGACCTGGa
      Consenso
      CCCAACAA-- --ACCATCG- -TTCaAGCCc TCCTCCGGcG GCGACCTGGa

1101 dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
      GATcACCACC cACTcCTTCA ACTGcCGGcG GAGTTCtTC TACTGCAACa
1150 dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
      GATcACCACC cACTcCTTCA ACTGcCGGcG GAGTTCtTC TACTGCAAC.
      dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
      GATcACCACC cACTcCTTCA ACTGcCGGcG GAGTTCtTC TACTGCAACa
      dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
      GATcACCACC cACTcCTTCA ACTGcCGGcG GAGTTCtTC TACTGCAACa
      Consenso
      GATcACCACC cACTcCTTCA ACTGcCGGcG GAGTTCtTC TACTGCAAC-

1151 dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
      cctccaagct gttcaacggc accgacaact ccaccacat ggacaccggc
1200 dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
      .....
      cctccaagct gttcaacggc accgacaact ccaccacat ggacaccggc
      dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
      cctccaagct gttcaacggc accgacaact cca.....
      Consenso
      -----

1201 dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
      aacgacaccg tgatCaCCat cCCCTGcCcg ATCAAGCAGa TCATCAACAT
1250 dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
      .....
      aacgacaccg tgatCaCCat cCCCTGcCcg ATCAAGCAGa TCATCAACAT
      dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
      .....actcca ccatCaCCct gCCCTGCaag ATCAAGCAGa TCATCAACAT
      Consenso
      -----C-CC-- -CCCTGC--- ATCAAGCAGa TCATCAACAT

```

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

10/40

```

1251
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
Consenso
1300
GTGGCAGGag GTGGGgCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GagGGCAACA
GTGGCAGGag GTGGGgCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GagGGCAACA
GTGGCAGGag GTGGGgCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GagGGCAACA
GTGGCAGGg GTGGGcCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GccGGCAACA
GTGGCAGG-- GTGGG-CGG CCATGTACGC CCCCCCATC G--GGCAACA

1301
TCACCTGCAA GTCCAACATC ACGGCCTGC TGCTGgtgCG CGACGGCGGC
TCACCTGCAA GTCCAACATC ACGGCCTGC TGCTGgtgCG CGACGGCGGC
TCACCTGCAA GTCCAACATC ACGGCCTGC TGCTGgtgCG CGACGGCGGC
TCACCTGCAA GTCCAACATC ACGGCCTGC TGCTGaccCG CGACGGCGGC
TCACCTGCAA GTCCAACATC ACGGCCTGC TGCTG---CG CGACGGCGGC

1351
cAggacaact cCacCAACaa CACCGAGAC TTCCGCCCG GCGGCGCGA
cAggacaact cCacCAACaa CACCGAGAC TTCCGCCCG GCGGCGCGA
cAggacaact cCacCAACaa CACCGAGAC TTCCGCCCG GCGGCGCGA
aA..... .CggCAACgg CACCGAGATC TTCCGCCCG GCGGCGCGA
-A----- -C--CAAC-- CACCGAGA-C TTCCGCCCG GCGGCGCGA

1400
cATGGCaAC AACTGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTgGAGA
CATGGCaAC AACTGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTgGAGA
CATGGCaAC AACTGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTgGAGA
CATGGCgAC AACTGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTgAAGA
CATGGC-AC AACTGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTg-AGA

1450
TCaAGCCCT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG
TCaAGCCCT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG
TCaAGCCCT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG
TCgAGCCCT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG
TC-AGCCCT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG
Consenso

```

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

12/40

<p>1251</p> <p>dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}</p> <p>dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}</p> <p>dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}</p> <p>dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}</p> <p style="text-align: center;">Consenso</p>	<p>1300</p> <p>GTGGCAGGag GTGGGgCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GagGGCAACA</p> <p>GTGGCAGGag GTGGGgCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GagGGCAACA</p> <p>GTGGCAGGag GTGGGgCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GagGGCAACA</p> <p>GTGGCAGGgC GTGGGcCGG CCATGTACGC CCCCCCATC GccGGCAACA</p> <p>GTGGCAGG-- GTGGG-CGG CCATGTACGC CCCCCCATC G--GGCAACA</p>
<p>dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}</p> <p>dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}</p> <p>dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}</p> <p>dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}</p> <p style="text-align: center;">Consenso</p>	<p>1350</p> <p>TCACCTGCAA GTCCAACATC ACCGGCCTGC TGCTGgtgCG CGACGGCGGC</p> <p>TCACCTGCAA GTCCAACATC ACCGGCCTGC TGCTGgtgCG CGACGGCGGC</p> <p>TCACCTGCAA GTCCAACATC ACCGGCCTGC TGCTGgtgCG CGACGGCGGC</p> <p>TCACCTGCAA GTCCAACATC ACCGGCCTGC TGCTGaccCG CGACGGCGGC</p> <p>TCACCTGCAA GTCCAACATC ACCGGCCTGC TGCTG---CG CGACGGCGGC</p>
<p>dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}</p> <p>dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}</p> <p>dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}</p> <p>dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}</p> <p style="text-align: center;">Consenso</p>	<p>1400</p> <p>cAggacaact cCacCAACaa CACCGAGAcC TTCCGCCCCG GCGGCGGCGA</p> <p>cAggacaact cCacCAACaa CACCGAGAcC TTCCGCCCCG GCGGCGGCGA</p> <p>cAggacaact cCacCAACaa CACCGAGAcC TTCCGCCCCG GCGGCGGCGA</p> <p>aA..... .CggCAACgg CACCGAGAcC TTCCGCCCCG GCGGCGGCGA</p> <p>-A----- -C--CAAC-- CAOCGAGA-C TTCCGCCCCG GCGGCGGCGA</p>
<p>dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}</p> <p>dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}</p> <p>dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}</p> <p>dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}</p> <p style="text-align: center;">Consenso</p>	<p>1450</p> <p>CATGCGCaAC AACTGGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTGgAGA</p> <p>CATGCGCaAC AACTGGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTGgAGA</p> <p>CATGCGCaAC AACTGGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTGgAGA</p> <p>CATGCGGgAC AACTGGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTGaAGA</p> <p>CATGCGC-AC AACTGGGGCT CCGAGCTGTA CAAGTACAAG GTGGTG-AGA</p>
<p>dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}</p> <p>dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}</p> <p>dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}</p> <p>dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}</p> <p style="text-align: center;">Consenso</p>	<p>1500</p> <p>TCaAGCCCTT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG</p> <p>TCaAGCCCTT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG</p> <p>TCaAGCCCTT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG</p> <p>TCgAGCCCTT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG</p> <p>TC-AGCCCTT GGGCATCGCC CCCACCAAGG CCAAGCGCCG CGTGGTGGAG</p>

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	1751	AGCTGCTGGG	CATCTGGGG	TGCTCCGGC	AGCTGATCTG	1800	CACCACCGc
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		AGCTGCTGGG	CATCTGGGG	TGCTCCGGC	AGCTGATCTG		CACCACCGc
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		AGCTGCTGGG	CATCTGGGG	TGCTCCGGC	AGCTGATCTG		CACCACCGc
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		AGCTGCTGGG	CATCTGGGG	TGCTCCGGC	AGCTGATCTG		CACCACCGaC
Consenso		AGCTGCTGGG	CATCTGGGG	TGCTCCGGC	AGCTGATCTG		CACCACCG-C
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	1801	GTGCCCTGGA	AGCCTCCTG	GTCCaaCAAG	TCCAgagacc	1850	ACATCTGGga
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		GTGCCCTGGA	AGCCTCCTG	GTCCaaCAAG	TCCAgagacc		ACATCTGGga
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		GTGCCCTGGA	AGCCTCCTG	GTCCaaCAAG	TCCAgagacc		ACATCTGGga
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		GTGCCCTGGA	AGCCTCCTG	GTCCaaCAAG	TCCAgagacc		ACATCTGGga
Consenso		GTGCCCTGGA	AC-CCTCCTG	GTCC--CAAG	TCC-A----G		ACATCTGG--
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	1851	GAACATGACC	TGGATGCAGT	GGGACAAGGA	GATctcCAA	1900	cACACCgACA
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		GAACATGACC	TGGATGCAGT	GGGACAAGGA	GATctcCAA		cACACCgACA
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		GAACATGACC	TGGATGCAGT	GGGACAAGGA	GATctcCAA		cACACCgACA
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		GAACATGACC	TGGATGCAGT	GGGACAAGGA	GATCaaCAAc		tACACCaACA
Consenso		-AACATGACC	TGGATGCAGT	GGGACAAGGA	GATC--CAA-		-ACACC-ACA
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	1901	CCAATCTACCg	cCTGCTGGaG	GACTCCCAG	aCCAGCAGGA	1950	GAAGAACGAG
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		CCAATCTACCg	cCTGCTGGaG	GACTCCCAG	aCCAGCAGGA		GAAGAACGAG
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		CCAATCTACCg	cCTGCTGGaG	GACTCCCAG	aCCAGCAGGA		GAAGAACGAG
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		CCAATCTACCg	cCTGCTGGtG	GACTCCCAG	CCAGCAGGA		GAAGAACGAG
Consenso		CCAATCTACC-	-CTGCTGG-G	GACTCCCAG	-CCAGCAGGA		GAAGAACGAG
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	1951	AAGGAcCTGC	TGGCCCTGGA	CTCCTGGgAG	AACCTGTGGA	2000	ACTGGTTctc
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		AAGGAcCTGC	TGGCCCTGGA	CTCCTGGgAG	AACCTGTGGA		ACTGGTTctc
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		AAGGAcCTGC	TGGCCCTGGA	CTCCTGGgAG	AACCTGTGGA		ACTGGTTctc
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		AAGGAcCTGC	TGGCCCTGGA	CTCCTGGaAG	AACCTGTGGA		ACTGGTTcAa
Consenso		AAGGA-CTGC	TGGCCCTGGA	CTCCTGG-AG	AACCTGTGGA		ACTGGTTC-

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

```

2001
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
Consenso
2050
CATCACCAAG TGGCTGTGGT ACATCAAGAT CTTTCATCATG ATCGTGGGCG
CATCACCAAG TGGCTGTGGT ACATCAAGAT CTTTCATCATG ATCGTGGGCG
CATCACCAAG TGGCTGTGGT ACATCAAGAT CTTTCATCATG ATCGTGGGCG
CATCACCAAC TGGCTGTGGT ACATCAAGAT CTTTCATCATG ATCGTGGGCG
CATCACCAA- TGGCTGTGGT ACATCAAGAT CTTTCATCATG ATCGTGGGCG

2051
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
Consenso
2100
GCCTGATCGG CCTGGGCATC ATCTTCGCCG TGCTGTCCAT cGTGtcCCCG
GCCTGATCGG CCTGGGCATC ATCTTCGCCG TGCTGTCCAT cGTGtcCCCG
GCCTGATCGG CCTGGGCATC ATCTTCGCCG TGCTGTCCAT cGTGtcCCCG
GCCTGATCGG CCTGGGCATC ATCTTCGCCG TGCTGTCCAT gGTGaaCCCG
GCCTGATCGG CCTGGGCATC ATCTTCGCCG TGCTGTCCAT -GTG--CCGC

2101
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
Consenso
2150
GTGGCCAGG GCTACTCCCG CCTGTCCCTC CAGACCCacc tgCCCCaCCC
GTGGCCAGG GCTACTCCCG CCTGTCCCTC CAGACCCacc tgCCCCaCCC
GTGGCCAGG GCTACTCCCG CCTGTCCCTC CAGACCCacc tgCCCCaCCC
GTGGCCAGG GCTACTCCCG CCTGTCCCTC CAGACCCtga cCCCCAaCCC
GTGGCCAGG GCTACTCCCG CCTGTCCCTC CAGACCC--- --CCCA-CCC

2151
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
Consenso
2200
CCGGGGCCC GACCGCCcCG agggCATCGA GGAGGAGGGC GSGGAGCGcG
CCGGGGCCC GACCGCCcCG agggCATCGA GGAGGAGGGC GSGGAGCGcG
CCGGGGCCC GACCGCCcCG agggCATCGA GGAGGAGGGC GSGGAGCGcG
CCGGGGCCC GACCGCCtGg gccGCATCGA GGAGGAGGGC GSGGAGCagG
CCGGGGCCC GACCGCC--G ---GCATCGA GGAGGAGGGC GSGGAGC--G

2201
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}
Consenso
2250
ACCGGACCG CTCCATCCCG CTGGTGaaCG GCTcCCTGGC CCTGatCTGG
ACCGGACCG CTCCATCCCG CTGGTGaaCG GCTcCCTGGC CCTGatCTGG
ACCGGACCG CTCCATCCCG CTGGTGaaCG GCTcCCTGGC CCTGatCTGG
ACCGGACCG CTCCATCCCG CTGGTGtcCG GCTcCCTGGC CCTGgcCTGG
ACCGGACCG CTCCATCCCG CTGGTG--CG GCT-CCTGGC CCTG--CTGG

```

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	2251	GACGACCTGC	GCTCCCTGTG	CCTGTTCTCC	TACCACCGCC	2300	TGCGCGACct
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		GACGACCTGC	GCTCCCTGTG	CCTGTTCTCC	TACCACCGCC		TGCGCGACct
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		GACGACCTGC	GCTCCCTGTG	CCTGTTCTCC	TACCACCGCC		TGCGCGACct
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		GACGACCTGC	GCTCCCTGTG	CCTGTTCTCC	TACCACCGCC		TGCGCGACTg
Consenso		GACGACCTGC	GCTCCCTGTG	CCTGTTCTCC	TACCACCGCC		TGCGCGAC---
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	2301	gcTgCTGATC	GTGacCCCGCa	tCGtgGAGCT	GCTGGGCGCG	2350	cgC.....
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		gcTgCTGATC	GTGacCCCGCa	tCGtgGAGCT	GCTGGGCGCG		cgC.....
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		gcTgCTGATC	GTGacCCCGCa	tCGtgGAGCT	GCTGGGCGCG		cgC.....
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		caTcCTGATC	GTGgCCCGCg	cCGccGAGCT	GCTGGGCGCG		tcCtccctgc
Consenso		--T-CTGATC	GTG-CCCGC-	-CG--GAGCT	GCTGGGCGCG		--C-----
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	2351GGCTGG	GAGGCCCTGA	AGTACTgGtG	2400	gaaCCTGctG
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}	GGCTGG	GAGGCCCTGA	AGTACTgGtG		gaaCCTGctG
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}	GGCTGG	GAGGCCCTGA	AGTACTgGtG		gaaCCTGctG
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		gcggcctgca	gaaGGCTGG	GAGGCCCTGA	AGTACctGgG		ctcCCTGgTG
Consenso		-----	----GGCTGG	GAGGCCCTGA	AGTAC--G-G		---CCTG-TG
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	2401	CAGTACTGGt	cCCaGGAGCT	GAAGAAcTCC	GCCgTgTCCC	2450	TGCTGaACgC
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		CAGTACTGGt	cCCaGGAGCT	GAAGAAcTCC	GCCgTgTCCC		TGCTGaACgC
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		CAGTACTGGt	cCCaGGAGCT	GAAGAAcTCC	GCCgTgTCCC		TGCTGaACgC
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		CAGTACTGGg	gCCtGGAGCT	GAAGAAgTCC	GCCaTcTCCC		TGCTGgACaC
Consenso		CAGTACTGG-	-CC-GGAGCT	GAAGAA-TCC	GCC-T-TCCC		TGCTG-AC-C
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	2451	CACCGCCATC	GCCGTGGCCG	AGGGcACCCGA	CCGcGtGATC	2500	GAGgTGgTgC
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		CACCGCCATC	GCCGTGGCCG	AGGGcACCCGA	CCGcGtGATC		GAGgTGgTgC
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		CACCGCCATC	GCCGTGGCCG	AGGGcACCCGA	CCGcGtGATC		GAGgTGgTgC
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		CACCGCCATC	GCCGTGGCCG	AGGGcACCCGA	CCGCaTcATC		GAGcTgATcC
Consenso		CACCGCCATC	GCCGTGGCCG	AGGGcACCCGA	CCGC-T-ATC		GAG-TG-T-C

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	2501	AGgGgcCTG	CCGGCCATC	cGccACATcc	CCGGCCGCAT	2550	gCGCCAGGGC
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		AGgGgcCTG	CCGGCCATC	cGccACATcc	CCGGCCGCAT		gCGCCAGGGC
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		AGgGgcCTG	CCGGCCATC	cGccACATcc	CCGGCCGCAT		gCGCCAGGGC
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		AGcGCatCTG	CCGGCCATC	tGCaACATcc	CCGGCCGCAT		cCGCCAGGGC
	Consenso	AG-GC--CTG	CCGGCCATC	-GC-ACATcc	CCGGCCGCAT		-CGCCAGGGC
dna2.msf{1157ipenvd123-codon-op}	2551	cTgGAGcgCa	tCCTGctGTg	A	2571		
dna2.msf{1157ipenvd1234-codon-op}		cTgGAGcgCa	tCCTGctGTg	A			
dna2.msf{shiv-1157ip-env-codon-op}		cTgGAGcgCa	tCCTGctGTg	A			
dna2.msf{hiv1084ienv-codon-op}		tTcGAGgcCg	cCCTGCaGTa	A			
	Consenso	-T-GAG--C-	-CCTGC-GT-	A			

FIGURA 2 (CONTINUACIÓN)

17/40

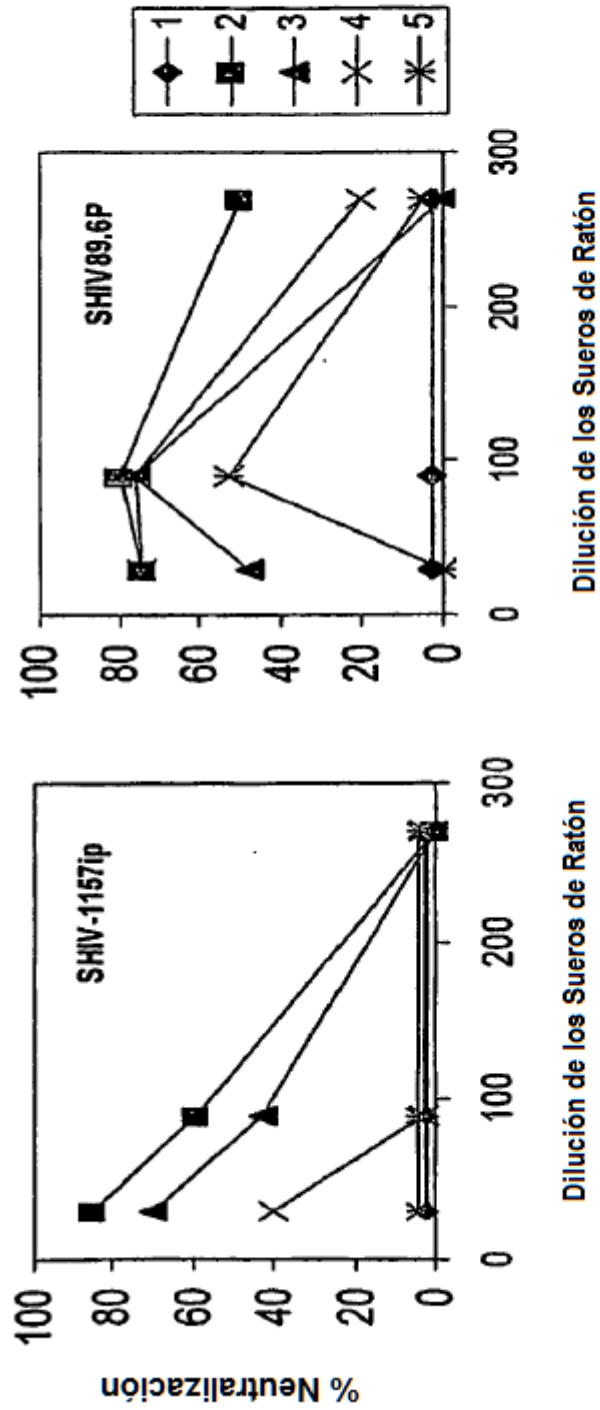


FIGURA 3

18/40

FIGURA 4A

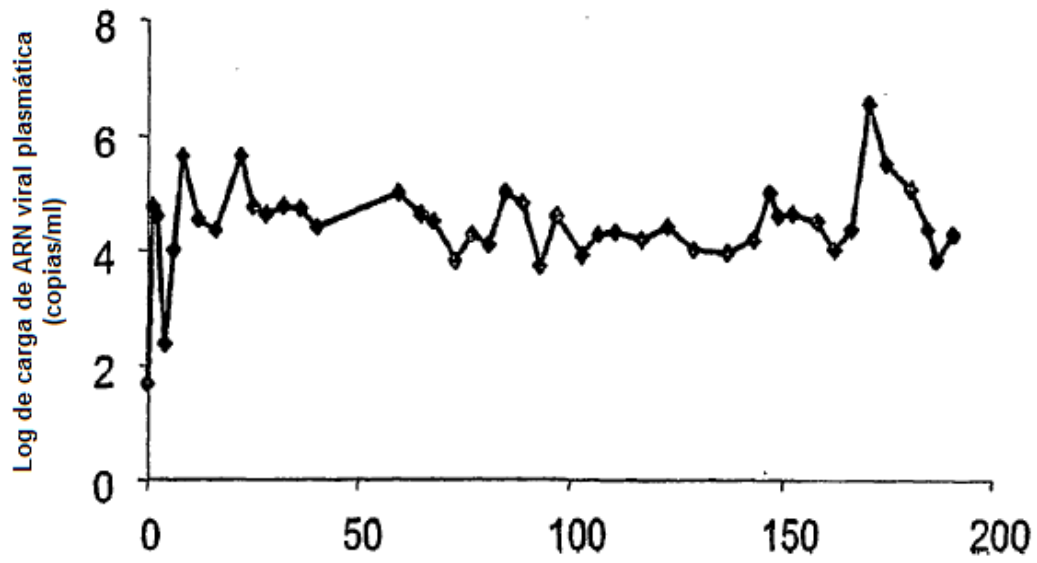
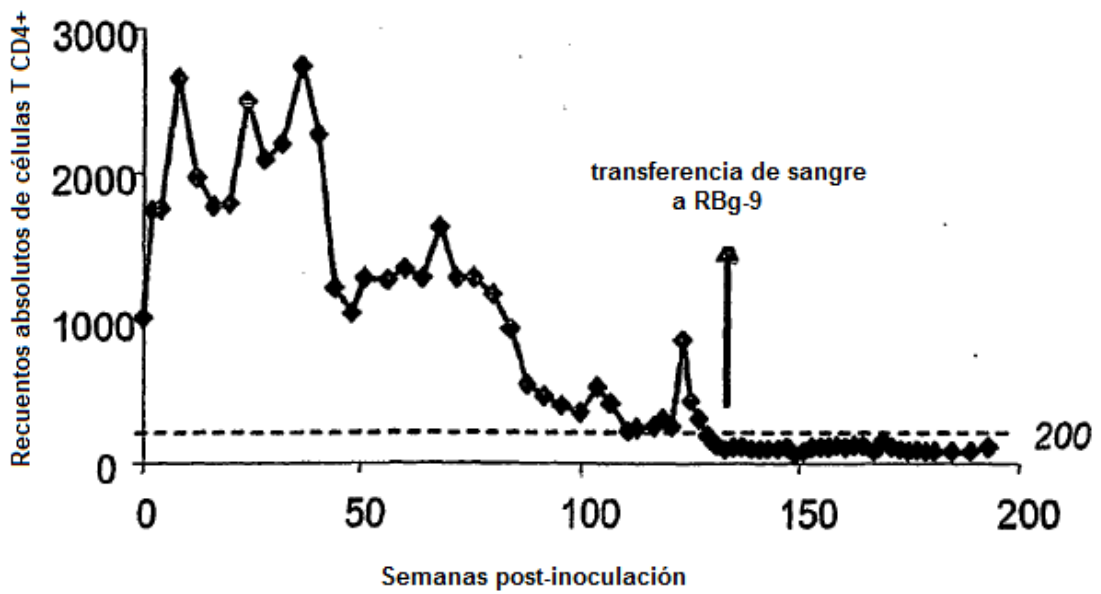


FIGURA 4B



19/40

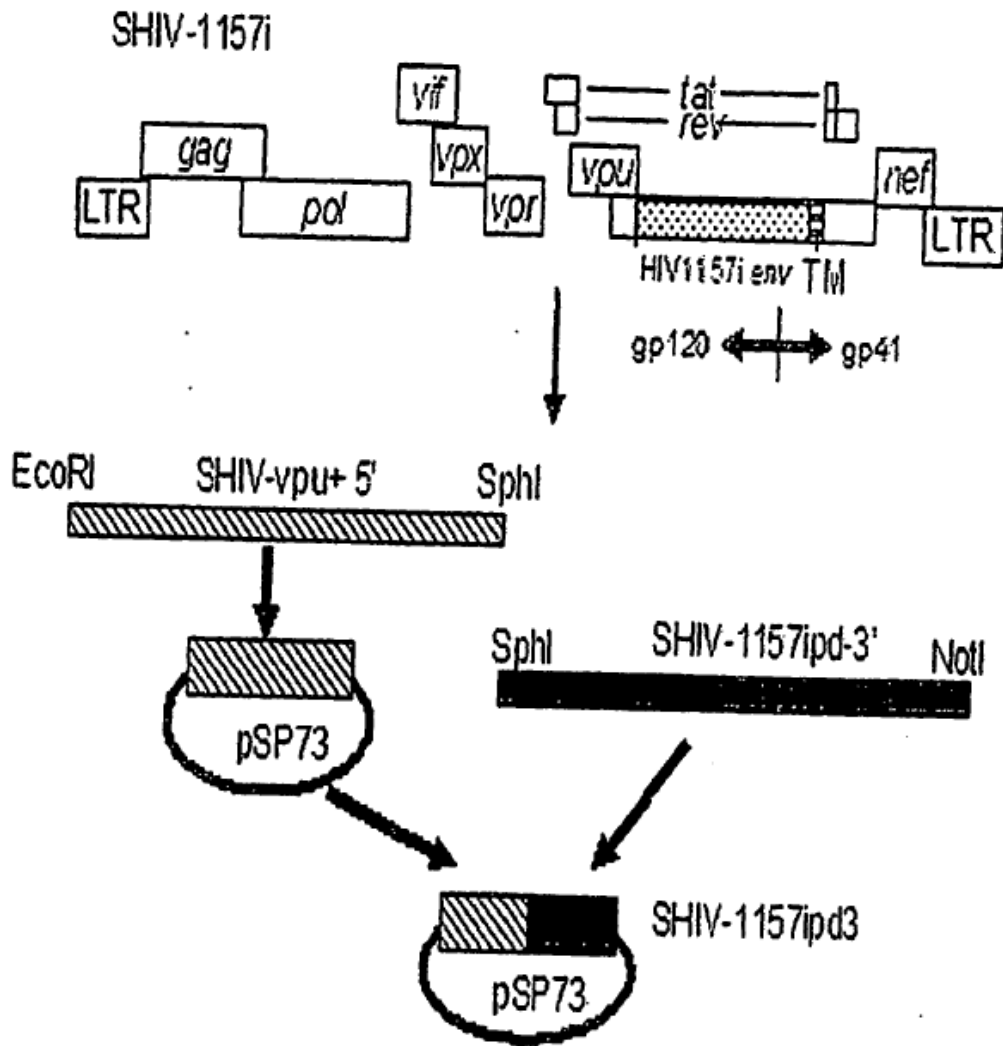


FIGURA 5

20/40

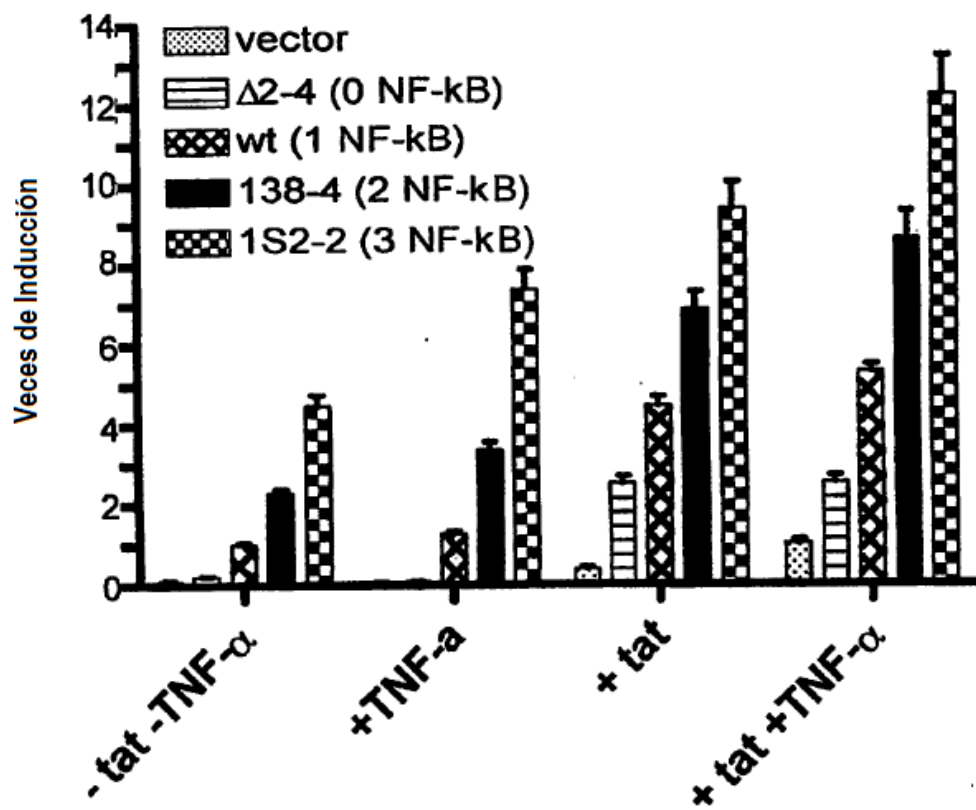


FIGURA 6A

21/40

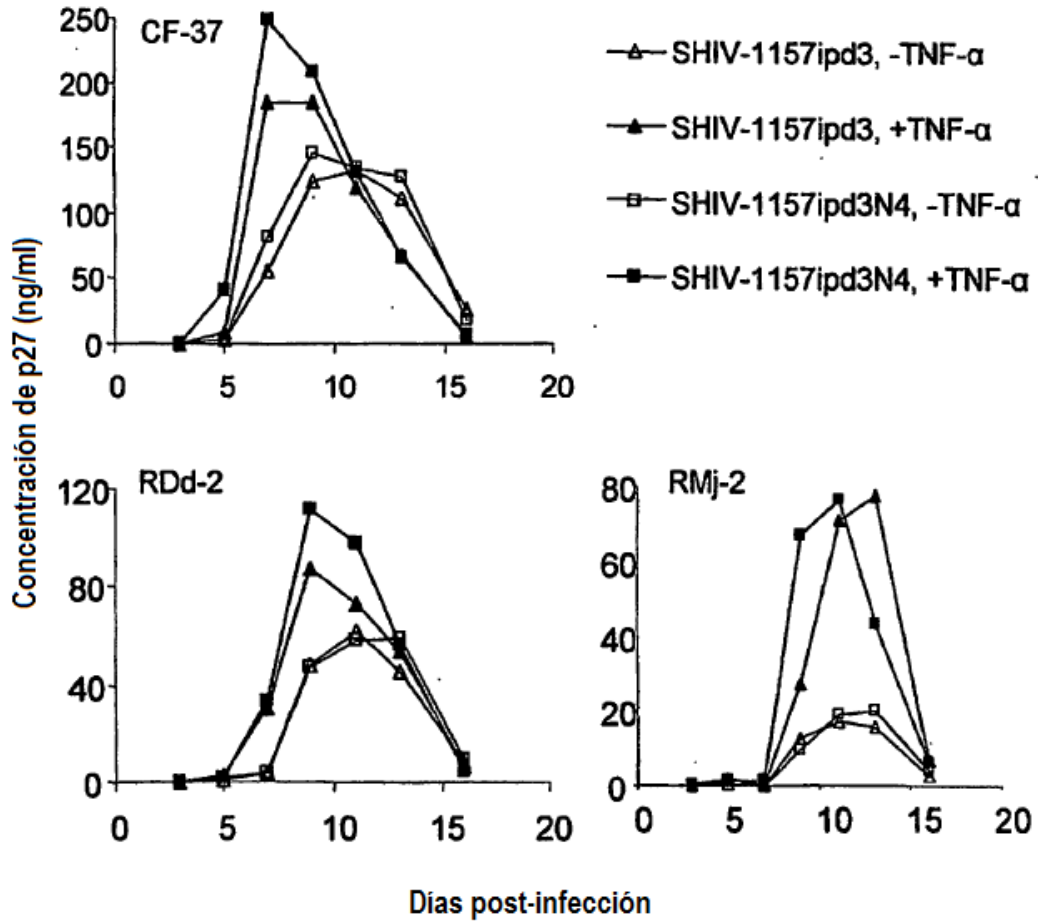


FIGURA 6B

22/40

FIGURA 7A

células U87.CD4.CCR5

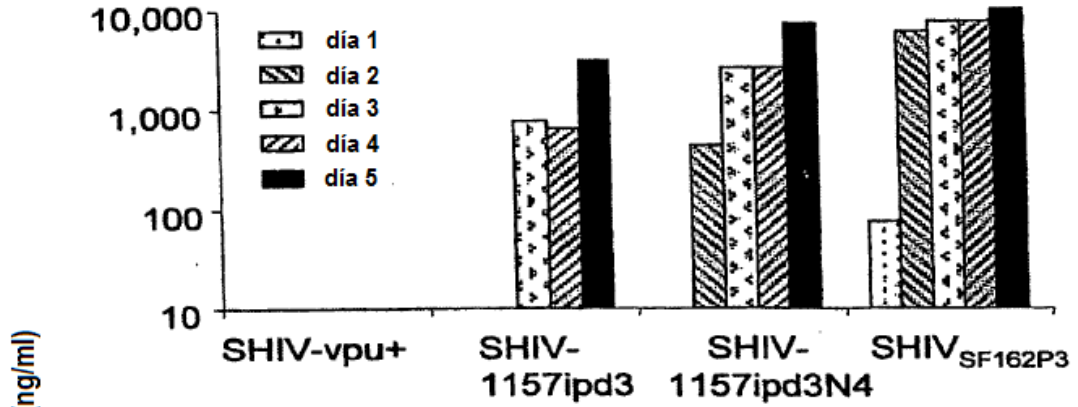
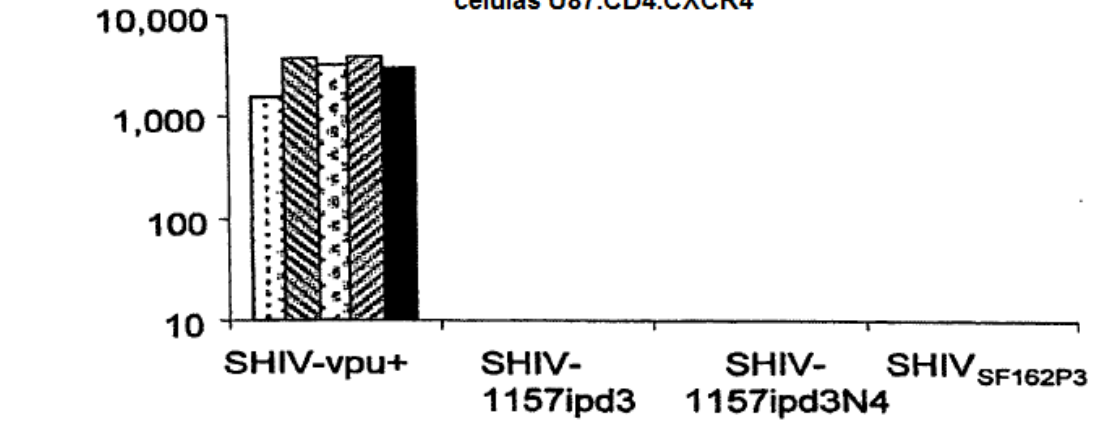


FIGURA 7B

células U87.CD4.CXCR4



23/40

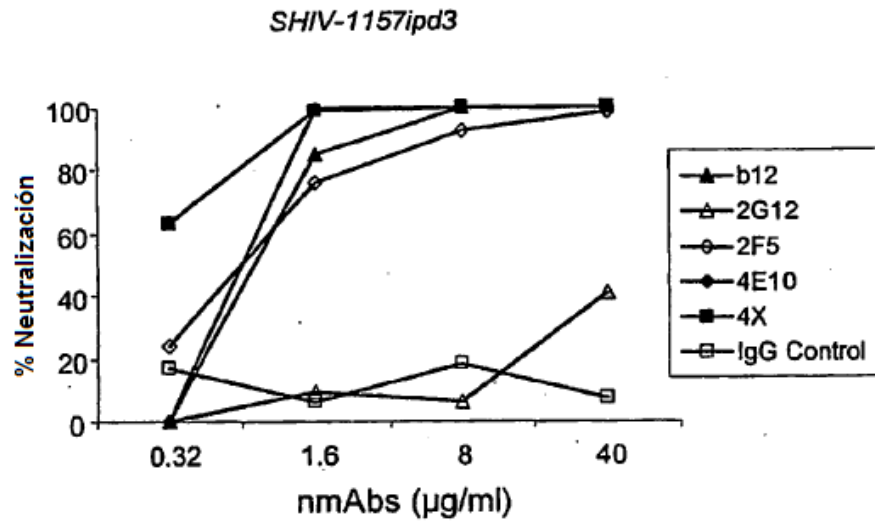


FIGURA 7C

24/40

ATGCGCGTGAAGGAGAAGTACCAGCACCTGTGGCGCTGGGGCTGGCG
 CTGGGGCACCATGCTGCTGGGCATGCTGATGATCTGCTCCGCCACCGA
 GAAGCTGTGGGTGACCGTGTACTACGGCGTGCCCGTGTGGAAGGAGGC
 CAAGACCACCCTGTTCTGCGCCTCCGACGCCAAGGCCTACGAGAAGGA
 GGTGCACAACATCTGGGCCACCCACGCCTGCGTGCCCACCGACCCCAA
 CCCCAGGAGATCGTGCTGGAGAACGTGACCGAGAACTTCAACATGTG
 GAAGGACGACATGGTGGACCAGATGCACGAGGACATCATCTCCCTGTG
 GGACCAGTCCCTGAAGCCCTGCGTGAAGCTGACCCCCCTGTGCGTGAC
 CCTGAAGTGTCCAACCTCACCCGCGAGGGCAACGTGACCTACAAGGA
 GGAGATGGACAAGGTGAAGAACTGCTCCTTCAACGTGACCACCGGCAT
 CCGCGACAAGAAGCAGAAGGTGAACGCCCTGTTCTACCGCCTGGACAT
 CACCCCCCTGGACGAGAACAACAACAACTCCTCCGAGTACCGCTTGATC
 AACTGCAAGTCTCCACCATCACCCAGGCCTGCCCAAGGTGAACTTCG
 ACCCCATCCCCATCCACTACTGCGCCCCCGCCGGCTACGCCATCCTGAA
 GTGCAACAACAAGACCTTCAACGGCACCGGCCCTGCCACAACGTGTC
 CACCGTGCAGTGCACCCACGGCATCAAGCCCGTGGTGTCCACCCAGCT
 GCTGCTGAACGGCTCCCTGGCCGAGCGCGAGATCATCATCCGCTCCGA
 GAACCTGACCGACAACGTGAAGACCATCATCGTGCACCTCAACGAGTCC
 GTGGAGATCAACTGCACCCGCCCAACAACAACACCCGCAAGTCCATCC
 GCATCGGCCCCCGGCCAGGCCTTCTACGCCACCGGCGACATCATCGGCG
 ACATCCGCCAGGCCCACTGCAACATCTCCAAGGAGAACTGGAACAAGAC
 CCTGCAGTGGGTGCGCGGCAAGCTGGAGGAGCACTTCCCCAACAAGAC
 CATCGTGTTC AAGCCCTCCTCCGGCGGCGACCTGGAGATCACCACCCA
 CTCCTTCAACTGCCGCGGCGAGTTCTTCTACTGCAACACCTCCAAGCTG
 TTCAACGGCACCGACAACCTCCACCCACATGGACACCGGCAACGACACC
 GTGATCACCATCCCCTGCCGCATCAAGCAGATCATCAACATGTGGCAGG
 AGGTGGGGCGCGCCATGTACGCCCCCCCATCGAGGGCAACATCACCT
 GCAAGTCCAACATCACCGGCCTGCTGCTGGTGC GCGACGGCGGCCAG
 GACAACCTCCACCAACAACACCGAGACCTTCCGCCCCCGGCGGCCGCGAC
 ATGCGCAACAACCTGGCGCTCCGAGCTGTACAAGTACAAGGTGGTGGAG
 ATCAAGCCCCTGGGCATCGCCCCACCAAGGCCAAGCGCCGCGTGGTG
 GAGCGCGAGAAGCGCGCCGTGGGCATCGGCGCCGTGTTCTCCTGGGCTT
 CCTGGGCGCCCGCCGGCTCCACCATGGGCGCCGCCTCCATCACCTGAC
 CGTGCAGGCCCGCCAGCTGCTGTCCGGCATCGTGCAGCAGCAGGACAA
 CCTGCTGCGCGCCATCGAGGCCAGCAGCACATGCTGCAGCTGACCGT
 GTGGGGCATCAAACAGCTGCAGGCCCGCGTGTGGCCATCGAGCGCTA
 CCTGCAGGACCAGCAGCTGCTGGGCATCTGGGGCTGCTCCGGCAAGCT
 GATCTGCACCACCGCCGTGCCCTGGAACGCCTCCTGGTCCAACAAGTC
 CCAGACCGACATCTGGGAGAACATGACCTGGATGCAGTGGGACAAGGA
 GATCTCCAAGCACACCGACACCATCTACCGCCTGCTGGAGGACTCCCA
 GAACCAGCAGGAGAAGAACGAGAAGGACCTGCTGGCCCTGGACTCCTG
 GGAGAACCTGTGGAACCTGGTTCTCCATCACC AAGTGGCTGTGGTACATC
 AAGATCTTCATCATGATCGTGGGCGGCCTGATCGGCCTGCGCATCATCT
 TCGCCGTGCTGTCCATCGTGTCCCGCGTGCGCCAGGGCTACTCCCCC
 TGTCTTCCAGACCCACCTGCCACCCCCCGCGGCCCCGACCGCCCCG
 AGGGCATCGAGGAGGAGGGCGGCGAGCGCGACCGCGACCGCTCCATC

FIGURA 8

25/40
CGCCTGGTGAACGGCTCCCTGGCCCTGATCTGGGACGACCTGCGCTCC
CTGTGCCTGTTCTCCTACCACCGCCTGCGCGACCTGCTGCTGATCGTGA
CCCGCATCGTGGAGCTGCTGGGCCGCCGCGGCTGGGAGGCCCTGAAG
TACTGGTGGAACTGCTGCAGTACTGGTCCCAGGAGCTGAAGAACTCC
GCCGTGTCCTGCTGAACGCCACCGCCATCGCCGTGGCCGAGGGCACC
GACCGCGTGATCGAGGTGGTGCAGGGCGCCTGCCGCGCCATCCGCCA
CATCCCCGCCGCATGCGCCAGGGCCTGGAGCGCATCCTGCTGTGA
SEQ ID NO: 1

FIGURA 8 (CONTINUACIÓN)

26/40

MRVKEKYQHLWRWGWWRWGTMLLGMLMICSATEKLWVTVYYGVPWWKEAKTT
LFCASDAKAYEKEVHNIWATHACVPTDPNPQEIVLENTENFNMWKDDMVDQ
MHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLKCSNFTREGNVTYKEEMDKVKNCSEFNT
TGIRDKKQKVNALFYRLDITPLDENNNNSSEYRLINCKSSSTITQACPKVNFDPPI
HYCAPAGYAILKCNKTFNGTGPCHNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLAERE
IIRSENLTDNVKTIVHFNESVEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGDIIGDIRQ
AHCNISKENWNKTLQWVRGKLEEHFPNKTIVFKPSSGGDLEITTHSFNCRGEFF
YCNTSKLFNGTDNSTHMDTGNDTVITPCRIKQIINMWQEVGRAMYAPPIEGNIT
CKSNITGLLLVRDGGQDNSTNNTETFRPGGGDMRNNWRSELYKYKVEIKPLG
IAPTKAKRRVVEREKRAVGIGAVFLGLGAAGSTMGAASITLTVQARQLLSGIVQ
QQDNLLRAIEAQQHMLQLTWGKQLQARVLAIERYLQDQQLLGIWGCSSGLIC
TTAVPWNASWSNKSQTDIWENMTWMQWDKEISKHTDTIYRLLDSQNQQEKN
EKDLLALDSWENLWNWFSITKWLWYIKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVSRVRQGY
PLSFQTHLPTPRGPDRPEGIEEEGGERDRDRSIRLVNGSLALIWDDLRSCLFS
YHRLRDLLLIVTRIVELLGRRGWEALKYWWNLLQYWSQELKNSAVSLLNATAIA
VAEGTDRVIEVVQGACRAIRHIPRRMRQGLERILL*

SEQ ID NO: 2

FIGURA 9

27/40

ATGCGCGTGAAGGAGAAGTACCAGCACCTGTGGCGCTGGGGCTGGCGCTG
 GGGCACCATGCTGCTGGGCATGCTGATGATCTGCTCCGCCACCGAGAAGCT
 GTGGGTGACCGTGTACTACGGCGTGCCCGTGTGGAAGGAGGCCAAGACCA
 CCCTGTTCTGCGCCTCCGACGCCAAGGCCTACGAGAAGGAGGTGCACAACA
 TCTGGGCCACCCACGCCTGCGTGCCACCGACCCCAACCCCAAGGAGATC
 GTGCTGGAGAACGTGACCGAGAACTTCAACATGTGGAAGGACGACATGGTG
 GACCAGATGCACGAGGACATCATCTCCCTGTGGGACCAGTCCCTGAAGCCC
 TCGCTGGGCGCCGGCGCCTGCCCAAGGTGAACTTCGACCCCATCCCATC
 CACTACTGCGCCCCCGCCGGCTACGCCATCCTGAAGTGCAACAACAAGACC
 TCAACGGCACCGGCCCTGCCACAACGTGTCCACCGTGCAGTGCACCCAC
 GGCATCAAGCCCGTGGTGTCCACCCAGCTGCTGCTGAACGGCTCCCTGGCC
 GAGCGCGAGATCATCATCCGCTCCGAGAACCTGACCGACAACGTGAAGACC
 ATCATCGTGCACCTCAACGAGTCCGTGGAGATCAACTGCACCCGCCCAACA
 ACAACACCCGCAAGTCCATCCGCATCGGCCCGGCCAGGCCTTCTACGCCA
 CCGGGCAGATCATCGGCGACATCCGCCAGGCCCACTGCAACATCTCCAAGG
 AGAACTGGAACAAGACCCTGCAGTGGGTGCGCGGCAAGCTGGAGGAGCAC
 TTCCCAACAAGACCATCGTGTTCAGCCCTCCTCCGGCGGGCAGCTGGAG
 ATCACCACCCACTCCTTCAACTGCCGCGGCGAGTTCTTCTACTGCAACACCT
 CCAAGCTGTTCAACGGCACCGACAACCTCCACCCACATGGACACCGGCAACG
 ACACCGTGATCACCATCCCCTGCCGCATCAAGCAGATCATCAACATGTGGCA
 GGAGGTGGGGCGCGCCATGTACGCCCCCCCATCGAGGGCAACATCACCT
 GCAAGTCCAACATCACCGGCCTGCTGCTGGTGCGCGACGGCGGCCAGGAC
 AACTCCACCAACAACACCGAGACCTTCCGCCCGGGCGGCGGCGACATGCG
 CAACAACCTGGCGCTCCGAGCTGTACAAGTACAAGGTGGTGGAGATCAAGCC
 CCTGGGCATCGCCCCACCAAGGCCAAGCGCCGCGTGGTGGAGCGCGAGA
 AGCGCGCCGTGGGCATCGGCGCCGTGTTCTGGGCTTCTGGGCGCCGCC
 GGCTCCACCATGGGCGCCGCCTCCATCACCTGACCGTGCAGGCCCGCCA
 GCTGCTGTCCGGCATCGTGCAGCAGCAGGACAACCTGCTGCGCGCCATCGA
 GGCCACGACGACATGCTGCAGCTGACCGTGTGGGGCATCAAACAGCTGCA
 GGCCCGCGTGTGGCCATCGAGCGCTACCTGCAGGACCAGCAGCTGCTGG
 GCATCTGGGGCTGCTCCGGCAAGCTGATCTGCACCACCGCCGTGCCCTGGA
 ACGCCTCCTGGTCCAACAAGTCCAGACCGACATCTGGGAGAACATGACCT
 GGATGCAGTGGGACAAGGAGATCTCCAAGCACACCGACACCATCTACCGCC
 TGCTGGAGGACTCCCAGAACCAGCAGGAGAAGAACGAGAAGGACCTGCTG
 GCCCTGGACTCCTGGGAGAACCTGTGGAACCTGGTTCTCCATACCAAGTGG
 CTGTGGTACATCAAGATCTTCATCATGATCGTGGGCGGCCTGATCGGCCTGC
 GCATCATCTTCGCCGTGCTGTCCATCGTGTCCCGCGTGCGCCAGGGCTACT
 CCCCCCTGTCTTCCAGACCCACCTGCCACCCCGCGGGCCCCGACCGC
 CCCGAGGGCATCGAGGAGGAGGGCGGGCAGCGCGACCGCGACCGCTCCA
 TCCGCCTGGTGAACGGCTCCCTGGCCCTGATCTGGGACGACCTGCGCTCCC
 TGTGCCTGTTCTCCTACCACCGCCTGCGCGACCTGCTGCTGATCGTGACCC
 GCATCGTGGAGCTGCTGGGCCCGCGGGCTGGGAGGCCCTGAAGTACTGG
 TGGAACTGCTGCAGTACTGGTCCCAGGAGCTGAAGAACTCCGCCGTGTCC
 CTGCTGAACGCCACCGCCATCGCCGTGGCCGAGGGCACCGACCGCGTGAT
 CGAGGTGGTGCAGGGCGCCTGCCGCGCCATCCGCCACATCCCCCGCCGCA
 TGGCCAGGGCCTGGAGCGCATCCTGCTGTGA

SEQ ID NO: 3

FIGURA 10

28/40

MRVKEKYQHLWRWGWRWGTMLLGMLMICSATEKLWVTVYYGVPVWKEAKTT
LFCASDAKAYEKEVHNIWATHACVPTDPNPQEIVLENTENFNMWKDDMVDQ
MHEDIISLWDQSLKPCVGAGACPKVNFDPPIPIHYCAPAGYAILKCNNKTFNGTG
PCHNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLAEREIIIRSENLTDNVKTIVHFNESVEI
NCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGDIIGDIRQAHCNISKENWNKTLQWVRGKL
EEHFPNKTIVFKPSSGGDLEITTHSFNCRGEFFYCNTSKLFNGTDNSTHMDTGN
DTVITIPCRKQIINMWQEVGRAMYAPPIEGNITCKSNITGLLLVRDGGQDNSTNN
TETFRPGGGDMRNNWRSELYKYKVEIKPLGIAPTKAKRRVVEREKRAVGIGA
VFLGFLGAAGSTMGAASITLVQARQLLSGIVQQQDNLLRAIEAQQHMLQLTW
GIKQLQARVLAIERYLQDQQLGIWGCSSGKLICTTAVPWNASWSNKSQTDIEN
MTWMQWDKEISKHTDTIYRLLLEDSONQEQEKNEKDLLALDSWENLWNWFSITK
WLWYIKIFIMIVGGLIGLRIFAVLSIVSRVRQGYSPLSFQTHLPTPRGPDRPEGIE
EEGGERDRDRSIRLVNGSLALIWDDLRLSLCLFSYHRLRDLILLIVTRIVELLGRRG
WEALKYWWNLLQYWSQELKNSAVSLLNATAIAVAEGTDRVIEVVQGACRAIRHI
PRRMRQGLERILL*
SEQ ID NO: 4

FIGURA 11

29/40

ATGCGCGTGAAGGAGAAGTACCAGCACCTGTGGCGCTGGGGCTGGCGCTG
 GGGCACCATGCTGCTGGGCATGCTGATGATCTGCTCCGCCACCGAGAAGC
 TGTGGGTGACCGTGTACTACGGCGTGCCCGTGTGGAAGGAGGCCAAGACC
 ACCCTGTTCTGCGCCTCCGACGCCAAGGCCTACGAGAAGGAGGTGCACAA
 CATCTGGGCCACCCACGCCTGCGTGCCACCGACCCCAACCCCCAGGAGA
 TCGTGCTGGAGAACGTGACCGAGAACTTCAACATGTGGAAGGACGACATGG
 TGGACCAGATGCACGAGGACATCATCTCCCTGTGGGACCAGTCCCTGAAGC
 CCTGCGTGGGCGCCGGCGCCTGCCCAAGGTGAACTTCGACCCCATCCCC
 ATCCACTACTGCGCCCCCGCGGGCTACGCCATCCTGAAGTGCAACAACAAG
 ACCTTCAACGGCACCGGCCCTGCCACAACGTGTCCACCGTGCAAGTGCAC
 CCACGGCATCAAGCCCGTGGTGTCCACCCAGCTGCTGCTGAACGGCTCCC
 TGGCCGAGCGCGAGATCATCATCCGCTCCGAGAACCCTGACCGACAACGTG
 AAGACCATCATCGTGCACTTCAACGAGTCCGTGGAGATCAACTGCACCGGC
 GCCGGCGCCCAGTGCAACATCTCCAAGGAGAAGTGAACAAGACCCTGCA
 GTGGGTGCGCGCAAGCTGGAGGAGCACTTCCCCAACAAGACCATCGTGT
 TCAAGCCCTCCTCCGGCGCGCCTGGAGATCACCACCCACTCCTTCAACT
 GCCGCGCGAGTTCCTTCTACTGCAACACCTCCAAGCTGTTCAACGGCACCG
 ACAACTCCACCACATGGACACCGGACACCGACACCGTGATCACCATCCCCT
 GCCGCATCAAGCAGATCATCAACATGTGGCAGGAGGTGGGGCGCGCCATG
 TACGCCCCCCCCATCGAGGGCAACATCACCTGCAAGTCCAACATCACCGGC
 CTGCTGCTGCTGCGCGACGGCGGGCCAGGACAACCTCCACCAACAACACCGA
 GACCTTCCGCCCCGGCGGGCGGACATGCGCAACAACCTGGCGCTCCGAG
 CTGTACAAGTACAAGGTGGTGGAGATCAAGCCCCTGGGCATCGCCCCAC
 CAAGGCCAAGCGCCGCGTGGTGGAGCGCGAGAAGCGCGCCGTGGGCATC
 GCGGCCGTGTTCTGGGCTTCTGGGCGCCGCCGGCTCCACCATGGGCG
 CCGCCTCCATCACCCTGACCGTGACGGCCCGCCAGCTGCTGTCCGGCATC
 GTGCAGCAGCAGGACAACCTGCTGCGCGCCATCGAGGCCCAGCAGCACAT
 GCTGCAGCTGACCGTGTGGGGCATCAAACAGCTGCAGGCCCGCGTGTGG
 CCATCGAGCGCTACCTGCAGGACCAGCAGCTGCTGGGCATCTGGGGCTGC
 TCCGGCAAGCTGATCTGCACCACCGCCGTGCCCTGGAACGCCTCCTGGTC
 CAACAAGTCCCAGACCGACATCTGGGAGAACATGACCTGGATGCAGTGGG
 ACAAGGAGATCTCCAAGCACACCGACACCATCTACCGCCTGCTGGAGGACT
 CCCAGAACCAGCAGGAGAAGAACGAGAAGGACCTGCTGGCCCTGGACTCC
 TGGGAGAACCTGTGGAACCTGGTTCTCCATCACCAAGTGGCTGTGGTACATC
 AAGATCTTCATCATGATCGTGGGCGGCCTGATCGGCCTGCGCATCATCTTC
 GCCGTGCTGTCCATCGTGTCCCGCGTGCGCCAGGGCTACTCCCCCTGTC
 CTTCCAGACCCACCTGCCACCCCCCGCGGCCCCCGACCGCCCCGAGGGC
 ATCGAGGAGGAGGGCGGCGAGCGCGACCGCGACCGCTCCATCCGCCTGG
 TGAACGGCTCCCTGGCCCTGATCTGGGACGACCTGCGCTCCCTGTGCCTG
 TTCTCCTACCACCGCCTGCGCGACCTGCTGCTGATCGTGACCCGCATCGTG
 GAGCTGCTGGGCCCGCCGGCTGGGAGGCCCTGAAGTACTGGTGGAAACC
 TGCTGCAGTACTGGTCCCAGGAGCTGAAGAAGTCCGCCGTGTCCCTGCTGA
 ACGCCACCGCCATCGCCGTGGCCGAGGGCACCGACCGCGTGATCGAGGT
 GGTGCAGGGCGCCTGCCGCGCCATCCGCCACATCCCCCGCCGCATGCGC
 CAGGGCCTGGAGCGCATCCTGCTGTGA
SEQ ID NO: 5

FIGURA 12

30/40

MRVKEKYQHLWRWGWRWGTMMLGMLMICSATEKLWVTVYYGVPVWKEAKTT
LFCASDAKAYEKEVHNIWATHACVPTDPNPQEIVLENTENFNMWKDDMVQDQ
MHEDIISLWDQSLKPCVGAGACPKVNFDPPIHYCAPAGYAILKCNNKTFNGTG
PCHNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLAEREIIRSENLTDNVKTIVHFNESVEI
NCTGAGAHCNISKENWNKTLQWVRGKLEEHFPNKTIVFKPSSGGDLEITTHSF
NCRGEFFYCNTSKLFNGTDNSTHMDTGNDTVITIPCRKQIINMWQEVGRAMYA
PPIEGNITCKSNITGLLLVRDGGQDNSTNNTETFRPGGGDMRNNWRSELYKYK
VVEIKPLGIAPTAKRRVVEREKRAVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASITLTVQAR
QLLSGIVQQQDNLLRAIEAQQHMLQLTVWGIKQLQARVLAIERYLQDQQLGIW
GCSGKLICTTAVPWNASWSNKSQTDIWENMTWMQWDKEISKHTDTIYRLEDS
QNQQEKNEKDLLALDSWENLWNWFSITKWLWYIKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIV
SRVRQGYSPLSFQTHLPTPRGPDPRPEGIEEEGGERDRDRSIRLVNGSLALIWD
DLRSLCLFSYHRLRDLIVTRIVELLGRRGWEALKYWWNLLQYWSQELKNSAV
SLLNATAIAVAEGTDRVIEVVQGACRAIRHPRRMRQGLERILL*
SEQ ID NO: 6

FIGURA 13

31/40

ATGCGCGTGAAGGAGAAGTACCAGCACCCTGTGGCGCTGGGGCTGGCGCT
 GGGGCACCATGCTGCTGGGCATGCTGATGATCTGCTCCGCCACCGAGAAG
 CTGTGGGTGACCGTGTACTACGGCGTGCCCGTGTGGAAGGAGGCCAAGA
 CCACCCTGTTCTGCGCCTCCGACGCCAAGGCCTACGAGAAGGAGGTGCAC
 AACATCTGGGCCACCCACGCCTGCGTGCCACCGACCCCAACCCCCAGGA
 GATCGTGCTGGAGAACGTGACCGAGAACTTCAACATGTGGAAGGACGACA
 TGGTGGACCAGATGCACGAGGACATCATCTCCCTGTGGGACCAGTCCCTG
 AAGCCCTGCGTGGGCGCCGGCGCTGCCCAAGGTGAACTTCGACCCCA
 TCCCCATCCACTACTGCGCCCCCGCCGGCTACGCCATCCTGAAGTGCAAC
 AACAAGACCTTCAACGGCACCGGCCCTGCCACAACGTGTCCACCGTGCA
 GTGCACCCACGGCATCAAGCCCGTGGTGTCCACCCAGCTGCTGCTGAACG
 GCTCCCTGGCCGAGCGCGAGATCATCATCCGCTCCGAGAACCTGACCGAC
 AACGTGAAGACCATCATCGTGCACTTCAACGAGTCCGTGGAGATCAACTGC
 ACCGGCGCCGGCGCCCACTGCAACATCTCCAAGGAGAACTGGAACAAGAC
 CCTGCAGTGGGTGCGCGGCAAGCTGGAGGAGCACTTCCCAACAAGACC
 ATCGTGTTCAAGCCCTCCTCCGGCGGGCAGCTGGAGATCACCACCCACTC
 CTTCAACTGCCGCGGCGAGTTCTTCTACTGCAACGGCGCCGGCCCTGCC
 GCATCAAGCAGATCATCAACATGTGGCAGGAGGTGGGGCGCGCCATGTAC
 GCCCCCCCATCGAGGGCAACATCACCTGCAAGTCCAACATCACCAGCCCT
 GCTGCTGGTGCGCGACGGCGGCCAGGACAACCTCCACCAACAACACCGAG
 ACCTTCCGCCCCGGCGGCCGGCGACATGCGCAACAACCTGGCGCTCCGAGC
 TGTACAAGTACAAGGTGGTGGAGATCAAGCCCCTGGGCATCGCCCCACC
 AAGGCCAAGCGCCGCGTGGTGGAGCGCGAGAAGCGCGCCGTGGGCATC
 GGCGCCGTGTTCTGGGCTTCTGGGCGCCGCGCCGGCTCCACCATGGGCG
 CCGCCTCCATCACCTGACCGTGCAGGCCCGCCAGCTGCTGTCCGGCATC
 GTGCAGCAGCAGGACAACCTGCTGCGCGCCATCGAGGCCCAGCAGCACA
 TGCTGCAGCTGACCGTGTGGGGCATCAAACAGCTGCAGGCCCGCGTGT
 GGCCATCGAGCGCTACCTGCAGGACCAGCAGCTGCTGGGCATCTGGGGC
 TGCTCCGGGAAGCTGATCTGCACCACCGCCGTGCCCTGGAACGCCTCCTG
 GTCCAACAAGTCCCAGACCGACATCTGGGAGAACATGACCTGGATGCAGT
 GGGACAAGGAGATCTCCAAGCACACCGACACCATCTACCGCCTGCTGGAG
 GACTCCCAGAACCAGCAGGAGAAGAACGAGAAGGACCTGCTGGCCCTGG
 ACTCCTGGGAGAACCTGTGGAACCTGGTTCTCCATCACCAAGTGGCTGTGG
 TACATCAAGATCTTCATCATGATCGTGGGCGGCCTGATCGGCCTGCGCATC
 ATCTTCGCCGTGCTGTCCATCGTGTCCGCGTGCGCCAGGGCTACTCCCC
 CCTGTCCTTCCAGACCCACCTGCCACCCCCCGCGGCCCCGACCGCCCC
 GAGGGCATCGAGGAGGAGGGCGGCGAGCGCGACCGCGACCGCTCCATC
 CGCCTGGTGAACGGCTCCCTGGCCCTGATCTGGGACGACCTGCGCTCCCT
 GTGCCTGTTCTCCTACCACCGCCTGCGCGACCTGCTGCTGATCGTGACCC
 GCATCGTGGAGCTGCTGGGCCCGCCGGCTGGGAGGCCCTGAAGTACTG
 GTGGAACCTGCTGCAGTACTGGTCCAGGAGCTGAAGAACTCCGCCGTGT
 CCCTGCTGAACGCCACCGCCATCGCCGTGGCCGAGGGCACCGACCGCGT
 GATCGAGGTGGTGCAGGGCGCCTGCCGCGCCATCCGCCACATCCCCCG
 CGCATGCGCCAGGGCCTGGAGCGCATCCTGCTGTGA

SEQ ID NO: 7

FIGURA 14

32/40

MRVKEYQHLWRWGWRWGTMMLGMLMICSATEKLWVTVYYGVPVWKEAKTT
LFCASDAKAYEKEVHNIWATHACVPTDPNPQEIVLENTENFNMWKDDMVDQ
MHEDIISLWDQSLKPCVGAGACPKVNFDPPIPIHYCAPAGYAILKCNNKTFNGTG
PCHNVSTVQCTHGKIPVSTQLLNGSLAEREIIIIRSENLDNVKTIIVHFNESVEI
NCTGAGAHCNISKENWNKTLQWVRGKLEEHFPNKTIVFKPSSGGDLEITTHSF
NCRGEFFYCNGAGPCRIKQIINMWQEVGRAMYAPPIEGNITCKSNITGLLLVRD
GGQDNSTNNTETFRPGGGDMRNNWRSELYKYKVVEIKPLGIAPTAKRRVVE
REKRAVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASITLVQARQLLSGIVQQQDNLLRAIEA
QQHMLQLTVWGIKQLQARVLAIERYLQDQQLLGIWGCSSGKLICTTAVPWNASW
SNKSQTDIWENMTWMQWDKEISKHTDTIYRLLLEDSONQEQEKNEKDLLALDSW
ENLWNWFSITKWLWYIKIFIMIVGGLIGLRIFAVLSIVSRVRQGYSPFSQTHLPT
PRGPDRPEGIEEEGGERDRDRSIRLVNGLALIWDDLRSCLFSYHRLRDLILLIV
TRIVELLGRRGWEALKYWWNLLQYWSQELKNSAVSLLNATAIAVAEGTDRVIEV
VQGACRAIRHIPRRMRQGLERILL*

SEQ ID NO: 8

FIGURA 15

33/40

GCATGCTGTAGAGCAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTAGACTAGAGCCCTG
 GAAGCATCCAGGAAGCAGGCCTAAAACCTGCTTGTACCAATTGCTATTGTA
 AAGTGTGGCTTTTCATTGCCAAGTTTGTTCATAACAAAAGCCCTAGGCATCTC
 CTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAGCTCATCAGAACAGTC
 AGACTCATCAAGCTTCTCTATCAAAGCAGTAAGTAGTACATGTAATGCAATC
 TATACAAATAGAAATAGTAGCATTAGTAGTAGCAATAATAATAGCAATAGTTG
 TGTGGTCCATAGTAATCATAGAATATAGGAAAATATTAAGACAAAGAAAAATA
 GACAGGTTAATTAATAGACTAATAGAAAGAGCAGAAGACAGTGGCAATGAG
 AGTGAAGGAGAAATATCAGCACTTGTGGAGATGGGGGTGGAGATGGGGCA
 TCATGCTCCTTGGGATGTTGATGATCTGTAGTGCTACAGAAAAATTGTGGGT
 CACAGTCTATTATGGGGTACCTGTATGGAAAAGCAAAAACCTACTTTATTC
 TGTGCATCAAATGCTAAAGCATATGAGAAAAGAGTACATAACATCTGGGCTA
 CACATGCCTGTGTACCCACAGACCCCAACCCACAAGAAATAGTTTTGGGAA
 ATGTAACAGAAAAATTTAACATGTGGAAAAATGACATGGTGGATCAGATGCA
 TGAGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTGTAAAGTTG
 ACTTCACTCTGTGTCACTTTAAAGTGTAGTAATTTTACCGGGAAGAGTAATGT
 TACCTACAAAGGGGATATGGAAGTAAAAAATTGCTCTTCAATGTAACCACA
 GAAATAAGAGATAAGAAGCAGAAAGTGTATGCTCTTTTTTATAGACTTGATAT
 AACACCACTTGATGACAACCTAGTGAGTATATATTAATAAATTGCAATTCCT
 CAACCATAACACAAGCCTGTCAAAGGTCAATTTTGACCCAATTCCTATACA
 TTATTGTGCTCCAGCTGGTTATGCGATTCTAAAGTGTAAATAAAGACATTTA
 ATGGGACAGGACCATGCCATAATGTCAGTACAGTACAATGTACACATGGAAT
 TAAGCCAGTGGTATCAACTCAACTACTGTTAAACGGTAGCCTAGCAGAAGG
 GGAGATAATAATTAGATCTGAAAATCTGACAGACAATGTCAAAACAATAATA
 GTACACTTTAATGAATCTGTAGAAATTACTTGTACAAGACCCAACAATAATAC
 AAGAAAAAGTATAAGCATAGGACCAGGACAAGCAATCTATGCCACAGGTGA
 TATAATAGGAGACATAAGACAAGCACAAGTGAACATTAGTAAAGAAAATTGG
 AACAAAACCTTACAAATGGGTAAGGGGAAAAATTAAGAACAACCTTCCCTAATA
 AAACAATAGTATTTAAACCATCCTCAGGAGGGGATCTAGAAATTACAACACA
 TAGCTTTAATTGTAGAGGAGAATTTTCTATTGCAACACATCAAAACTGTTA
 ATAGTACAGACAATAGTACACACATGGGTACAGAAAATAATACAATCATCAC
 AATCCCATGTAGAATAAAACAATTATAAACATGTGGCAGGAGGTAGGACGA
 GCAATGTATGCCCCCCCCATAGAAGGAAACATAACATGTAATCAAATATCA
 CAGGACTACTACTGGTACGTGATGGAGGATGGGACAACAGTACAAATGACA
 CAGAAACATTCAGGCCTGGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGT
 GAATTATATAAATAAAGGTGGTAGAAGTCAAGCCATTGGGAATAGCACCCA
 CTAAGGCAAAAAGGAGAGTGGTGGAGAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGAATA
 GGAGCTGTGTTCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGC
 GGCCTCAATAACGCTGACGGTACAGGCCAGACAACCTGTTGTCTGGTATAGT
 GCAGCAGCAAGACAATTTGCTGAGAGCTATAGAGGGCGCAACAACATATGTT
 GCAACTCACAGTCTGGGGCATTAAAGCAGCTCCAGGCGAGAGTCTGGCTAT
 AGAAAGATACCTACAGGATCAACAGCTCCTAGGGATTTGGGGCTGCTCTGG
 AAAACTCATCTGCACCACTGCTGTGCCTTGAACGACAGTTGGAGTAATAAA
 TCTCAAACAGATATTTGGGAGAACATGACCTGGATGCAGTGGGATAGAGAA
 ATTAGTAGACACACAGACACAATATACAGGTTGCTTGAAGACTCACAAAACC
 AGCAGGAGAAAAATGAAAAAGATTTATTAGCATTGGACAGTTGAAAAATTT
 GTGGAATTGGTTTAGCATAACAAGGTGGCTGTGGTATATAAAAAATTCATA

FIGURA 16

34/40

ATGATAGTAGGAGGCCTGATAGGTTTGAGAATAATTTTTGCTGTGCTCTCGA
TAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATACTCACCATTATCGTTTCAGACCCACCT
CCCACTTCCGAGGGGAGCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTG
GAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTTCGATTAGTGACCGGATCCTTAGCAC
TTATCTGGGACGATCTGCGGAGCCTGTGCCTCTTCAGCTACCACCGCTTGA
GAGACTTACTCTTGATTGTAACGAGGACTGTGGAACCTCTGGGACGCAGAG
GGTGGGAAGCCCTCAATATTGGTGGAACTCTCCTACTGTATTGGAGTCAGG
AACTAAAGAATAGTGCTGTTAGCTTGCTCAACGCCACAGCCATAGCAGTAAG
ACAATATGGGTGGAGCTATTTCCATGAGGCGGTCCAGGCCGTCTGGAGATC
TGCGACAGAGACTCTTGCGGGCGCGTGGGGAGACTTATGGGAGATTCTTA
GGAGAGGTGGAAGATGGATACTCGCAATCCCAGGAGGATTAGACAAGGG
CTCGAGCTCACTCTCTTGTGAGGGACAGAAATACAATCAGGGACAGCATAT
GAATACTCCATGGAGAAACCCAGCTGAAGAGGGAGAAAAATTAGCATAACAG
AAAACAAAATATGGATGATATAGATGAGGAAGATGATGACTTGGTAGGGGTA
TCAGTGAGGCCAAAAGTTCTCCTAAGAACAATGAGTTACAAATTGGCAATAG
ACATGTCTCATTTTATAAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGATTTATTACAG
TGCAAGAAGACATAGAATCTTAGACATATACTTAGAAAAGGAAGAAGGCATC
ATACCAGATTGGCAGGATTACACCTCAGGACCAGGAATTAGATACCCAAAG
ACATTTGGCTGGCTATGGAAATTAGTCCCTGTAGATGTATCAGATGAGGCAC
AGGAGGATGAGGAGCATTACTTAATGCATCCAGCTCAAACCTCCAGTGGG
ATGACCCTTGGGGAGAGGTTCTAGCATGGAAGTTTGATCCAACCTCTGGCCT
ACACTTATGAGGCATATGTTAGATACCCAGAAGAGTTTGAAGCAAGTCAG
GCCTGTCAGAGGAAGAGGTTAGAAGAAGGCTAACCGCAAGAGGCCTTCTTA
ACATGGCTGACAAGAAGGAAACTCGCTGAAACAGCAGGGACTTTCCACAAG
GGGATGTTACGGGGAGGTAAGTGGGGAGGAGCCGGTCGGGAACGCCCACT
TTCTTGATGTATAAATATCACTGCATTTTCGCTCTGTATTTCAGTCGCTCTGCGG
AGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGGAGGTTCTCTCCAGCACTAGCAGGTA
GAGCCTGGGTGTTCCCTGCTAGACTCTCACCAGCACTTGCCGGTGCTGG
GCAGAGTGACTCCACGCTTGCTTACTTAAAGCCCTCTTCAATAAAGCTGCCA
TTTAGAAGTA

SEQ ID NO:9**FIGURA 16 (CONTINUACIÓN)**

35/40

MRVKEKYQHLWRWGWRWGIMLLGMLMICSATEKLWVTVYYGVPVWKEAKT
TLFCASNAKAYEKEVHNIWATHACVPTDPNPQEIVLGNVTENFNMWKNMVD
QMHEDIISLWDQSLKPCVKLTSLCVTLKCSNFTGKSNVTYKGDMEVKNCSFN
VTTEIRDKKQKVYALFYRLDITPLDDNSSEYILINCNSSTITQACPKNFDPPIH
YCAPAGYAILKCNKTFNGTGPCHNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLAEGE
IIIRSENLTDNVKTIVHFNESVEITCTRPNNNTRKSISIGPGQAIYATGDIIGDIRQ
AHCNISKENWNKTLQWVRGKLKEHFPNKTIVFKPSSGGDLEITTHSFNCRGEF
FYCNTSKLFNSTDNSTHMGTENNTIITIPCRKQIINMWQEVGRAMYAPPIEGNI
TCKSNITGLLLVRDGGWDNSTNDTETFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVEVK
PLGIAPTAKRRVVEREKRAVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASITLTVQARQLL
SGIVQQQDNLLRAIEAQQHMLQLTWGKQLQARVLAERYLQDQQLLGIWGC
SGKLICTTAVPWNDWSNKSQTDIWENMTWMQWDREISRHTDTIYRLLED
QNQQEKNEKDLLALDSWKNLWNWFSITRWLWYIKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSI
VNRVRQGYSPFSQTHLPLPRGADRPEGIEEEGGERDRDRSIRLVGTGSLALI
DDLRLCLFSYHRLRDLIVTRTVELLGRRGWEALKYWWNLLLYWSQELKN
SAVSLNATAIAVRQYGWSYFHEAVQAVWRSATETLAGAWGDLWEILRRGG
RWILAIPRRIRQGLELTLL*

SEQ ID NO: 10

FIGURA 17

36/40

SHIV-1157i Nef MGGAI SMRRSRPSGDLRQLLRARGETYGRLLGEVEDG

SHIV-1157ipd Nef -----F-----

YSQSPGGLDKGLSSLSCGQKYNQGYMNTFWRNPAEREKLAYRKQNMDDIDEEDDDL

-----S-----H-----G-----

VGVSVRPKVPLRTMSYKLAIDMSHFIKEKGGLEGIYSARRHRILDIYLEKEEGIIPDW

-----L-----

QDYTSGGIRYPKTFGWLWKLVPVNVSDEAQEDEEHYLMHPAQT SQWDDPWGEVLAWKF

-----D-----

DPTLAYTYEAYVRYPEEFGSKSLSEEEVRRRLTARGLLNADKKETR

SEQ ID NO: 11

FIGURA 18

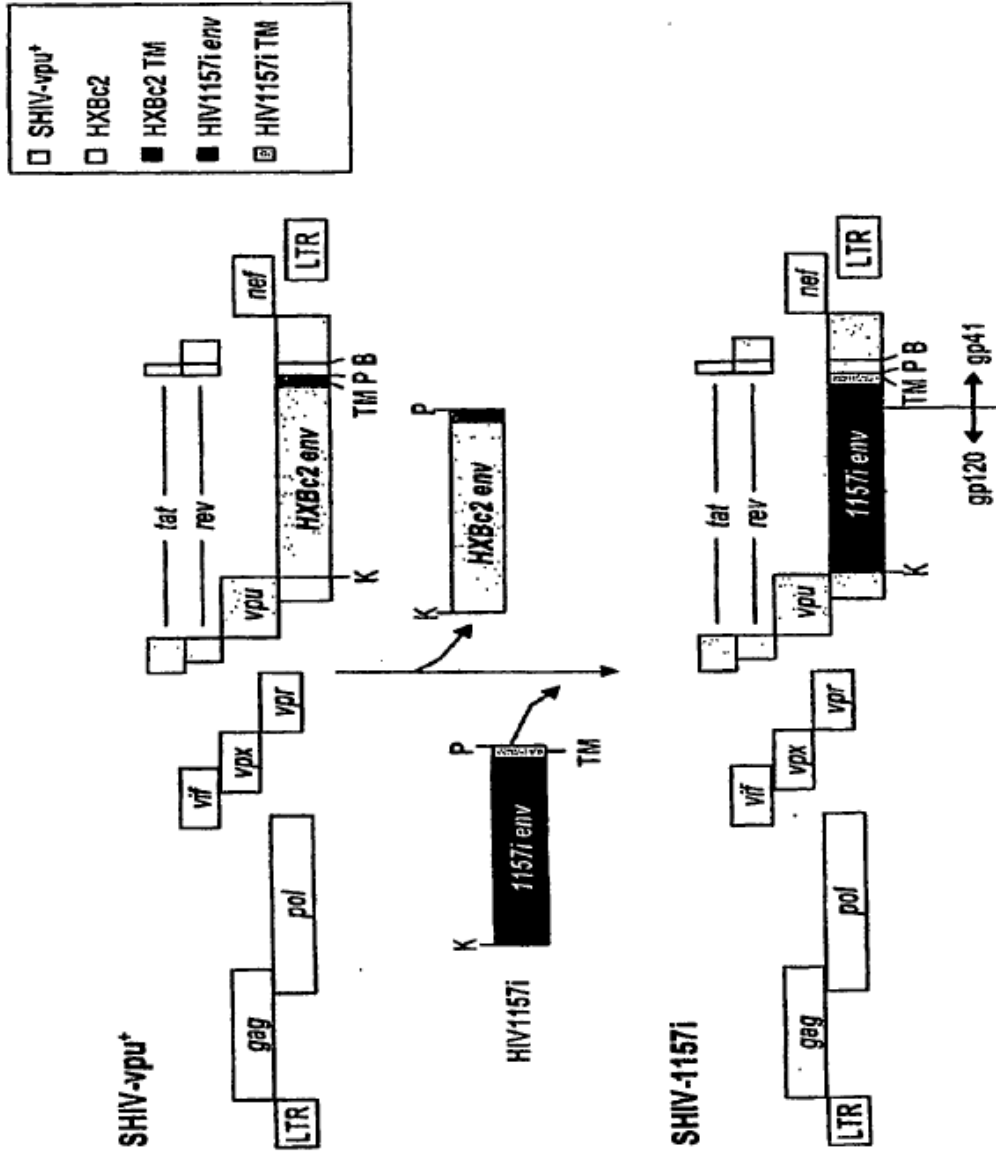
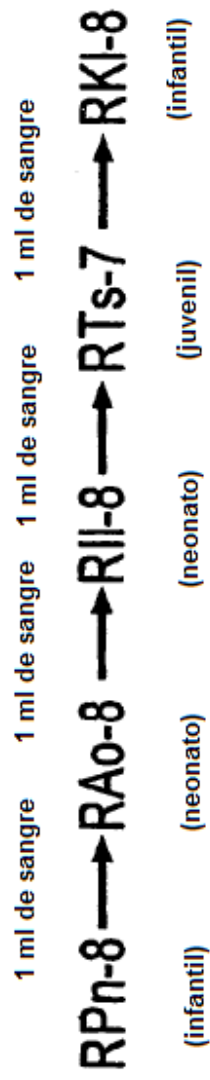


FIGURA 19A



sobrenadante de células 293T transfectadas

38/40

FIGURA 19B

39/40

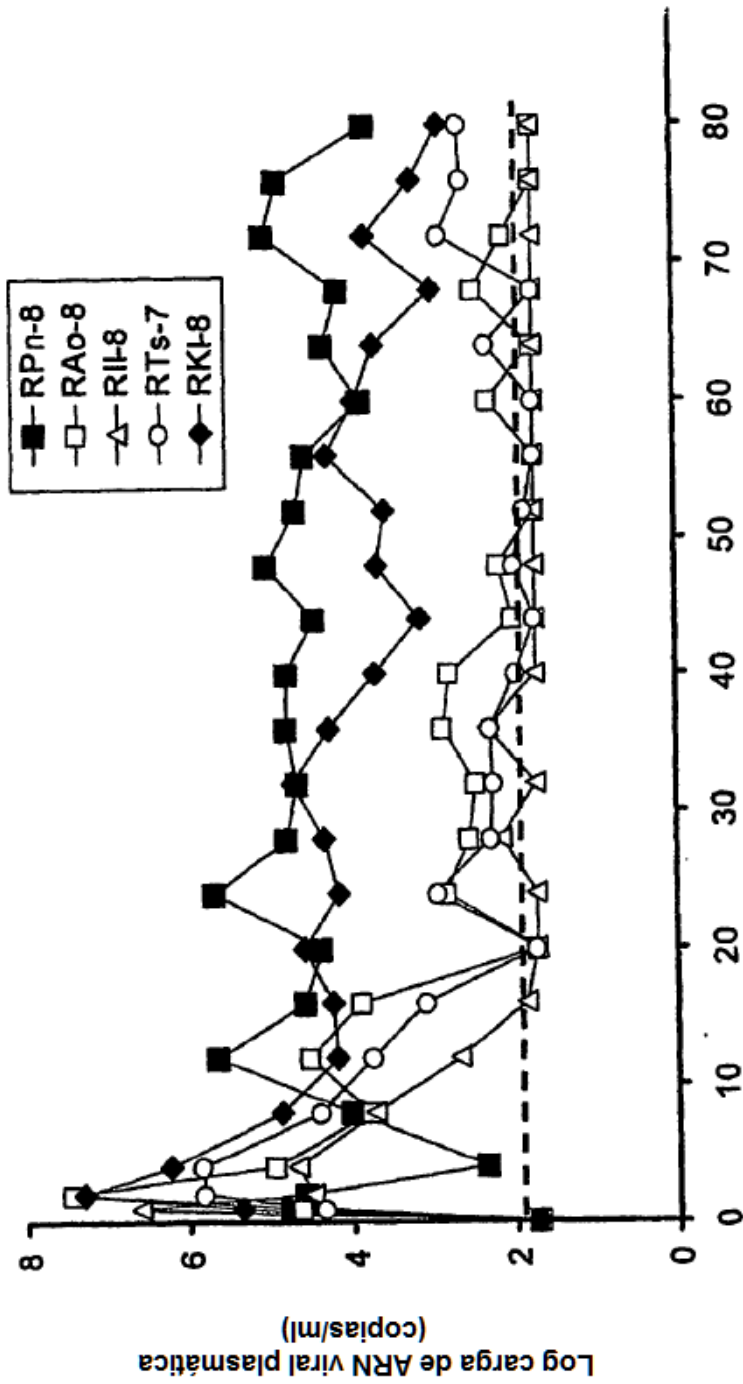


FIGURA 19C

40/40

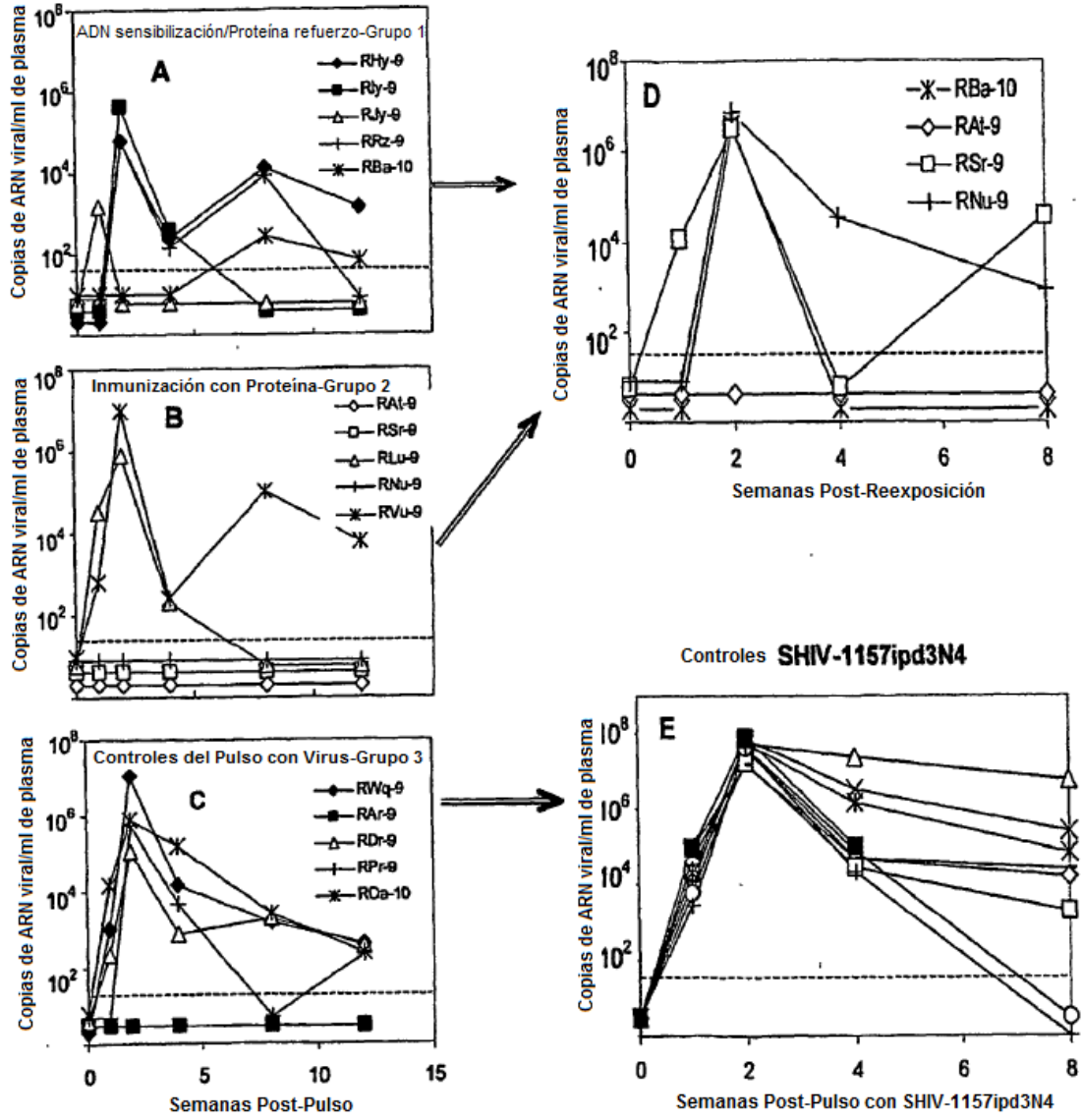


FIGURA 20