

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 440 974**

51 Int. Cl.:

A61K 48/00 (2006.01)

C07K 14/025 (2006.01)

A61K 39/295 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2008 E 08760178 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2013 EP 2167137**

54 Título: **Constructos poliepitópicos del VPH y uso de los mismos**

30 Prioridad:

31.05.2007 US 924778 P

12.06.2007 EP 07110056

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

31.01.2014

73 Titular/es:

GENIMMUNE N.V. (50.0%)

Technologiepark 6

9052 Ghent, BE y

EPIMMUNE INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

BUYSE, MARIE-ANGE y

BAKER, DENISE

74 Agente/Representante:

TORNER LASALLE, Elisabet

ES 2 440 974 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

Constructos poliepitópicos del VPH y uso de los mismos.

Campo de la invención

5 La presente invención va dirigida a constructos poliepitópicos del virus del papiloma humano (VPH) y al uso de los mismos para la prevención y/o el tratamiento de una infección de VPH.

Antecedentes de la invención

10 El cáncer del cuello uterino es el segundo cáncer más común entre las mujeres en el mundo entero, estimándose 493.000 nuevos casos y 274.000 fallecimientos en 2002. El campo de la prevención del cáncer de cuello de útero está evolucionando rápidamente como consecuencia de la identificación de la causa de la enfermedad: un número limitado de tipos virales de la familia de los virus del papiloma humano (VPH). De hecho, se ha reconocido que el VPH es una cause del cáncer de cuello de útero, y 2 de los tipos oncogénicos, el 16 y el 18, son conjuntamente responsables del 70% de los casos de cáncer de cuello de útero del mundo entero.

15 Recientemente, se autorizó el uso de 2 vacunas profilácticas. No obstante, es probable que pasen décadas antes de que pueda evaluarse el impacto de la vacunación contra el VPH sobre la incidencia del cáncer de cuello de útero. Óptimamente, estas vacunas deberían ser administradas antes del inicio de las relaciones sexuales y de la infección de VPH. Como tales, no son de beneficio alguno para mujeres con una infección de VPH ya existente. El tratamiento (cirugía) para la infección de VPH es a menudo poco satisfactorio debido a la persistencia del virus después del tratamiento y es común la recurrencia de la enfermedad clínicamente evidente. El tratamiento puede requerir visitas frecuentes a clínicas y no va dirigido a la eliminación del virus, sino a la eliminación de verrugas. Además, se supone que genotipos oncogénicos de VPH menos extendidos —al menos en parte— tomarán el relevo de los genotipos VPH16 y 18 actualmente objeto de ataque. Las mujeres con lesiones precarcinogénicas resultantes de las infecciones generalizadas de VPH en la actualidad representan una necesidad muy poco atendida.

20 Así, existe la necesidad de una vacuna eficaz para prevenir y/o tratar la infección persistente de VPH y para prevenir el cáncer que está asociado con la infección de VPH. Vacunas efectivas del VPH serían un avance significativo en el control de infecciones de transmisión sexual y también podrían proteger contra la enfermedad clínica, particularmente en cánceres tales como el cáncer de cuello de útero (véase, por ejemplo, Rowen, P. y Lacey, C., Dermatologic Clinics 16 (4): 835- 838, 1998).

25 En la mayoría de individuos, las infecciones de VPH inducen presumiblemente una inmunidad intensa, local, mediada por células, que da como resultado la eliminación del virus y la protección contra una infección posterior. Se sabe que los linfocitos T citotóxicos (CTL) restringidos a la clase I del antígeno leucocitario humano (HLA) específicos a virus y los linfocitos T colaboradores (HTL) restringidos a la clase II del HLA desempeñan un papel fundamental en la prevención de la infección crónica y de la eliminación viral *in vivo* (Houssaint y otros, 2001; Gruters y otros, 2002; Tsai y otros, 1997; Murray y otros, 1992; Tigges y otros, 1992; Bowen y Walker, 2005).

30 Una vacuna terapéutica candidata que seleccione el VPH como blanco debería provocar respuestas inmunitarias celulares intensas y multiespecíficas. La inducción de una respuesta celular intensa específica al VPH —que comprende la actividad de las células T citotóxicas (CTL) y de las células T colaboradoras (HTL)— puede lograrse usando un enfoque de vacuna basada en epítomos.

35 El enfoque poliepitópico al desarrollo de vacunas es para crear racionalmente una respuesta celular multiespecífica, haciendo que el sistema inmunitario sea estimulado específicamente contra múltiples epítomos seleccionados que cumplan criterios estrictos. Estos incluyen epítomos de CTL que están presentados por MHC-1 y son reconocidos por las células T citotóxicas y epítomos de HTL que se enlazan con MHC II y son reconocidos por las células T colaboradoras. Los epítomos se seleccionan en vista de su capacidad de provocar respuestas en seres humanos, buscando con ello una gran cobertura de la población (seleccionando como blancos a los alelos fundamentales de la clase I de HLA, así como los alelos fundamentales de la clase II de HLA).

40 La tecnología relevante a las vacunas poliepitópicas está en desarrollo y hay disponibles varios enfoques diferentes que permiten la administración simultánea de múltiples epítomos. Varios estudios independientes han establecido que puede lograrse la inducción de respuestas inmunitarias simultáneas contra péptidos múltiples e individuales (Doolan y otros (1997), Bertoni y colegas (1997)). En términos de la inmunización con vacunas poliepitópicas de ácidos nucleicos, se han documentado varios ejemplos en los que se indujeron múltiples respuestas de células T (Thomson y otros, 1995; Woodberry y otros, 1999; Mateo y otros, 1999; Ishioka y otros, 1999; WO04/031210, Innogenetics N.V. y otros).

45 Los esfuerzos por desarrollar un tratamiento efectivo para una enfermedad relacionada con el VPH tienen un campo de interés muy estrecho. La mayoría de los estudios se concentran en las proteínas E6 y/o E7 de VPH de tipo 16. Además, el documento WO05/089164 (Pharmexa y otros) da a conocer constructos poliepitópicos de VPH centrados en las proteínas E6 y E7 y, además, en las E1 y E2. Durante el ciclo vital del virus del papiloma, las proteínas del

VPH (E1, E2, E4, E5, E6, E7, L1 y L2) son expresadas diferencialmente. Además, durante la progresión de CIN1 a CIN3, el grado de expresión de las diferentes proteínas del VPH es cambiante (Doorbar, 2005). Seleccionar las 6 proteínas tempranas (E1, E2, E4, E5, E6 y E7) proporciona, así, una forma de inducir respuestas inmunitarias eficientes dirigidas a todas las fases del ciclo vital del virus, con independencia del grado de CIN.

- 5 Aunque se estudiaron la E4 y la E5 en busca de epítomos inmunogénicos, el documento WO05/089164 no consiguió obtener péptidos reactivos. Se sabe, de hecho, que la mayoría de las proteínas del VPH son comparativamente pequeñas y que, por lo tanto, podrían no comprender muchos epítomos reactivos.

10 Sin embargo, los presentes inventores han determinado ahora varios epítomos inmunogénicos en las proteínas E4 y E5 de los genotipos del VPH de alto riesgo VPH16, 18, 31 y 45. Además, los presentes inventores consiguieron crear una vacuna potente multiespecífica y de amplio espectro que abordaba las diferentes fases de la infección de VPH y que ampliaba con ello la ventana de tratamiento. Cuando otras, centradas en la E6 y/o la E7 seleccionan como blanco la CIN2 y la CIN3, esta vacuna permite tratar las fases anteriores de la enfermedad, así como la infección persistente, reduciendo con ello adicionalmente la probabilidad de desarrollar cáncer de cuello de útero.

15 Los constructos poliepitópicos están diseñados para inducir una respuesta inmunitaria a al menos 4 epítomos diferenciados de CTL y 1-3 epítomos de HTL por genotipo de VPH en la mayoría de los sujetos infectados con uno de los cuatro genotipos del VPH de alto riesgo más extendidos (VPH16, 18, 31 y 45), con independencia de su origen étnico.

Sumario de la invención

1. Un constructo poliepitópico aislado que comprende
 - 20 a) epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) al virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 1 a 44, y/o
 - b) los epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) al virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 1, 23, 39 y 45 a 88.
- 25 2. El constructo poliepitópico según 1 que comprende los epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) al virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 1 a 88.
3. El constructo poliepitópico según 1 o 2 que, además, comprende al menos un epítomo de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH).
- 30 4. El constructo poliepitópico según 3 en el que al menos un epítomo de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH) se selecciona del grupo consistente en las ID SEC N^{os} 89 a 121.
5. El constructo poliepitópico según 4 en el que el constructo poliepitópico de (a) comprende los epítomos de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 89 a 105 y en el que el constructo poliepitópico de (b) comprende los epítomos de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 106 a 121.
- 35 6. El constructo poliepitópico según uno cualquiera de 1 a 5 que, además, comprende un epítomo de células T universales que se enlaza con más de una molécula HLA-DR de clase II.
7. El constructo poliepitópico según 6 en el que el epítomo de células T universales está caracterizado por la ID SEC N^o 122.
- 40 8. El constructo poliepitópico según uno cualquiera de 1 a 7 que comprende la secuencia de aminoácidos representada por ID SEC N^o 156, ID SEC N^o 158, ID SEC N^o 160, ID SEC N^o 162, ID SEC N^o 123, ID SEC N^o 125, ID SEC N^o 127 o ID SEC N^o 129.
9. Un polinucleótido aislado que comprende un constructo de polinucleótidos que codifica el constructo poliepitópico de cualquiera de 1 a 8.
- 45 10. El polinucleótido según 9 en el que el constructo de polinucleótidos comprende la secuencia de ácidos nucleicos representada por ID SEC N^o 157, ID SEC N^o 159, ID SEC N^o 161, ID SEC N^o 163, ID SEC N^o 124, ID SEC N^o 126, ID SEC N^o 128 o ID SEC N^o 130.
11. Un vector que comprende el polinucleótido de uno cualquiera de 9 o 10.
12. El vector según 11 en el que dicho vector es un vector de expresión, siendo preferentemente dicho vector de expresión un ADN de vector viral o plasmídico.

13. El vector según 12 en el que dicho vector viral es un virus vaccinia, siendo preferentemente dicho virus vaccinia MVA.
14. Una célula que comprende el constructo polipeptídico de cualquiera de 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de uno cualquiera de 9 o 10 o el vector de uno cualquiera de 11 a 13.
- 5 15. Una composición que comprende el constructo polipeptídico de cualquiera de 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de uno cualquiera de 9 o 10 o el vector de uno cualquiera de 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
16. El constructo polipeptídico de cualquiera de 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de uno cualquiera de 9 o 10 o el vector de uno cualquiera de 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, para su uso como medicamento.
- 10 17. El constructo polipeptídico de cualquiera de 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de uno cualquiera de 9 o 10 o el vector de uno cualquiera de 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una infección de VPH.
- 15 18. El constructo polipeptídico de cualquiera de 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de uno cualquiera de 9 o 10 o el vector de uno cualquiera de 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad relacionada con el VPH.

Leyendas de las Figuras

Figura 1: A. Orden específico de epítomos de CTL en el constructo ICCG6150

B. Orden específico de epítomos de HTL en el constructo ICCG6150 o el ICCG6149

Figura 2: A. Orden específico de epítomos de CTL en el constructo ICCG6138

B. Orden específico de epítomos de HTL en el constructo ICCG6138 o el ICCG6137

Figura 3: Orden específico de epítomos de CTL en el constructo ICCG6137

Figura 4: Orden específico de epítomos de CTL en el constructo ICCG6149

Figura 5: Constructo ICCG6137

A. Secuencia de aminoácidos de la secuencia señal (en cursiva) y el poliepítomo;

B. Secuencia de ADN: Se subrayan los codones iniciador y finalizador. La secuencia señal se muestra en cursiva, y la secuencia codificadora del epítomo está en negrita.

C. Secuencia de aminoácidos del poliepítomo;

D. Secuencia de ADN del poliepítomo.

Figura 6: Constructo ICCG6138

A. Secuencia de aminoácidos de la secuencia señal (en cursiva) y el poliepítomo;

B. Secuencia de ADN: Se subrayan los codones iniciador y finalizador. La secuencia señal se muestra en cursiva, y la secuencia codificadora del epítomo está en negrita.

C. Secuencia de aminoácidos del poliepítomo;

D. Secuencia de ADN del poliepítomo.

Figura 7: Constructo ICCG6149

A. Secuencia de aminoácidos de la secuencia señal (en cursiva) y el poliepítomo;

B. Secuencia de ADN: Se subrayan los codones iniciador y finalizador. La secuencia señal se muestra en cursiva, y la secuencia codificadora del epítomo está en negrita.

C. Secuencia de aminoácidos del poliepítomo;

D. Secuencia de ADN del poliepítomo.

Figura 8: Constructo ICCG6150

A. Secuencia de aminoácidos de la secuencia señal (en cursiva) y el poliepítipo;

B. Secuencia de ADN: Se subrayan los codones iniciador y finalizador. La secuencia señal se muestra en cursiva, y la secuencia codificadora del epítipo está en negrita.

C. Secuencia de aminoácidos del poliepítipo;

D. Secuencia de ADN del poliepítipo.

Descripción detallada de la invención

La presente invención va dirigida a un polinucleótido o polipéptido que comprende un constructo poliepitépico que codifica o que comprende epítipos derivados de las proteínas E1, E2, E4, E5, E6 y/o E7 del virus del papiloma humano (VPH). Los epítipos son aquellos que provocan una respuesta de linfocitos T restringidos a la clase I y/o a la clase II del HLA en un anfitrión inmunizado. Más específicamente, la presente invención describe constructos poliepitépicos sumamente optimizados y efectivos caracterizados por un procesamiento eficiente y que comprenden epítipos altamente inmunogénicos que permiten un tratamiento eficiente de pacientes en diferentes fases de una enfermedad relacionada con el VPH.

Identificación de los epítipos

Se evaluó la inmunogenicidad de los epítipos de enlace de CTL en diferentes ratones transgénicos de HLA. Para esto, se llevó a cabo una sola inmunización con repositorios de péptidos de CTL junto con un epítipo común de HTL emulsionado en IFA y hasta 14 días después, se aislaron y evaluaron células CD8+ del bazo en busca de especificidad epitépica usando un ensayo directo IFN γ ELISPOT *ex vivo*. Se demostró que la mayoría de los epítipos de CTL con alta afinidad de enlace eran inmunogénicos.

Se evaluaron epítipos de enlace de HTL en busca de su inducción de respuestas de memoria de células T (*ex vivo*) usando PBMC procedentes de pacientes de VPH. Para esto, se cultivaron *in vitro* PBMC procedentes de sujetos durante 1-2 semanas en presencia de péptido de ensayo más células que presentaban antígenos (APC) para permitir la activación de células T de "memoria", a diferencia de las células T "vírgenes". Al final del periodo de cultivo, se detectó la actividad de las células T usando ensayos tales como la liberación de ⁵¹Cr que implicaba a células diana cargadas de péptidos, la proliferación de células T o la liberación de citocinas.

La Tabla 1 da los epítipos de CTL del polipéptido aislado según las reivindicaciones. Cada epítipo individual es parte de la invención, así como las combinaciones de dos, más o la totalidad de dichos epítipos. En un aspecto específico de la invención, se han identificado epítipos en las proteínas E4 y E5 de los genotipos del VPH de alto riesgo VPH16, 18, 31 y 45, por lo que dichos epítipos están siendo caracterizados por las ID SEC N^{os} 8, 17, 29, 42, 43, 51, 52, 64, 74, 75, 81 y 86. Como tal, el constructo poliepitépico aislado descrito se relaciona también con una combinación que comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o la totalidad de los epítipos caracterizados por las ID SEC N^{os} 8, 17, 29, 42, 43, 51, 52, 64, 74, 75, 81 y 86, opcionalmente enlazados entre sí en un constructo poliepitépico.

Partiendo de dicho repositorio de epítipos de CTL, los presentes inventores lograron crear una vacuna potente multiespecífica y de amplio espectro que abordaba las diferentes fases de la infección de VPH y que ampliaba la ventana de tratamiento.

El constructo poliepitépico de la presente invención es particularmente útil para prevenir y/o tratar una infección de VPH, más específicamente una enfermedad relacionada con el VPH, y aún más específicamente las fases precancerosas de la infección de VPH, es decir, las CIN 1-3. Una enfermedad relacionada con el VPH incluye la neoplasia y cánceres relacionados con el VPH, tales como, sin limitación, el cáncer de cuello de útero y el carcinoma de cabeza y cuello. La neoplasia que haya de tratarse con los medicamentos según la presente invención puede ser cualquier neoplasia inducida por el VPH, preferentemente en un tejido epitelial, en la zona ano-genital y/o en el tracto ano-genital, que comprende la vulva, la vagina, el cuello de útero, el pene, el escroto, el ano y el recto. Los trastornos neoplásicos que deben tratarse comprenden la neoplasia cervical intraepitelial de diversos grados (CIN 1, 2 y 3), las neoplasias vulvares intraepiteliales de diversos grados (VIN 1, 2 y 3) y las neoplasias vaginales intraepiteliales (VAIN) y la neoplasia anal intraepitelial (AIN). También pueden ser tratados según esta invención sujetos varones que padezcan neoplasias inducidas viralmente en la zona y/o el tracto ano-genitales, tales como, sin limitación, la neoplasia intraepitelial del pene (PIN) y la neoplasia anal intraepitelial (AIN).

Aunque la mayoría de las infecciones de VPH no progresa hasta el cáncer de cuello de útero, es más frecuente que lo hagan las infecciones que persistan muchos años. La mayoría de cánceres de cuello de útero se desarrolla lentamente a través de una serie de cambios anormales en las células del cuello del útero. Pruebas de Papanicolaou regulares pueden detectar estos cambios y puede extirparse el tejido anormal, previniendo que se desarrolle transformándose en cáncer. Se han usado diversas expresiones para describir las células anormales que pueden

verse en pruebas de Papanicolaou. Las muestras con anomalías celulares pueden dividirse en diferentes categorías.

La neoplasia cervical intraepitelial (CIN) es una expresión que se usa a menudo para describir hallazgos de tejido anormal. Neoplasia significa un crecimiento anormal de células. El término CIN junto con un número (1, 2 o 3) describe cuánto del grosor del revestimiento del cuello uterino contiene células anormales. Se considera que CIN-3 es una afección precancerosa que incluye un carcinoma *in situ*.

Otra clasificación es:

- ASC: Células escamosas atípicas. Las células escamosas son las células delgadas planas que forman la superficie del cuello uterino.
- AGC: Células glandulares atípicas. Las células glandulares son células productoras de moco encontradas en el canal endocervical (abertura en el centro del cuello uterino) o en el revestimiento del útero. Las células glandulares no parecen normales, pero los médicos no están seguros de qué significan los cambios celulares.
- AIS: Adenocarcinoma endocervical *in situ*. Se encuentran células precancerosas en el tejido glandular.
- LSIL: Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado. Bajo grado significa que hay cambios tempranos en el tamaño y la forma de las células. La palabra lesión se refiere a una zona de tejido anormal. Se considera que las LSIL son anomalías leves causadas por una infección de VPH y que son una afección común, especialmente entre mujeres jóvenes. La mayoría de las LSIL vuelve a la normalidad en un periodo que va de algunos meses a algunos años.
- HSIL: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado. Alto grado significa que las células tienen un aspecto en tamaño y forma muy diferente del de las células normales. Las HSIL son anomalías más graves y pueden acabar convirtiéndose en cáncer si se dejan sin tratar.

También se pueden describir los resultados de las pruebas de Papanicolaou usando un conjunto más antiguo de categorías denominado "escala de displasia". Displasia es un término usado para describir células anormales. Aunque la displasia no es cáncer, puede desarrollarse transformándose en un cáncer muy temprano del cuello de útero. Las células tienen un aspecto anormal al microscopio, pero no invaden tejido sano contiguo. Hay cuatro grados de displasia: leve, moderada, severa y carcinoma *in situ*. El carcinoma *in situ* es una afección precancerosa que implica únicamente a la capa de células de la superficie del cuello uterino y que no se ha extendido a tejidos contiguos. En la actualidad, se clasifica a la displasia leve como LSIL; la displasia moderada o la severa y el carcinoma *in situ* se combinan en HSIL.

Resumen:

LSIL	HSIL		
CIN 1	CIN 2	CIN 3	
Displasia leve	Displasia moderada	Displasia severa	Carcinoma <i>in situ</i>

Los constructos poliepitópicos están diseñados para inducir una respuesta inmunitaria a al menos 4 epítomos diferenciados de CTL y 1-3 epítomos de HTL por genotipo de VPH en la mayoría de los sujetos infectados con uno de los cuatro genotipos del VPH de alto riesgo más extendidos (VPH16, 18, 31 y 45), con independencia de su origen étnico. Los epítomos de los constructos fueron clasificados y optimizados usando el procedimiento descrito en el documento WO04/031210 (Pharmexa Inc. y otros).

Los epítomos fueron incluidos en uno o más constructos. Los constructos fueron sometidos posteriormente a ensayo en ratones transgénicos de HLA y se midió la inmunogenicidad para los epítomos codificados.

Evidentemente, los epítomos de células T dados en las Tablas 1 y/o 2 pueden combinarse en uno o más constructos en cualquier manera apropiada para una aplicación terapéutica específica o un grupo de pacientes. Por ejemplo, únicamente los epítomos de CTL y/o HTL del VPH16 de las Tablas 1 y/o 2 pueden combinarse en 1 constructo. Alternativamente, los epítomos del constructo pueden estar limitados a VPH18, VPH31 o VPH45. Un enfoque diferente es combinar los epítomos para diferentes genotipos del VPH, pero limitarse a ciertas proteínas —por ejemplo, E1, E2, E4, E5, E6 o E7—, o combinaciones de proteínas —por ejemplo, E1 y E2, o E4 y E5, o E6 y E7—, o a otras combinaciones de epítomos de células T derivados de 2 o más proteínas del VPH; esto para un genotipo o, alternativamente, para dos, tres o cuatro de los genotipos descritos en el presente documento.

La presente invención versa acerca de un polinucleótido aislado que comprende un constructo poliepitópico que codifica al menos los siguientes epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) derivados del VPH: ID SEC N^{os} 1-44 y/o que codifica al menos los siguientes epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) derivados del VPH: ID SEC N^{os} 1, 23,

39 y 45-88. Además, la presente invención también abarca un polipéptido codificado por el polinucleótido descrito en el presente documento. Preferentemente, los epítomos del constructo poliepitópico están enlazados directa o indirectamente entre sí en el mismo marco de lectura.

Según se usa en el presente documento, el término "constructo" denota generalmente una composición que no se da en la naturaleza. Como tal, el constructo de polinucleótidos de la presente invención no codifica una proteína de forma natural de longitud completa del VPH, sino que codifica una proteína quimérica que contiene epítomos aislados de al menos una proteína del VPH no necesariamente en el mismo orden secuencial que en la naturaleza. Un constructo puede ser un "constructo de polinucleótidos" o un "constructo polipeptídico". Los polinucleótidos o (poli)péptidos descritos en el presente documento son "aislados" o "biológicamente puros". El término "aislado" se refiere a material que está sustancialmente libre de componentes que normalmente lo acompañan según se encuentra en su entorno natural. Sin embargo, debería estar claro que el polinucleótido o el (poli)péptido aislados de la presente invención podrían comprender componentes celulares heterólogos o un marcador o similar. Un epítomo "aislado" se refiere a un epítomo que no incluye los aminoácidos contiguos de toda la secuencia del antígeno o el polinucleótido de la que se derivó el epítomo. Como tal, la presente invención está relacionada con un polinucleótido que comprende un constructo poliepitópico que comprende los siguientes epítomos aislados de CTL del VPH: las ID SEC N^{os} 1-44 y/o las ID SEC N^{os} 1, 23, 39 y 45-88. Así, ha de entenderse que el constructo de la presente invención comprende epítomos aislados que no están embebidos en la proteína de forma natural de longitud completa del VPH. Los epítomos específicos del constructo pueden estar enlazados directa o indirectamente en cualquier orden o en el orden dado en las Figuras 1A, 2A, 3 y 4. Un constructo puede ser producido mediante tecnologías sintéticas, por ejemplo preparación y expresión de ADN recombinante, o técnicas químico-sintéticas para ácidos nucleicos y aminoácidos. También puede producirse un constructo mediante la adición o la afiliación de un material con otro, de modo que el resultado no se encuentre en la naturaleza en esa forma.

Con respecto a una secuencia particular de aminoácidos, un "epítomo" es un conjunto de residuos de aminoácidos que está implicado en el reconocimiento por parte de una inmunoglobulina particular o, en el contexto de las células T, aquellos residuos necesarios para el reconocimiento por proteínas receptoras de las células T y/o moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC).

Con respecto a una secuencia particular de ácidos nucleicos, un "epítomo de ácidos nucleicos" es un conjunto de ácidos nucleicos que codifica una secuencia particular de aminoácidos que forma un epítomo.

En el marco del sistema inmunitario, *in vivo* o *in vitro*, un epítomo son los rasgos colectivos de una molécula, tales como las estructuras primaria, secundaria y terciaria de los péptidos, y la carga, que forman conjuntamente un sitio reconocido por un receptor de las células T y la molécula del MHC, o una inmunoglobulina.

El término "polipéptido" se usa de forma intercambiable con "oligopéptido" y designa una serie de aminoácidos conectados entre sí, normalmente mediante enlaces peptídicos entre los grupos amino y carboxilo de aminoácidos adyacentes.

La expresión "constructo poliepitópico", cuando se refiere a ácidos nucleicos y polinucleótidos, puede usarse de forma intercambiable con las expresiones "minigén" y "ácido nucleico poliepitópico" y otras frases equivalentes, y comprende múltiples epítomos de ácidos nucleicos que codifican péptidos de cualquier longitud que pueden enlazarse con una molécula que funcione en el sistema inmunitario, preferentemente un HLA de clase I o un HLA de clase II y un receptor de célula T. Todas las divulgaciones del presente documento con respecto a epítomos de ácidos nucleicos comprendidos en un constructo de polinucleótidos se aplican *mutatis mutandis* a epítomos comprendidos en un constructo de aminoácidos. Los epítomos de un constructo poliepitópico pueden ser epítomos de HLA de clase I y/o epítomos de HLA de clase II. Los epítomos de HLA de clase I se denominan epítomos de CTL y los epítomos de HLA de clase II se denominan epítomos de HTL. Algunos constructos poliepitópicos pueden tener un subconjunto de epítomos de HLA de clase I y otro subconjunto de epítomos de HLA de clase II. Un epítomo de CTL consiste normalmente en 13 o menos residuos de aminoácidos en longitud, 12 o menos aminoácidos en longitud u 11 o menos aminoácidos en longitud, preferentemente de 8 a 13 aminoácidos en longitud, más preferentemente de 8 a 11 aminoácidos en longitud (es decir, 8, 9, 10 u 11), y, con suma preferencia, de 9 o 10 aminoácidos en longitud. Un epítomo de HTL consiste en 50 o menos residuos de aminoácidos en longitud, y habitualmente de 6 a 30 residuos, más habitualmente de 12 a 25, y preferentemente consiste en de 15 a 20 (es decir, 15, 16, 17, 18, 19 o 20) aminoácidos en longitud.

El constructo poliepitópico descrito en el presente documento incluye preferentemente 2 o más, 5 o más, 10 o más, 15 o más, 20 o más, 25 o más, 30 o más, 40 o más, 50 o más, 100 o más y hasta 150 epítomos, preferentemente hasta 130, y más preferentemente hasta 80 epítomos. De forma más específica, el constructo poliepitópico comprende o consiste en 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80 o más epítomos.

En una realización preferente, el constructo poliepitópico de la presente invención comprende, adicionalmente, al menos un epítomo de CTL y/o de HTL. Dicho epítomo "adicional" de CTL y/o de HTL que ha de usarse en combinación con los epítomos de la presente invención puede derivarse del VPH o de un antígeno o un organismo

extraños (distintos del VPH). En consecuencia, la presente invención abarca un polinucleótido que comprende un constructo poliepitópico que codifica al menos los siguientes epítomos de CTL del VPH caracterizados por: las ID SEC N^{os} 1-44 y/o las ID SEC N^{os} 1, 23, 39 y 45-88, y al menos un epítomo adicional de CTL y/o de HTL, y en el que el constructo no codifica una proteína de longitud completa del VPH. Preferentemente, el al menos un epítomo de CTL y/o de HTL se deriva del VPH, y, más específicamente, de las proteínas E1, E2, E4, E5, E6, E7, L1 y/o L2. Preferentemente, el al menos un epítomo de HTL se selecciona de la Tabla 2. Cualquier combinación de epítomos de HTL e incluso todos los epítomos de HTL dados en la Tabla 2 pueden estar incluidos en el constructo. En una realización adicional, la presente invención está relacionada con un polinucleótido que comprende ácidos nucleicos que codifican un constructo poliepitópico que comprende, respectivamente, los siguientes epítomos aislados de CTL y de HTL del VPH: las ID SEC N^{os} 1-44 y la ID SEC 89-105 o, alternativamente, la ID SEC N^{os} 1, 23, 39 y 45-88 y las ID SEC N^{os} 106-121. Los epítomos de HTL del constructo pueden estar enlazados directa o indirectamente en cualquier orden o en el orden dado en las Figuras 1B y 2B. En una realización adicional, la invención abarca un polipéptido codificado por dicho nucleótido.

Los epítomos adicionales pueden de cualquier antígeno de interés deseado, por ejemplo un antígeno viral, un antígeno tumoral o cualquier patógeno. Múltiples epítomos de HLA de clase I o clase II presentes en un constructo poliepitópico pueden derivarse del mismo antígeno o de diferentes antígenos. Por ejemplo, un constructo poliepitópico puede contener uno o más epítomos de HLA de enlace de los que pueden derivarse de dos antígenos diferentes del mismo virus, o de dos antígenos diferentes de virus diferentes. En una realización preferente, los epítomos se derivan del VPH y, más específicamente, de las proteínas E1, E2, E4, E5, E6, E7, L1 y/o L2. No hay limitación alguna de la longitud de tales epítomos adicionales; estos pueden tener una longitud de, por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30 o más aminoácidos. El "al menos uno" puede incluir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 115, 120, 125, 130 o incluso más epítomos.

En una realización preferente, el constructo poliepitópico de la presente invención comprende, además, el epítomo de células T universales denominado PADRE® (Pharmexa, San Diego; descrito, por ejemplo, en los documentos US 5 736 142 o US 6 413 935 o en las solicitudes internacionales WO95/07707 o WO97/26784). Un "epítomo PanDR de enlace o epítomo PADRE®" es un miembro de una familia de moléculas que enlaza más de una molécula HLA-DR de clase II. Puede concebirse que el patrón que define la familia de moléculas de PADRE® es un supermotivo del HLA de clase II. PADRE® se enlaza con la mayoría de las moléculas HLA-DR y estimula respuestas de los linfocitos T colaboradores (HTL) humanos *in vitro* e *in vivo*. En una realización preferente, el epítomo PADRE® está caracterizado por la ID SEC N° 122.

Alternativamente, pueden incluirse epítomos de HTL procedentes de vacunas usadas universalmente, tal como el toxoide tetánico. En una realización alternativa, los epítomos adicionales son epítomos de células B.

El objetivo de la presente invención es proporcionar estrategias para optimizar la antigenicidad y la inmunogenicidad de las vacunas poliepitópicas que abarcan un gran número de epítomos relevantes, y proporcionar vacunas poliepitópicas optimizadas, en particular constructos poliepitópicos de VPH. Las Figuras 5-8 representan ejemplos de tales constructos. Dichos constructos comprenden varios epítomos de CTL y de HTL específicos al VPH que son procesados eficientemente y, así, muy inmunogénicos. De aquí que la presente invención se dirija a un polinucleótido que comprende o consiste en un constructo poliepitópico que codifica epítomos de CTL y de HTL, por lo que el constructo poliepitópico está representado por ID SEC N° 124, ID SEC N° 126, ID SEC N° 128 o ID SEC N° 130, o comprendido en las mismas.

En una realización adicional, el constructo poliepitópico codifica un polipéptido que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos representada por ID SEC N° 123, ID SEC N° 125, ID SEC N° 127 o ID SEC N° 129, o comprendida en las mismas.

Más específicamente, el constructo poliepitópico codifica la secuencia de aminoácidos consistente en la secuencia representada por ID SEC N° 156, ID SEC N° 158, ID SEC N° 160, o ID SEC N° 162, o la comprende. Más en particular, el constructo poliepitópico consiste en la secuencia de ácidos nucleicos representada por ID SEC N° 157, ID SEC N° 159, ID SEC N° 161 o ID SEC N° 163, o la comprende.

Según se usan en el presente documento, los términos "inmunogénico" o "inmunogenicidad" se refieren a la capacidad de evocar una respuesta inmunitaria.

La inmunogenicidad puede manifestarse de varias maneras diferentes. La inmunogenicidad corresponde a si se provoca en absoluto una respuesta inmunitaria, y al vigor de cualquier respuesta particular, así como al grado de una población en la que se provoca una respuesta. Por ejemplo, un péptido podría provocar una respuesta inmunitaria en un conjunto diverso de la población y, pese a ello, no producir en ningún caso una respuesta vigorosa. Según estos principios, se ha descubierto que cerca del 90% de los péptidos con alta afinidad de enlace es inmunogénico, a diferencia del aproximadamente el 50% de los péptidos que se enlazan con afinidad intermedia (Sette y otros, 1994; Alexander y otros, 2003). Además, los péptidos con mayor afinidad de enlace llevan a

respuestas inmunogénicas más vigorosas. En consecuencia, se requiere menos péptido para provocar un efecto biológico similar si se usa un péptido con alta afinidad de enlace.

Pueden utilizarse diversas estrategias para evaluar la inmunogenicidad, incluyendo, sin limitación:

5 1) Evaluación de cultivos de células T primarias procedentes de individuos normales (véanse, por ejemplo, Wentworth y otros, 1995; Celis y otros, 1994; Tsai y otros, 1997; Kawashima y otros, 1998). Este procedimiento implica la estimulación de linfocitos sanguíneos periféricos (PBL), procedentes de sujetos normales, con un péptido de ensayo en presencia de células *in vitro* que presentan antígenos en un periodo de varias semanas. Las células T específicas para el péptido se activan durante este tiempo y se detectan usando, por ejemplo, un ensayo con liberación de ⁵¹Cr que implica a células diana sensibilizadas con el péptido.

10 2) Inmunización de ratones transgénicos de HLA (véanse, por ejemplo, Wentworth y otros, 1996; Alexander y otros, 1997) o ratones sustitutos. En este procedimiento, se administran péptidos (formulados, por ejemplo, en adyuvante incompleto de Freund) de forma subcutánea a ratones transgénicos de HLA o ratones sustitutos. De 11 a 14 días después de la inmunización, se retiran los esplenocitos. Las células se cultivan *in vitro* en presencia de péptido de ensayo durante aproximadamente una semana. Las células T específicas al péptido se detectan usando, por ejemplo, un ensayo con liberación de ⁵¹Cr que implica a células diana sensibilizadas con el péptido y/o células diana que expresen el antígeno generado endógenamente. Alternativamente, las células se incuban durante la noche junto con las APC cargadas de péptido en el ensayo IFN γ ELISPOT para obtener la cuantificación de las células T individuales específicas al péptido que liberan interferón gamma de ratón al ser estimuladas.

15 3) Demostración de las respuestas de memoria de las células procedentes de individuos inmunes que han sido vacunados de forma efectiva, se han recuperado de la infección y/o de pacientes infectados crónicamente (véanse, por ejemplo, Rehmann y otros, 1995; Doolan y otros, 1997; Bertoni y otros, 1997; Threlkeld y otros, 1997; Diepolder y otros, 1997). Al aplicar esta estrategia, las respuestas de memoria se detectan cultivando PBL procedentes de sujetos que han estado expuestos de forma natural al antígeno del VPH, por ejemplo a través de la infección, y que, así, han generado "naturalmente" una respuesta inmunitaria, o procedentes de pacientes que fueron vacunados con una vacuna que comprendía el epítipo objeto de interés. Los PBL procedentes de sujetos se cultivan *in vitro* durante 1-2 semanas en presencia de péptido de ensayo más células que presentaban antígenos (APC) para permitir la activación de células T de "memoria", a diferencia de las células T "virgenes". Al final del periodo de cultivo, se detecta la actividad de las células T usando ensayos que incluyen la liberación de ⁵¹Cr que implica a células diana sensibilizadas con el péptido, la proliferación de células T o la liberación de citocinas.

20 Se afirma que un epítipo dado es inmunogénico si puede demostrarse la reactividad de las células T a células diana sensibilizadas con ese péptido. La inmunogenicidad para un epítipo dado puede ser descrita por el número de individuos en un grupo de sujetos (por ejemplo, seres humanos, primates, ratones transgénicos, ratones sustitutos) infectados o vacunados con HLA compatible que muestren reactividad de las células T a ese epítipo particular o, por ejemplo, por el número de puntos detectados en un ensayo ELISPOT. Las Tablas 8 y 9 indican la inmunogenicidad para los epítipos de la invención.

25 Los epítipos análogos derivados de secuencias del VPH que se dan en la naturaleza presentan una capacidad de enlace con las moléculas de HLA y una inmunogenicidad mayores debido a la modificación de residuos de aminoácidos específicos con respecto a la secuencia del VPH que se dan en la naturaleza. En consecuencia, en una realización específica, los epítipos del constructo poliepitópico aislado pueden ser analogizados para modificar la afinidad de enlace y/o la capacidad de enlazarse con múltiples alelos dentro de un supertipo de HLA. Los epítipos análogos pueden crearse alterando la presencia o la ausencia de residuos particulares en las posiciones primarias de anclaje. Se usan tales análogos para modular la afinidad de enlace de un péptido que comprenda un motivo o un supermotivo particulares. En consecuencia, la Tabla 1 da los epítipos analogizados.

30 Un "residuo preferente de anclaje primario" es un residuo de anclaje de un motivo o un supermotivo que está asociado con un enlace óptimo. Los motivos, los supermotivos de enlace de HLA y los residuos preferentes de anclaje primario se dan, por ejemplo, en el documento WO05/089164 (Pharmexa Inc. y otros). En el presente documento se definen los "análogos heteroclíticos" como epítipos con una potencia aumentada para una célula T específica, medida por las mayores respuestas a una dosis dada, o por un requerimiento de menores cantidades para lograr la misma respuesta. Las ventajas de los análogos heteroclíticos incluyen que los epítipos pueden ser más potentes, o más económicos (ya que se requiere una cantidad menor para conseguir el mismo efecto). Además, los epítipos modificados podrían superar la insensibilidad de células T específicas a antígenos (tolerancia de células T) (véase, por ejemplo, el documento WO01/36452).

35 Los epítipos del constructo poliepitópico están enlazados directa o indirectamente entre sí en el mismo marco de lectura. Más específicamente, los epítipos son contiguos (conectados directamente) o bien están separados por un conector o un ácido nucleico espaciador que codifica un aminoácido espaciador o un péptido espaciador (conectado indirectamente).

“Conexión” o “unión” se refiere a cualquier procedimiento conocido en la técnica para conectar funcionalmente péptidos (directamente o mediante un conector), incluyendo, sin limitación, la fusión recombinante, el enlace covalente, el enlace no covalente, el enlace bisulfuro, el enlace iónico, el enlace hidrógeno, la polimerización, la ciclización, el enlace electrostático y la conexión a través de un conector o portador central. La polimerización puede lograr, por ejemplo, por medio de la reacción entre glutaraldehído y los grupos $-NH_2$ de los residuos de lisina usando metodología rutinaria.

En una realización específica, el constructo poliepitópico de la presente invención comprende, además, tres o varios ácidos nucleicos espaciadores, enlazados en el mismo marco de lectura con los ácidos nucleicos de epítomos de CTL y/o de HTL. Un marco de lectura es un conjunto contiguo y no solapado de codones de tres nucleótidos en el ADN o el ARN. Hay 3 posibles marcos de lectura en una molécula de ADN de una hebra y seis en una de doble hebra. “En el mismo marco de lectura” significa que no hay ningún cambio de un marco a otro que pudiera llevar a diferentes genes/proteínas.

Para desarrollar constructos poliepitópicos usando los epítomos, dichos epítomos pueden ser ordenados y optimizados usando un programa de ordenador o, para menos epítomos, no usando un programa de ordenador. “Algunos epítomos” se refiere a determinar o designar un orden de los epítomos en un constructo poliepitópico.

“Optimizar” se refiere a incrementar la inmunogenicidad de un constructo poliepitópico contando con al menos un par de epítomos para minimizar la aparición de epítomos de unión, y a insertar un residuo separador (según se describe en el presente documento) para evitar adicionalmente la aparición de epítomos de unión o para proporcionar un residuo flanqueante. Según se describe en el presente documento, un “residuo flanqueante” es un residuo que está situado junto a un epítopo. Puede introducirse o insertarse un residuo flanqueante en una posición adyacente al término N (N+1) o al término C (C+1) de un epítopo. Un aumento de la inmunogenicidad o la antigenicidad de un constructo poliepitópico optimizado se mide con respecto a un constructo poliepitópico que no se ha construido en función de los parámetros de optimización usando ensayos conocidos por los expertos en la técnica; por ejemplo, evaluación de la inmunogenicidad en ratones transgénicos de HLA, ELISPOT, tinción con tetrámeros, ensayos de liberación de ^{51}Cr y presentación sobre células que presenten antígeno en el contexto de moléculas de MHC.

El proceso de optimización de constructos poliepitópicos está dado, por ejemplo, en los documentos WO01/47541 y WO04/031210 (Pharmexa Inc. y otros). Según una realización específica, el constructo poliepitópico de la presente invención está optimizado para el procesamiento de epítomos de CTL y/o de HTL. Más en particular, la optimización comprende la introducción de uno o más espaciadores. De forma más preferente, el constructo poliepitópico descrito en el presente documento comprende 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 o más ácidos nucleicos espaciadores o 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más aminoácidos espaciadores entre dos epítomos. Un “espaciador” se refiere a una secuencia que se inserta entre dos epítomos en un constructo poliepitópico para evitar la presencia de epítomos de unión o para facilitar la escisión entre epítomos y, con ello, mejorar la presentación de los epítomos. “Epítomos de unión” se refiere a epítomos reconocidos por el sistema inmunitario, no presente en el antígeno diana, y creados únicamente por la yuxtaposición de epítomos realizada por el hombre. Un ácido nucleico espaciador puede codificar uno o más aminoácidos. Un ácido nucleico espaciador que flanquee un epítopo de la clase I de HLA en un constructo poliepitópico codifica, preferentemente, de 1 a 8, y, más preferentemente, de 1 a 5 aminoácidos, es decir, 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos. Un ácido nucleico espaciador que flanquee un epítopo de la clase II de HLA en un constructo poliepitópico codifica de 1 a 8 aminoácidos, preferentemente 5, 6, 7 o más aminoácidos, y, más preferentemente, 5 o 6 aminoácidos. Un ácido nucleico espaciador que separe un epítopo de la clase I de HLA y un epítopo de la clase II de HLA en un constructo poliepitópico codifica, preferentemente, de 1 a 8, y, más preferentemente, de 1 a 5 aminoácidos, es decir, 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos. El número de espaciadores en un constructo, el número de aminoácidos en un espaciador, y la composición de los aminoácidos de un espaciador pueden ser seleccionados para optimizar el procesamiento de los epítomos y/o minimizar los epítomos de unión. Se prefiere que los espaciadores se seleccionen optimizando de forma concomitante el procesamiento de epítomos y evitando los motivos de unión. El “aminoácido espaciador” o “péptido espaciador” comprende normalmente una o más moléculas neutras relativamente pequeñas, como aminoácidos o miméticos de aminoácidos, que carecen sustancialmente de carga en condiciones fisiológicas. Por ejemplo, los espaciadores que flanquean los epítomos de HLA de clase II incluyen preferentemente residuos de G (Gly), P (Pro) y/o N (Asn). Un espaciador particularmente preferente para flanquear un epítopo de la clase II de HLA incluye la alternancia de residuos G y P, por ejemplo, (GP) n , (PG) n , (GP) n G, (PG) n P, etcétera, siendo n un entero entre 1 y 10, preferentemente 2 o 3, y siendo un ejemplo específico de tal espaciador GPGPG (ID SEC N° 155). Para separar epítomos de clase I o separar un epítopo de clase I y uno de clase II, los espaciadores se seleccionan normalmente, por ejemplo, de A (Ala), N (Asn), K (Lys), G (Gly), L (Leu), I (Ile), R (Arg), Q (Gln), S (Ser), C (Cys), P (Pro), T (Thr) u otros espaciadores neutros de aminoácidos no polares o aminoácidos polares neutros, aunque también podría haber presentes residuos polares. Un espaciador preferente, particularmente para epítomos de HLA de clase I, comprende o consiste en 1, 2, 3 o más residuos consecutivos de alanina (A), lisina (K), asparagina (N) o glicina (G), o una combinación de residuos de K (Lys) y A (Ala), por ejemplo KA, KAA o KAAA, una combinación de residuos de N (Asn) y A (Ala), por ejemplo NA, NAA o NAAA o una combinación de residuos de G (Gly) y A (Ala), por ejemplo GA, GAA o GAAA. La presente invención está dirigida, así, a un polinucleótido que comprende un constructo poliepitópico descrito en el presente documento, y en el que los epítomos del constructo están separados por uno o más aminoácidos espaciadores. En una realización preferente, los uno o más aminoácidos espaciadores se seleccionan del grupo consistente en K, R, N, Q, G, A, S, C, G, P y T. En algunos constructos poliepitópicos, es

suficiente que cada ácido nucleico espaciador codifique la misma secuencia de aminoácidos. En otros constructos poliepitópicos, uno o más de los ácidos nucleicos espaciadores pueden codificar diferentes secuencias de aminoácidos.

5 El único límite externo a la longitud total y la naturaleza de cada secuencia espaciadora se deriva de consideraciones de facilidad de síntesis, procesamiento proteolítico y manipulación del polinucleótido.

10 Los (poli)péptidos de la presente invención pueden estar en sus formas naturales (no cargadas) o en formas que sean sales, y que o bien estén libres de modificaciones tales como la glicosilación, la oxidación de cadenas laterales o la fosforilación, o bien contengan estas modificaciones. También incluidos en la definición están los péptidos modificados por sustituyentes adicionales unidos a las cadenas laterales de los aminoácidos, tales como unidades glicosilo, lípidos o iones inorgánicos como fosfatos, así como modificaciones relativas a conversiones químicas de las cadenas, como la oxidación de los grupos sulfhidrilo. Así, se contempla que "polipéptido" o sus términos equivalentes incluyan la secuencia apropiada referenciada de aminoácidos, y pueden estar sujetos a las de las modificaciones anteriores, con la condición de que su funcionalidad no se destruya.

15 Además, la presente invención también contempla un constructo poliepitópico que comprende o consiste en repeticiones o combinaciones múltiples de cualesquiera de los epítomos dados en las Tablas 1 y 2. El constructo poliepitópico puede existir como un homopolímero que comprende múltiples copias del mismo péptido o de la misma combinación de péptidos, o como un heteropolímero de diversos péptidos. Los polímeros tienen la ventaja de la mayor reacción inmunológica y, cuando se usan diferentes epítomos de péptidos para componer el polímero, la capacidad adicional de inducir los HTL y/o los CTL que reaccionan con diferentes determinantes antigénicos del organismo patógeno seleccionado como diana para una respuesta inmunitaria. Como alternativa, los epítomos individuales no están ligados formando un constructo y pueden combinarse por separado; por ejemplo, en una composición.

25 También se da a conocer un procedimiento de confección de un constructo poliepitópico. Los polinucleótidos o los ácidos nucleicos que estén disponibles comercialmente pueden ser sintetizados químicamente según el procedimiento de la fosforamidita triéster en fase sólida descrito por primera vez por Beaucage y Caruthers, 1981, usando un sintetizador automático, descrito en Van Deventer y otros, 1984. La purificación de los polinucleótidos es por electroforesis en gel de acrilamida nativo o bien por HPLC de intercambio aniónico, como se describe en Pearson y Reanier, 1983. Otros procedimientos de purificación son la separación de fase inversa y la hidroxipatita y son bien conocidos para la persona experta. Los polinucleótidos sintetizados y purificados químicamente pueden ensamblarse formando polinucleótidos más largos mediante procedimientos basados en la PCR (Stemmer y otros, 30 1995; Krieglger y otros, 1991).

35 Normalmente, los epítomos de los constructos poliepitópicos son subclonados formando un vector de expresión que contiene un promotor para dirigir la transcripción, así como otras secuencias reguladoras, tales como potenciadores y sitios de poliadenilación. Elementos adicionales del vector son, por ejemplo, secuencias señal o dianas, secuencias de traducción de iniciación y terminación, regiones e intrones 5' y 3' no traducidos, requeridos para la expresión del constructo poliepitópico en células anfitrionas.

Pueden prepararse constructos poliepitópicos, por ejemplo, según los procedimientos expuestos en Ishioka y otros, 1999; Velders y otros, 2001; o según se describe en el documento WO04/031210 - Pharmexa Inc.

40 Un polipéptido poliepitópico o el polipéptido que comprende el constructo poliepitópico pueden generarse de forma sintética o recombinante. El polipéptido poliepitópico puede expresarse como una única proteína. Para realizar la expresión del polipéptido poliepitópico en bacterias, en células eucariotas (incluyendo la levadura) o en anfitriones vertebrados cultivados, como células de ovario de hámster chino (CHO), células Vero, células RK13, COS I, BHK y MDCK, o anfitriones invertebrados tales como células de insectos, se llevan a cabo las etapas siguientes:

45 – la transformación de un anfitrión apropiado con un vector recombinante, o por medio de adenovirus, virus de gripe, BCG y cualquier otro sistema de portadores vivos, en los que se ha insertado una secuencia de nucleótidos que codifica uno de los polipéptidos de la invención bajo el control de los elementos reguladores apropiados, particularmente un promotor reconocido por las polimerasas del anfitrión celular o del sistema portador vivo y, en el caso de un anfitrión procariota, un sitio de enlace ribosómico (RBS), que permiten la expresión de dicha secuencia de nucleótidos en dicho anfitrión celular,

50 – el cultivo de dicho anfitrión celular transformado en condiciones que permitan la expresión de dicho inserto.

55 Como tal, la presente invención también está relacionada con una célula o una célula anfitriona que comprende un polinucleótido, un polipéptido o un vector que contiene un constructo poliepitópico. En una realización adicional, la "célula" de la presente invención es una célula que presenta antígenos (APC) que comprende el polinucleótido descrito en el presente documento.

El polipéptido poliepitópico puede ser purificado mediante procedimientos bien conocidos para la persona experta en la técnica (véanse, por ejemplo, Lichty JJ y otros, 2005; Gaberc-Porekar V y otros, 2001).

Para fines de inmunización terapéutica o profiláctica, el constructo poliepitópico de la invención puede ser expresado por medio de vectores. La presente invención está relacionada, así, con un vector que comprende el polinucleótido de la presente invención. El término "vector" puede comprender un plásmido, un cósmido, un organismo procarionta, un fago, un virus o un organismo eucariota, tal como una célula animal o humana o una célula de levadura.

5 Normalmente, el vector de expresión contiene una unidad de transcripción o una casete de expresión que contiene todos los elementos adicionales requeridos para la expresión del constructo poliepitópico en las células anfitrionas. Así, una casete de expresión típica contiene un promotor ligado operativamente al constructo poliepitópico y señales requeridas para la poliadenilación eficiente del transcrito. Elementos adicionales de la casete pueden incluir potenciadores e intrones con sitios donadores y aceptores de cortes y empalmes funcionales.

10 Los promotores adecuados son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Sambrook y otros, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (2ª ed. 1989) y en Ausubel y otros, *Current Protocols in Molecular Biology* (1994). Los sistemas eucariotas de expresión para células de mamíferos son bien conocidos en la técnica y están disponibles comercialmente. Tales elementos promotores incluyen, por ejemplo, el citomegalovirus (CMV), las repeticiones terminales largas del virus del sarcoma de Rous (RSV LTR) y el virus símico 40 (SV40). Para otras

15 secuencias promotoras adecuadas véanse, por ejemplo, los documentos US 5 580 859 y US 5 589 466 (Vical Inc.).

Además de una secuencia de promotores, la casete de expresión también puede contener una región de terminación de transcripción corriente abajo del gene estructural para permitir una terminación eficiente. La región de terminación puede obtenerse del mismo gen que la secuencia de promotores o puede obtenerse de genes diferentes.

20 En una realización particular, el polinucleótido de la presente invención comprende, además, una o más secuencias reguladoras. Con "secuencia reguladora" se quiere decir una secuencia de polinucleótidos que contribuye o es necesaria para la expresión de un ácido nucleico asociado de forma operativa o de un constructo de ácidos nucleicos en un organismo anfitrión particular. Las secuencias reguladoras que son adecuadas para los procariontas, por ejemplo, incluyen un promotor, opcionalmente una secuencia de operadores, y un sitio interno de enlace

25 ribosómico (IRES). Se sabe que las células eucariotas utilizan promotores, señales de poliadenilación y potenciadores. El promotor puede ser un promotor CMV u otro promotor descrito en el presente documento o conocido en la técnica. Las secuencias reguladoras incluyen los IRES. Otros ejemplos específicos de secuencias reguladoras son descritos en el presente documento o, si no, conocidos en la técnica.

30 En una realización adicional, el polinucleótido de la presente invención comprende, además, uno o más "ácidos nucleicos de acceso" o "secuencias de acceso" de clase I del MHC y/o de clase II del MHC.

El uso de una secuencia de acceso de MHC mejora la respuesta inmunitaria a un antígeno con respecto a la administración del antígeno solo, al dirigir los péptidos al sitio de ensamblaje y transporte de la molécula MHC hacia la superficie celular, proporcionando de ese modo un mayor número de complejos de moléculas-péptidos de MHC disponibles para la unión a las células T y para la activación de las mismas. Los ejemplos de posibles secuencias de

35 acceso son bien conocidos para la persona experta y son descritos, por ejemplo, en el documento WO04/031210 (Pharmexa Inc. y otros). En una realización específica, los epítomos del constructo poliepitópico de la presente invención están ligados operativamente con un ácido nucleico que codifica una secuencia de acceso seleccionada del grupo consistente en: secuencia señal activadora del plasminógeno tisular, secuencia señal de la insulina, secuencia señal del retículo endoplasmático, secuencia de acceso lisosomal LAMP-1, secuencia de acceso

40 lisosomal LAMP-2, secuencia de acceso lisosomal HLA-DM, secuencias de asociación con HLA-DM de HLA-DO, dominio citoplasmático Ig-alfa, dominio citoplasmático Ig-beta, proteína li, proteína matricial de la gripe, antígeno de superficie del VHB, antígeno del núcleo del VHB y proteína Ty de la levadura.

45 En una realización adicional, el polinucleótido de la presente invención comprende, además, al menos una secuencia señal. Una "secuencia señal" es o codifica una secuencia de 16-30 aminoácidos, en un polipéptido secretado, que dirige la proteína a su compartimento o su membrana diana. Una secuencia señal preferente es la secuencia señal Ig kappa.

La expresión "ligado operativamente" se refiere a una unión en la que una secuencia de nucleótidos está conectada a otra secuencia (o a otras secuencias) de nucleótidos de tal modo que sea capaz de alterar el funcionamiento de la

50 secuencia (o las secuencias). Por ejemplo, un ácido nucleico o un constructo poliepitópico de ácidos nucleicos que esté ligado operativamente a una secuencia reguladora, tal como un promotor/operador, pone la expresión del ácido nucleico o el constructo bajo la influencia o el control de la secuencia reguladora. Se dice que dos secuencias de nucleótidos (tal como una secuencia que codifique una proteína y una secuencia de una región promotora ligada al extremo 5' de la secuencia de codificación) están ligadas operativamente si la inducción de la función promotora da

55 como resultado la transcripción del ARNm de la secuencia de codificación de la proteína y si la naturaleza de la unión entre las dos secuencias de nucleótidos (1) no resulta en la introducción de una mutación por desplazamiento del marco de lectura (2) ni impide las secuencias reguladoras de expresión para dirigir la expresión del ARNm o de la proteína. Así, una región promotora estaría ligada operativamente a una secuencia de nucleótidos si el promotor fuera capaz de efectuar la transcripción de esa secuencia de nucleótidos.

Uno o más residuos de cisteína comprendidos en los epítomos del constructo poliepitópico pueden ser “bloqueados reversible o irreversiblemente”. Una “cisteína bloqueada irreversiblemente” es una cisteína en la que el grupo tiol de la cisteína está protegido irreversiblemente por medios químicos. En particular la “protección irreversible” o el “bloqueo irreversible” por medios químicos se refiere a la alquilación, preferentemente la alquilación de una cisteína en una proteína por medio de agentes alquilantes, tales como, por ejemplo, halógenos activos, etilenimina o N-(yodoetil) trifluoro-acetamida. En este sentido, ha de entenderse que la alquilación de los grupos tiol de la cisteína se refiere a la sustitución del hidrógeno del tiol por $(CH_2)_nR$, siendo n 0, 1, 2, 3 o 4 y R= H, COOH, NH₂, CONH₂, fenilo, o cualquier derivado de los mismos. La alquilación puede llevarse a cabo mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica, tal como, por ejemplo, halógenos activos X $(CH_2)_nR$, siendo X un halógeno tal como I, Br, Cl o F. Ejemplos de halógenos activos son metilioduro, ácido yodoacético, yodoacetamida y 2-bromoetilamina.

Una “cisteína bloqueada reversiblemente” es una cisteína en la que los grupos tiol de la cisteína están protegidos reversiblemente. En particular las expresiones “protección reversible” o “bloqueo reversible”, tal como se usan en el presente documento, contemplan el enlace covalente de agentes de modificación en los grupos tiol de la cisteína, así como la manipulación del entorno de la proteína, de modo que persista el estado redox de los grupos tiol de la cisteína (protección). La protección reversible de los grupos tiol de la cisteína puede llevarse a cabo química o enzimáticamente. La expresión “protección reversible por medios enzimáticos”, según se usa en el presente documento, contempla la protección reversible mediada por enzimas, tal como, por ejemplo, las aciltransferasas, por ejemplo las aciltransferasas que están implicadas en la catálisis de la tioesterificación, tal como la palmitoil aciltransferasa. La expresión “protección reversible por medios químicos”, según se usa en el presente documento, contempla la protección reversible usando condiciones o agentes bien conocidos para la persona experta en la técnica.

La eliminación del estado de protección reversible de los residuos de cisteína puede lograrse química o enzimáticamente, por ejemplo, por medio de:

- un reductor, en particular DTT, DTE, 2-mercaptoetanol, ditionita, SnCl₂, borohidruro de sodio, hidroxilamina, TCEP, en particular en una concentración de 1-200 mM, más preferentemente en una concentración de 50-200 mM;
- la eliminación de las condiciones o los agentes estabilizadores del tiol mediante, por ejemplo, el aumento del pH;
- enzimas, en particular tioesterasas, glutarredoxina, tiorredoxina, en particular en una concentración de 0,01-5 μM, aún más en particularmente en un intervalo de concentración de 0,1-5 μM;
- combinaciones de las condiciones químicas y/o enzimáticas descritas más arriba.

La eliminación del estado de protección reversible de los residuos de cisteína puede llevarse a cabo *in vitro* o *in vivo*; por ejemplo, en una célula o en un individuo.

Alternativamente, un residuo de cisteína o 2 o más residuos de cisteína comprendidos en los epítomos de VPH descritos en el presente documento pueden mutar en un aminoácido natural, preferentemente en metionina, ácido glutámico, glutamina o lisina.

Composiciones y vacunas

La presente invención versa, además, sobre composiciones que comprenden un polinucleótido, un polipéptido o un vector que comprende el constructo poliepitópico de VPH descritos en el presente documento, o una combinación de los mismos. En una realización específica, la composición comprende, además, al menos uno de un excipiente farmacéuticamente aceptable, es decir, un portador, un adyuvante o un vehículo. Las expresiones “composición”, “composición inmunogénica” y “composición farmacéutica” pueden usarse de manera intercambiable. Más en particular, dicha composición inmunogénica es una composición de vacuna. Aún más en particular, dicha composición de vacuna es una composición de vacuna profiláctica. Alternativamente, tal composición de vacuna también puede ser una composición de vacuna terapéutica. La composición de vacuna profiláctica se refiere a una vacuna que tiene como objetivo prevenir una infección persistente de VPH y ser administrada a personas sanas que no están infectadas aún con el VPH. La composición de vacuna terapéutica se refiere a una vacuna que tiene como objetivo el tratamiento de una infección de VPH y ser administrada a pacientes que están infectados con el VPH.

Una vacuna o una composición de vacuna es una composición inmunogénica capaz de obtener una respuesta inmunitaria suficientemente amplia y vigorosa como para provocar al menos uno o ambos de:

- un efecto estabilizante en la multiplicación de un patógeno ya presente en un anfitrión y contra el que va dirigida la composición de la vacuna. Una composición de vacuna también puede inducir una respuesta inmunitaria en un anfitrión ya infectado con el patógeno contra el cual la respuesta inmunitaria conduce a la estabilización, la regresión o la resolución de la enfermedad. En el caso del VPH, por ejemplo, una vacuna previene el avance adicional de la CIN y previene el desarrollo del cáncer de cuello de útero o promueve la regresión de las lesiones; y

– un aumento de la velocidad a la que un patógeno recién introducido en un anfitrión, tras la inmunización con una composición de vacuna dirigida contra dicho patógeno, se elimina de dicho anfitrión.

En particular, la composición de la invención es una composición inmunogénica o una vacuna del VPH. En particular, la composición o vacuna comprende una cantidad efectiva del polinucleótido, los ácidos nucleicos, el polipéptido o los péptidos de la presente invención. En una realización específica, dicha composición o vacuna comprende un vector, un plásmido, un virus recombinante y/o una célula anfitriona que comprenden el constructo poliepitópico de la presente invención. Dicha composición o vacuna puede comprender, además, una o más sustancias activas adicionales y/o al menos uno de un excipiente farmacéuticamente aceptable, siendo un portador, un adyuvante o un vehículo.

Se denomina "cantidad efectiva" de un polinucleótido o polipéptido en una vacuna o composición a una cantidad requerida y suficiente para provocar una respuesta inmunitaria. Estará claro para el experto en la técnica que la respuesta inmunitaria suficientemente amplia y vigorosa para provocar los efectos contemplados por la vacuna o composición puede requerir inmunizaciones sucesivas (en el tiempo) con la vacuna o composición como parte de un régimen de administración o una pauta de vacunación. La "cantidad efectiva" puede variar dependiendo de la salud y la condición física del individuo que vaya a tratarse, de la edad del individuo que vaya a tratarse (por ejemplo, la dosificación para niños puede ser inferior a la de los adultos), del grupo taxonómico del individuo que vaya a tratarse (por ejemplo, ser humano, primate no humano, primate, etc.), de la capacidad del sistema inmunitario del individuo para desencadenar una respuesta inmunitaria efectiva, del grado de protección deseado, de la formulación de la vacuna, de la evaluación del médico que lleve el caso, de la cepa del patógeno infectante y de otros factores relevantes. En cuanto a dosificación, el tratamiento puede ser una pauta de una sola dosis o una pauta de múltiples dosis. La vacuna o composición puede ser administrada junto con otros agentes inmunorreguladores. Las dosificaciones, las vías de administración y las pautas de dosis se regulan según metodología conocida en la técnica.

Portadores, adyuvantes y vehículos: Administración

La presente invención versa, además, sobre un procedimiento de inducción de una respuesta inmunitaria contra el VPH en un individuo que comprende la administración del polinucleótido, el vector, el polipéptido, la célula anfitriona o la composición de la presente invención. Más específicamente, la presente invención versa sobre un procedimiento de tratamiento de una infección de VPH y, de forma más específica, de una enfermedad relacionada con el VPH.

La presente invención versa, además, sobre un procedimiento de inducción de una respuesta inmunitaria en diversas fases, por ejemplo CIN 1-3, de una enfermedad relacionada con el VPH, buscando con ello mayor eficacia, que comprende la administración del polinucleótido, el vector, el polipéptido, la célula anfitriona o la composición que contiene epítomos a partir de antígenos del VPH expresados diferencialmente.

Pueden usarse diversos sistemas de administración reconocidos en la técnica para administrar un constructo poliepitópico a las células apropiadas. Los polinucleótidos y los polipéptidos codificados pueden ser administrados, por ello, en un vehículo farmacéuticamente aceptable o como suspensiones coloidales, o como polvos, con o sin diluyentes. Pueden estar "desnudos" o asociados con vehículos de administración y ser administrados usando sistemas de administración conocidos en la técnica.

Un "portador farmacéuticamente aceptable" o "adyuvante farmacéuticamente aceptable" es cualquier excipiente, diluyente, portador y/o adyuvante adecuado que, por sí mismo, no induzca la producción de anticuerpos dañinos para el individuo que recibe la composición ni provoque protección. Preferentemente, un portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable potencia la respuesta inmunitaria provocada por un antígeno.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye vehículos como agua, suero fisiológico, soluciones salinas fisiológicas, glicerol, etanol, etc. En tales vehículos pueden incluirse sustancias auxiliares, como humectantes o emulsionantes, sustancias tampón de pH y conservantes.

Normalmente, una composición o vacuna se prepara como un inyectable, ya sea como una solución líquida o una suspensión. La inyección puede ser subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, intratecal, intradérmica, intraepidérmica o mediante "cañón génico". Otros tipos de administración comprenden electroporación, implantación, supositorios, ingestión oral, aplicación entérica, inhalación, aerosolización o pulverización o gotas nasales. También pueden prepararse formas sólidas, adecuadas para ser disueltas o suspendidas en vehículos líquidos de forma previa a la inyección. La preparación también puede ser emulsionada o encapsulada en liposomas para potenciar el efecto adyuvante.

Una formulación líquida puede incluir aceites, polímeros, vitaminas, hidratos de carbono, aminoácidos, sales, tampones, albúmina, tensioactivos o espesantes. Puede usarse cualquier tampón fisiológico, pero se prefieren los tampones de citrato, fosfato, succinato y glutamato o mezclas de los mismos.

Otro sistema de administración de fármacos para aumentar la vida circulatoria media es el liposoma. Los péptidos y los ácidos nucleicos de la invención también pueden ser administrados por medio de liposomas, que sirven para seleccionar como blanco un tejido particular, como el tejido linfóide, o para seleccionar como objetivo células infectadas, así como para aumentar la vida media de la composición de péptidos y ácidos nucleicos. Los liposomas incluyen emulsiones, espumas, micelas, monocapas insolubles, cristales líquidos, dispersiones de fosfolípidos, capas laminares y similares.

Preferentemente, después de que se prepara la composición farmacéutica líquida, es liofilizada para evitar la degradación y conservar la esterilidad. Las personas con un dominio normal de la técnica conocen procedimientos para la liofilización de composiciones líquidas. Inmediatamente antes del uso, la composición puede ser reconstituida con un diluyente estéril (por ejemplo, solución de Ringer, agua destilada o suero fisiológico estéril) que puede incluir ingredientes adicionales. Tras la reconstitución, la composición es administrada preferentemente a sujetos usando los procedimientos que resultan conocidos para los expertos en la técnica.

En la actualidad se está usando el enfoque denominado "ADN desnudo" para la administración intramuscular (IM) en ensayos clínicos. Para maximizar los efectos inmunoterapéuticos de las vacunas de ADN puede resultar deseable un procedimiento alternativo para formular ADN plasmídico purificado. Se han descrito varios procedimientos y puede llegar a haber disponibles nuevas técnicas. También pueden usarse lípidos catiónicos en la formulación (véase, por ejemplo, lo descrito en el documento WO 93/24640; Mannino y Gould-Fogerite 1988; patente estadounidense n° 5279833; WO 91/06309; y Felgner y otros, 1987). Además, también podrían formarse complejos de glucolípidos, liposomas fusogénicos, péptidos y compuestos denominados colectivamente compuestos protectores interactivos sin condensación, convirtiéndolos en ADN plasmídico purificado para influir en variables tales como la estabilidad, la dispersión intramuscular o el tránsito a órganos o tipos celulares específicos.

Ejemplos adicionales de tecnologías de administración a base de ADN incluyen la administración facilitada (bupivacaína, polímeros, mediada por péptidos), los complejos lipídicos catiónicos, la administración mediada por partículas ("cañón génico") o mediada por presión (véase, por ejemplo, el documento US 5 922 687), el ADN formulado con lípidos cargados o sin carga, el ADN formulado en liposomas, el ADN emulsionado, el ADN incluido en un vector viral, el ADN formulado con una proteína o un polinucleótido que faciliten la transfección, el ADN formulado con una proteína o un polipéptido de acceso, el ADN formulado con agentes de precipitación del calcio, el ADN acoplado a una molécula portadora inerte y el ADN formulado con un adyuvante. En este contexto, se hace notar que casi todas las consideraciones pertenecientes al uso de adyuvantes en la formulación de vacunas tradicionales se aplican a la formulación de vacunas de ADN.

También pueden usarse directamente como vacunas vivas en seres humanos virus recombinantes o vectores portadores vivos. En consecuencia, la presente invención también versa sobre un virus recombinante, un vector bacteriano, un vector de levadura o un plásmido, y una célula anfitriona que comprenda el polinucleótido descrito en el presente documento.

En una realización preferente de la invención, se introduce el polinucleótido en forma de un vector en el que la expresión está bajo el control de un promotor. Por lo tanto, realizaciones adicionales de la presente invención son un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica al menos el constructo polipeptídico descrito en el presente documento, y que es capaz de expresar los respectivos péptidos, una célula anfitriona que comprende el vector de expresión y un procedimiento de producción y purificación de los péptidos descritos en el presente documento, y una composición farmacéutica que comprende los péptidos descritos en el presente documento y un portador y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables.

Hay disponibles divulgaciones detalladas relativas a la formulación y el uso de vacunas de ácidos nucleicos, por ejemplo en Donnelly J.J. y otros, 1997 y 1997a. Ejemplos de vectores de expresión incluyen anfitriones virales atenuados, como un *poxvirus*. Como ejemplo de este enfoque, se usa el virus vaccinia como vector para expresar secuencias de nucleótidos que codifican los péptidos de la invención. Tras su introducción en un anfitrión, el virus vaccinia recombinante expresa el péptido inmunogénico, y de ese modo provoca una respuesta de CTL y/o de HTL en el anfitrión. Se describen vectores vaccinia, por ejemplo la vaccinia Ankara modificada (MVA), y procedimientos útiles en los protocolos de inmunización, por ejemplo, en el documento US 4 722 848. Otro vector es el BCG (bacilo de Calmette-Guerin). Se describen vectores BCG en Stover y otros, 1991. Los vectores de levadura preferentes son: *Sacharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris* y *Hansenula polymorpha*. Ejemplos adicionales son: los alfavirus (virus de la selva de Semliki, el virus de Sindbis, el virus de la encefalitis equina venezolana (VEE)), el virus del herpes simple (VHS), cepas de replicación deficiente de adenovirus (humano o simio), vectores SV40, vectores CMV, vectores del virus del papiloma y vectores derivados del virus de Epstein Barr. A partir de la descripción del presente documento, resultará obvia para los expertos en la técnica una amplia variedad de otros vectores útiles para la administración o la inmunización terapéutica de los epitopos dados a conocer en el presente documento, por ejemplo los vectores retrovirales, vectores de *Salmonella typhi*, vectores destoxificados de la toxina del carbunco y similares.

Pueden desearse modificaciones adicionales de los vectores para optimizar la expresión y la inmunogenicidad de los polinucleótidos. En algunos casos, se requieren intrones para la expresión eficiente de los genes y podrían incorporarse en la región transcrita del constructo de polinucleótidos uno o más intrones sintéticos o presentes en la

naturaleza. También se puede considerar la inclusión de secuencias de estabilización del ARNm y secuencias para la replicación en células de mamíferos para aumentar la expresión de los polinucleótidos. Además, las secuencias inmunoestimuladoras (ISS o CpG) parecen desempeñar un papel en la inmunogenicidad de las vacunas de ácidos nucleicos. Estas secuencias pueden incluirse en el vector, fuera de la secuencia de codificación del polinucleótido, si se desea potenciar la inmunogenicidad.

En algunas realizaciones, puede usarse un vector de expresión bicistrónico que permita la producción tanto de los epítomos codificados por el minigén como de una segunda proteína (incluida para potenciar o disminuir la inmunogenicidad). Ejemplos de proteínas o polipéptidos que podrían potenciar de forma beneficiosa la respuesta inmunitaria si son coexpresados incluyen las citosinas (por ejemplo, IL-2, IL-12, GM-CSF), las moléculas inductoras de citosinas (por ejemplo, LeIF) y las moléculas coestimuladoras.

Los epítomos colaboradores (HTL) pueden unirse a señales intracelulares de acceso y ser expresados separadamente de los epítomos de CTL expresados; esto permite la dirección de los epítomos de HTL a un compartimento celular diferente del de los epítomos de CTL. Si hace falta, esto podría facilitar una entrada más eficiente de los epítomos de HTL en el sistema de HLA de clase II, mejorando con ello la inducción de HTL. A diferencia de la inducción de HTL o CTL, disminuir específicamente la respuesta inmunitaria mediante la coexpresión de moléculas inmunosupresoras (por ejemplo TGF-P) puede resultar beneficioso en ciertas enfermedades.

El uso de constructos poliepitópicos está descrito, por ejemplo, en US 6 534 482 (Pharmexa Inc.); An y Whitton, 1997; Thomson y otros, 1996; Whitton y otros, 1993; Hanke y otros, 1998. Por ejemplo, pueden diseñarse un plásmido poliepitópico de ADN que codifica epítomos de VPH portadores de supermotivos y/o motivos derivados de múltiples regiones de la secuencia prolioproteínica del VPH, el epítomo PADRE® de células T colaboradoras universales (o múltiples epítomos de HTL del VPH), y una secuencia señal de translocación del retículo endoplasmático.

Todas las divulgaciones del presente documento que estén relacionadas con el uso de adyuvantes en el contexto de composiciones farmacéuticas a base de proteínas o (poli)péptidos se aplican *mutatis mutandis* a su uso en la tecnología de la vacunación con ácidos nucleicos y vectores. Lo mismo se aplica a otras consideraciones relativas a la formulación y el modo y la vía de administración y, por ende, también estas consideraciones expuestas en el presente documento en relación con la composición farmacéutica tradicional se aplican *mutatis mutandis* a su uso en la tecnología de la vacunación con ácidos nucleicos y vectores.

Uso médico

En una realización adicional, la presente invención versa sobre el polinucleótido, el vector, la célula anfitriona, el polipéptido o la composición de la presente invención para su uso como medicamento. Preferentemente, dicho medicamento es una vacuna. Más específicamente, la presente invención versa acerca del uso del constructo poliepitópico que comprende los epítomos de la presente invención, o la secuencia de ácidos nucleicos que codifican dichos epítomos, para la fabricación de un medicamento para prevenir y/o tratar una infección de VPH y/o una enfermedad relacionada con el VPH. En una realización específica, la invención también versa acerca de un vector, un plásmido, un virus recombinante o una célula anfitriona que comprenden el polinucleótido descrito en el presente documento para la fabricación de un medicamento para prevenir y/o tratar una infección de VPH y/o una enfermedad relacionada con el VPH.

La presente invención también abarca el constructo poliepitópico que comprende los epítomos dados a conocer, o la secuencia de ácidos nucleicos que codifican dichos epítomos, o un vector, un plásmido, un virus recombinante o una célula anfitriona que comprenden el polinucleótido descrito en el presente documento para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una infección de VPH y/o de una enfermedad relacionada con el VPH.

En una realización adicional, la presente invención versa sobre el uso del polinucleótido, el vector, la célula anfitriona, el polipéptido o la composición para inducir una respuesta inmunitaria contra el VPH en un individuo. Dicho uso puede caracterizarse porque dicho polinucleótido, dicho vector, dicha célula anfitriona, dicho polipéptido o dicha composición pueden usarse como parte de una serie de tiempos y de compuestos. En este sentido, ha de entenderse que la expresión "una serie de tiempos y de compuestos" se refiere a la administración a intervalos temporales a un individuo los compuestos usados para provocar una respuesta inmunitaria. Estos compuestos pueden comprender cualquier de los componentes siguientes: el polinucleótido, el vector, la célula anfitriona, el polipéptido o la composición de la presente invención.

Puede proporcionarse el constructo poliepitópico de esta invención en forma de *kit* junto instrucciones para la administración de la vacuna. Normalmente, el *kit* incluiría composiciones de polinucleótidos deseados en un recipiente, preferentemente en forma de dosis unitaria e instrucciones para su administración. Un *kit* alternativo incluiría un constructo de polinucleótidos con ácidos nucleicos deseados de la invención en un recipiente, preferentemente en forma de dosis unitaria, junto con instrucciones para su administración. También pueden incluirse en el *kit* linfocinas como IL-2 o IL-12. Otros componentes del *kit* que también pueden resultar deseables incluyen, por ejemplo, una jeringa estéril, dosis de refuerzo y otros excipientes deseados.

Otras disposiciones de los instrumentos que implementan la invención resultarán obvias para los expertos en la técnica.

5 Ha de entenderse que aunque las realizaciones, las construcciones y las configuraciones preferentes, así como los materiales, han sido expuestas en el presente documento para los instrumentos según la presente invención, pueden realizarse diversos cambios o modificaciones en forma y en detalle.

Tabla 1: Epitopos de HTL derivados del VPH

Secuencias de epitopos de FN o analogizados	ID SEC Nº	Fuente	Secuencia de FN	HLA
LSQMVQWAY	1	VPH16/31.E1.357		A01
QVDYYGLYY	2	VPH16.E2.151		A01
STDLRDHIDY	3	VPH16.E2.23		A01
KSAIVTLTY	4	VPH16.E2.329		A01
ISDYRHYCY	5	VPH16.E6.80.D3	ISEYRHYCY	A01
CLYLHIQSL	6	VPH16.E1.259		A02
KLLSKLLCV	7	VPH16.E1.292		A02
FVYIPLFLI	8	VPH16.E5.66		A02
TLHDIILECV	9	VPH16.E6.29.L2	TIHDIILECV	A02
YMLDLQPETV	10	VPH16.E7.11.V10	YMLDLQPETT	A02
GTLGIVCPV	11	VPH16.E7.85.V9	GTLGIVCPI	A02
VLLLLVRYK	12	VPH16.E1.274		A11
STAAALYWYK	13	VPH16.E1.314		A11
ATMCRHYKR	14	VPH16.E1.406		A11
KSLFGMSLMK	15	VPH16.E1.483		A11
SVICFVNSK	16	VPH16.E1.497		A11
AATKYPLLK	17	VPH16.E4.9		A11
LYGVSFSEL	18	VPH16.E1.214		A24
RFHNIRGRF	19	VPH16.E6.131.F9	RFHNIRGRW	A24
VYDFAFRDLCI	20	VPH16.E6.49		A24
PYAVCDKCF	21	VPH16.E6.66.F9	PYAVCDKCL	A24
CYSLYGTTF	22	VPH16.E6.87.F9	CYSLYGTTL	A24
GTGCNGWFY	23	VPH18/31.E1.11		A01
LQDKIIDHY	24	VPH18.E2.15		A01
ATCVSHRGLY	25	VPH18.E2.154		A01
TLEKLTNTGLY	26	VPH18.E6.89		A01
ILYAHIQCL	27	VPH18.E1.266		A02
VAWDSVYYM	28	VPH18.E2.136		A02
TVYVFCFLL	29	VPH18.E5.5.1		A02
SLQDIEITCV	30	VPH18.E6.24		A02
KLTNTGLYNV	31	VPH18.E6.92.V10	KLTNTGLYNL	A02
KQGAMLAVFK	32	VPH18.E1.210		A11
TVSATQLVK	33	VPH18.E2.211		A11
STVSVGTAKE	34	VPH18.E2.230		A11
QVVPAYNISK	35	VPH18.E2.61		A11

ES 2 440 974 T3

Secuencias de epitopos de FN o analogizados	ID SEC N°	Fuente	Secuencia de FN	HLA
FVYRDSIPK	36	VPH18.E6.53.K10	FVYRDSIPH	A11
DSVYGDTLER	37	VPH18.E6.83.R10	DSVYGDITLEK	A11
ATLQDIVLH	38	VPH18.E7.6		A11
SYFGMSFIHF	39	VPH18/45.E1.491		A24
YYMTDAGTW	40	VPH18.E2.142		A24
GYNTFYIEF	41	VPH18.E2.168		A24
MYVCCHVPL	42	VPH18.E5.14		A24
VYVFCLLPM	43	VPH18.E5.52		A24
LYNLLIRCF	44	VPH18.E6.98.F9	LYNLLIRCL	A24
VMDDSEIAY	45	VPH31.E1.349		A01
LSSALEIPY	46	VPH31.E6.15		A01
AFTDLTIVY	47	VPH31.E6.46		A01
QTEPDTSNY	48	VPH31.E7.44.T2	QAEPDTSNY	A01
KLLEKLLCI	49	VPH31.E1.272		A02
YTNWKFYIL	50	VPH31.E2.131		A02
FLLCFCVLL	51	VPH31.E5.15		A02
FIYIPLFVI	52	VPH31.E5.66		A02
FLFTDLTIV	53	VPH31.E6.45.L2	FAFTDLTIV	A02
KLTKGICDL	54	VPH31.E6.90		A02
MVMLMLVRFK	55	VPH31.E1.253		A11
STAAALYWYR	56	VPH31.E1.294		A11
ISFAGIVTK	57	VPH31.E2.205		A11
ATTPIIHLK	58	VPH31.E2.291		A11
KVSEFRWYRY	59	VPH31.E6.72		A11
SVYGTTLER	60	VPH31.E6.82.R9	SVYGTITLEK	A11
PYLHSRLVVF	61	VPH31.E1.557		A24
VFTFPNPFPF	62	VPH31.E1.565		A24
HYTNWKFIF	63	VPH31.E2.130.F9	HYTNWKFYI	A24
VVFIYIPLF	64	VPH31.E5.64		A24
FYSKVSEFRW	65	VPH31.E6.69		A24
VYGTITLEKL	66	VPH31.E6.83		A24
LQDKILDHY	67	VPH45.E2.17		A01
NTGILTVTY	68	VPH45.E2.332		A01
LTDVSIACVY	69	VPH45.E6.25.T2	LQDVSIACVY	A01
NTELYNLLI	70	VPH45.E6.95		A01
ELDPVDLLCY	71	VPH45.E7.20		A01
TLYAHIQCL	72	VPH45.E1.252		A02
YVVWDSIYYI	73	VPH45.E2.137		A02
SLVFLLCFSV	74	VPH45.E5.3		A02
FLLCFVCL	75	VPH45.E5.6		A02
YQFAFKDLCV	76	VPH45.E6.45.V10	YQFAFKDLCI	A02

ES 2 440 974 T3

Secuencias de epítomos de FN o analogizados	ID SEC N°	Fuente	Secuencia de FN	HLA
TLQEIVLHV	77	VPH45.E7.7.V9	TLQEIVLHL	A02
AVMCRHYKR	78	VPH45.E1.399		A11
RQMNMSQWIK	79	VPH45.E1.411		A11
STWHWTGCNK	80	VPH45.E2.322		A11
VTRYPLLR	81	VPH45.E4.8		A11
RTEVYQFAFR	82	VPH45.E6.41.R10	RTEVYQFAFK	A11
SVYGETLEK	83	VPH45.E6.84		A11
VFTFPHAFPF	84	VPH45.E1.578		A24
YYITETGIW	85	VPH45.E2.144		A24
VYCAFAWLL	86	VPH45.E5.26		A24
VYQFAFKDL	87	VPH45.E6.44		A24
FYSRIRELRF	88	VPH45.E6.71.F10	FYSRIRELRY	A24

La columna 1 contiene el epítomo analogizado cuando en la columna 4 no se indica ninguna secuencia de FN.

Tabla 2: Epítomos de HTL del VPH

Secuencia de epítomos	Fuente	ID SEC N°
LYWYKTGISNISEVY	VPH16.E1.319	89
PEWIQRQTVLQHSFN	VPH16.E1.337	90
WKHMRLECAIYYKAR	VPH16.E2.033	91
LQAIELQLTLETIYN	VPH16.E2.070	92
GLYYVHEGIRTYFVQ	VPH16.E2.156	93
QRFHNIRGRWTGRCM	VPH16.E6.130	94
LDLQPETTDLYCYEQ	VPH16.E7.13	95
LCTELQTTIHDILE	VPH16.E6.22	96
IRTLEDLLMGTLGIV	VPH16.E7.76	97
FKTLIQPFILYAHIQ	VPH18.E1.258	98
IEFITFLGALKSFLK	VPH18.E1.458	99
FLNTVAIPDSVQILV	VPH18.E2.346	100
HKAIELQMALQGLAQ	VPH18.E2.074	101
EVFEFAFKDLFVVYR	VPH18.E6.43	102
LFVVYRDSIPHAACHK	VPH18.E6.52	103
TNTGLYNLLIRCLRCQ	VPH18.E6.94	104
FQQLFLNTLSFVCPW	VPH18.E7.86	105
NGWFYVEAVIDRQTG	VPH31.E1.15	106
PEWIERQTVLQHSFN	VPH31.E1.317	107
WKHIRLECVMYKAR	VPH31.E2.033	108
TPPIHLKGDANILK	VPH31.E2.292	109
TGRCIACWRRPRTET	VPH31.E6.132	110
VLDFAFTDLTIVYRD	VPH31.E6.42	111
IRILQELLMGSFGIV	VPH31.E7.76	112
PRKLHELSSALEIPY	VPH31.E6.9	113

Secuencia de epítomos	Fuente	ID SEC N°
DWVMAIFGVNPTVAEGF	VPH45.E1.228	114
FKTLIKPATLYAHIQ	VPH45.E1.244	115
PINISKSKAHKAIEL	VPH45.E2.67	116
TIPNSVQISVGYMTI	VPH45.E2.354	117
LCIVYRDCIAYAACH	VPH45.E6.52	118
FHSIAGQYRGQCNTC	VPH45.E6.127	119
EIVLHLEPQNELDPV	VPH45.E7.10	120
LRTLQQLFLSTLSFV	VPH45.E7.84	121
AKFVAAWTLKAAA	PADRE	122

La presente invención se ilustra por medio de los ejemplos siguientes.

Ejemplos

Ejemplo 1: Ensayos de enlace competitivo del HLA de clase I usando HLA soluble

5 El siguiente ejemplo del enlace de péptidos a moléculas solubles de HLA demuestra la cuantificación de las afinidades de enlace de los péptidos de HLA de clase I y clase II.

Se usaron líneas celulares homocigóticas transformadas del virus Epstein-Barr (EBV), fibroblastos o transfectantes como fuentes de las moléculas de HLA de clase I. Se prepararon lisados celulares y se purificaron moléculas de HLA según protocolos divulgados (Sidney y otros, 1998; Sidney y otros, 1995; Sette, y otros, 1994).

10 Las moléculas de HLA se purificaron a partir de lisados por cromatografía de afinidad. Se hizo pasar al lisado por una columna de perlas de sefarosa CL-4B unidas a un anticuerpo apropiado. Los anticuerpos usados para la extracción de HLA de los lisados celulares son W6/32 (para HLA-A) y LB3.1 (para HLA-DR).

15 Después se lavó la columna anti-HLA con 10mM Tris-HCL, pH8, en 1% NP-40, PBS, y se eluyó PBS que contenía un 0,4% de n-octilglucósido y moléculas de HLA con 50 mM de dietilamina en O, 15M de NaCl que contenían un 0,4% de n-octilglucósido, pH 11,5. Se añadió un volumen 1/25 de 2M de Tris, pH 6,8, al eluato para reducir el pH a +/- pH 8. A continuación, los eluatos se concentraron mediante centrifugación en concentradores Centriprep 30 (Amicon, Beverly, Massachusetts). El contenido proteínico fue evaluado por medio de un ensayo proteínico BCA (Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois) y fue confirmado mediante SDS-PAGE.

20 Se ha publicado una descripción detallada del protocolo utilizado para medir el enlace de péptidos al MHC de clase I y clase II (Sette y otros, 1994; Sidney y otros, 1998). Brevemente, se incubaron moléculas del MHC purificado (5 a 500 nM) con diversos inhibidores de péptidos no marcados y con 1-10 nM de péptidos sonda radiomarcados con ¹²⁵I durante 48 horas en PBS que contenía un 0,05% de Nonidet P-40 (NP40) en presencia de un cóctel de inhibidores de proteasa. Todos los ensayos se realizaron con pH 7 con excepción del DRB1*0301, que se realizó con pH 4,5, y de DRB1*1601 (DR2w21 I) y DRB4*0101 (DRw53), que se realizaron con pH 5.

25 Tras la incubación, los complejos MHC-péptido se separaron del péptido libre mediante filtración en gel en columnas TSK200 de 7,8 mm x 15 cm (TosoHaas 16215, Montgomeryville, Pensilvania). Se hizo pasar al eluato de las columnas TSK a través de un detector de radioisótopos Beckman 170, y la radiactividad fue trazada e integrada usando un integrador Hewlett-Packard 3396A, y se determinó la fracción de péptido enlazada. Alternativamente, los complejos MHC-péptido se separaron del péptido libre mediante captura sobre placas de ELISA recubiertas con anticuerpos anti-HLA. Una vez que se eliminó por lavado el péptido libre, se midieron las reactividades restantes usando el mismo procedimiento que antes.

30 Los péptidos radiomarcados fueron yodados usando el procedimiento de la cloramina T.

35 Normalmente, en experimentos preliminares, se tituló cada preparación de MHC en presencia de cantidades fijas de péptidos radiomarcados para determinar la concentración de moléculas de HLA necesaria para enlazar un 10-20% de la radiactividad total. Todos los ensayos subsiguientes de inhibición y enlace directo se llevaron a cabo usando estas concentraciones de HLA.

40 Dado que en estas condiciones [marcador] < [HLA] y $CI_{50} \geq [HLA]$, los valores CI_{50} medidos son aproximaciones razonables de los valores reales de K_D . Los inhibidores de péptidos son sometidos a ensayo normalmente con concentraciones que oscilan entre 120 µg/ml y 1,2 ng/ml, y son sometidos a ensayo en de dos a cuatro experimentos completamente independientes. Para permitir la comparación de los datos obtenidos en diferentes experimentos, se calcula una cifra de enlace relativo para cada péptido dividiendo la CI_{50} de un control positivo para

la inhibición por la CI_{50} para cada péptido sometido a ensayo (normalmente versiones no marcadas del péptido sonda radiomarcado). Para fines de bases de datos y comparaciones entre experimentos, se compilan los valores de enlace relativo. Estos valores pueden volver a ser convertidos posteriormente en valores de CI_{50} en nM dividiendo la CI_{50} en nM de los controles positivos para la inhibición por el enlace relativo del péptido de interés. Se ha demostrado que este procedimiento de compilación de datos es el más preciso para comparar péptidos que han sido sometidos a ensayo en días diferentes, o con lotes diferentes de MHC purificado. Las Tablas 3-6 contienen los valores de CI_{50} para los epítomos de CTL.

Dado que el anticuerpo usado para la purificación de HLA-DR (LB3.1) es específico a la cadena alfa, las moléculas beta-1 no son separadas de las moléculas beta-3 (ni/o de las beta-4 y beta-5). La especificidad de beta-1 del ensayo de enlace es obvia en los casos de DRB1*0101 (DR1), DRB1*0802 (DR8w2) y DRB1*0803 (DR8w3), en los que no se expresa beta-3 alguna. También se ha demostrado para DRB1*0301 (DR3) y DRB3*0101 (DR52a), DRB1*0401 (DR4w4), DRB1*0404 (DR4w14), DRB1*0405 (DR4w 15), DRB1*1101 (DR5), DRB1*1201 (DR5w12), DRB1*1302 (DR6w19) y DRB1*0701 (DR7). El problema de la especificidad de la cadena beta para ensayos de DRB1*1501 (DR2w2beta-1), DRBS*0101 (DR2w2beta-2), DRB1*1601 (DR2w21beta-1), DRB5*0201 (DRS1Dw21) y DRB4*0101 (DRw53) se soslaya mediante el uso de fibroblastos. El desarrollo y la validación de ensayos con respecto a la especificidad de la molécula DRbeta han sido descritos previamente (véase, por ejemplo, Southwood y otros, 1998). La Tabla 7 contiene los valores de CI_{50} para los epítomos de HTL.

Tabla 3: Enlace de péptidos restringidos al HLA A01

ID SEC	Secuencia	Fuente	HLA			
			A0101 (nM)	A2601 (nM)	A2902 (nM)	A3002 (nM)
23	GTGCGNGWFY	VPH18/31.E1.11	136	3081	116	9,1
24	LQDKIIDHY	VPH18.E2.15	68	-	-	2770
25	ATCVSHRGLY	VPH18.E2.154	421	646	4212	28
26	TLEKLTNTGLY	VPH18.E6.89	174	265	2378	476
2	QVDYYGLYY	VPH16.E2.151	2,7	251	25	160
3	STDLRDHIDY	VPH16.E2.23	113	758	-	17
4	KSAIVTLTY	VPH16.E2.329	9	-	96	6
5	ISDYRHICY	VPH16.E6.80.D3	10	-	10	192
1	LSQMVQWAY	VPH16/31.E1.357	21	6448	122	0,93
45	VMDDSEIAY	VPH31.E1.349	18	-	95	2551
46	LSSALEIPY	VPH31.E6.15	35	4107	261	175
47	AFTDLTIVY	VPH31.E6.46	31	36	71	-
48	QTEPDTSNY	VPH31.E7.44.T2	19	-	-	2322
67	LQDKILDHY	VPH45.E2.17	32	5000	-	836
68	NTGILTIVY	VPH45.E2.332	337	3147	1403	8722
69	LTDVSIACVY	VPH45.E6.25.T2	2,9	8201	764	72
70	NTELYNLLI	VPH45.E6.95	32	17294	-	-
71	ELDPVDLLCY	VPH45.E7.20	26	2107	4291	-

-: $CI_{50} > 20 \mu M$
Campo vacío: no se dispone de datos

Tabla 4: Enlace de péptidos restringidos al HLA A02

ID SEC	Secuencia	Fuente	HLA				
			A0201 (nM)	A0202 (nM)	A0203 (nM)	A0206 (nM)	A6802 (nM)
27	ILYAHIGCL	VPH18.E1.266	33	8,5	10,2	236	-
28	VAWDSVYYM	VPH18.E2.136	172	603	1332	790	5154
29	TVYVFCFLL	VPH18.E5.51	175	587	769	26	41
30	SLQDIEITCV	VPH18.E6.24	153	25	38	205	-
31	KLTNTGLYNV	VPH18.E6.92.V10	106	2,9	4,7	83	688
6	CLYLHIQSL	VPH16.E1.259	73	45	21	100	1777
7	KLLSKLLCV	VPH16.E1.292	31	67,7	23	124,6	-
8	FVYIPLFLI	VPH16.E5.66	206	323	63	59	251
9	TLHDIILECV	VPH16.E6.29.L2	3,6	0,54	1,9	92	2947
10	YMLDLQPETV	VPH16.E7.11.V10	19	1,9	4,5	86	5446
11	GTLGIVCPV	VPH16.E7.85.V9	20	49	68	33	32
49	KLLEKLLCI	VPH31.E1.272	19	21	2,4	51	-
50	YTNWKFYIL	VPH31.E2.131	69	14	31	84	146
51	FLLCFCVLL	VPH31.E5.15	9,6	13	34	2,6	237
52	FIYIPLFVI	VPH31.E5.66	26	97	47	8,1	157
53	FLFTDLTIV	VPH31.E6.45.L2	17	1,3	3,5	20	1904
54	KLTNKGICDL	VPH31.E6.90	205	440	585	484	-

ID SEC	Secuencia	Fuente	HLA				
			A0201 (nM)	A0202 (nM)	A0203 (nM)	A0206 (nM)	A6802 (nM)
72	TLYAHIQCL	VPH45.E1.252	34	4,9	6,2	417	1613
73	YVVWDSIYYI	VPH45.E2.137	77	27	248	20	30
74	SLVFLLCFSV	VPH45.E5.3	8,5	27	49	7,9	20
75	FLLCFSVCL	VPH45.E5.6	38	81	66	59	353
76	YQFAFKDLCV	VPH45.E6.45.V10	15	1,3	4,2	10	3698
77	TLQEIVLHV	VPH45.E7.7.V9	19	30	5,1	309	2457

- : Cl₅₀ > 20 µM

Tabla 5: Enlace de péptidos restringidos al HLA A11

ID SEC	Secuencia	Fuente	HLA				
			A0301 (nM)	A1101 (nM)	A3101 (nM)	A3301 (nM)	A6801 (nM)
32	KQGAMLAVFK	VPH18.E1.210	35	11	519	-	235
33	TVSATQLVK	VPH18.E2.211	7	4	6137	-	31
34	STVSVGTAK	VPH18.E2.230	34	6	1760	-	10
35	GIVVPAYNISK	VPH18.E2.61	308	14	6665	-	8
36	FVVYRDSIPK	VPH18.E6.53.K10	3437	2504	8	473	176
37	DSVYGDTLER	VPH18.E6.83.R10	193	73	246	1425	44
38	ATLQDIVLH	VPH18.E7.6	211	11	543	-	-
12	VVLLLVRYK	VPH16.E1.274	6,3	4,1	0,1	6,1	76
13	STAAALYWYK	VPH16.E1.314	5	2	35	128	6
14	ATMCRHYKR	VPH16.E1.406	90	14	10	17	35
15	KSLFGMSLMK	VPH16.E1.483	3,9	2	230	-	887
16	SVICFVNSK	VPH16.E1.497	109	2,2	25	51	5,4
17	AATKYPLLK	VPH16.E4.9	59	20	-	-	-
55	MVMLMLVRFK	VPH31.E1.253	10	16	53	20	10
56	STAAALYWYR	VPH31.E1.294	198	10	5,6	47	12
57	ISFAGIVTK	VPH31.E2.205	17	1,6	115	4366	16
58	ATTPIIHLK	VPH31.E2.291	10	1,2	34	-	2,5
59	KVSEFRWYRY	VPH31.E6.72	213	25	3	338	192
60	SVYGTTLER	VPH31.E6.82.R9	22	7	75	853	4
78	AVMCRHYKR	VPH45.E1.399	311	38	52	24	29
79	RQMNMSQWIK	VPH45.E1.411	15	11	45	-	2557
80	STWHWTGCNK	VPH45.E2.322	14	2,8	54	428	18
81	VTTRYPLLR	VPH45.E4.8	158	18	483	-	3147
82	RTEVYQFAFR	VPH45.E6.41.R10	755	211	8	696	439
83	SVYGETLEK	VPH45.E6.84	21	9,5	6506	-	7,2

- : Cl₅₀ > 20 µM

Tabla 6: Enlace de péptidos restringidos al HLA A24

ID SEC	Secuencia	Fuente	HLA			
			A2302 (nM)	A2402 (nM)	A2902 (nM)	A3002 (nM)
39	SYFGMSFIHF	VPH18/45.E1.491	4,3	17,5	62	1544
40	YYMTDAGTW	VPH18.E2.142	14	3,2	3411	2151
41	GYNTFYIEF	VPH18.E2.168	13	16	835	1264
42	MYVCCHVPL	VPH18.E5.14	24	15	9442	4717
43	VYVFCFLLPM	VPH18.E5.52	57	178	5276	-
44	LYNLLIRCF	VPH18.E6.98.F9	10	32	-	2255
18	LYGVSFSEL	VPH16.E1.214	7,2	3,1	-	-
19	RFHNIRGRF	VPH16.E6.131.F9	2,4	29	346	0,69
20	VYDFAFRDLCL	VPH16.E6.49	8,9	22	-	-
21	PYAVCDKCF	VPH16.E6.66.F9	6,1	7,2	641	157
22	CYSLYGTTF	VPH16.E6.87.F9	11	28	2088	7823
61	PYLHSRLVVF	VPH31.E1.557	2,8	38,7	4365	2229
62	VFTFPNPFPP	VPH31.E1.565	12	17	603	-
63	HYTNWKFIF	VPH31.E2.130.F9	16	8,5	433	4847
64	VVFIYIPLF	VPH31.E5.64	108	276	302	268
65	FYSKVSEFRW	VPH31.E6.69	8,8	4,5	1777	1361
66	VYGTLEKL	VPH31.E6.83	8,2	26	-	1237

ES 2 440 974 T3

ID SEC	Secuencia	Fuente	HLA			
			A2302 (nM)	A2402 (nM)	A2902 (nM)	A3002 (nM)
84	VFTFPHAFPF	VPH45.E1.578	15,9	90,4	57	-
85	YYITETGIW	VPH45.E2.144	2	8,5	-	-
86	VYVCAFAWLL	VPH45.E5.26	8,1	8,4	2346	-
87	VYQFAFKDL	VPH45.E6.44	1,1	4	-	165
88	FYSRIRELRF	VPH45.E6.71.F10	1	3,2	83	-

- : Cl₅₀ > 20 μM

Tabla 7. Datos de enlace de epítomos de HTL

ID SEC	Secuencia	Fuente	IC ₅₀ nM a HLA purificado															Nº de alelos enlazados
			DRB1*0101	DRB1*0301	DRB1*0401	DRB1*0404	DRB1*0405	DRB1*0701	DRB1*0802	DRB1*0901	DRB1*1101	DRB1*1201	DRB1*1301	DRB1*1501	DRB3*0101	DRB4*0101	DRB5*0101	
88	LYWYKTIQSNISEVY	VPH16.E1.319	13	12,000	6.2	3543	96	25	2985	98	2757	936	1754	19,572	568	7		
89	PEMROQTVLQHSFN	VPH16.E1.337	2086	11,052	14	21	101	--	137	3181	117	882	9450	4.3	1528	7		
91	WKHMRLCAIYKAR	VPH16.E2.033	701	437	245	6658	504	504	90	6335	2491	248	1393	786	280	9		
95	LOAIELOLLETIYN (2)	VPH16.E2.070	42	534	37	282	384	3280	7612	1433	4378	17	898	2	10004	9		
93	GLYYVHESIRTYFVQ	VPH16.E2.156	67	17,706	322	--	--	1870	3143	431	5331	--	156	--	--	6		
94	QRFHNRGRWTSRCM	VPH16.E6.130	36	--	2897	4110	4469	277	894	--	574	14,594	5308	4553	919	5		
95	LDLOPETTDLYCYEQ	VPH16.E7.13	590	80	1904	--	--	--	--	--	--	--	--	17	--	2		
96	LCTELQTTIHDIILE	VPH16.E6.22	2714	80	3662	7866	--	--	--	--	--	--	5529	1044	--	1		
97	IRTLLELLMGLTGV	VPH16.E7.76	142	449	677	277	2008	4018	--	--	--	950	1548	4236	923	6		
96	FKTLQFPLVAHIQ	VPH18.E1.258	54	--	949	111	3255	1890	6086	1226	8695	4286	7.9	317	11,878	5		
99	IEFTFLGALKSFLK	VPH18.E1.458	38	--	108	32	3645	--	11,001	--	1613	--	49	1229	664	5		
100	FLNTVAIPDSVQLV	VPH18.E2.346	718	68	209	555	15	--	534	--	811	90	8957	446	--	10		
101	HKAIELOMALQGLAQ	VPH18.E2.074	41	5848	50	27	--	--	12,784	--	644	3536	573	3	--	8		
105	FOQLFLNTLFSVCPW	VPH18.E7.86	204	6522	139	496	376	237	8996	1325	6522	11	555	696	17,298	8		
106	LFVYRDSIPHAACHK (1)	VPH18.E8.52	356	73	4.7	28	2159	2800	108	8598	786	64	588	15,242	3770	6		
102	EVPEFAPDLPVYR	VPH18.E8.43	2865	73	347	553	1320	14,415	1415	--	6079	624	165	316	--	6		
107	TNTGLYNLLRLRCQ	VPH18.E8.94	367	9439	1485	62	406	4036	41	13,620	17	4057	36	366	3656	8		
(1)																		
106	NGMRYVEAVIDRQTG	VPH31.E1.15	1859	2797	645	18,761	178	1459	954	3670	535	--	13,482	627	1203	3		
107	PEMROQTVLQHSFN	VPH31.E1.317	5669	3857	35	25	27	16448	476	11951	84	2855	134	21	6231	6		
108	TRSHALGDMNLYK	VPH31.E2.293	1444	116	6823	627	7	3714	4480	17365	7331	54	205	182	412	10		
110	IRLQELHLSSEIV	VPH31.E7.76	189	5376	96	143	3068	267	7543	141	4037	398	94	48	--	6		
112	VLDFAETDITLVYRD	VPH31.E7.76	50	7561	36	3309	2639	209	14,078	790	13,088	753	2622	24	5383	8		
111	TGRACIARRRRTET	VPH31.E8.42	7561	1033	938	1146	733	11,460	512	13,556	158	84	84	307	--	6		
110	TGRACIARRRRTET	VPH31.E8.132	3167	1033	758	1146	32	62	17,333	342	2126	2771	299	225	6047	6		
113	PKRHELSALEIPY	VPH31.E8.9	183	1435	1557	117	92	52	4265	17945	4857	66	10	835	13,207	8		
114	DWMAFESVNIPTVAEGF	VPH45.E1.228	487	3749	91	20	2234	146	11	8103	24	68	164	571	367	9		
115	FKTLKPATLYAHIQ	VPH45.E1.244	269	5197	316	111	1912	17	3172	170	327	309	231	69	1004	9		
116	PINISKAHKAIEI	VPH45.E2.67	122	1,068	255	97	186	9	6226	91	487	14	10	1724	452	9		
117	TIPNSQISVGYMTI	VPH45.E2.354	52	483	515	18	702	1080	1104	2150	1867	14	16	10775	8328	11		
118	LCHVYRDCIAYAAACH	VPH45.E8.52	402	904	481	1043	1080	1080	7844	1982	416	18,126	282	1525	673	7		
119	FHSIAGQYRQCNTC	VPH45.E8.127	107	--	8.6	3045	358	2403	7844	--	--	--	574	1286	43	8		
120	EIVLHLEPONELDPV	VPH45.E7.18	967	354	12,052	947	273	3490	--	--	--	--	--	713	--	5		
121	LRTLQQLLSTLSFV	VPH45.E7.84	41	3388	127	19	106	39	4101	394	1675	--	33	21	1254	9		

(1): mostrados los datos de enlace para el 15-mero (1AA menos en el término carboxi)

(2): datos de enlace para la tanda peptídica sin procesar.

Ejemplo 2: Diseño de constructos poliepitópicos

Cada constructo diseñado de ADN contiene epítomos restringidos al HLA que se enlazan con al menos una molécula de HLA con una afinidad < 500 nM y, preferentemente, inferior a 100 nM (Tablas 3-6 del Ejemplo 1). Se demostró que la mayoría de estos epítomos era inmunogénica en los respectivos ratones transgénicos de HLA cuando les fueron administrados como un repositorio de péptidos emulsionados en IFA (Tablas 8-9 en el Ejemplo 3).

El orden de epítomos y los aminoácidos espaciadores de los constructos fueron diseñados para evitar la generación de epítomos de unión y para maximizar el procesamiento proteosómico. Las secuencias de aminoácidos fueron retraducidas usando una tabla de usos de codones de mamíferos y la herramienta de retraducción en línea, proporcionadas ambas por Entelechon (Alemania). Las secuencias de ADN fueron insertadas en un vector pMB75.6 usando sitios de restricción PstI y BamHI. También se incluyeron una secuencia Kozak, una secuencia señal murina Ig kappa (MGMQVQIQLFLLLLWVPGSRG, ID SEC Nº 131), y un codón finalizador. En las Figuras 5-8 se dan las respectivas secuencias de aminoácidos y ADN de los constructos ICCG6137, ICCG6138, ICCG6149 e ICCG6150.

Ejemplo 3: Inmunogenicidad de epítomos restringidos al HLA de clase I derivados del VPH codificados en un constructo poliepitópico de ADN de VPH

Se sometió a ensayo la inmunogenicidad de epítomos restringidos al HLA de clase I de VPH en los constructos de ADN en los ratones transgénicos de HLA relevantes. La evaluación de la inmunogenicidad de epítomos restringidos al HLA-A02, el HLA-A11, el HLA-A24 y el HLA-A01 derivados del VPH se llevó a cabo usando el siguiente protocolo. Se inmunizó a ratones transgénicos de HLA (ratones transgénicos F1 HLA-A02/KbxBalb/c, HLA-A11/Kb, HLA A01/Kb y HLA-A24/Kb) con uno de los constructos de ADN seleccionados. Para garantizar una distribución equitativa de ratones entre diferentes grupos, se llevó a cabo un procedimiento de aleatorización en función del peso corporal. Se clasificaron ratones hembra y macho (con edades entre 8 y 24 semanas) por peso corporal; los animales sumamente ligeros o pesados fueron excluidos. Los animales restantes fueron agrupados asignando secuencialmente animales para los 2 experimentos.

Inmunización con ADN

Los ratones fueron pretratados con cardiotoxina (Sigma, C9759) en el día -4 mediante inyección intramuscular bilateral de 100µl (2×50 µl) de una solución de 10 µM de cardiotoxina. Cuatro días después, todos los ratones fueron inmunizados con 100 µg de plásmido de VPH-ADN (diluidos hasta 1 mg/ml en PBS) mediante inyección bilateral de 50 µg en el músculo tibial anterior. Los ratones fueron sacrificados entre 13 y 15 días después de la inmunización con ADN.

Inmunización con péptidos

Se disolvieron péptidos en DMSO a una concentración de 10 mg/mL. Para cada uno de los 4 constructos de ADN, se juntaron en repositorios los correspondientes péptidos restringidos de HLA por tipo de HLA (5 a 7 péptidos de CTL/repositorio). Se añadió un péptido de HTL (TPPAYRPPNAPIL) y los repositorios de péptidos fueron diluidos en PBS hasta la concentración requerida de péptidos (es decir, 25 µg de cada péptido de CTL y 120 µg de péptido HTL in 50 µl). Tras añadir un volumen igual de IFA (Pierce, lote DG56079), se emulsionó la mezcla obligándola a atravesar un pequeño orificio. Los ratones fueron inmunizados subcutáneamente en la base de la cola con 50 µl de la mezcla de péptidos/IFA.

Régimen de inmunización

De cada línea, se inmunizaron intramuscularmente 4 grupos de 12 ratones (HLA-A02 y HLA-A24) o 6 ratones (HLA-A11) con uno de los 4 constructos de ADN de VPH (ICCG6149, ICCG6150, ICCG6137, ICCG6138), respectivamente. Para el HLA A01, solo se evaluaron 2 constructos. Para esto, 2 grupos de 12 ratones fueron inmunizados intramuscularmente con ICCG6150 o con ICCG6138. Un grupo final de 12 ratones no fue inmunizado con ADN ni inmunizado por péptidos y fue incluido como un control negativo (únicamente tratamiento de CT).

Para la evaluación de la inmunogenicidad de los péptidos, 4 grupos de 12 ratones (HLA-A01), 6 ratones (HLA-A02 y HLA-A24) o 3 ratones (HLA-A11) fueron inyectados subcutáneamente con uno de los repositorios de péptidos restringidos al HLA en IFA. Como control negativo para los ratones inmunizados con péptidos, 18 ratones (en total) fueron inyectados con una mezcla de PBS/IFA.

Sistema experimental *in vitro*

Los ratones fueron sacrificados y se aislaron células del bazo (SPC) 13 días después de la inmunización. Se juntaron SPC de ratones HLA-A01/Kb, F1 HLA-A02/KbxBalb/c y HLA-A24/Kb inmunizados con ADN y péptidos cada 2 ratones, dando como resultado 6, 6 y 3 puntos de datos por condición, respectivamente. Se analizaron individualmente las células del bazo de los ratones HLA-A11/Kb inmunizados con ADN y péptidos. Se juntaron las SPC de todos los ratones de control negativo cada 2 ratones, dando como resultado 3 puntos de datos para cada péptido sometido a ensayo. Las células CD8+ fueron purificadas mediante selección de perlas magnéticas positivas en SPC usando MicroBeads CD8a (MACS 130-049-401) según el protocolo del fabricante.

5 Se usó un ensayo directo IFN γ ELISPOT *ex vivo* como lectura de los CTL sustitutos. Básicamente, se incubaron células CD8+ purificadas con los péptidos individuales restringidos a HLA específicos del VPH (10 μ g/mL) cargados en las células apropiadas que presentaban antígenos (APC) en placas ELISPOT recubiertas de anticuerpos IFN γ antirratón. Debido a la limitada disponibilidad, se sembraron células CD8+ purificadas de ratones HLA-A11/Kb inmunizados con péptidos en las placas ELISPOT recubiertas a razón de 10⁵ células/pocillo, mientras que para todos los demás grupos de tratamiento se usaron 2 \times 10⁵ células CD8+/pocillo. Tras una incubación de 20 horas, las células productoras de IFN γ fueron visualizadas desarrollando adicionalmente las placas con anticuerpo IFN γ antirratón, estreptavidina-HRP y AEC como sustrato.

10 Las APC usadas para los diferentes péptidos restringidos a HLA fueron células de bazo procedentes de ratones HLA-A01/Kb no inmunizados para HLA-A01, células JA2.1Kb (2 \times 10⁴ células/pocillo) para HLA-A02, LCL 721.221HLA A11/Kb (10⁴ células/pocillo) para HLA-A11, y LCL 721.221HLA A24/Kb (10⁴ células/pocillo) para HLA-A24.

15 Algunos de los epítomos de CTL incluidos en los constructos de ADN son secuencias analogizadas de los epítomos virales de forma natural. Para estos epítomos particulares, solo se usaron las secuencias de tipo natural como estímulo *in vitro* para la lectura de CTL. Además, se usaron 3 epítomos variantes en secuencia restringidos a HLA-A24 como estímulo *in vitro* para verificar la reactividad de variantes cruzadas. Las respuestas de referencia hacia todos los péptidos restringidos a HLA usadas para la lectura *in vitro* fueron evaluadas en ratones transgénicos de HLA-A01/Kb, F1 HLA-A02/KbxBalb/c, HLA-A11/Kb o HLA-A24/Kb vírgenes. No pudo detectarse ninguna respuesta significativa (no se muestran los resultados).

20 **Análisis de datos**

Se clasifican como inmunogénicos los péptidos que provocan una respuesta CTL delta específica \geq 30 puntos específicos/10⁶ células CD8 y un cociente de respuesta \geq 2 en al menos un repositorio. Ha de someterse a ensayo un mínimo de 2 repositorios.

Resultados

25 Las Tablas 8 y 9 muestran los resultados para los diferentes constructos de VPH.

30 La mayoría de los epítomos que se enlazan con afinidad elevada con el HLA (CI₅₀ inferior a 500 nM y preferentemente inferior a 100 nM) es capaz de inducir respuestas positivas de las células T en los respectivos ratones transgénicos de HLA, indicando que la afinidad de enlace con el HLA es un criterio de selección para identificar epítomos inmunogénicos potenciales. Estas respuestas inmunogénicas pueden ser inducidas con los péptidos aislados y/o con un ADN plasmídico que codifique estos péptidos.

Tabla 8: Datos de inmunogenicidad para epítotos VPH 16 y VPH 18 restringidos al HLA de clase I codificados en los constructos ICCG 6149 e ICCG 6150

ID SEC	Secuencia de péptidos de FN usada para la lectura de CTL	ICCG6149		ICCG6150		Inmun S/N	Repositorio de péptidos		Inmun S/N	
		Delta SFC/10 ⁶ células ^(a)	Cociente ^(b)	Delta SFC/10 ⁶ células ^(a)	Cociente ^(b)		Delta SFC/10 ⁶ células ^(a)	Cociente ^(b)		
HLA-A01										
1	LSQMVGWAY			1 (1-10)	0,7 (0,5-2,0)	N	2 (1-13)	1,3 (0,8-2,0)	N	
2	QVDYYGLYY			12 (1-25)	1,8 (0,8-2,5)	N	20 (7-92)	2,6 (1,5-15,0)	S	
3	STDLRDHIDY			1 (1-20)	1,0 (0,8-3,0)	N	1 (1-3)	1,0 (0,6-1,5)	N	
4	KSAVITLY			1 (1-85)	1,0 (0,7-5,3)	S	68 (30-205)	5,4 (3,0-30,5)	S	
132	ISEYRHICY			3 (1-10)	1,1 (0,4-2,0)	N	2 (1-13)	1,1 (0,8-3,0)	N	
23	GTGCGWFY			1 (1-7)	0,7 (0,3-1,5)	N	6 (3-20)	1,4 (1,3-1,5)	N	
24	LQDKIDHY			3 (1-7)	1,1 (0,4-1,5)	N	8 (1-13)	1,3 (1,0-1,8)	N	
25	ATCVSHRGLY			3 (1-27)	1,1 (0,2-3,0)	N	2 (1-23)	1,1 (0,5-1,9)	N	
26	TLEKLTITGLY			6 (1-20)	1,3 (0,0-2,0)	N	1 (1-13)	1,0 (0,7-2,3)	N	
HLA-A02										
8	FVYIPLFLI	5 (1-5)	1,4 (1,0-5,0)	3 (1-20)	1,1 (1,0-5,0)	N	145 (30-195)	15,5 (7,0-20,5)	S	
29	TVVFCFL	1 (1-9)	1,0 (1,0-10,0)	3 (1-45)	2,1 (1,0-5,0)	S	25 (20-25)	3,5 (2,7-5,0)	N	
6	CLYHIQSL	32 (1-55)	4,1 (1,0-40,0)	10 (1-90)	3,6 (1,7-20,0)	S	65 (35-100)	11,0 (4,5-14,0)	S	
7	KLSKLLCV	62 (5-125)	6,2 (1,3-85,0)	15 (4-120)	4,2 (1,07-15,0)	S	95 (75-110)	12,0 (10,5-16,0)	S	
27	ILYAHIQCL	358 (155-720)	41,3 (7,2-525,0)	613 (440-849)	49,5 (30,3-850,0)	S	655 (440-865)	66,5 (30,3-174,0)	S	
28	VAWDSVYYM	290 (150-640)	34,3 (7,0-435,0)	450 (299-784)	39,0 (22,3-785,0)	S	495 (335-675)	50,5 (23,3-136,0)	S	
30	SLQDIEITCV	3 (1-10)	1,3 (1,0-5,0)	1 (1-5)	1,0 (1,0-5,0)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N	
133	YMLDLOPETT	5 (1-34)	1,4 (1,0-35,0)	10 (4-245)	3,3 (1,3-15,0)	S	1 (1-15)	1,0 (1,0-4,0)	N	
134	GTLGNVCP	1 (1-5)	1,0 (1,0-5,0)	3 (1-20)	1,7 (1,0-10,0)	N	55 (55-70)	8,0 (6,5-12,0)	S	
135	THDILECV	562 (55-1520)	86,7 (3,2-525,0)	358 (135-844)	24,8 (10,0-845,0)	S	80 (45-155)	10,0 (9,0-16,5)	S	
136	KLITITGLYNL	6 (1-30)	2,0 (1,0-30,0)	20 (5-39)	2,7 (1,3-40,0)	S	280 (115-420)	29,0 (8,7-85,0)	S	
HLA-A11										
17	AATKYPFLK	40 (1-140)	1,5 (1,0-4,5)	45 (1-310)	1,5 (1,0-16,5)	S	630 (200-680)	16,8 (11,0-69,0)	S	
13	STAAALYWK	710 (480-2040)	9,6 (3,8-52,0)	1305 (200-1970)	21,4 (5,2-81,0)	S	950 (720-1010)	37,0 (24,8-102,0)	S	
14	ATMCRHYKR	1 (1-80)	1,0 (1,0-5,0)	6 (1-80)	1,0 (1,0-1,5)	N	60 (1-100)	4,0 (1,0-11,0)	S	
15	KSLFGMSLMK	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	1 (1-50)	1,0 (1,0-2,3)	N	620 (370-630)	32,0 (10,3-64,0)	S	
33	TVSATQLVK	15 (1-40)	1,1 (1,0-2,0)	11 (1-70)	1,1 (1,0-3,0)	N	20 (1-90)	1,1 (1,0-1,4)	N	
34	STVSVGTAK	435 (90-1600)	5,1 (3,1-12,0)	245 (100-670)	4,7 (2,6-14,5)	S	440 (60-1510)	2,3 (1,2-7,0)	S	
35	QWPAYNISK	1 (1-10)	1,0 (1,0-1,5)	1 (1-20)	1,0 (1,0-1,5)	N	10 (1-100)	1,0 (1,0-1,3)	N	
137	DSVYGDILEK	15 (1-110)	1,2 (1,0-3,2)	1 (1-10)	1,0 (1,0-1,5)	N	40 (1-70)	1,1 (1,0-1,3)	N	
38	ATLQDMLVH	775 (10-1290)	7,8 (1,1-40,5)	115 (1-1420)	4,9 (1,0-36,5)	S	170 (1-440)	1,7 (1,0-2,2)	S	
12	VLLLVRYK	1 (1-40)	1,0 (1,0-2,0)	15 (1-40)	1,4 (1,0-2,0)	N	540 (420-630)	22,0 (14,5-64,0)	S	
16	SVICFVNSK	1 (1-20)	1,0 (1,0-2,0)	40 (1-110)	1,6 (1,0-5,0)	N	320 (320-620)	17,0 (9,0-63,0)	S	
32	KQGAMLAVFK	1 (1-20)	1,0 (1,0-1,4)	10 (1-150)	1,3 (1,0-1,5)	N	170 (1-220)	1,5 (1,0-1,9)	N	
138	FVYRDSIPH	1 (1-20)	1,0 (1,0-2,0)	1 (1-90)	1,0 (1,0-5,5)	N	110 (1-310)	1,3 (1,0-2,2)	S	

(continuación)

ID SEC	HLA-A24 Secuencia de péptidos de FN usada para la lectura de CTL	ICCG6149		ICCG6150		Inmun S/N	Repositorio de péptidos		INMUN S/N
		Delta SFC/10 ⁶ células ^(b)	Cociente ^(b)	Delta SFC/10 ⁶ células ^(b)	Cociente ^(b)		Delta SFC/10 ⁶ células ^(b)	Cociente ^(b)	
18	LYGVSFSEL	1200 (915-1510)	21,1 (17,6-25,3)	1120 (250-1565)	20,7 (4,8-33,8)	S	685 (590-1070)	13,5 (10,1-31,6)	S
40	YYMTDAGTW	5 (1-15)	1,1 (1,0-1,2)	3 (1-20)	1,1 (1,0-1,3)	N	135 (1-135)	2,7 (1,0-3,3)	S
41	GYNTFYIEF	80 (1-230)	2,2 (1,0-5,6)	113 (1-435)	3,0 (1,0-9,7)	S	110 (50-110)	2,2 (1,6-2,8)	S
39	SYFGMSFIHF	808 (245-1070)	14,1 (5,5-19,7)	498 (81-1150)	8,3 (3,2-24,0)	S	65 (45-175)	1,8 (1,5-3,9)	S
139	CYSLYGTTL	3 (1-5)	1,0 (1,0-1,1)	1 (1-10)	1,0 (1,0-1,3)	N	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	N
20	VYDFAFRDLCI	435 (285-1005)	8,0 (5,3-21,1)	760 (155-1075)	14,0 (3,6-20,4)	S	1 (1-110)	1,0 (1,0-4,1)	N
140	PYAVCDKCL	3 (1-25)	1,1 (1,0-1,4)	1 (1-5)	1,0 (1,0-1,1)	N	150 (35-175)	4,2 (1,5-5,3)	S
141	RFHNRGRW	3 (1-35)	1,1 (1,0-1,5)	1 (1-20)	1,0 (1,0-1,4)	N	205 (75-325)	6,9 (2,2-6,9)	S
42	MYVCHVPL	1 (1-15)	1,0 (1,0-1,2)	1 (1-25)	1,0 (1,0-1,4)	N	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	N
43	VYVFCLLPM	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	1 (1-6)	1,0 (1,0-1,2)	N	365 (345-505)	5,3 (5,1-9,4)	S
142	LYNLLIRCL	1 (1-10)	1,0 (1,0-1,2)	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	N	170 (100-450)	3,8 (2,3-6,0)	S
143	LYNLLIRWL	3 (1-10)	1,0 (1,0-1,2)	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	N	30 (10-40)	1,5 (1,1-1,5)	N
144	LYGVSFTEL	3 (1-5)	1,0 (1,0-1,1)	1 (1-20)	1,0 (1,0-1,4)	N	5 (1-15)	1,1 (1,0-1,2)	N
145	CYSVYGTTL	23 (10-35)	1,4 (1,2-1,6)	90 (1-865)	2,6 (1,0-13,4)	N	55 (1-150)	1,8 (1,0-5,3)	S

(b): resultados expresados como: $\frac{\text{mediana}}{(\text{min} - \text{max})}$; respuestas mediana, mínima y máxima de CTL de los repositorios individuales de ratones. Inmun = Inmunogénico

Tabla 9: Datos de inmunogenicidad para epítotos VPH 31 y VPH 45 restringidos al HLA de clase I codificados en los constructos ICCG 6137 e ICCG 6138

ID SEC	Secuencia de péptidos de FN usada para la lectura de CTL	ICCG6137 Delta	Cociente SFC/10 ⁶ células	Inmun S/N	ICCG6138 Delta	Cociente SFC/10 ⁶ células	Inmun S/N	Repositorio de péptidos Delta	Cociente SFC/10 ⁶ células	Inmun S/N
HLA-A01										
1	LSQMVQWAY				13 (1-20)	1,5 (0,3-3,0)	N	4 (1-13)	1,3 (0,5-1,5)	N
23	GTGCNGWFY				1 (1-25)	1,0 (0,8-3,5)	N	1 (1-7)	0,7 (0,5-2,0)	N
45	VMDSEIAY				238 (5-945)	15,0 (1,5-64,0)	S	53 (26-201)	5,3 (2,6-13,2)	S
46	LSSALEIPY				3 (1-10)	1,1 (0,5-2,0)	N	1 (1-3)	1,0 (0,8-1,3)	N
47	AFTDLTIVY				55 (15-770)	3,9 (2,4-52,3)	S	133 (23-201)	10,8 (2,4-21,5)	S
146	GAEPDTSNY				23 (1-35)	2,5 (0,5-4,5)	S	4 (1-10)	1,2 (0,2-2,0)	N
67	LQDKILDHY				3 (1-15)	1,3 (0,3-1,6)	N	2 (1-56)	1,0 (0,6-4,4)	S
68	NTGLTIVY				6 (1-15)	1,3 (0,8-2,5)	N	2 (1-7)	1,1 (0,6-1,5)	N
147	LQDVSIACVY				6 (1-20)	1,4 (0,8-3,0)	N	1 (1-10)	1,0 (0,6-2,0)	N
70	NTELYNLLI				5 (1-15)	1,4 (1,0-2,5)	N	4 (1-10)	1,2 (0,6-2,0)	N
71	ELDPVDLLCY				6 (1-10)	1,4 (0,8-2,0)	N	1 (1-10)	0,9 (0,4-2,0)	N
HLA-A02										
52	FIVPLFVI	3 (1-15)	1,1 (1,0-4,0)	N	1 (1-10)	1,0 (1,0-3,0)	N	50 (40-65)	5,0 (3,5-7,5)	S
73	YVWDSIYYI	3 (1-10)	1,2 (1,0-2,0)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N
49	KLEKLLCI	1 (1-50)	1,0 (1,0-11,0)	S	3 (1-35)	1,5 (1,0-8,0)	S	40 (10-100)	5,0 (2,0-6,0)	S
50	YTNWKFYL	1 (1-20)	1,0 (1,0-2,0)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N	75 (65-170)	8,5 (7,5-9,5)	S
54	KLTNKGICDL	5 (1-25)	2,0 (1,0-3,0)	S	7 (1-57)	1,3 (1,0-7,0)	S	10 (10-105)	2,0 (2,0-6,3)	S
72	TLYAHIQCL	1990 (1875-2185)	259,0 (76,0-438,0)	S	1820 (1431-2369)	159,4 (64,6-387,0)	S	780 (440-780)	79,0 (45,0-132,0)	S
148	FAFTDLTIV	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N	100 (55-150)	8,5 (6,5-11,0)	S
149	YQFAFKDLCI	3 (1-5)	1,1 (1,0-2,0)	S	1 (1-30)	1,0 (1,0-7,0)	S	10 (5-85)	2,0 (2,0-9,5)	S
150	TLOEVLHL	5 (1-42)	2,0 (1,0-9,0)	S	3 (1-35)	1,3 (1,0-3,3)	S	70 (35-310)	8,0 (8,0-32,0)	S
74	SLVFLLCFSV	1 (1-10)	1,0 (1,0-3,0)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	N
75	FLLCFVCL	1 (1-10)	1,0 (1,0-3,0)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-2,0)	N	75 (70-85)	8,5 (8,0-18,0)	S
51	FLLCFVILL	8 (1-30)	2,0 (1,0-3,0)	S	8 (1-18)	1,7 (1,0-4,0)	N	195 (100-236)	11,0 (10,8-24,5)	S

(continuación)

ID SEC	HLA-A11 secuencias de péptidos de FN usada para la lectura de CTL	ICCG6137 Delta	Cociente SFC/10 ⁶ células	Inmun S/N	ICCG6138 Delta	Cociente SFC/10 ⁶ células	Inmun S/N	Repositorio de péptidos Delta	Cociente SFC/10 ⁶ células	Inmun S/N
151	RTEVYQFAFK	1 (1-90)	1,0 (1,0-1,8)	N	1 (1-90)	1,0 (1,0-1,8)	N	1 (1-1)	1,0 (1,0-1,0)	N
81	VTRYPLLR	160 (72-1830)	2,2 (1,4-15,1)	S	400 (50-720)	4,0 (1,1-15,4)	S	430 (360-500)	3,3 (3,3-3,3)	S
55	MVMLMLVRFK	10 (1-90)	1,1 (1,0-1,6)	N	1 (1-80)	1,3 (1,0-2,6)	S	510 (490-1100)	4,9 (3,9-8,9)	S
56	STAAALWYR	410 (210-1503)	3,2 (1,5-10,8)	S	30 (1-100)	1,1 (1,0-3,0)	S	710 (410-990)	6,5 (3,4-8,1)	S
57	ISFAGIVTK	1 (1-330)	1,0 (1,0-3,1)	S	120 (1-280)	2,2 (1,0-3,4)	S	1350 (960-1530)	10,6 (6,6-12,8)	S
58	ATTPIIHLK	920 (739-1500)	5,8 (3,0-9,6)	S	1110 (540-1400)	5,2 (2,9-11,8)	S	1810 (1220-1880)	13,9 (8,2-15,5)	S
59	KVSEFRWYR	15 (1-110)	1,0 (1,0-1,7)	N	20 (1-90)	1,3 (1,0-1,8)	N	20 (10-110)	1,1 (1,1-1,6)	N
78	AVMCRHYKR	100 (27-250)	1,6 (1,2-2,0)	S	20 (1-180)	1,4 (1,0-1,8)	N	31 (1-60)	1,1 (1,0-1,4)	N
79	RQNMNSQWIK	10 (1-110)	1,0 (1,0-1,9)	N	10 (1-130)	1,2 (1,0-1,6)	N	435 (380-490)	3,3 (3,2-3,4)	S
83	SVYGETLEK	50 (1-1230)	1,2 (1,0-10,5)	S	130 (1-1250)	2,3 (1,0-3,1)	S	1080 (730-1430)	7,1 (4,3-9,9)	S
152	SVYGTILEK	1050 (190-1660)	5,4 (1,4-13,8)	S	1150 (450-2000)	9,7 (1,8-26,4)	S	730 (120-1560)	6,2 (1,9-10,2)	S
80	STWHWTGCNK	70 (1-110)	1,2 (1,0-1,9)	N	70 (1-170)	1,6 (1,0-1,8)	N	635 (560-710)	4,4 (4,2-4,5)	S
HLA-A24										
65	FYSKVSEFRW	5 (1-12)	1,2 (1,0-1,2)	N	1 (1-35)	1,0 (1,0-1,4)	N	1 (1-60)	1,0 (1,0-2,7)	S
87	VYQFAFKDL	23 (1-340)	1,5 (1,0-14,6)	S	1 (1-45)	1,0 (1,0-1,5)	N	105 (75-165)	4,5 (4,0-5,7)	S
39	SYFGMSFIHF	10 (1-10)	1,2 (1,0-1,4)	N	3 (1-85)	1,0 (1,0-1,5)	N	45 (35-160)	2,8 (2,2-5,6)	S
153	HYTNWKFIY	19 (5-65)	1,3 (1,1-3,2)	S	58 (1-485)	1,3 (1,0-6,7)	S	155 (60-485)	2,7 (2,7-4,6)	S
62	VFTFPNPF	1543 (1490-2003)	40,2 (20,9-61,4)	S	600 (310-790)	5,3 (2,6-7,8)	S	940 (815-1195)	14,3 (8,0-24,3)	S
85	YYTETGW	8 (1-15)	1,2 (1,0-1,3)	N	28 (1-640)	1,2 (1,0-5,0)	S	15 (1-25)	1,4 (1,0-2,0)	N
84	VFTFPAFF	10 (1-15)	1,2 (1,0-1,6)	N	3 (1-280)	1,0 (1,0-2,8)	S	75 (25-165)	4,0 (1,8-5,7)	S
66	VYGTLEKL	77 (55-810)	3,6 (2,2-11,8)	S	55 (1-530)	1,4 (1,0-4,3)	S	105 (25-275)	4,0 (1,2-4,1)	S
61	PYLHSRLVVF	17 (1-20)	1,3 (1,0-1,7)	N	1 (1-5)	1,0 (1,0-1,1)	N	1 (1-40)	1,0 (1,0-2,1)	S
64	VVFYIPLF	46 (1-65)	1,9 (1,0-2,8)	S	93 (5-555)	1,3 (1,0-7,5)	S	715 (710-1055)	12,8 (6,3-21,4)	S
86	VYVCAFALL	712 (535-870)	16,4 (11,8-29,2)	S	75 (35-410)	1,4 (1,2-5,8)	S	125 (105-295)	6,0 (4,5-9,4)	S
154	FYSRIRELYR	45 (1-210)	2,0 (1,0-9,4)	S	33 (1-420)	1,3 (1,0-5,9)	S	165 (115-220)	7,3 (4,8-7,6)	S

Inmun = Inmunogénico

Ejemplo 4: Respuestas de recuerdo de los epítomos de HTL en mujeres infectadas de VPH

El propósito de este conjunto de experimentos es demostrar las respuestas de HTL humano de recuerdo *in vitro* en un panel de sujetos infectados de VPH para la selección final de epítomos de HTL comprendidos en los constructos poliepitópicos de VPH, usando un ensayo optimizado de proliferación de células T humanas.

- 5 La Tabla 10 que sigue da un resumen de los péptidos usados en el ensayo de proliferación de células T. Se enumeran las secuencias de péptidos y las fuentes. Todos los péptidos son disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO) al 100% a una concentración de 5, 10 o 20 mg/ml y almacenados a -20°C. Se usaron los péptidos en el ensayo de proliferación de células T con una concentración final de 10 µg/ml. Como antígeno de control positivo se usó toxoide tetánico (TT) a una concentración final de 3 µg/ml.

10

Tabla 10

Secuencia	Fuente	ID SEC
LYWYKTGISNISEVY	VPH16.E1.319	89
PEWQRQTVLQHSFN	VPH16.E1.337	90
WKHMRLECAIYYKAR	VPH16.E2.033	91
LQAIELQLTLETIYN	VPH16.E2.070	92
GLYYVHEGIRTYFVQ	VPH16.E2.156	93
QRFHNIRGRWTGRCM	VPH16.E6.130	94
LDLQPETTDLYCYEQ	VPH16.E7.13	95
LCTELQTTIHDIILE	VPH16.E6.22	96
IRTLEDLLMGTLGIV	VPH16.E7.76	97
FKTLIQPFILYAHIQ	VPH18.E1.258	98
IEFITFLGALKSFLK	VPH18.E1.458	99
FLNTVAIPDSVQILV	VPH18.E2.346	100
HKAIELQMALQGLAQ	VPH18.E2.074	101
EVFEFAFKDLFVVYR	VPH18.E6.43	102
LFVVYRDSIPHAACHK	VPH18.E6.52	103
TNTGLYNLLIRCLRCQ	VPH18.E6.94	104
FQQLFLNTLSFVCPW	VPH18.E7.86	105
NGWFYVEAVIDRQTG	VPH31.E1.15	106
PEWIERQTVLQHSFN	VPH31.E1.317	107
WKHIRLECVLMYKAR	VPH31.E2.033	108
TPPIHLKGDANILK	VPH31.E2.292	109
TGRCIACWRRRPTET	VPH31.E6.132	110
VLDFAFDILTIVYRD	VPH31.E6.42	111
IRILQELLMGSFGIV	VPH31.E7.76	112
PRKLHELSSALEIPY	VPH31.E6.9	113
DWVMAIFGVNPTVAEGF	VPH45.E1.228	114
FKTLIKPATLYAHIQ	VPH45.E1.244	115
PINISKSKAHKAIEL	VPH45.E2.67	116
TIPNSVQISVGYMTI	VPH45.E2.354	117
LCIVYRDCIAYAACH	VPH45.E6.52	118
FHSIAGQYRGQCNTC	VPH45.E6.127	119
EIVLHLEPQNELDPV	VPH45.E7.10	120
LRTLQQLFLSTLSFV	VPH45.E7.84	121

Se usaron PBMC procedentes de sujetos infectados con VPH, diagnosticados en el presente o anteriormente con neoplasia cervical intraepitelial (CIN) 1, 2 o 3, y, preferentemente, con genotipo de VPH, para determinar las respuestas de HTL específicas al VPH. Las PBMC se descongelaron siguiendo los procedimientos estándar para su uso en el ensayo de proliferación de células T.

- 15 Las muestras de PBMC procedentes de sujetos infectados con VPH fueron estudiadas en busca de respuestas de recuerdo de HTL *in vitro* hacia todo el panel de péptidos de HTL usando un ensayo de proliferación de células T. Brevemente, se sembraron 5×10^4 células/pocillo en réplicas quintuples en placas de fondo redondo en RPMI total (= RPMIbic + aminoácidos no esenciales (NEAA) + piruvato de sodio + gentamicina + beta mercapto etanol (β ME)), complementado con suero de AB humana (ihuAB) inactivada por el calor al 5% e incubadas con 10 µg/ml de péptido
- 20 de HTL o 3 µg /ml de TT durante 6 días en una incubadora de CO₂ a 37°C. Tras este periodo de incubación, se añadió ³H-timidina (1 µCi/pocillo) para la marcación durante la noche (18 horas). A continuación, se recolectaron las células y se midió la cantidad de ³H-timidina incorporada. Se incluyó TT como control positivo, ya que se supone que la mayor parte de la gente muestra una respuesta hacia este antígeno. Además, se sembraron células procedentes de una muestra sana de PBMC de control (5×10^4 células/pocillo, réplicas quintuples) y fueron estimuladas con TT y

varicela-zóster para tener un control de ensayo interno en cada placa y evaluar la variabilidad entre ensayos y dentro de cada uno.

Análisis de los datos

5 – Se recogen todos los puntos de datos sin procesar, y los valores calculados y documentados en una base de datos Excel por grupo experimental.

10 – La magnitud de la respuesta específica al antígeno determinada en el ensayo de proliferación de células T se expresa como índice de estimulación (la mediana de cpm de cultivos estimulados/no estimulados) y el cpm delta (el valor de la mediana de cpm de los pocillos estimulados restado del valor de la mediana de cpm de los pocillos no estimulados).

– Se considera que una respuesta es positiva cuando los valores de cpm delta ≥ 200 cpm y el índice de estimulación es ≥ 2 .

15 En la Figura 9 se muestran las respuestas positivas más altas por epítipo de HTL (únicamente los valores del IE). Estos datos demuestran claramente que —aunque se sometieron a ensayo únicamente en un conjunto limitado de muestras sanguíneas procedentes de pacientes infectados con VPH—, la reactividad de las células T puede ser detectada para la mayoría de los epítipos de HTL seleccionados.

Referencias

20 Alexander, J. y otros, *J Immunol.* 159:4753, 1997

Alexander J. y otros, *Hum Immunol* 64(2): 211-223, 2003

An, L. and Whitton, J. L., *J Virol.* 71:2292, 1997

25 Bertoni, R. y otros, *J Clin. Invest.* 100:503, 1997

Beaucage y Caruthers, *Tetrahedron Letts.* 22:1859- 1862, 1981

30 Bowen, DG and Walker, MW, *Nature*, 436:946, 2005

Celis, E. y otros, *Proc. Natl. Acad Sci. USA* 91:2105, 1994

Diepolder, H. M. y otros, *J Virol.* 71:6011, 1997

35 Donnelly JJ, y otros *Annu Rev Immunol.* 1997;15:617-48.

Donnelly JJ, Ulmer JB, Liu MA. DNA vaccines. *Life Sci.* 1997a; 60 (3) : 163- 72.

40 Doolan, D. L. y otros, *Immunity* 7:97-112, 1997

Doorbar J., *J Clin Virol* 32S:S7-S15, 2005

Felgner, y otros, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 84:7413, 1987

45 Gaberc-Porekar V. y otros, *J. Biochem. Biophys. Methods* 49: 335-360, 2001

Gruters RA, van Baalen CA, Osterhaus AD. *Vaccine.* 2002 May 6; 20 (15) : 2011- 5. The advantage of early recognition of HIV- infected cells by cytotoxic T- lymphocytes.

50 Hanke, R. y otros, *Vaccine* 16:426, 1998

Houssaint E, Saulquin X, Scotet E, Bonneville M *Biomed Pharmacother.* 2001 Sep; 55(7): 373-80. Immunodominant CD8 T cell response to Epstein -Barr virus.

55 Ishioka, y otros, *J. Immunol.* (1999) 162 (7) : 3915- 3925

Kawashima, 1. y otros, *Human Immunol.* 59:1, 1998

60 Kriegler M. *Gene transfer and expression: a laboratory manual.* W.H. Freeman and Company, New York, 1991: 60-61 and 165-172.

- Lichty J.J. y otros, *Protein Expression and Protein Purification* 41: 98-105, 2005
- Mannino y Gould- Fogerite, *BioTechniques* 6(7): 682, 1988
- 5 Mateo y otros, *J Immunol*, 163(7): 4058-63, 1999
- Murray N, McMichael A. *Curr Opin Immunol*. 1992 Aug; 4 (4) : 401- 7. Antigen presentation in virus infection.
- Pearson y Reanier, J. *Chrom.* 255:137-149, 1983
- 10 Rehermann, B. y otros, *J Exp. Med.* 181:1047, 1995
- Rowen, P. and Lacey, C., *Dermatologic Clinics* 16 (4): 835-838,1998
- 15 Sette, y otros, *J Immunol* 153:5586-5592, 1994
- Sette, y otros, *Mol. Immunol.* 31: 813 (1994).
- Sidney y otros, *Current Protocols in Immunology*, Ed., John Wiley & Sons, NY, Section 18.3 (1998)
- 20 Sidney, y otros, *J Immunol.* 154: 247 (1995)
- Southwood y otros *J Immunology* 160:3363-3373,1998
- 25 Stemmer WP y otros *Gene* 164: 49-53, 1995
- Stover y otros, *Nature* 351:456- 460, 1991
- Threlkeld, S. C. y otros, *J Immunol.* 159:1648, 1997
- 30 Tigges MA, y otros, *J Virol.*; 66 (3) : 1622- 34 1992
- Thomson y otros, *Proc Natl Acad Sci USA*, 92 (13) : 5845- 9, 1995
- 35 Thomson, S. A. y otros, *J Immunol.* 157:822, 1996
- Tsai SL, Huang SN. *J Gastroenterol Hepatol.* 1997 Oct; 12 (9- 10) : S227- 35. T cell mechanisms in the immunopathogenesis of viral hepatitis B and C.
- 40 Tsai, V. y otros, *J Immunol.* 158:1796, 1997
- Van Devanter y otros, *Nucleic Acids Res.* 12:6159-616S, 1984
- Velders MP y otros *J Immunol*, 166(9): 5366-73, 2001
- 45 Wentworth, P. A. y otros, *Mol. Immunol.* 32:603, 1995
- Wentworth, P. A. y otros , *J Immunol.* 26:97, 1996
- 50 Whitton, J. L. y otros, *J Prol.* 67:348, 1993
- Woodberry y otros, *J Virol*, 73 (7) : 5320- 5, 1999
- Listado de secuencias
- 55 < 110 > GENIMMUNE N. V. PHARMEXA Inc.
- <120> Constructos poliepitópicos del VPH y uso de los mismos
- <130> 200 PCT
- <150> EP07110056.4
- <151> 2007-06-12
- 60 <150> US 60/ 924, 778
- <151> 2007-05-31

<160> 163

<170> Patent In version 3.1

<210> 1

<211> 9

5 <212> PRT
<213> VPH

<400> 1

Leu Ser Gln Met Val Gln Trp Ala Tyr
1 5

10 <210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 2

15 Gln Val Asp Tyr Tyr Gly Leu Tyr Tyr
1 5

<210> 3

<211> 10

20 <212> PRT
<213> VPH

<400> 3

Ser Thr Asp Leu Arg Asp His Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 4

<211> 9

25 <212> PRT
<213> VPH

<400> 4

30 Lys Ser Ala Ile Val Thr Leu Thr Tyr
1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> VPH

35 <400> 5

Ile Ser Asp Tyr Arg His Tyr Cys Tyr
1 5

<210> 6

<211> 9

40 <212> PRT
<213> VPH

<400> 6

Cys Leu Tyr Leu His Ile Gln Ser Leu
1 5

45 <210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> VPH

<400> 7

Lys Leu Leu Ser Lys Leu Leu Cys Val
1 5

<210> 8

5 <211> 9

<212> PRT

<213> VPH

<400> 8

10 Phe Val Tyr Ile Pro Leu Phe Leu Ile
1 5

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> VPH

15 <400> 9

Thr Leu His Asp Ile Ile Leu Glu Cys Val
1 5 10

<210> 10

<211> 10

20 <212> PRT

<213> VPH

<400> 10

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Val
1 5 10

25 <210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> VPH

<400> 11

30 Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Val
1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

35 <213> VPH

<400> 12

Val Val Leu Leu Leu Val Arg Tyr Lys
1 5

<210> 13

40 <211> 10

<212> PRT

<213> VPH

<400> 13

45 Ser Thr Ala Ala Ala Leu Tyr Trp Tyr Lys
1 5 10

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> VPH

<400> 14

Ala Thr Met Cys Arg His Tyr Lys Arg
1 5

<210> 15

5 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 15

10 Lys Ser Leu Phe Gly Met Ser Leu Met Lys
1 5 10

<210> 16

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 16

Ser Val Ile Cys Phe Val Asn Ser Lys
1 5

<210> 17

20 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 17

Ala Ala Thr Lys Tyr Pro Leu Leu Lys
1 5

25 <210> 18

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 18

30 Leu Tyr Gly Val Ser Phe Ser Glu Leu
1 5

<210> 19

35 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 19

Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Phe
1 5

<210> 20

40 <211> 11
<212> PRT
<213> VPH

<400> 20

45 Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile
1 5 10

<210> 21

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 21

Pro Tyr Ala Val Cys Asp Lys Cys Phe
1 5

<210> 22

5 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 22

10 Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Phe
1 5

<210> 23

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 23

Gly Thr Gly Cys Asn Gly Trp Phe Tyr
1 5

<210> 24

20 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 24

Leu Gln Asp Lys Ile Ile Asp His Tyr
1 5

25 <210> 25
<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 25

30 Ala Thr Cys Val Ser His Arg Gly Leu Tyr
1 5 10

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
35 <213> VPH

<400> 26

Thr Leu Glu Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr
1 5 10

40 <210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 27

45 Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln Cys Leu
1 5

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 28

Val Ala Trp Asp Ser Val Tyr Tyr Met
1 5

<210> 29

5 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 29

10 Thr Val Tyr Val Phe Cys Phe Leu Leu
1 5

<210> 30

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 30

Ser Leu Gln Asp Ile Glu Ile Thr Cys Val
1 5 10

<210> 31

20 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 31

Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Val
1 5 10

25 <210> 32

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 32

30 Lys Gln Gly Ala Met Leu Ala Val Phe Lys
1 5 10

<210> 33

35 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 33

Thr Val Ser Ala Thr Gln Leu Val Lys
1 5

<210> 34

40 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 34

45 Ser Thr Val Ser Val Gly Thr Ala Lys
1 5

<210> 35

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 35

Gln Val Val Pro Ala Tyr Asn Ile Ser Lys
1 5 10

<210> 36

5 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 36

10 Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro Lys
1 5 10

<210> 37

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 37

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

<210> 38

20 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 38

Ala Thr Leu Gln Asp Ile Val Leu His
1 5

25 <210> 39

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 39

30 Ser Tyr Phe Gly Met Ser Phe Ile His Phe
1 5 10

<210> 40

35 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 40

Tyr Tyr Met Thr Asp Ala Gly Thr Trp
1 5

40 <210> 41

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 41

45 Gly Tyr Asn Thr Phe Tyr Ile Glu Phe
1 5

<210> 42

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 42

Met Tyr Val Cys Cys His Val Pro Leu
1 5

<210> 43

5 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 43

10 Val Tyr Val Phe Cys Phe Leu Leu Pro Met
1 5 10

<210> 44

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 44

Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys Phe
1 5

<210> 45

20 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 45

Val Met Asp Asp Ser Glu Ile Ala Tyr
1 5

25 <210> 46

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 46

30 Leu Ser Ser Ala Leu Glu Ile Pro Tyr
1 5

<210> 47

35 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 47

Ala Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Tyr
1 5

<210> 48

40 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 48

45 Gln Thr Glu Pro Asp Thr Ser Asn Tyr
1 5

<210> 49

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 49

Lys Leu Leu Glu Lys Leu Leu Cys Ile
1 5

<210> 50

5 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 50

10 Tyr Thr Asn Trp Lys Phe Ile Tyr Leu
1 5

<210> 51

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 51

Phe Leu Leu Cys Phe Cys Val Leu Leu
1 5

<210> 52

20 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 52

Phe Ile Tyr Ile Pro Leu Phe Val Ile
1 5

25 <210> 53

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 53

30 Phe Leu Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val
1 5

<210> 54

35 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 54

Lys Leu Thr Asn Lys Gly Ile Cys Asp Leu
1 5 10

<210> 55

40 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 55

45 Met Val Met Leu Met Leu Val Arg Phe Lys
1 5 10

<210> 56

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 56

Ser Thr Ala Ala Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg
1 5 10

<210> 57

5 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 57

10 Ile Ser Phe Ala Gly Ile Val Thr Lys
1 5

<210> 58

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 58

Ala Thr Thr Pro Ile Ile His Leu Lys
1 5

<210> 59

20 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 59

Lys Val Ser Glu Phe Arg Trp Tyr Arg Tyr
1 5 10

25 <210> 60

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 60

30 Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Arg
1 5

<210> 61

35 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 61

Pro Tyr Leu His Ser Arg Leu Val Val Phe
1 5 10

<210> 62

40 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 62

45 Val Phe Thr Phe Pro Asn Pro Phe Pro Phe
1 5 10

<210> 63

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 63

His Tyr Thr Asn Trp Lys Phe Ile Phe
1 5

<210> 64

5 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 64

10 Val Val Phe Ile Tyr Ile Pro Leu Phe
1 5

<210> 65

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 65

Phe Tyr Ser Lys Val Ser Glu Phe Arg Trp
1 5 10

<210> 66

20 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 66

Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Lys Leu
1 5

25 <210> 67

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 67

30 Leu Gln Asp Lys Ile Leu Asp His Tyr
1 5

<210> 68

35 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 68

Asn Thr Gly Ile Leu Thr Val Thr Tyr
1 5

<210> 69

40 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 69

45 Leu Thr Asp Val Ser Ile Ala Cys Val Tyr
1 5 10

<210> 70

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 70

Asn Thr Glu Leu Tyr Asn Leu Leu Ile
1 5

<210> 71

5 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 71

10 Glu Leu Asp Pro Val Asp Leu Leu Cys Tyr
1 5 10

<210> 72

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 72

Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln Cys Leu
1 5

<210> 73

20 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 73

Tyr Val Val Trp Asp Ser Ile Tyr Tyr Ile
1 5 10

25 <210> 74

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 74

30 Ser Leu Val Phe Leu Leu Cys Phe Ser Val
1 5 10

<210> 75

35 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 75

Phe Leu Leu Cys Phe Ser Val Cys Leu
1 5

<210> 76

40 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 76

45 Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu Cys Val
1 5 10

<210> 77

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 77

Thr Leu Gln Glu Ile Val Leu His Val
1 5

<210> 78

5 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 78

10 Ala Val Met Cys Arg His Tyr Lys Arg
1 5

<210> 79

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 79

Arg Gln Met Asn Met Ser Gln Trp Ile Lys
1 5 10

<210> 80

20 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 80

Ser Thr Trp His Trp Thr Gly Cys Asn Lys
1 5 10

25 <210> 81

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 81

30 Val Thr Thr Arg Tyr Pro Leu Leu Arg
1 5

<210> 82

35 <211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 82

Arg Thr Glu Val Tyr Gln Phe Ala Phe Arg
1 5 10

40 <210> 83

<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 83

45 Ser Val Tyr Gly Glu Thr Leu Glu Lys
1 5

<210> 84

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 84

Val Phe Thr Phe Pro His Ala Phe Pro Phe
1 5 10

<210> 85

5 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 85

10 Tyr Tyr Ile Thr Glu Thr Gly Ile Trp
1 5

<210> 86

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 86

Val Tyr Val Cys Ala Phe Ala Trp Leu Leu
1 5 10

<210> 87

20 <211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 87

Val Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu
1 5

25 <210> 88

<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 88

30 Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu Arg Phe
1 5 10

<210> 89

35 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 89

Leu Tyr Trp Tyr Lys Thr Gly Ile Ser Asn Ile Ser Glu Val Tyr
1 5 10 15

<210> 90

40 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 90

45 Pro Glu Trp Ile Gln Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser Phe Asn
1 5 10 15

<210> 91

<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 91

Trp Lys His Met Arg Leu Glu Cys Ala Ile Tyr Tyr Lys Ala Arg
1 5 10 15

<210> 92

5 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 92

10 Leu Gln Ala Ile Glu Leu Gln Leu Thr Leu Glu Thr Ile Tyr Asn
1 5 10 15

<210> 93

<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 93

Gly Leu Tyr Tyr Val His Glu Gly Ile Arg Thr Tyr Phe Val Gln
1 5 10 15

<210> 94

20 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 94

Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met
1 5 10 15

25 <210> 95

<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 95

30 Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln
1 5 10 15

<210> 96

35 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 96

Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp Ile Ile Leu Glu
1 5 10 15

<210> 97

40 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 97

45 Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val
1 5 10 15

<210> 98

<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 98

Phe Lys Thr Leu Ile Gln Pro Phe Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln
 1 5 10 15

<210> 99

5 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 99

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

<210> 100
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

15 <400> 100

Phe Leu Asn Thr Val Ala Ile Pro Asp Ser Val Gln Ile Leu Val
 1 5 10 15

<210> 101
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

20 <400> 101

His Lys Ala Ile Glu Leu Gln Met Ala Leu Gln Gly Leu Ala Gln
 1 5 10 15

25 <210> 102
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 102

30 Glu Val Phe Glu Phe Ala Phe Lys Asp Leu Phe Val Val Tyr Arg
 1 5 10 15

<210> 103
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> VPH

35 <400> 103

Leu Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro His Ala Ala Cys His Lys
 1 5 10 15

40 <210> 104
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 104

45 Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys Leu Arg Cys Gln
 1 5 10 15

<210> 105
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 105

Phe Gln Gln Leu Phe Leu Asn Thr Leu Ser Phe Val Cys Pro Trp
1 5 10 15

<210> 106

5 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 106

10 Asn Gly Trp Phe Tyr Val Glu Ala Val Ile Asp Arg Gln Thr Gly
1 5 10 15

<210> 107

<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 107

Pro Glu Trp Ile Glu Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser Phe Asn
1 5 10 15

<210> 108

20 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 108

Trp Lys His Ile Arg Leu Glu Cys Val Leu Met Tyr Lys Ala Arg
1 5 10 15

25 <210> 109
<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 109

30 Thr Thr Pro Ile Ile His Leu Lys Gly Asp Ala Asn Ile Leu Lys
1 5 10 15

<210> 110

35 <211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 110

Thr Gly Arg Cys Ile Ala Cys Trp Arg Arg Pro Arg Thr Glu Thr
1 5 10 15

40 <210> 111
<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

<400> 111

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

<210> 112

<211> 15
<212> PRT
<213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 112

Ile Arg Ile Leu Gln Glu Leu Leu Met Gly Ser Phe Gly Ile Val
 1 5 10 15

<210> 113
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

5

<400> 113

Pro Arg Lys Leu His Glu Leu Ser Ser Ala Leu Glu Ile Pro Tyr
 1 5 10 15

10

<210> 114
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> VPH

15

<400> 114

Asp Trp Val Met Ala Ile Phe Gly Val Asn Pro Thr Val Ala Glu Gly Phe
 1 5 10 15

<210> 115
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

20

<400> 115

Phe Lys Thr Leu Ile Lys Pro Ala Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln
 1 5 10 15

25

<210> 116
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 116

30

Pro Ile Asn Ile Ser Lys Ser Lys Ala His Lys Ala Ile Glu Leu
 1 5 10 15

<210> 117
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

35

<400> 117

Thr Ile Pro Asn Ser Val Gln Ile Ser Val Gly Tyr Met Thr Ile
 1 5 10 15

40

<210> 118
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 118

45

Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp Cys Ile Ala Tyr Ala Ala Cys His
 1 5 10 15

<210> 119
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

ES 2 440 974 T3

<400> 119

Phe His Ser Ile Ala Gly Gln Tyr Arg Gly Gln Cys Asn Thr Cys
 1 5 10 15

<210> 120

5 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 120

10 Glu Ile Val Leu His Leu Glu Pro Gln Asn Glu Leu Asp Pro Val
 1 5 10 15

<210> 121
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> VPH

15 <400> 121

Leu Arg Thr Leu Gln Gln Leu Phe Leu Ser Thr Leu Ser Phe Val
 1 5 10 15

<210> 122
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> VPH

20 <400> 122

Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
 1 5 10

25 <210> 123
 <211> 894
 <212> PRT
 <213> artificial

<400> 123

30 Met Gly Met Gln Val Gln Ile Gln Ser Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Val Pro Gly Ser Arg Gly Ala Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Tyr Asn
 20 25 30

35 Ser Thr Trp His Trp Thr Gly Cys Asn Lys Lys Ala Ala Ala Lys Leu
 35 40 45

Leu Glu Lys Leu Leu Cys Ile Asn Ala Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp
 50 55 60

Leu Cys Val Lys Met Val Met Leu Met Leu Val Arg Phe Lys Asn Ala
 65 70 75 80

40 Ala Leu Gln Asp Lys Ile Leu Asp His Tyr Lys Ala Ala Phe Leu Leu
 85 90 95

Cys Phe Cys Val Leu Leu Asn Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Arg
 100 105 110

45 Asn Ala Ala Val Thr Thr Arg Tyr Pro Leu Leu Arg Asn Ala Thr Leu
 115 120 125

Gln Glu Ile Val Leu His Val Asn Tyr Tyr Ile Thr Glu Thr Gly Ile
 130 135 140

Trp Lys Val Val Phe Ile Tyr Ile Pro Leu Phe Asn Gln Thr Glu Pro
 145 150 155 160

ES 2 440 974 T3

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

ES 2 440 974 T3

Ser Val Cys Leu Asn Ala Val Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu Lys
450 455 460

Ala Ala Lys Val Ser Glu Phe Arg Trp Tyr Arg Tyr Lys Tyr Thr Asn
465 470 475 480

5 Trp Lys Phe Ile Tyr Leu Asn Ala Ala Leu Ser Ser Ala Leu Glu Ile
485 490 495

Pro Tyr Lys Ala Ala Phe Leu Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Asn Ala
500 505 510

10 Ala Thr Thr Pro Ile Ile His Leu Lys Asn Ala Ala Ala Arg Gln Met
515 520 525

Asn Met Ser Gln Trp Ile Lys Asn Thr Gly Ile Leu Thr Val Thr Tyr
530 535 540

Asn Val Phe Thr Phe Pro Asn Pro Phe Pro Phe Lys Ala Ala Ala Glu
545 550 555 560

15 Ile Val Leu His Leu Glu Pro Gln Asn Glu Leu Asp Pro Val Gly Pro
565 570 575

Gly Pro Gly Ile Arg Ile Leu Gln Glu Leu Leu Met Gly Ser Phe Gly
580 585 590

20 Ile Val Gly Pro Gly Pro Gly Thr Gly Arg Cys Ile Ala Cys Trp Arg
595 600 605

Arg Pro Arg Thr Glu Thr Gly Pro Gly Pro Gly Trp Lys His Ile Arg
610 615 620

Leu Glu Cys Val Leu Met Tyr Lys Ala Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu
625 630 635 640

25 Cys Ile Val Tyr Arg Asp Cys Ile Ala Tyr Ala Ala Cys His Gly Pro
645 650 655

Gly Pro Gly Pro Glu Trp Ile Glu Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser
660 665 670

30 Phe Asn Gly Pro Gly Pro Gly Pro Ile Asn Ile Ser Lys Ser Lys Ala
675 680 685

His Lys Ala Ile Glu Leu Gly Pro Gly Pro Gly Leu Arg Thr Leu Gln
690 695 700

Gln Leu Phe Leu Ser Thr Leu Ser Phe Val Gly Pro Gly Pro Gly Phe
705 710 715 720

35 His Ser Ile Ala Gly Gln Tyr Arg Gly Gln Cys Asn Thr Cys Gly Pro
725 730 735

Gly Pro Gly Thr Thr Pro Ile Ile His Leu Lys Gly Asp Ala Asn Ile
740 745 750

40 Leu Lys Gly Pro Gly Pro Gly Asp Trp Val Met Ala Ile Phe Gly Val
755 760 765

Asn Pro Thr Val Ala Glu Gly Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Arg Lys
770 775 780

Leu His Glu Leu Ser Ser Ala Leu Glu Ile Pro Tyr Gly Pro Gly Pro
785 790 795 800

45 Gly Phe Lys Thr Leu Ile Lys Pro Ala Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln
805 810 815

Gly Pro Gly Pro Gly Thr Ile Pro Asn Ser Val Gln Ile Ser Val Gly
820 825 830

50 Tyr Met Thr Ile Gly Pro Gly Pro Gly Asn Gly Trp Phe Tyr Val Glu
835 840 845

ES 2 440 974 T3

Ala Val Ile Asp Arg Gln Thr Gly Gly Pro Gly Pro Gly Val Leu Asp
 850 855 860

Phe Ala Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Tyr Arg Asp Gly Pro Gly Pro
 865 870 875 880

5 Gly Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
 885 890

<210> 124

<211> 2685

<212> ADN

10 <213> artificial

<400> 124

15	atgggcatgc	aggtgcagat	ccagagcctg	ttcctgctgc	tgctgtgggt	gcccggcagc	60
	aggggcgctt	tcaccgacct	gaccatcgtg	tacaacagca	cctggcactg	gaccggctgc	120
	aacaagaaag	ccgctgccaa	gctgctggaa	aagctgctgt	gcatcaacgc	ctatcagttt	180
	gccttcaagg	acctgtgcgt	gaagatgggt	atgctgatgc	tgggtgcggt	caagaatgcc	240
	gctctccagg	acaagatcct	ggaccactac	aaggccgctt	ttctgctgtg	cttctgctgt	300
	ctgctgaaca	gcgtgtacgg	caccaccctg	gaacggaacg	ccgccgtgac	caccagatac	360
	cccctgctgc	ggaatgccac	cctccaggaa	atcgtcctgc	acgtcaatta	ctacatcacc	420
	gagaccggca	tctggaaggt	ggtgttcac	tacatcccc	tgttcaacca	gaccgagccc	480
20	gacaccagca	actacggagc	cgccgaactc	gatcccgtgg	acctgctgtg	ctacaaagcc	540
	gctgccctga	ccgacgtgag	catcgcctgc	gtgtacaacg	ccgccaggac	cgaggtgtac	600
	cagtttgctt	ttcggaaacc	ctacctgcac	agcagactgg	tgggtgttaa	catcagcttc	660
	gccggcatcg	tgaccaagaa	agtgatggac	gacagcgaga	tcgectataa	cgcttcttac	720
	agccggatca	gagagctgag	gttcaaagcc	gctgccttta	tctacattcc	tctgttcctg	780
25	atcaaggccc	tgttacctt	ccccacgcc	ttccctttca	atgccttcta	ctccaaggtg	840
	tccgagtccc	ggtggaagag	cctggtgttc	ctgctgtggt	tcagcgtgaa	cgccagcacc	900
	gccgctgccc	tgtactggta	caggaagccc	accctgtacg	cccatatcca	gtgcctgaat	960
	gccgcccact	acaccaactg	gaagttcac	ttcaatgccg	ccaacaccga	gctgtacaac	1020
	ctgctgatca	acgccagcta	cttcggcatg	agcttcatcc	acttcaagct	gaccaacaag	1080
30	ggcatctgcg	acctgaactc	cgtgtacggc	gagacactgg	aaaagaacgt	gtacgtgtgc	1140
	gccttcgcct	ggctgctgaa	cgtgtatggc	acaacactgg	aaaaactgaa	gctgtcccag	1200
	atggtgcagt	gggctataaa	agccgcccgc	tacgtgggtg	gggacagcat	ctactatatc	1260
	aacggcaccg	gctgtaacgg	ctggttttac	ggcgccgctg	ccgtgatgtg	ccggcactac	1320
	aagcggaaat	ttctgctgtg	ttttccgtg	tgccctgaacg	ccgtgtatca	gttcgccttt	1380
35	aaggatctga	aggctgccaa	agtgtctgag	ttcagatggt	acaggtataa	gtacacaaat	1440
	tggaaagtta	tctatctgaa	cgccgcccctg	agcagcgccc	tggaaatccc	ctataaggtc	1500
	gccttcctgt	tcaccgatct	gactattgtg	aacgcccgcc	ccacccccat	catccacctg	1560
	aaaaacgccg	ctgccaggca	gatgaacatg	agccagtgga	tcaagaacac	cggcacctctg	1620
	accgtgacct	acaacgtggt	tacctttccc	aaccctttcc	cctttaaagc	cgctgccgag	1680
40	atcgtgctgc	acctggaacc	ccagaacgag	ctggaccctg	tgggcccctg	ccctggcatc	1740
	agaatcctcc	aggaactgct	gatgggcagc	ttcggcatcg	tgggcccagg	ccccggaacc	1800
	ggccggtgca	tcgcctggtg	gcgagggcc	cggaccgaga	caggcccctg	accggtctgg	1860
	aagcacatcc	ggctggaatg	cgtgctgatg	tacaaggcca	ggggaccctg	ccctggcctc	1920
	tgtatcgtgt	accgcgactg	catgcctac	gccgcctgcc	acggcccagg	acctggcccc	1980
45	gagtggatcg	agcggcagac	cgtgctccag	catagcttca	acggaccctg	accaggcccc	2040
	atcaacatca	gcaagagcaa	ggcccacaag	gccatcgagc	tgggcccctg	gcccggactg	2100
	cggaccctcc	agcagctggt	cctgagcacc	ctgagcttcg	tgggacctgg	gccaggcttc	2160
	cacagcatcg	ccggccagta	ccggggccag	tgcaaacacct	gcccggccagg	gccaggcacc	2220
	acacctatta	ttcacctgaa	ggcgacgcc	aacatcctga	aggggcccagg	accggcgac	2280
50	tgggtgatgg	ccatcttcgg	cgtgaacccc	accgtggccc	agggcttcgg	acctggacct	2340
	gggctagga	agctgcacga	gctgtcctct	gccctggaaa	ttccttacgg	ccctggccca	2400
	ggcttcaaga	ccctgatcaa	gcccgccaca	ctgtatgccc	acattcaggg	ccctggacca	2460
	ggcaccatcc	ccaacagcgt	gcagatcagc	gtgggctaca	tgacctcgg	accaggcctc	2520
	ggcaatggct	ggttctacgt	ggaggccgtg	atcgacaggc	agaccggcgg	acctggccca	2580
55	ggggtgctgg	acttcgcctt	tacagacctg	acaattgtgt	accgggacgg	ccctgggcct	2640
	ggcgccaagt	tcgtggccgc	ctggaccctg	aaggccgctg	cctga	2685	

<210> 125

<211> 894

<212> PRT

60 <213> artificial

<400> 125

ES 2 440 974 T3

Met Gly Met Gln Val Gln Ile Gln Ser Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Val Pro Gly Ser Arg Gly Phe Tyr Ser Lys Val Ser Glu Phe Arg Trp
 20 25 30
5 Lys Ala Ala Arg Thr Glu Val Tyr Gln Phe Ala Phe Arg Asn Ala Ala
 35 40 45
 Val Thr Thr Arg Tyr Pro Leu Leu Arg Asn Val Phe Thr Phe Pro Asn
 50 55 60
10 Pro Phe Pro Phe Asn Tyr Thr Asn Trp Lys Phe Ile Tyr Leu Asn Ala
 65 70 75 80
 Ser Val Tyr Gly Glu Thr Leu Glu Lys Gly Ala Ala Val Met Cys Arg
 85 90 95
 His Tyr Lys Arg Asn Ala Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Lys Leu Lys
 100 105 110
15 Val Val Phe Ile Tyr Ile Pro Leu Phe Gly Ala Ala Lys Leu Leu Glu
 115 120 125
 Lys Leu Leu Cys Ile Asn Gly Thr Gly Cys Asn Gly Trp Phe Tyr Asn
 130 135 140
20 Gln Thr Glu Pro Asp Thr Ser Asn Tyr Asn Ala Ala Ala Pro Tyr Leu
 145 150 155 160
 His Ser Arg Leu Val Val Phe Gly Ala Ala Ala Leu Thr Asp Val Ser
 165 170 175
 Ile Ala Cys Val Tyr Asn Ala His Tyr Thr Asn Trp Lys Phe Ile Phe
 180 185 190
25 Gly Ala Ala Phe Ile Tyr Ile Pro Leu Phe Val Ile Lys Ala Ala Ala
 195 200 205
 Met Val Met Leu Met Leu Val Arg Phe Lys Asn Ala Ala Asn Thr Glu
 210 215 220
30 Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Asn Phe Leu Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val
 225 230 235 240
 Asn Phe Leu Leu Cys Phe Cys Val Leu Leu Asn Ala Ala Thr Thr Pro
 245 250 255
 Ile Ile His Leu Lys Gly Ala Ala Lys Leu Thr Asn Lys Gly Ile Cys
 260 265 270
35 Asp Leu Asn Ala Leu Gln Asp Lys Ile Leu Asp His Tyr Lys Asn Thr
 275 280 285
 Gly Ile Leu Thr Val Thr Tyr Gly Ala Ala Ala Val Met Asp Asp Ser
 290 295 300
40 Glu Ile Ala Tyr Asn Ser Thr Trp His Trp Thr Gly Cys Asn Lys Lys
 305 310 315 320
 Ala Ala Ser Tyr Phe Gly Met Ser Phe Ile His Phe Lys Leu Ser Ser
 325 330 335
 Ala Leu Glu Ile Pro Tyr Lys Leu Ser Gln Met Val Gln Trp Ala Tyr
 340 345 350
45 Asn Ser Leu Val Phe Leu Leu Cys Phe Ser Val Asn Ala Thr Leu Tyr
 355 360 365
 Ala His Ile Gln Cys Leu Asn Val Phe Thr Phe Pro His Ala Phe Pro
 370 375 380
50 Phe Asn Ala Ala Ala Arg Gln Met Asn Met Ser Gln Trp Ile Lys Asn
 385 390 395 400

ES 2 440 974 T3

Ala Thr Leu Gln Glu Ile Val Leu His Val Asn Ala Ala Phe Thr Asp
405 410 415

Leu Thr Ile Val Tyr Asn Ile Ser Phe Ala Gly Ile Val Thr Lys Lys
420 425 430

5 Tyr Val Val Trp Asp Ser Ile Tyr Tyr Ile Asn Tyr Tyr Ile Thr Glu
435 440 445

Thr Gly Ile Trp Lys Ala Ala Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu
450 455 460

10 Arg Phe Lys Val Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu Lys Ala Phe Leu
465 470 475 480

Leu Cys Phe Ser Val Cys Leu Asn Ala Ala Tyr Gln Phe Ala Phe Lys
485 490 495

Asp Leu Cys Val Lys Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Arg Asn Lys
500 505 510

15 Val Ser Glu Phe Arg Trp Tyr Arg Tyr Lys Ala Ala Glu Leu Asp Pro
515 520 525

Val Asp Leu Leu Cys Tyr Lys Ser Thr Ala Ala Ala Leu Tyr Trp Tyr
530 535 540

20 Arg Lys Ala Ala Ala Val Tyr Val Cys Ala Phe Ala Trp Leu Leu Glu
545 550 555 560

Ile Val Leu His Leu Glu Pro Gln Asn Glu Leu Asp Pro Val Gly Pro
565 570 575

Gly Pro Gly Ile Arg Ile Leu Gln Glu Leu Leu Met Gly Ser Phe Gly
580 585 590

25 Ile Val Gly Pro Gly Pro Gly Thr Gly Arg Cys Ile Ala Cys Trp Arg
595 600 605

Arg Pro Arg Thr Glu Thr Gly Pro Gly Pro Gly Trp Lys His Ile Arg
610 615 620

30 Leu Glu Cys Val Leu Met Tyr Lys Ala Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu
625 630 635 640

Cys Ile Val Tyr Arg Asp Cys Ile Ala Tyr Ala Ala Cys His Gly Pro
645 650 655

Gly Pro Gly Pro Glu Trp Ile Glu Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser
660 665 670

35 Phe Asn Gly Pro Gly Pro Gly Pro Ile Asn Ile Ser Lys Ser Lys Ala
675 680 685

His Lys Ala Ile Glu Leu Gly Pro Gly Pro Gly Leu Arg Thr Leu Gln
690 695 700

40 Gln Leu Phe Leu Ser Thr Leu Ser Phe Val Gly Pro Gly Pro Gly Phe
705 710 715 720

His Ser Ile Ala Gly Gln Tyr Arg Gly Gln Cys Asn Thr Cys Gly Pro
725 730 735

Gly Pro Gly Thr Thr Pro Ile Ile His Leu Lys Gly Asp Ala Asn Ile
740 745 750

45 Leu Lys Gly Pro Gly Pro Gly Asp Trp Val Met Ala Ile Phe Gly Val
755 760 765

Asn Pro Thr Val Ala Glu Gly Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Arg Lys
770 775 780

50 Leu His Glu Leu Ser Ser Ala Leu Glu Ile Pro Tyr Gly Pro Gly Pro
785 790 795 800

ES 2 440 974 T3

Gly Phe Lys Thr Leu Ile Lys Pro Ala Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln
 805 810 815
 Gly Pro Gly Pro Gly Thr Ile Pro Asn Ser Val Gln Ile Ser Val Gly
 820 825 830
 5 Tyr Met Thr Ile Gly Pro Gly Pro Gly Asn Gly Trp Phe Tyr Val Glu
 835 840 845
 Ala Val Ile Asp Arg Gln Thr Gly Gly Pro Gly Pro Gly Val Leu Asp
 850 855 860
 10 Phe Ala Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Tyr Arg Asp Gly Pro Gly Pro
 865 870 875 880
 Gly Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
 885 890

<210> 126
 <211> 2685
 <212> ADN
 <213> artificial

<400> 126

20 atgggcatgc aggtgcagat ccagagcctg ttctgtctgc tgcgtgtgggt gcccggcagc 60
 cggggcttct acagcaaggt gtccgagttc cggtggaagg ccgccaggac cgaggtgtac 120
 cagttcgctt tccggaacgc cgccgtgacc accagatacc ccctgctgcg gaacgtgttc 180
 accttcccc accccttccc tttcaactac accaactgga agttcatcta cctgaacgcc 240
 agcgtgtacg gcgagaccct ggaaaagggg gcagccgtga tgtgccggca ctacaagcgg 300
 aacgcccgtgt acggcaccac actggaaaag ctgaaggtgg tgttcatcta catccccctg 360
 25 ttccggagccg ccaagctgct ggaaaaactg ctgtgcatca acggcaccgg ctgcaacggc 420
 tggttctaca accagaccga gcccgacacc agcaactaca atgctgccgc ccctacctg 480
 cacagcagac tgggtgtgtt tggggctgcc gccctgaccg acgtgagcat cgcctgctg 540
 tacaacgccc actacacaaa ttggaaattc atttttggag ccgccttcat ctatatctc 600
 ctgttcgtga tcaaagccgc cgctatgggtg atgctgatgc tgggtgccgtt caagaacgcc 660
 gccaacaccg agctgtacaa cctgctgatc aacttctctg tcaccgacct gaccatcgtg 720
 30 aactttctcc tgtgtttctg cgtgctcctg aatgcccgca caacccccat catccacctg 780
 aagggagccg ccaaactgac caacaagggc atctgcccacc tgaatgccct ccaggacaag 840
 atcctggacc actacaagaa caccggcatc ctgaccgtga cctatggagc cgctgccctg 900
 atggacgaca gcgagatcgc ctacaacagc acctggcact ggaccggctg taacaagaag 960
 gccgcctcct acttcggcat gagcttcatc cacttcaagc tgtccagcgc cctggaaatc 1020
 35 ccctacaagc tgtcccagat ggtgcagtgg gcctacaact ccctgggtgtt cctgctgtgt 1080
 ttcagcgtga acgcaaccct ctatgcccac atccagtgcc tgaatgtgtt taccttcctt 1140
 caccgctttc ccttcaatgc cgccgccaga cagatgaaca tgagccagtg gatcaagaat 1200
 gccaccctcc aggagattgt cctgcaogtc aatgccgcct ttactgatct gactatcgtg 1260
 40 tacaacatca gcttcgcccg catcgtgacc aagaaatagc tgggtgtggga cagcatctac 1320
 tacatcaatt actacatcac cgagaccggc atctggaaag ctgccgcctt ctacagccgg 1380
 atcagggagc tgaggttcaa agtgtatcag tttgctttca aagacctgaa agccttccctg 1440
 ctgtgctttt ccgtgtgctt gaacgcccgc taccagtttg cctttaagga tctgtgctgt 1500
 aagagcgtgt atggcacaac cctggaacgg aacaaagtgt ctgagttccg ctggtacagg 1560
 45 tataaggccg ccgaactcga tcccgtggat ctgctgtgtt acaagagcac tgccgccgca 1620
 ctgtactggt ataggaaggc tgccgccgtg tacgtgtgcg ccttcgectg gctgctggag 1680
 atcgtgctgc acctggaacc ccagaacgag ctggaccctg tgggcccctg ccctggcatc 1740
 agaatcctcc aggaactgct gatgggcagc ttcggcatcg tgggcccagg ccccggaacc 1800
 ggccgggtga tcgcctgttg gcggaggccc cggaccgaga caggccctgg acccggtggt 1860
 aagcacatcc ggctggaatg cgtgctgatg tacaaggcca ggggaccggg ccctggcctc 1920
 50 tgtatcgtgt accgcgactg catcgcctac gccgcctgcc acggcccagg acctggcccc 1980
 gagtggatcg agcggcagac cgtgctccag catagcttca acggaccggg accaggcccc 2040
 atcaacatca gcaagagcaa ggcccacaag gccatcgagc tgggcccctg gcccgactg 2100
 cggaccctcc agcagctgtt cctgagcacc ctgagcttcc tgggacctgg gccaggcttc 2160
 cacagcatcg ccggccagta ccggggccag tgcaaacacct gcggcccagg gccaggcacc 2220
 55 acacctatta ttacactgaa gggcgacgccc aacatcctga aggggcccagg acccggcgac 2280
 tgggtgatgg ccatcttcgg cgtgaacccc acctgggccc agggcttcgg acctggacct 2340
 gggcctagga agctgcaacga gctgtcctct gccctggaaa ttcccttacg ccctggccca 2400
 ggcttcaaga cctgatcaa gcccgccaca ctgtatgccc acattcaggg ccctggacca 2460
 60 ggcaccatcc ccaacagcgt gcagatcagc gtgggctaca tgaccatcgg accagggcct 2520
 ggcaatggct ggttctactg ggaggccgtg atcgacaggc agaccggcgg acctggccca 2580
 ggggtgctgg acttcgcctt tacagacctg acaattgtgt accgggacgg ccctgggcct 2640

ES 2 440 974 T3

ggcgccaagt tcgtggccgc ctggaccctg aaggccgctg cctga

2685

<210> 127
 <211> 891
 <212> PRT
 5 <213> artificial

<400> 127

	Met	Gly	Met	Gln	Val	Gln	Ile	Gln	Ser	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
10	Val	Pro	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Ser	Leu	Phe	Gly	Met	Ser	Leu	Met	Lys
				20					25					30		
	Asn	Ser	Thr	Ala	Ala	Ala	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Lys	Lys	Ala	Ala	Cys	Tyr
			35					40					45			
	Ser	Leu	Tyr	Gly	Thr	Thr	Phe	Lys	Ala	Ala	Ala	Val	Ala	Trp	Asp	Ser
		50					55					60				
15	Val	Tyr	Tyr	Met	Lys	Ser	Thr	Asp	Leu	Arg	Asp	His	Ile	Asp	Tyr	Asn
	65						70				75					80
	Ile	Ser	Asp	Tyr	Arg	His	Tyr	Cys	Tyr	Lys	Ala	Ala	Gln	Val	Val	Pro
					85					90					95	
20	Ala	Tyr	Asn	Ile	Ser	Lys	Asn	Gly	Tyr	Asn	Thr	Phe	Tyr	Ile	Glu	Phe
			100						105					110		
	Lys	Leu	Gln	Asp	Lys	Ile	Ile	Asp	His	Tyr	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Tyr
			115					120					125			
	Leu	His	Ile	Gln	Ser	Leu	Asn	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Leu	Gln	Asp	Ile
		130					135					140				
25	Val	Leu	His	Gly	Thr	Val	Tyr	Val	Phe	Cys	Phe	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile
	145					150					155					160
	Leu	Tyr	Ala	His	Ile	Gln	Cys	Leu	Asn	Ala	Ala	Leu	Tyr	Asn	Leu	Leu
					165					170					175	
30	Ile	Arg	Cys	Phe	Lys	Ala	Ala	Phe	Val	Tyr	Ile	Pro	Leu	Phe	Leu	Ile
				180					185					190		
	Asn	Thr	Val	Ser	Ala	Thr	Gln	Leu	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Gly	Cys	Asn
			195					200					205			
	Gly	Trp	Phe	Tyr	Asn	Ala	Ala	Thr	Lys	Tyr	Pro	Leu	Leu	Lys	Asn	Val
		210				215						220				
35	Tyr	Val	Phe	Cys	Phe	Leu	Leu	Pro	Met	Asn	Ala	Thr	Leu	His	Asp	Ile
	225					230					235					240
	Ile	Leu	Glu	Cys	Val	Lys	Ala	Ala	Ala	Leu	Tyr	Gly	Val	Ser	Phe	Ser
					245					250					255	
40	Glu	Leu	Lys	Gln	Val	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Tyr
				260					265					270		
	Met	Thr	Asp	Ala	Gly	Thr	Trp	Asn	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ala	Val	Cys	Asp
			275					280					285			
	Lys	Cys	Phe	Lys	Gln	Gly	Ala	Met	Leu	Ala	Val	Phe	Lys	Lys	Ala	Ala
		290					295					300				
45	Ala	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Lys	Asn	Ala	Ala	Ala	Ser	Tyr
	305					310					315					320
	Phe	Gly	Met	Ser	Phe	Ile	His	Phe	Lys	Ala	Ala	Lys	Leu	Leu	Ser	Lys
					325					330					335	
50	Leu	Leu	Cys	Val	Asn	Ala	Ala	Ala	Ala	Thr	Met	Cys	Arg	His	Tyr	Lys
				340						345				350		

ES 2 440 974 T3

Arg Asn Ala Ala Ala Ser Thr Val Ser Val Gly Thr Ala Lys Asn Ala
 355 360 365
 Ala Leu Ser Gln Met Val Gln Trp Ala Tyr Lys Leu Thr Asn Thr Gly
 370 375 380
5 Leu Tyr Asn Val Asn Ala Ala Ala Thr Cys Val Ser His Arg Gly Leu
 385 390 395
 Tyr Asn Ala Ala Lys Ser Ala Ile Val Thr Leu Thr Tyr Lys Ala Ala
 405 410 415
10 Ala Asp Ser Val Tyr Gly Asp Thr Leu Glu Arg Asn Met Tyr Val Cys
 420 425 430
 Cys His Val Pro Leu Asn Ala Ala Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg
 435 440 445
 Phe Lys Ala Ala Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro Lys Asn Ala
 450 455 460
15 Ser Leu Gln Asp Ile Glu Ile Thr Cys Val Lys Ala Val Tyr Asp Phe
 465 470 475
 Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Lys Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu
 485 490 495
20 Thr Val Asn Ala Ala Ala Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Val Asn
 500 505 510
 Ser Val Ile Cys Phe Val Asn Ser Lys Asn Ala Thr Leu Glu Lys Leu
 515 520 525
 Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Ala Gly Leu Tyr Tyr Val His Glu Gly
 530 535 540
25 Ile Arg Thr Tyr Phe Val Gln Gly Pro Gly Pro Gly Phe Leu Asn Thr
 545 550 555
 Val Ala Ile Pro Asp Ser Val Gln Ile Leu Val Gly Pro Gly Pro Gly
 565 570 575
30 Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Gly
 580 585 590
 Pro Gly Pro Gly Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys
 595 600 605
 Leu Arg Cys Gln Gly Pro Gly Pro Gly Ile Glu Phe Ile Thr Phe Leu
 610 615 620
35 Gly Ala Leu Lys Ser Phe Leu Lys Gly Pro Gly Pro Gly Pro Glu Trp
 625 630 635 640
 Ile Gln Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser Phe Asn Gly Pro Gly Pro
 645 650 655
40 Gly Leu Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro His Ala Ala Cys His
 660 665 670
 Lys Gly Pro Gly Pro Gly Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly
 675 680 685
 Thr Leu Gly Ile Val Gly Pro Gly Pro Gly Leu Asp Leu Gln Pro Glu
 690 695 700
45 Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Gly Pro Gly Pro Gly Leu Gln
 705 710 715 720
 Ala Ile Glu Leu Gln Leu Thr Leu Glu Thr Ile Tyr Asn Gly Pro Gly
 725 730 735
50 Pro Gly Phe Gln Gln Leu Phe Leu Asn Thr Leu Ser Phe Val Cys Pro
 740 745 750

ES 2 440 974 T3

Trp Gly Pro Gly Pro Gly Trp Lys His Met Arg Leu Glu Cys Ala Ile
 755 760 765

Tyr Tyr Lys Ala Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu Cys Thr Glu Leu Gln
 770 775 780

5 Thr Thr Ile His Asp Ile Ile Leu Glu Gly Pro Gly Pro Gly Phe Lys
 785 790 795 800

Thr Leu Ile Gln Pro Phe Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln Gly Pro Gly
 805 810 815

10 Pro Gly Leu Tyr Trp Tyr Lys Thr Gly Ile Ser Asn Ile Ser Glu Val
 820 825 830

Tyr Gly Pro Gly Pro Gly Glu Val Phe Glu Phe Ala Phe Lys Asp Leu
 835 840 845

Phe Val Val Tyr Arg Gly Pro Gly Pro Gly His Lys Ala Ile Glu Leu
 850 855 860

15 Gln Met Ala Leu Gln Gly Leu Ala Gln Gly Pro Gly Pro Gly Ala Lys
 865 870 875 880

Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
 885 890

<210> 128
 <211> 2676
 <212> ADN
 <213> artificial

<400> 128

25 atgggcatgc aggtgcagat ccagagcctg ttctgtctgc tgctgtgggt gcccggcagc 60
 cggggcaaga gctgttttgg catgagcctg atgaagaaca gcaccgcccg tgccctctat 120
 tggtaaaaaa aggcgcctg ctacagcctg tacggcacca ccttcaaggc tgctgcccgtg 180
 gcctgggaca gcgtgtacta catgaagagc accgacctgc gggaccacat cgactacaac 240
 atcagcgact accggcacta ctgctacaag gccgccaggc tggtgcccgc ctacaacatc 300
 30 tccaagaacg gctacaacac cttctacatc gagtccaagc tccaggacaa gatcatcgac 360
 cactacaaag ccgcctgcct gtacctgcac atccagagtc tgaacgcagc cgctgcaacc 420
 ctccaggaca tcgtgctgca cggcaccgtg tacgtgttct gcttctctgt gaacgccatc 480
 ctgtacgccc acatccagtg tctgaatgcc gccctgtaca acctgtgat ccggtgcttt 540
 aaggccgect ctgtgtacat cccctgttt ctgatcaaca ccgtgagcgc caccagctg 600
 gtgaagaatg gcaccggctg caacggctgg ttctacaatg ccgccaccaa gtaccccctg 660
 35 ctgaagaacg tgatgtgtt ttgttttctg ctgcccata acgccacact gcacgacatt 720
 atcctggaat gcgtcaaggc cgctgcccgt tatggcgtga gcttcagcga gctgaagcag 780
 gtggactact accgctgta ctacggcgcc tactacatga ccgacgcccg cacctggaat 840
 gccgcccctt accgctgtgt cgacaagtgc ttcaagcagg gcgccatgct ggccgtgttc 900
 aagaaagccg ctgcccgtgg tctgctgctg gtgcgggata agaatgccgc cgccagctac 960
 40 ttcggcatag gcttcatcca ctttaaagcc gccaaagctg tgtctaagct gctgtgctg 1020
 aatgccgctg ctgccacaat gtgccggcac tacaagagaa atgccgctg cagcaccgtg 1080
 agcgtgggca ccgccaagaa cgcgcacctg agccagatgg tgcagtgggc ctacaagctg 1140
 accaacaccg gctgtataaa cgtgaacgcc gctgccacct gcgtgagcca ccggggcctg 1200
 tataacgccg ccaagagcgc catcgtgacc ctgacctata aggcgctg cgcacagcgtg 1260
 45 tacggcgaca ccttggaaag gaacatgtac gtgtgctgccc acgtgcccct gaatgccgccc 1320
 aggttccaca acatccgggg caggttcaaa gccgcctttg tgggtgaccg ggacagcacc 1380
 cccaagaatg ccagcctcca ggatattgag atcacctgtg tgaaggccgt gtacgacttc 1440
 gccttccggg acctgtgcat caagtacatg ctggacctcc agcccagac agtgaacgcc 1500
 gccgtgggca cactgggcat cgtgtgcccc gtgaacagcg tgatctgctt cgtgaacagc 1560
 50 aaaaaagcca ccttggaaaa gctgacaaat acagggtgtg acaatgccgg cctgtattac 1620
 gtgcacagag gcatccggag ctacttctgt cagggccccc ggccaggctt cctgaacacc 1680
 gtggccatcc cggactccgt gcagatcctg gtccggcccag gaccagggca gcggttccac 1740
 aatatcagag gccggtggac cggcagatgc atgggcccag gacctggcac aaataaccga 1800
 ctgtataatc tctgtattcg ctgcctgcgg tgcccagggtc caggaccagg catcgagttt 1860
 55 atcacctttc tgggcgccct gaagagcttc ctgaaaggac ctggaccagg acccgagtgg 1920
 attcagcggc agaccgtgct ccagcacagc ttcaacggac ccggaccggc cctgttctgt 1980
 gtgtacagag actccatccc ccacgcccgc tgtcacaagg gacctggacc aggcacagc 2040
 accctggagg acctgtgat gggcacctg ggcatgtgg ggccctggacc tggactggat 2100
 ctccagcctg aaaccaccga cctgtactgc tacgagcagg ggccaggacc tgggctccag 2160

ES 2 440 974 T3

gctatcgaac tccagctgac cctggaaacc atctacaatg gccccggacc aggcttccag 2220
cagctgttcc tgaatacct gagcttcgtg tgccttggg gaccagggcc cggatggaag 2280
cacatgcggc tggaatgcmc catctactac aaggccagag gccaggacc cggactgtgc 2340
5 accgaaactcc agaccacat ccacgacatc attctggaag gaccagggcc aggctttaag 2400
accctgatcc agcccttcat tctgtatgcc cacattcagg gacctgggcc tggcctgtat 2460
tggataaaga ccggcatcag caacatctcc gaggtgtacg ggccctggacc aggcgaggtg 2520
ttcgagtccg ccttcaagga tctgtttgtg gtgtatagag gccccggacc tggccacaag 2580
gccattgaac tccagatggc cctccagggg ctggcccagg gaccagggcc tggcgccaag 2640
ttcgtggccg cctggaccct gaaagccgcc gcctga 2676

10 <210> 129
<211> 907
<212> PRT
<213> artificial

<400> 129

15 Met Gly Met Gln Val Gln Ile Gln Ser Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Val Pro Gly Ser Arg Gly Ala Thr Cys Val Ser His Arg Gly Leu Tyr
20 25 30
20 Asn Ala Ala Ser Thr Asp Leu Arg Asp His Ile Asp Tyr Asn Ala Ala
35 40 45
Ala Ala Thr Met Cys Arg His Tyr Lys Arg Asn Ala Ile Leu Tyr Ala
50 55 60
His Ile Gln Cys Leu Asn Ala Ala Ala Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys
65 70 75 80

25 Pro Val Asn Ala Ala Ala Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Phe Lys
85 90 95
Ala Ala Ala Asp Ser Val Tyr Gly Asp Thr Leu Glu Arg Asn Gln Val
100 105 110

30 Val Pro Ala Tyr Asn Ile Ser Lys Asn Ala Ala Leu Tyr Asn Leu Leu
115 120 125
Ile Arg Cys Phe Lys Ala Ala Phe Val Tyr Ile Pro Leu Phe Leu Ile
130 135 140
Asn Tyr Tyr Met Thr Asp Ala Gly Thr Trp Gly Ala Val Val Leu Leu
145 150 155 160

35 Leu Val Arg Tyr Lys Asn Ala Ala Ile Ser Asp Tyr Arg His Tyr Cys
165 170 175
Tyr Lys Ala Ala Thr Val Ser Ala Thr Gln Leu Val Lys Lys Ala Ser
180 185 190

40 Thr Ala Ala Ala Leu Tyr Trp Tyr Lys Lys Ala Ala Phe Val Val Tyr
195 200 205
Arg Asp Ser Ile Pro Lys Asn Ala Ser Tyr Phe Gly Met Ser Phe Ile
210 215 220
His Phe Lys Ala Ala Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Val Asn
225 230 235 240

45 Ala Ala Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Lys Ala Ala
245 250 255
Leu Gln Asp Lys Ile Ile Asp His Tyr Lys Ala Ala Thr Leu His Asp
260 265 270

50 Ile Ile Leu Glu Cys Val Lys Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn
275 280 285
Val Gly Ala Ala Ala Ser Val Ile Cys Phe Val Asn Ser Lys Gly Ala
290 295 300

ES 2 440 974 T3

Ala Ala Met Tyr Val Cys Cys His Val Pro Leu Asn Ala Ser Leu Gln
 305 310 315 320

Asp Ile Glu Ile Thr Cys Val Lys Cys Leu Tyr Leu His Ile Gln Ser
 325 330 335

5 Leu Asn Ala Ala Thr Lys Tyr Pro Leu Leu Lys Asn Val Tyr Val Phe
 340 345 350

Cys Phe Leu Leu Pro Met Asn Ala Lys Gln Gly Ala Met Leu Ala Val
 355 360 365

10 Phe Lys Lys Ala Ala Leu Ser Gln Met Val Gln Trp Ala Tyr Lys Ala
 370 375 380

Ala Pro Tyr Ala Val Cys Asp Lys Cys Phe Lys Ala Ala Thr Val Tyr
 385 390 395 400

Val Phe Cys Phe Leu Leu Asn Ala Ala Ala Thr Leu Gln Asp Ile
 405 410 415

15 Val Leu His Gly Ala Lys Ser Leu Phe Gly Met Ser Leu Met Lys Asn
 420 425 430

Gly Thr Gly Cys Asn Gly Trp Phe Tyr Asn Ala Arg Phe His Asn Ile
 435 440 445

20 Arg Gly Arg Phe Lys Ala Ala Lys Leu Leu Ser Lys Leu Leu Cys Val
 450 455 460

Asn Ala Ala Ala Ser Thr Val Ser Val Gly Thr Ala Lys Asn Val Ala
 465 470 475 480

Trp Asp Ser Val Tyr Tyr Met Lys Ala Ala Ala Gly Tyr Asn Thr Phe
 485 490 495

25 Tyr Ile Glu Phe Lys Ala Ala Ala Leu Tyr Gly Val Ser Phe Ser Glu
 500 505 510

Leu Lys Gln Val Asp Tyr Tyr Gly Leu Tyr Tyr Asn Ala Ala Lys Ser
 515 520 525

30 Ala Ile Val Thr Leu Thr Tyr Lys Ala Ala Ala Thr Leu Glu Lys Leu
 530 535 540

Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Ala Gly Leu Tyr Tyr Val His Glu Gly
 545 550 555 560

Ile Arg Thr Tyr Phe Val Gln Gly Pro Gly Pro Gly Phe Leu Asn Thr
 565 570 575

35 Val Ala Ile Pro Asp Ser Val Gln Ile Leu Val Gly Pro Gly Pro Gly
 580 585 590

Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Gly
 595 600 605

40 Pro Gly Pro Gly Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys
 610 615 620

Leu Arg Cys Gln Gly Pro Gly Pro Gly Ile Glu Phe Ile Thr Phe Leu
 625 630 635 640

Gly Ala Leu Lys Ser Phe Leu Lys Gly Pro Gly Pro Gly Pro Glu Trp
 645 650 655

45 Ile Gln Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser Phe Asn Gly Pro Gly Pro
 660 665 670

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

50 Lys Gly Pro Gly Pro Gly Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly
 690 695 700

ES 2 440 974 T3

Thr Leu Gly Ile Val Gly Pro Gly Pro Gly Leu Asp Leu Gln Pro Glu
 705 710 715 720

Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Gly Pro Gly Pro Gly Leu Gln
 725 730 735

5 Ala Ile Glu Leu Gln Leu Thr Leu Glu Thr Ile Tyr Asn Gly Pro Gly
 740 745 750

Pro Gly Phe Gln Gln Leu Phe Leu Asn Thr Leu Ser Phe Val Gys Pro
 755 760 765

10 Trp Gly Pro Gly Pro Gly Trp Lys His Met Arg Leu Glu Gys Ala Ile
 770 775 780

Tyr Tyr Lys Ala Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu Cys Thr Glu Leu Gln
 785 790 795 800

Thr Thr Ile His Asp Ile Ile Leu Glu Gly Pro Gly Pro Gly Phe Lys
 805 810 815

15 Thr Leu Ile Gln Pro Phe Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln Gly Pro Gly
 820 825 830

Pro Gly Leu Tyr Trp Tyr Lys Thr Gly Ile Ser Asn Ile Ser Glu Val
 835 840 845

20 Tyr Gly Pro Gly Pro Gly Glu Val Phe Glu Phe Ala Phe Lys Asp Leu
 850 855 860

Phe Val Val Tyr Arg Gly Pro Gly Pro Gly His Lys Ala Ile Glu Leu
 865 870 875 880

Gln Met Ala Leu Gln Gly Leu Ala Gln Gly Pro Gly Pro Gly Ala Lys
 885 890 895

25 Phe Val Ala Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
 900 905

<210> 130

<211> 2724

<212> ADN

30 <213> artificial

<400> 130

atgggcatgc aggtgcagat ccagagcctg ttcctgctgc tgctgtgggt gcccggcagc 60
 agaggcgcca cctgcgtgag ccacaggggc ctctacaacg ccgccagcac cgacctgcgg 120
 gaccacatcg actacaatgc tgetgcccgt acaatgtgcc ggcaactaaa gcggaacgcc 180
 35 atcctgtaag cccacatcca gtgcctgaat gctgcccgtg gcacactggg catcgtgtgc 240
 cccgtgaatg ccgccgctg ctacagcctg tacggcacca ccttcaaggc cgctgccgac 300
 tccgtgtacg gcgacaccct ggaacggaac caggtgggtg ccgcctaaa catctctaag 360
 aatgcccgtc tgtacaacct gctgatccgg tgctttaagg ctgccttcgt gtacatcccc 420
 ctgtttctga tcaactcta catgaccgac gccggcacat ggggagccgt ggtgctgctg 480
 40 ctggtgaggc acaagaatgc cgccatcagc gactaccggc actactgcta caaggccgcc 540
 accgtcagcg ccaccagct ggtgaagaag gccagcacag ccgcccgtct ctattggtat 600
 aaaaaagccg cctttgtggt gtaccgggac agcatcccca agaacgccag ctacttcggc 660
 atgagcttca tccacttcaa agcccctac atgctggacc tccagcccga gaccgtgaac 720
 gctgccgtgt acgacttcgc cttccgggac ctgtgcatta aagccgcact ccaggacaag 780
 45 atcatcgacc attataaagc agccaccctg catgatatta ttctggaatg cgtgaagaag 840
 ctgaccaaca ccggcctcta taacgtggga gcccgccctt ctgtgatctg cttcgtgaac 900
 agcaaggggg ctgccccat gtatgtgtgc tgccacgtgc ccctgaacgc ctctctccag 960
 gatattgaga tcacctgtgt gaagtgcctg tacctgcaca ttcagtctct gaatgccgcc 1020
 accaagtacc ccctgctgaa gaacgtgtat gtcttttgc tctgctgccc catgaacgcc 1080
 50 aagcagggcg ccatgctggc cgtgttcaaa aaggccgccc tgagccagat ggtgcagtgg 1140
 gcctacaagc ccgccctta cgccgtgtgc gacaagtgtt ttaaggccgc cacagtgtac 1200
 gtgttttgtt ttctgctgaa tgccgctgcc gccaccctcc aggacatcgt gctgcacggc 1260
 gccaaagtccc tgttcggcat gtccctgatg aagaatggca ccggctgcaa cggctgggtc 1320
 tacaacgccc ggttccacaa catccggggc aggtttaaag ccgccaagct gctgtctaag 1380
 55 ctgctgtgtg tgaacccgc cgctccacc gtgagcgtgg gcaccgcaa gaacgtggcc 1440
 tgggacagcg tgtactacat gaaagcagca gccgggtaca acaccttcta catcgagttt 1500

ES 2 440 974 T3

aaagctgccg ccctgtacgg cgtgagcttc agcgagctga agcaggtgga ctactacggc 1560
 ctgtactata acgccgcca gagcgccatc gtgaccctga cctataaagc cgccgccaca 1620
 ctggaaaagc tgaccaatac agggctgtac aatgccggcc tgtattacgt gcacgagggc 1680
 atccggacct acttcgtgca gggcccaggg ccagggttcc tgaacaccgt ggccatcccc 1740
5 gactccgtgc agatcctggt cggcccagga ccagggcagc ggttccaca tatcagaggc 1800
 cggtgagccg gcagatgcat gggcccagga cctggcaca ataccggact gtataatctg 1860
 ctgattcgct gcctgcggtg ccagggtcca ggaccaggca tcgagtattat cacctttctg 1920
 ggcgcctga agagcttccct gaaaggacct ggaccaggac ccgagtggat tcagcggcag 1980
10 accgtgctcc agcacagctt caacggacct ggaccggcc tgttcgtggt gtacagagac 2040
 tccatcccc acgccgcctg tcacaaggga cctggaccag gcatcaggac cctggaggac 2100
 ctgctgatgg gcaccctggg cattgtgggg cctggacctg gactggatct ccagcctgaa 2160
 accaccgacc tgtactgcta cgagcagggg ccaggacctg ggctccaggc tatcgaactc 2220
 cagctgacct tggaaacct ctacaatggc ccggaccag gcttccagca gctgttctg 2280
 aataccctga gcttcgtgtg cccttgggga ccagggccg gatggaagca catgcggtg 2340
15 gaatgcgcca tctactaaa ggccagaggc ccaggacctg gactgtgcac cgaactccag 2400
 accaccatcc acgacatcat tctggaagga ccagggccag gctttaagac cctgatccag 2460
 cccttcattc tgtatgcccc cattcagggg cctgggcctg gcctgtattg gtataagacc 2520
 ggcacagca acatctccga ggtgtacggg cctggaccag gcgaggtgtt cgagttcgcc 2580
 ttcaaggatc tgtttggtgt gtatagaggc ccggacctg gccacaaggc cattgaactc 2640
20 cagatggccc tccaggggct gggcccagga ccaggccctg gcgccaagtt cgtggccgcc 2700
 tggaccctga aagccgccg ctga 2724

<210> 131
 <211> 22
 <212> PRT
25 <213> artificial
 <400> 131

Met Gly Met Gln Val Gln Ile Gln Ser Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

30 Val Pro Gly Ser Arg Gly
 20

<210> 132
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> VPH

35 <400> 132

Ile Ser Glu Tyr Arg His Tyr Cys Tyr
 1 5

40 <210> 133
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 133

Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr
 1 5 10

45 <210> 134
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 134

50 Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile
 1 5

<210> 135
 <211> 10
 <212> PRT

<213> VPH

<400> 135

Thr Ile His Asp Ile Ile Leu Glu Cys Val
1 5 10

5 <210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 136

10 Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Leu
1 5 10

<210> 137
<211> 10
<212> PRT
15 <213> VPH

<400> 137

Asp Ser Val Tyr Gly Asp Thr Leu Glu Lys
1 5 10

20 <210> 138
<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

<400> 138

25 Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro His
1 5 10

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

30 <400> 139

Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Leu
1 5

35 <210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 140

Pro Tyr Ala Val Cys Asp Lys Cys Leu
1 5

40 <210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

<400> 141

45 Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Trp
1 5

<210> 142
<211> 9

<212> PRT
<213> VPH

<400> 142

5 Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys Leu
1 5

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

10 <400> 143

Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Trp Leu
1 5

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

15 <400> 144

Leu Tyr Gly Val Ser Phe Thr Glu Leu
1 5

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

20 <400> 145

25 Cys Tyr Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

30 <400> 146

Gln Ala Glu Pro Asp Thr Ser Asn Tyr
1 5

<210> 147
<211> 10
<212> PRT
<213> VPH

35 <400> 147

40 Leu Gln Asp Val Ser Ile Ala Cys Val Tyr
1 5 10

<210> 148
<211> 9
<212> PRT
<213> VPH

45 <400> 148

Phe Ala Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val
1 5

<210> 149

<211> 10
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 149

5 Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu Cys Ile
 1 5 10

<210> 150
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> VPH

10

<400> 150

Thr Leu Gln Glu Ile Val Leu His Leu
 1 5

<210> 151
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> VPH

15

<400> 151

20 Arg Thr Glu Val Tyr Gln Phe Ala Phe Lys
 1 5 10

<210> 152
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> VPH

25 <400> 152

Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Lys
 1 5

<210> 153
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> VPH

30

<400> 153

His Tyr Thr Asn Trp Lys Phe Ile Tyr
 1 5

35 <210> 154
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> VPH

<400> 154

40 Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu Arg Tyr
 1 5 10

<210> 155
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> artificial

45

<400> 155

Gly Pro Gly Pro Gly
 1 5

<210> 156
 <211> 872
 <212> PRT
 <213> artificial

5 <400> 156

Ala Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Tyr Asn Ser Thr Trp His Trp Thr
 1 5 10 15
 Gly Cys Asn Lys Lys Ala Ala Ala Lys Leu Leu Glu Lys Leu Leu Cys
 20 25 30
10 Ile Asn Ala Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu Cys Val Lys Met Val
 35 40 45
 Met Leu Met Leu Val Arg Phe Lys Asn Ala Ala Leu Gln Asp Lys Ile
 50 55 60
15 Leu Asp His Tyr Lys Ala Ala Phe Leu Leu Cys Phe Cys Val Leu Leu
 65 70 75 80
 Asn Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Arg Asn Ala Ala Val Thr Thr
 85 90 95
 Arg Tyr Pro Leu Leu Arg Asn Ala Thr Leu Gln Glu Ile Val Leu His
 100 105 110
20 Val Asn Tyr Tyr Ile Thr Glu Thr Gly Ile Trp Lys Val Val Phe Ile
 115 120 125
 Tyr Ile Pro Leu Phe Asn Gln Thr Glu Pro Asp Thr Ser Asn Tyr Gly
 130 135 140
25 Ala Ala Glu Leu Asp Pro Val Asp Leu Leu Cys Tyr Lys Ala Ala Ala
 145 150 155 160
 Leu Thr Asp Val Ser Ile Ala Cys Val Tyr Asn Ala Ala Arg Thr Glu
 165 170 175
 Val Tyr Gln Phe Ala Phe Arg Asn Pro Tyr Leu His Ser Arg Leu Val
 180 185 190
30 Val Phe Asn Ile Ser Phe Ala Gly Ile Val Thr Lys Lys Val Met Asp
 195 200 205
 Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Asn Ala Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu
 210 215 220
35 Arg Phe Lys Ala Ala Ala Phe Ile Tyr Ile Pro Leu Phe Val Ile Lys
 225 230 235 240
 Ala Val Phe Thr Phe Pro His Ala Phe Pro Phe Asn Ala Phe Tyr Ser
 245 250 255
 Lys Val Ser Glu Phe Arg Trp Lys Ser Leu Val Phe Leu Leu Cys Phe
 260 265 270
40 Ser Val Asn Ala Ser Thr Ala Ala Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Lys Ala
 275 280 285
 Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln Cys Leu Asn Ala Ala His Tyr Thr Asn
 290 295 300
45 Trp Lys Phe Ile Phe Asn Ala Ala Asn Thr Glu Leu Tyr Asn Leu Leu
 305 310 315 320
 Ile Asn Ala Ser Tyr Phe Gly Met Ser Phe Ile His Phe Lys Leu Thr
 325 330 335
 Asn Lys Gly Ile Cys Asp Leu Asn Ser Val Tyr Gly Glu Thr Leu Glu
 340 345 350
50 Lys Asn Val Tyr Val Cys Ala Phe Ala Trp Leu Leu Asn Val Tyr Gly
 355 360 365

ES 2 440 974 T3

Thr Thr Leu Glu Lys Leu Lys Leu Ser Gln Met Val Gln Trp Ala Tyr
 370 375 380
 Lys Ala Ala Ala Tyr Val Val Trp Asp Ser Ile Tyr Tyr Ile Asn Gly
 385 390 395 400
5 Thr Gly Cys Asn Gly Trp Phe Tyr Gly Ala Ala Ala Val Met Cys Arg
 405 410 415
 His Tyr Lys Arg Asn Phe Leu Leu Cys Phe Ser Val Cys Leu Asn Ala
 420 425 430
10 Val Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu Lys Ala Ala Lys Val Ser Glu
 435 440 445
 Phe Arg Trp Tyr Arg Tyr Lys Tyr Thr Asn Trp Lys Phe Ile Tyr Leu
 450 455 460
 Asn Ala Ala Leu Ser Ser Ala Leu Glu Ile Pro Tyr Lys Ala Ala Phe
 465 470 475 480
15 Leu Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Asn Ala Ala Thr Thr Pro Ile Ile
 485 490 495
 His Leu Lys Asn Ala Ala Ala Arg Gln Met Asn Met Ser Gln Trp Ile
 500 505 510
20 Lys Asn Thr Gly Ile Leu Thr Val Thr Tyr Asn Val Phe Thr Phe Pro
 515 520 525
 Asn Pro Phe Pro Phe Lys Ala Ala Ala Glu Ile Val Leu His Leu Glu
 530 535 540
 Pro Gln Asn Glu Leu Asp Pro Val Gly Pro Gly Pro Gly Ile Arg Ile
 545 550 555 560
25 Leu Gln Glu Leu Leu Met Gly Ser Phe Gly Ile Val Gly Pro Gly Pro
 565 570 575
 Gly Thr Gly Arg Cys Ile Ala Cys Trp Arg Arg Pro Arg Thr Glu Thr
 580 585 590
30 Gly Pro Gly Pro Gly Trp Lys His Ile Arg Leu Glu Cys Val Leu Met
 595 600 605
 Tyr Lys Ala Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp
 610 615 620
 Cys Ile Ala Tyr Ala Ala Cys His Gly Pro Gly Pro Gly Pro Glu Trp
 625 630 635 640
35 Ile Glu Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser Phe Asn Gly Pro Gly Pro
 645 650 655
 Gly Pro Ile Asn Ile Ser Lys Ser Lys Ala His Lys Ala Ile Glu Leu
 660 665 670
40 Gly Pro Gly Pro Gly Leu Arg Thr Leu Gln Gln Leu Phe Leu Ser Thr
 675 680 685
 Leu Ser Phe Val Gly Pro Gly Pro Gly Phe His Ser Ile Ala Gly Gln
 690 695 700
 Tyr Arg Gly Gln Cys Asn Thr Cys Gly Pro Gly Pro Gly Thr Thr Pro
 705 710 715 720
45 Ile Ile His Leu Lys Gly Asp Ala Asn Ile Leu Lys Gly Pro Gly Pro
 725 730 735
 Gly Asp Trp Val Met Ala Ile Phe Gly Val Asn Pro Thr Val Ala Glu
 740 745 750
50 Gly Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Arg Lys Leu His Glu Leu Ser Ser
 755 760 765

ES 2 440 974 T3

Ala Leu Glu Ile Pro Tyr Gly Pro Gly Pro Gly Phe Lys Thr Leu Ile
770 775 780

Lys Pro Ala Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln Gly Pro Gly Pro Gly Thr
785 790 795 800

5 Ile Pro Asn Ser Val Gln Ile Ser Val Gly Tyr Met Thr Ile Gly Pro
805 810 815

Gly Pro Gly Asn Gly Trp Phe Tyr Val Gln Ala Val Ile Asp Arg Gln
820 825 830

10 Thr Gly Gly Pro Gly Pro Gly Val Leu Asp Phe Ala Phe Thr Asp Leu
835 840 845

Thr Ile Val Tyr Arg Asp Gly Pro Gly Pro Gly Ala Lys Phe Val Ala
850 855 860

Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
865 870

15 <210> 157
<211> 2616
<212> ADN
<213> artificial

<400> 157

20 gctttcaccg acctgaccat cgtgtacaac agcacctggc actggaccgg ctgcaacaag 60
aaagccgctg ccaagctgct ggaaaagctg ctgtgcatca acgcctatca gtttgccttc 120
aaggacctgt gcgtgaagat ggtgatgctg atgctgggtg ggttcaagaa tgccgctctc 180
caggacaaga tcctggacca ctacaaggcc gcctttctgc tgtgcttctg cgtgctgctg 240
aacagcgtgt acggcaccac cctggaacgg aacgccgccc tgaccaccag ataccacctg 300

25 ctgcggaatg ccaccctcca gaaaatcgtc ctgcacgtca attactacat caccgagacc 360
ggcatctgga agtggtggtt catctacatc cccctgttca accagaccga gcccgcacc 420
agcaactacg gacgcgccga actcgatccc ttggacctgc tgtgctacaa agccgctgcc 480
ctgaccgacg tgagcatcgc ctgcgtgtac aacgccgcca ggaccgaggt gtaccagttt 540
gcctttcggg acccctacct gcacagcaga ctgggtggtt ttaacatcag cttcgcccgc 600

30 atcgtgacca agaaagtgat ggacgacagc gagatcgcct acaacgcct ctacagccgg 660
atcagagagc tgaggttcaa agccgctgcc tttatctaca ttctctgtt cgtgatcaag 720
gccgtgttca ccttccccca cgccttccct ttcaatgcct tctactccaa ggtgtccgag 780
ttccggtgga agagcctggt gtctctgctg tgtttcagta tgaacgccag caccgccgct 840
gcctgtact ggtacaggaa ggccaccctg taocccata tccagtgctt gaatgccgcc 900

35 cactacacca actggaagtt catcttcaat gccgccaaaca ccgagctgta caacctgctg 960
atcaacgccg gctacttcgg catgagcttc atccacttca agctgacca caagggcctc 1020
tgccacctga actccgtgta cggcgagaca ctggaaaaga acgtgtactg gtgccccttc 1080
gcctggctgc tgaacgtgta tggcacaaca ctggaaaaac tgaagctgtc ccagatgggtg 1140
cagtgggcct ataaagccgc cgcctacgtg gctgtgggaca gcactacta tatcaacggc 1200

40 accgctgta acggctggtt taacggcgcc gctgccgtga tgtgcccga ctacaagcg 1260
aattttctgc tgtgttttct cgtgtgectg aacgccgtgt atcagttcgc ctttaaggat 1320
ctgaaggctg ccaaagtgtc tgagttcaga tggtagaggt acaagtacac aaattggaag 1380
ttatctatc tgaacgccgc cctgagcagc gccctggaaa tcccctataa ggctgccttc 1440
ctgttcaccg atctgactat tgtgaacgcc gccaccacc ccatcatcca cctgaaaaac 1500

45 gccgtgccg ggcagatgaa catgagccag tggatcaaga acaccggcat cctgaccgtg 1560
acctacaacg tgtttacctt tcccaaccct ttccccttta aagccgctgc cgagatcgtg 1620
ctgcacctgg aaccccagaa cgagctggac cctgtgggcc ctggccctgg catcagaatc 1680
ctccaggaac tgctgatggg cagcttcggc atcgtgggcc caggccccgg aaccggccgg 1740
tgcatcgcct gttggcggag gccccggacc gagacaggcc ctggaccgg ctggaagcac 1800

50 atccggctgg aatgcgtgct gatgtacaag gccaggggac ccggccctgg cctctgtatc 1860
gtgtaccgag actgcatcgc ctacgccgcc tgccaccggc caggacctgg ccccgagtg 1920
atcgagcggc agaccgtgct ccagcatagc ttcaacggac ccggaccagg ccccatcaac 1980
atcagaaga gcaaggccca caaggccatc gagctgggcc ctgggccgg actgcggacc 2040
ctccagcagc tgttcctgag caccctgagc ttcgtgggac ctgggcccagg cttccacagc 2100

55 atcgccggcc agtaccgggg ccagtgcaac acctgcggcc cagggccaag caccacacct 2160
attattcacc tgaagggcga cgccaacatc ctgaaggggc caggaccgg cgactgggtg 2220
atggccatct tcggcgtgaa ccccaccgtg gccgagggt tcggacctgg acctggccct 2280
aggaagctgc acgagctgct ctctgccctt gaaattcctt acggccctgg cccaggcttc 2340
aagaccctga tcaagcccgc cacactgtat gccacatc agggccctgg accaggcacc 2400

60 atccccaca gcgtgcagat cagcgtgggc tacatgacca tcggaccagg gcctggcaat 2460

ES 2 440 974 T3

ggctggttct acgtggaggc cgtgatcgac aggcagaccg gcggacctgg cccaggggtg 2520
 ctggacttcg ccittacaga cctgacaatt gtgtaccggg acggccctgg gcctggcgcc 2580
 aagttcgtgg ccgctggac cctgaaggcc gctgcc 2616

<210> 158
 <211> 872
 <212> PRT
 <213> artificial

<400> 158

5
 10 Phe Tyr Ser Lys Val Ser Glu Phe Arg Trp Lys Ala Ala Arg Thr Glu
 1 5 10 15
 Val Tyr Gln Phe Ala Phe Arg Asn Ala Ala Val Thr Thr Arg Tyr Pro
 20 25 30
 Leu Leu Arg Asn Val Phe Thr Phe Pro Asn Pro Phe Pro Phe Asn Tyr
 35 40 45
 15 Thr Asn Trp Lys Phe Ile Tyr Leu Asn Ala Ser Val Tyr Gly Glu Thr
 50 55 60
 Leu Glu Lys Gly Ala Ala Val Met Cys Arg His Tyr Lys Arg Asn Ala
 65 70 75 80
 20 Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Lys Leu Lys Val Val Phe Ile Tyr Ile
 85 90 95
 Pro Leu Phe Gly Ala Ala Lys Leu Leu Glu Lys Leu Leu Cys Ile Asn
 100 105 110
 Gly Thr Gly Cys Asn Gly Trp Phe Tyr Asn Gln Thr Glu Pro Asp Thr
 115 120 125
 25 Ser Asn Tyr Asn Ala Ala Ala Pro Tyr Leu His Ser Arg Leu Val Val
 130 135 140
 Phe Gly Ala Ala Ala Leu Thr Asp Val Ser Ile Ala Cys Val Tyr Asn
 145 150 155 160
 30 Ala His Tyr Thr Asn Trp Lys Phe Ile Phe Gly Ala Ala Phe Ile Tyr
 165 170 175
 Ile Pro Leu Phe Val Ile Lys Ala Ala Ala Met Val Met Leu Met Leu
 180 185 190
 Val Arg Phe Lys Asn Ala Ala Asn Thr Glu Leu Tyr Asn Leu Leu Ile
 195 200 205
 35 Asn Phe Leu Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Asn Phe Leu Leu Cys Phe
 210 215 220
 Cys Val Leu Leu Asn Ala Ala Thr Thr Pro Ile Ile His Leu Lys Gly
 225 230 235 240
 40 Ala Ala Lys Leu Thr Asn Lys Gly Ile Cys Asp Leu Asn Ala Leu Gln
 245 250 255
 Asp Lys Ile Leu Asp His Tyr Lys Asn Thr Gly Ile Leu Thr Val Thr
 260 265 270
 Tyr Gly Ala Ala Ala Val Met Asp Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Asn Ser
 275 280 285
 45 Thr Trp His Trp Thr Gly Cys Asn Lys Lys Ala Ala Ser Tyr Phe Gly
 290 295 300
 Met Ser Phe Ile His Phe Lys Leu Ser Ser Ala Leu Glu Ile Pro Tyr
 305 310 315 320
 50 Lys Leu Ser Gln Met Val Gln Trp Ala Tyr Asn Ser Leu Val Phe Leu
 325 330 335

ES 2 440 974 T3

Leu Cys Phe Ser Val Asn Ala Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln Cys Leu
 340 345 350
 Asn Val Phe Thr Phe Pro His Ala Phe Pro Phe Asn Ala Ala Ala Arg
 355 360 365
5 Gln Met Asn Met Ser Gln Trp Ile Lys Asn Ala Thr Leu Gln Glu Ile
 370 375 380
 Val Leu His Val Asn Ala Ala Phe Thr Asp Leu Thr Ile Val Tyr Asn
 385 390 395 400
10 Ile Ser Phe Ala Gly Ile Val Thr Lys Lys Tyr Val Val Trp Asp Ser
 405 410 415
 Ile Tyr Tyr Ile Asn Tyr Tyr Ile Thr Glu Thr Gly Ile Trp Lys Ala
 420 425 430
 Ala Ala Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu Arg Phe Lys Val Tyr Gln
 435 440 445
15 Phe Ala Phe Lys Asp Leu Lys Ala Phe Leu Leu Cys Phe Ser Val Cys
 450 455 460
 Leu Asn Ala Ala Tyr Gln Phe Ala Phe Lys Asp Leu Cys Val Lys Ser
 465 470 475 480
20 Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Arg Asn Lys Val Ser Glu Phe Arg Trp
 485 490 495
 Tyr Arg Tyr Lys Ala Ala Glu Leu Asp Pro Val Asp Leu Leu Cys Tyr
 500 505 510
 Lys Ser Thr Ala Ala Ala Leu Tyr Trp Tyr Arg Lys Ala Ala Ala Val
 515 520 525
25 Tyr Val Cys Ala Phe Ala Trp Leu Leu Glu Ile Val Leu His Leu Glu
 530 535 540
 Pro Gln Asn Glu Leu Asp Pro Val Gly Pro Gly Pro Gly Ile Arg Ile
 545 550 555 560
30 Leu Gln Glu Leu Leu Met Gly Ser Phe Gly Ile Val Gly Pro Gly Pro
 565 570 575
 Gly Thr Gly Arg Cys Ile Ala Cys Trp Arg Arg Pro Arg Thr Glu Thr
 580 585 590
 Gly Pro Gly Pro Gly Trp Lys His Ile Arg Leu Glu Cys Val Leu Met
 595 600 605
35 Tyr Lys Ala Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp
 610 615 620
 Cys Ile Ala Tyr Ala Ala Cys His Gly Pro Gly Pro Gly Pro Glu Trp
 625 630 635 640
40 Ile Glu Arg Gln Thr Val Leu Gln His Ser Phe Asn Gly Pro Gly Pro
 645 650 655
 Gly Pro Ile Asn Ile Ser Lys Ser Lys Ala His Lys Ala Ile Glu Leu
 660 665 670
 Gly Pro Gly Pro Gly Leu Arg Thr Leu Gln Gln Leu Phe Leu Ser Thr
 675 680 685
45 Leu Ser Phe Val Gly Pro Gly Pro Gly Phe His Ser Ile Ala Gly Gln
 690 695 700
 Tyr Arg Gly Gln Cys Asn Thr Cys Gly Pro Gly Pro Gly Thr Thr Pro
 705 710 715 720
50 Ile Ile His Leu Lys Gly Asp Ala Asn Ile Leu Lys Gly Pro Gly Pro
 725 730 735

ES 2 440 974 T3

Gly Asp Trp Val Met Ala Ile Phe Gly Val Asn Pro Thr Val Ala Glu
 740 745 750
 Gly Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Arg Lys Leu His Glu Leu Ser Ser
 755 760 765
 5 Ala Leu Glu Ile Pro Tyr Gly Pro Gly Pro Gly Phe Lys Thr Leu Ile
 770 775 780
 Lys Pro Ala Thr Leu Tyr Ala His Ile Gln Gly Pro Gly Pro Gly Thr
 785 790 795 800
 10 Ile Pro Asn Ser Val Gln Ile Ser Val Gly Tyr Met Thr Ile Gly Pro
 805 810 815
 Gly Pro Gly Asn Gly Trp Phe Tyr Val Glu Ala Val Ile Asp Arg Gln
 820 825 830
 Thr Gly Gly Pro Gly Pro Gly Val Leu Asp Phe Ala Phe Thr Asp Leu
 835 840 845
 15 Thr Ile Val Tyr Arg Asp Gly Pro Gly Pro Gly Ala Lys Phe Val Ala
 850 855 860
 Ala Trp Thr Leu Lys Ala Ala Ala
 865 870

20 <210> 159
 <211> 2616
 <212> ADN
 <213> artificial
 <400> 159

25 ttctacagca aggtgtccga gttccgggtg aaggccgcca ggaccgaggt gtaccagttc 60
 gccttcgga acgcccgcgt gaccaccaga taccacctgc tgcggaacgt gttcaccttc 120
 cccaacccttcccttttcaa ctacaccaac tggaagtca tctacctgaa cgccagcgtg 180
 tacggcgaga ccttggaaaa gggagcagcc gtgatgtgcc ggactacaa gcggaacgcc 240
 gtgtacggca ccacactgga aaagctgaag gtgggtttca tctacatccc cctgttcgga 300
 gccgccaagc tgctggaaaa actgctgtgc atcaacggca ccggctgcaa cggtgtgttc 360
 30 tacaaccaga ccgagcccga caccagcaac tacaatgtg cgcgcccta cctgcacagc 420
 agactggtg tgtttggggc tgccgccctg accgacgtga gcatcgctg cgtgtacaac 480
 gccactaca caaattggaa attcattttt ggagccgct tcactatata tccctctgttc 540
 gtgatcaaaag ccgcccgtat ggtgatgctg atgtgtgtgc ggttcaagaa cggcggcaac 600
 accgagctgt acaacctgct gatcaacttc ctgttcaccg acctgacct cgtgaacttt 660
 35 ctccctgtgtt tctgctgct cctgaatgcc gccacaacc ccatcatcca cctgaaggga 720
 gccgccaaac tgaccaacaa gggcatctgc gacctgaatg ccctccagga caagatcctg 780
 gaccactaca agaacaccgg catcctgacc gtgacctatg gagccgctgc cgtgatggac 840
 gacagcgaga tcgcctacaa cagcacctgg cactggaccg gctgtaacaa gaaggccgcg 900
 tctactctcg gcatgagctt catccaactc aagctgtcca gcgccctgga aatcccctac 960
 40 aagctgtccc agatggtgca gtgggcctac aactccctgg tgttcctgct gtgtttcagc 1020
 gtgaacgcaa ccctctatgc ccacatccag tgccctgaatg tgtttacctt ccctcacgcc 1080
 tttcccttca atgcccgcgc cagacagatg aacatgagcc agtggatcaa gaatgccacc 1140
 ctccaggaga ttgtcctgca cgtcaatgcc gcctttactg atctgactat cgtgtacaac 1200
 atcagcttgc ccggcatcgt gaccaagaaa tacgtggtgt gggacagcat ctactacatc 1260
 45 aattactaca tcaccgagac cggcatctgg aaagctgccc cttctacag ccggatcagg 1320
 gagctgaggt tcaaagtgta tcagtttgct ttcaaagacc tgaagcctt cctgctgtgc 1380
 ttttccgtgt gcctgaacgc cgcctaccag tttgccttta aggatctgtg cgtgaagagc 1440
 gtgtatggca caaccctgga acggaacaaa gtgtctgagt tccgctggta caggtataag 1500
 gccgccaagc tcgatcccgt ggatctgctg tgttacaaga gcaactgccg cgcactgtac 1560
 50 tggatagga aggctgccgc cgtgtacgtg tgccgcttcg cctggctgct ggagatcgtg 1620
 ctgcacctgg aaccccagaa cgagctggac cctgtgggcc ctggccctgg catcagaatc 1680
 ctccaggaac tgctgatggg cagcttcggc atcgtgggcc caggccccgg aaccggccgg 1740
 tgcacgcct gttggcggag gcccccggac gagacagcc ctggaccggg ctggaagcac 1800
 atccggctg aatgctgtgt gatgtacaag gccaggggac ccggccctgg cctctgtatc 1860
 55 gtgtaccgag actgcatcgc ctacgcccgc tgccacggcc caggacctgg ccccaggtgg 1920
 atcgagcggc agaccgtgct ccagcatagc ttcaacggac ccggaccagg ccccatcaac 1980
 atcagcaaga gcaaggccca caaggccatc gagctgggcc ctgggcccgg actgcccagg 2040
 ctccagcagc tgttcctgag caccctgagc ttctgtggac ctgggcccagg cttccacagc 2100
 atcgccggcc agtaccgggg ccagtgcaac acctgcggcc cagggcccagg caccacacct 2160

ES 2 440 974 T3

attattcacc tgaagggcga cgccaacatc ctgaaggggc caggaccgg cgactgggtg 2220
atggccatct tcggcgtgaa ccccaccgtg gccgagggct tcggacctgg acctgggcct 2280
aggaagctgc acgagctgtc ctctgccctg gaaatcctt acggccctgg ccagggttc 2340
5 aagaccctga tcaagcccgc cacactgtat gccacattc agggccctgg accaggcacc 2400
atccccaaca gcgtgcagat cagcgtgggc tacatgacca tcggaccagg gcctggcaat 2460
ggctggttct acgtggaggc cgtgatcgac aggcagaccg gcggacctgg ccagggggtg 2520
ctggacttcg cctttacaga cctgacaatt gtgtaccggg acggccctgg gcctggcgcc 2580
aagttcgtgg ccgcctggac cctgaaggcc gctgcc 2616

<210> 160
10 <211> 869
<212> PRT
<213> artificial

<400> 160

15 Lys Ser Leu Phe Gly Met Ser Leu Met Lys Asn Ser Thr Ala Ala Ala
1 5 10 15
Leu Tyr Trp Tyr Lys Lys Ala Ala Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr
20 20 25 30
Phe Lys Ala Ala Ala Val Ala Trp Asp Ser Val Tyr Tyr Met Lys Ser
35 40 45
20 Thr Asp Leu Arg Asp His Ile Asp Tyr Asn Ile Ser Asp Tyr Arg His
50 55 60
Tyr Cys Tyr Lys Ala Ala Gln Val Val Pro Ala Tyr Asn Ile Ser Lys
65 70 75 80
25 Asn Gly Tyr Asn Thr Phe Tyr Ile Glu Phe Lys Leu Gln Asp Lys Ile
85 90 95
Ile Asp His Tyr Lys Ala Ala Cys Leu Tyr Leu His Ile Gln Ser Leu
100 105 110
Asn Ala Ala Ala Ala Thr Leu Gln Asp Ile Val Leu His Gly Thr Val
115 120 125
30 Tyr Val Phe Cys Phe Leu Leu Asn Ala Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln
130 135 140
Cys Leu Asn Ala Ala Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys Phe Lys Ala
145 150 155 160
35 Ala Phe Val Tyr Ile Pro Leu Phe Leu Ile Asn Thr Val Ser Ala Thr
165 170 175
Gln Leu Val Lys Asn Gly Thr Gly Cys Asn Gly Trp Phe Tyr Asn Ala
180 185 190
Ala Thr Lys Tyr Pro Leu Leu Lys Asn Val Tyr Val Phe Cys Phe Leu
195 200 205
40 Leu Pro Met Asn Ala Thr Leu His Asp Ile Ile Leu Glu Cys Val Lys
210 215 220
Ala Ala Ala Leu Tyr Gly Val Ser Phe Ser Glu Leu Lys Gln Val Asp
225 230 235 240
45 Tyr Tyr Gly Leu Tyr Tyr Gly Ala Tyr Tyr Met Thr Asp Ala Gly Thr
245 250 255
Trp Asn Ala Ala Pro Tyr Ala Val Cys Asp Lys Cys Phe Lys Gln Gly
260 265 270
Ala Met Leu Ala Val Phe Lys Lys Ala Ala Ala Val Val Leu Leu Leu
275 280 285
50 Val Arg Tyr Lys Asn Ala Ala Ala Ser Tyr Phe Gly Met Ser Phe Ile
290 295 300

ES 2 440 974 T3

His Phe Lys Ala Ala Lys Leu Leu Ser Lys Leu Leu Cys Val Asn Ala
 305 310 315 320
 Ala Ala Ala Thr Met Cys Arg His Tyr Lys Arg Asn Ala Ala Ala Ser
 325 330 335
5 Thr Val Ser Val Gly Thr Ala Lys Asn Ala Ala Leu Ser Gln Met Val
 340 345 350
 Gln Trp Ala Tyr Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Val Asn Ala
 355 360 365
10 Ala Ala Thr Cys Val Ser His Arg Gly Leu Tyr Asn Ala Ala Lys Ser
 370 375 380
 Ala Ile Val Thr Leu Thr Tyr Lys Ala Ala Ala Asp Ser Val Tyr Gly
 385 390 395 400
 Asp Thr Leu Glu Arg Asn Met Tyr Val Cys Cys His Val Pro Leu Asn
 405 410 415
15 Ala Ala Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Phe Lys Ala Ala Phe Val
 420 425 430
 Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro Lys Asn Ala Ser Leu Gln Asp Ile Glu
 435 440 445
20 Ile Thr Cys Val Lys Ala Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys
 450 455 460
 Ile Lys Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Val Asn Ala Ala Ala
 465 470 475 480
 Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Val Asn Ser Val Ile Cys Phe Val
 485 490 495
25 Asn Ser Lys Asn Ala Thr Leu Glu Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr
 500 505 510
 Asn Ala Gly Leu Tyr Tyr Val His Glu Gly Ile Arg Thr Tyr Phe Val
 515 520 525
30 Gln Gly Pro Gly Pro Gly Phe Leu Asn Thr Val Ala Ile Pro Asp Ser
 530 535 540
 Val Gln Ile Leu Val Gly Pro Gly Pro Gly Gln Arg Phe His Asn Ile
 545 550 555 560
 Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Gly Pro Gly Pro Gly Thr Asn
 565 570 575
35 Thr Gly Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys Leu Arg Cys Gln Gly Pro
 580 585 590
 Gly Pro Gly Ile Glu Phe Ile Thr Phe Leu Gly Ala Leu Lys Ser Phe
 595 600 605
40 Leu Lys Gly Pro Gly Pro Gly Pro Glu Trp Ile Gln Arg Gln Thr Val
 610 615 620
 Leu Gln His Ser Phe Asn Gly Pro Gly Pro Gly Leu Phe Val Val Tyr
 625 630 635 640
 Arg Asp Ser Ile Pro His Ala Ala Cys His Lys Gly Pro Gly Pro Gly
 645 650 655
45 Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly
 660 665 670
 Pro Gly Pro Gly Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys
 675 680 685
50 Tyr Glu Gln Gly Pro Gly Pro Gly Leu Gln Ala Ile Glu Leu Gln Leu
 690 695 700

ES 2 440 974 T3

Thr Leu Glu Thr Ile Tyr Asn Gly Pro Gly Pro Gly Phe Gln Gln Leu
 705 710 715 720
 Phe Leu Asn Thr Leu Ser Phe Val Cys Pro Trp Gly Pro Cly Pro Gly
 725 730 735
5 Trp Lys His Met Arg Leu Glu Cys Ala Ile Tyr Tyr Lys Ala Arg Gly
 740 745 750
 Pro Gly Pro Gly Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp Ile
 755 760 765
10 Ile Leu Glu Gly Pro Gly Pro Gly Phe Lys Thr Leu Ile Gln Pro Phe
 770 775 780
 Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln Gly Pro Gly Pro Gly Leu Tyr Trp Tyr
 785 790 795 800
 Lys Thr Gly Ile Ser Asn Ile Ser Glu Val Tyr Gly Pro Gly Pro Gly
 805 810 815
15 Glu Val Phe Glu Phe Ala Phe Lys Asp Leu Phe Val Val Tyr Arg Gly
 820 825 830
 Pro Gly Pro Gly His Lys Ala Ile Glu Leu Gln Met Ala Leu Gln Gly
 835 840 845
20 Leu Ala Gln Gly Pro Gly Pro Gly Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr
 850 855 860
 Leu Lys Ala Ala Ala
 865

25 <210> 161
 <211> 2607
 <212> ADN
 <213> artificial

<400> 161

30 aagagcctgt ttggcatgag cctgatgaag aacagcaccg ccgctgcct ctattggtac 60
 aaaaggccg cctgctacag cctgtacggc accaccttca aggctgctgc cgtggcctgg 120
 gacagcgtgt actacatgaa gagcaccgac ctgcccggacc acatcgacta caacatcagc 180
 gactaccggc actactgcta caaggccggc cagggtggtgc ccgcctacaa catctccaag 240
 aacggctaca acacctteta catcgagttc aaagctccagg acaagatcat cgaccactac 300
 aaagccgcct gcctgtacct gcacatccag agtctgaacg cagccgctgc aaccctccag 360
 gacatcgtgc tgcacggcac cgtgtacgtg ttctgcttcc tgctgaaagc catcctgtac 420
35 gccacatcc agtgtctgaa tgccgcctg tacaacctgc tgatccggtg ctttaaggcc 480
 gccttcgtgt acatccccct gtttctgatc aacaccgtga gcgccacca gctggtgaag 540
 aatggcaccg gctgcaacgg ctggttctac aatgccgcca ccaagtacc cctgctgaag 600
 aacgtgtatg tgttttgttt tctgctgccc atgaacgcca cactgcacga cattatcctg 660
 taatgcgctca aggcgctgc cctgtatggc gtgagcttca gcgagctgaa gcaggtggac 720
40 tactacggcc tgtactacaa cgcctactac atgaccgacg ccggcacctg gaatgccgcc 780
 ccttacgccc tgtgcgacaa gtgcttcaag cagggcgcca tgctggcctg gttcaagaaa 840
 gccgctgccc tgggtgctgct gctggtgcgg tataagaatg ccgccgccag ctacttggc 900
 atgagcttca tccactttaa agccgccaag ctgctgtcta agctgctgtg cgtgaatgcc 960
 gctgctgcca caatgtgccg gcaactacaag agaaatgccg ctgccagcac cgtgagcgtg 1020
45 ggcaccgcca agaacgccgc cctgagccag atggtgcagt gggcctacaa gctgaccaac 1080
 accgacctg acaagctgaa gcctgctgcc acctgctgta gccaccgggg cctgtataac 1140
 gccgccaaga gcgccatcgt gaccctgacc tataaggccg ctgccgacag cgtgtaccgg 1200
 gacaccctgg aacggaacat gtacgtgtgc tgccacgtgc ccctgaatgc cgccaggttc 1260
 cacaacatcc ggggcaggtt caaagccgcc tttgtggtgt accgggacag catccccaaag 1320
50 aatgccagcc tccaggatat tgagatcacc tgtgtgaagg ccgtgtacga cttcgccttc 1380
 cgggacctgt gcatcaagta catgctggac ctccagcccg agacagtga cgcgccgct 1440
 ggcacactgg gcatcgtgtg ccccgtgaac agcgtgatct gcttctgtga cagcaaaaac 1500
 gccaccctgg aaaagctgac aaatacagg ctgtacaatg ccggcctgta ttactgtcac 1560
 gagggcatcc ggacctactt cgtgcagggc ccagggccag gcttctgtaa caccgtggcc 1620
55 atccccgact ccgtgcagat cctggctggc ccaggaccag ggcagcgggt ccacaatatc 1680
 agaggccggt ggaccggcag atgcatgggc ccaggacctg gcacaaatac cggactgtat 1740
 aatctgctga ttcgctgcct gcggtgccag ggtccaggac caggcatoga gtttatcacc 1800
 tttctgggag ccctgaagag cttcctgaaa ggacctggac caggaccca gtggattcag 1860

ES 2 440 974 T3

5 cggcagaccg tgctccagca cagcttcaac ggaccocggac cggcctggt cgtggtgtac 1920
 agagactcca tccccacgc cgcctgtcac aagggacctg gaccaggcat caggaccctg 1980
 gaggacctgc tgatgggcac cctgggcatt gtggggcctg gacctggact ggatctccag 2040
 cctgaaacca ccgacctgta ctgctacgag caggggccag gacctgggct ccaggctatc 2100
 gaactccagc tgaccctgga aaccatctac aatggccccg gaccaggctt ccagcagctg 2160
 ttctgaata cctgagcct cgtgtgccct tggggaccag ggcccggatg gaagcacatg 2220
 cggctggaat gcgccatcta ctacaaggcc agaggcccag gaccocggact gtgcaccgaa 2280
 ctccagacca ccatccacga catcattctg gaaggaccag ggccaggctt taagaccctg 2340
 atccagccct tcattctgta tgcccacatt cagggacctg ggcctggcct gtattggtat 2400
 10 aagaccggca tcagcaacat ctccgaggtg tacgggcctg gaccaggcga ggtgttcgag 2460
 ttgcgcttca aggatctggt tgtggtgtat agaggccccg gacctggcca caaggccatt 2520
 gaactccaga tggccctcca ggggctggcc cagggaccag gccctggcgc caagttcgtg 2580
 gccgcctgga ccctgaaagc cgccgcc 2607

15 <210> 162
 <211> 885
 <212> PRT
 <213> artificial

<400> 162

20 Ala Thr Cys Val Ser His Arg Gly Leu Tyr Asn Ala Ala Ser Thr Asp
 1 5 10 15
 Leu Arg Asp His Ile Asp Tyr Asn Ala Ala Ala Thr Met Cys Arg
 20 25 30
 His Tyr Lys Arg Asn Ala Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln Cys Leu Asn
 35 40 45
 25 Ala Ala Ala Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Val Asn Ala Ala Ala
 50 55 60
 Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Phe Lys Ala Ala Ala Asp Ser Val
 65 70 75 80
 30 Tyr Gly Asp Thr Leu Glu Arg Asn Gln Val Val Pro Ala Tyr Asn Ile
 85 90 95
 Ser Lys Asn Ala Ala Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys Phe Lys Ala
 100 105 110
 Ala Phe Val Tyr Ile Pro Leu Phe Leu Ile Asn Tyr Tyr Met Thr Asp
 115 120 125
 35 Ala Gly Thr Trp Gly Ala Val Val Leu Leu Leu Val Arg Tyr Lys Asn
 130 135 140
 Ala Ala Ile Ser Asp Tyr Arg His Tyr Cys Tyr Lys Ala Ala Thr Val
 145 150 155 160
 40 Ser Ala Thr Gln Leu Val Lys Lys Ala Ser Thr Ala Ala Ala Leu Tyr
 165 170 175
 Trp Tyr Lys Lys Ala Ala Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro Lys
 180 185 190
 Asn Ala Ser Tyr Phe Gly Met Ser Phe Ile His Phe Lys Ala Ala Tyr
 195 200 205
 45 Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Val Asn Ala Ala Val Tyr Asp Phe
 210 215 220
 Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Lys Ala Ala Leu Gln Asp Lys Ile Ile
 225 230 235 240
 50 Asp His Tyr Lys Ala Ala Thr Leu His Asp Ile Ile Leu Glu Cys Val
 245 250 255
 Lys Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr Asn Val Gly Ala Ala Ala Ser
 260 265 270
 Val Ile Cys Phe Val Asn Ser Lys Gly Ala Ala Ala Met Tyr Val Cys
 275 280 285

ES 2 440 974 T3

Cys His Val Pro Leu Asn Ala Ser Leu Gln Asp Ile Glu Ile Thr Cys
 290 295 300
 Val Lys Cys Leu Tyr Leu His Ile Gln Ser Leu Asn Ala Ala Thr Lys
 305 310 315 320
5 Tyr Pro Leu Leu Lys Asn Val Tyr Val Phe Cys Phe Leu Leu Pro Met
 325 330 335
 Asn Ala Lys Gln Gly Ala Met Leu Ala Val Phe Lys Lys Ala Ala Leu
 340 345 350
10 Ser Gln Met Val Gln Trp Ala Tyr Lys Ala Ala Pro Tyr Ala Val Cys
 355 360 365
 Asp Lys Cys Phe Lys Ala Ala Thr Val Tyr Val Phe Cys Phe Leu Leu
 370 375 380
 Asn Ala Ala Ala Ala Thr Leu Gln Asp Ile Val Leu His Gly Ala Lys
 385 390 395 400
15 Ser Leu Phe Gly Met Ser Leu Met Lys Asn Gly Thr Gly Cys Asn Gly
 405 410 415
 Trp Phe Tyr Asn Ala Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Phe Lys Ala
 420 425 430
20 Ala Lys Leu Leu Ser Lys Leu Leu Cys Val Asn Ala Ala Ala Ser Thr
 435 440 445
 Val Ser Val Gly Thr Ala Lys Asn Val Ala Trp Asp Ser Val Tyr Tyr
 450 455 460
 Met Lys Ala Ala Ala Gly Tyr Asn Thr Phe Tyr Ile Glu Phe Lys Ala
 465 470 475 480
25 Ala Ala Leu Tyr Gly Val Ser Phe Ser Glu Leu Lys Gln Val Asp Tyr
 485 490 495
 Tyr Gly Leu Tyr Tyr Asn Ala Ala Lys Ser Ala Ile Val Thr Leu Thr
 500 505 510
30 Tyr Lys Ala Ala Ala Thr Leu Glu Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr
 515 520 525
 Asn Ala Gly Leu Tyr Tyr Val His Glu Gly Ile Arg Thr Tyr Phe Val
 530 535 540
 Gln Gly Pro Gly Pro Gly Phe Leu Asn Thr Val Ala Ile Pro Asp Ser
 545 550 555 560
35 Val Gln Ile Leu Val Gly Pro Gly Pro Gly Gln Arg Phe His Asn Ile
 565 570 575
 Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Gly Pro Gly Pro Gly Thr Asn
 580 585 590
40 Thr Gly Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Cys Leu Arg Cys Gln Gly Pro
 595 600 605
 Gly Pro Gly Ile Glu Phe Ile Thr Phe Leu Gly Ala Leu Lys Ser Phe
 610 615 620
 Leu Lys Gly Pro Gly Pro Gly Pro Glu Trp Ile Gln Arg Gln Thr Val
 625 630 635 640
45 Leu Gln His Ser Phe Asn Gly Pro Gly Pro Gly Leu Phe Val Val Tyr
 645 650 655
 Arg Asp Ser Ile Pro His Ala Ala Cys His Lys Gly Pro Gly Pro Gly
 660 665 670
50 Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly
 675 680 685

ES 2 440 974 T3

Pro Gly Pro Gly Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys
 690 695 700

Tyr Glu Gln Gly Pro Gly Pro Gly Leu Gln Ala Ile Glu Leu Gln Leu
 705 710 715 720

5 Thr Leu Glu Thr Ile Tyr Asn Gly Pro Gly Pro Gly Phe Gln Gln Leu
 725 730 735

Phe Leu Asn Thr Leu Ser Phe Val Cys Pro Trp Gly Pro Gly Pro Gly
 740 745 750

10 Trp Lys His Met Arg Leu Glu Cys Ala Ile Tyr Tyr Lys Ala Arg Gly
 755 760 765

Pro Gly Pro Gly Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp Ile
 770 775 780

Ile Leu Glu Gly Pro Gly Pro Gly Phe Lys Thr Leu Ile Gln Pro Phe
 785 790 795 800

15 Ile Leu Tyr Ala His Ile Gln Gly Pro Gly Pro Gly Leu Tyr Trp Tyr
 805 810 815

Lys Thr Gly Ile Ser Asn Ile Ser Glu Val Tyr Gly Pro Gly Pro Gly
 820 825 830

20 Glu Val Phe Glu Phe Ala Phe Lys Asp Leu Phe Val Val Tyr Arg Gly
 835 840 845

Pro Gly Pro Gly His Lys Ala Ile Glu Leu Gln Met Ala Leu Gln Gly
 850 855 860

Leu Ala Gln Gly Pro Gly Pro Gly Ala Lys Phe Val Ala Ala Trp Thr
 865 870 875 880

25 Leu Lys Ala Ala Ala
 885

<210> 163
 <211> 2655
 <212> ADN
 30 <213> artificial
 <400> 163

gccacctgcg tgagccacag gggcctctac aacgccgcca gcaccgacct gcgggaccac 60
 atcgactaca atgctgctgc cgctacaatg tgccggcact acaagcggaa cgccatcctg 120
 tacgcccaca tccagtgcct gaatgctgcc gctggcacac tgggcatcgt gtgccccgtg 180
 35 aatgccgccc cctgctacag cctgtacggc accaccttca aggccgctgc cgactccgtg 240
 tacggcgaca ccctggaacg gaaccaggtg gtgcccgcct acaacatctc taagaatgcc 300
 gctctgtaca acctgctgat ccggtgcttt aaggctgcct tcgtgtacat ccccctgttt 360
 ctgatcaact actacatgac cgacgccggc acatggggag ccgtggtgct gctgctggtg 420
 cgggtacaaga atgccgcat cagcgactac cggcactact gctacaaggc cgccaccgtc 480
 40 agcggcacc cagctggtgaa gaaggccaag acagccgccc ctctctattg gtataaaaaa 540
 gccgcctttg tgggtgtaacc ggacagcatc cccaagaacg ccagctactt cggcatgagc 600
 ttcattccact tcaaagccgc ctacatgctg gacctccagc ccgagaccgt gaacgctgcc 660
 gtgtacgact tcgccttccg ggacctgtgc attaaagccg cactccagga caagatcatc 720
 gaccattata aagcagccac cctgcatgat attattctgg aatgcgtgaa gaagctgacc 780
 45 aacaccggcc tctataacgt gggagccgcc gcctctgtga tctgcttctg gaacagcaag 840
 ggggctgccc ccatgtatgt gtgctgcccac gtgcccctga acgcctctct ccaggatatt 900
 gagatcacct gtgtgaagtg cctgtacctg cacattcagt ctctgaatgc cgccaccaag 960
 taccocctgc tgaagaacgt gtatgtcttt tgcttccctg tgcccatgaa cgccaagcag 1020
 ggcgcccagc tggccgtggt caaaaaggcc gccctgagcc agatggtgca gtgggcctac 1080
 50 aaagccgccc cttacgccgt gtgcgacaag tgttttaagg ccgccacagt gtactgtgtt 1140
 tgttttctgc tgaatgccgc tgccgccacc ctccaggaca tcgtgctgca cggcgccaag 1200
 tcctctgttc gcatgtccct gatgaagaat ggcaccggct gcaacggctg gttctacaac 1260
 gcccggttcc acaacatccg gggcaggttt aaagccgcca agctgctgtc taagctgctg 1320
 tgtgtgaacg ccgccccttc caccgtgagc gtggggcacc ccaagaacgt ggctggggac 1380
 55 agcgtgtact acatgaaagc agcagccggg tacaacacct tctacatcga gtttaagct 1440
 gccgcctctg acggcgtgag ctccagcgag ctgaagcagg tggactacta cggcctgtac 1500

ES 2 440 974 T3

	tataacgccg	ccaagagcgc	catcgtgacc	ctgacctata	aagccgccgc	cacactggaa	1560
	aagctgacca	atacagggct	gtacaatgcc	ggcctgtatt	acgtgcacga	gggcatccgg	1620
	acctacttcg	tgcagggccc	agggccaggc	ttcctgaaca	ccgtggccat	ccccgactcc	1680
5	gtgcagatcc	tgttcggccc	aggaccaggg	cagcggttcc	acaatatcag	aggccggtgg	1740
	accggcagat	gcatgggccc	aggacctggc	acaaataaccg	gactgtataa	tctgctgatt	1800
	cgctgcctgc	ggtgccaggg	tccaggacca	ggcatcagat	ttatcacctt	tctgggcgcc	1860
	ctgaagagct	tcctgaaagg	acctggacca	ggacccgagt	ggattcagcg	gcagaccgtg	1920
	ctccagcaca	gcttcaacgg	acccggacc	ggcctgttcg	tggtgtacag	agactccatc	1980
10	ccccacgccg	cctgtcacia	gggacctgga	ccaggcatca	ggaccctgga	ggacctgctg	2040
	atgggcaccc	tgggcattgt	ggggcctgga	cctggactgg	atctccagcc	tgaaccacc	2100
	gacctgtact	gctacgagca	ggggccagga	cctgggctcc	aggctatcga	actccagctg	2160
	accctggaaa	ccatctacia	tggccccgga	ccaggcttcc	agcagctgtt	cctgaatacc	2220
	ctgagcttcg	tgtgcccttg	gggaccaggg	cccggatgga	agcacatgcg	gctggaatgc	2280
	gccatctact	acaaggccag	aggcccagga	cccggactgt	gcaccgaact	ccagaccacc	2340
15	atccacgaca	tcattctgga	aggaccaggg	ccaggcttta	agaccctgat	ccagcccttc	2400
	attctgtatg	cccacattca	gggacctggg	cctggcctgt	attggtataa	gaccggcatc	2460
	agcaacatct	ccgaggtgta	cgggcctgga	ccaggcagag	tgttcgagtt	cgccttcaag	2520
	gatctgtttg	tggtgtatag	aggccccgga	cctggccaca	aggccattga	actccagatg	2580
	gcctccagg	ggctggccca	gggaccaggc	cctggcgcca	agttcgtggc	cgctggacc	2640
20	ctgaaagccg	ccgcc					2655

REIVINDICACIONES

1. Un constructo poliepitópico aislado que comprende
 - a) epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) del virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 1 a 44, y/o
 - b) los epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) del virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 1, 23, 39 y 45 a 88.
2. El constructo poliepitópico según la reivindicación 1 que comprende los epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) del virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 1 a 88.
3. El constructo poliepitópico según las reivindicaciones 1 o 2 que, además, comprende al menos un epítomo de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH).
4. El constructo poliepitópico según la reivindicación 3 en el que al menos un epítomo de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH) se selecciona del grupo consistente en las ID SEC N^{os} 89 a 121.
5. El constructo poliepitópico según la reivindicación 4 en el que el constructo poliepitópico de (a) comprende los epítomos de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 89 a 105 y en el que el constructo poliepitópico de (b) comprende los epítomos de linfocitos T colaboradores (HTL) del virus del papiloma humano (VPH) caracterizados por las ID SEC N^{os} 106 a 121.
6. El constructo poliepitópico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que, además, comprende un epítomo de células T universales que se enlaza con más de una molécula HLA-DR de clase II.
7. El constructo poliepitópico según la reivindicación 6 en el que el epítomo de células T universales está caracterizado por la ID SEC N^o 122.
8. El constructo poliepitópico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende la secuencia de aminoácidos representada por ID SEC N^o 156, ID SEC N^o 158, ID SEC N^o 160, ID SEC N^o 162, ID SEC N^o 123, ID SEC N^o 125, ID SEC N^o 127 o ID SEC N^o 129.
9. Un polinucleótido aislado que comprende un constructo de polinucleótidos que codifica el constructo poliepitópico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. El polinucleótido según la reivindicación 9 en el que el constructo de polinucleótidos comprende la secuencia de ácidos nucleicos representada por ID SEC N^o 157, ID SEC N^o 159, ID SEC N^o 161, ID SEC N^o 163, ID SEC N^o 124, ID SEC N^o 126, ID SEC N^o 128 o ID SEC N^o 130.
11. Un vector que comprende el polinucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10.
12. El vector según la reivindicación 11 en el que dicho vector es un vector de expresión, siendo preferentemente dicho vector de expresión un ADN de vector viral o plasmídico.
13. El vector según la reivindicación 12 en el que dicho vector viral es un virus vaccinia, siendo preferentemente dicho virus vaccinia MVA.
14. Una célula que comprende el constructo polipeptídico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 o el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13.
15. Una composición que comprende el constructo polipeptídico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 o el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
16. El constructo polipeptídico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 o el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, para su uso como medicamento.
17. El constructo polipeptídico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 o el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una infección de VPH.
18. El constructo polipeptídico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, el constructo de polinucleótidos de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 o el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, o cualquier combinación de los mismos, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad relacionada con el VPH.

A

A.

ATCVSHRGLY - STDLRDHIDY - ATMCRHYKR - ILYAHIQCL -
 GTLGIVCPV - CYSLYGTF - DSVYGDTLER - QVVPAYNISK -
 LYNLLIRCF - FVYIPLFLI - YYMTDAGTW - VLLLLVRYK - ISDYRHYCY
 - TVSATQLVK - STAAALYWK - FVVYRDSIPK - SYFGMSFIHF -
 YMLDLQPETV - VYDFAFRDLCI - LQDKIIDHY - TLHDIILECV -
 KLTNTGLYNV - SVICFVNSK - MYVCCHVPL - SLQDIEITCV -
 CLYLHIQSL - AATKYPLLK - VYVFCFLLPM - KQGAMLAVFK -
 LSQMVQWAY - PYAVCDKCF - TVYVFCFLL - ATLQDIVLH -
 KSLFGMSLMK - GTGCNGWFY - RFHNIRGRF - KLLSK LLCV -
 STVSVGTAK - VAWDSVYIM - GYNFYIEF - LYGVSFSEL - QVDYYGLY
 - KSAIVTLTY - TLEKLTNTGLY

B.

GLYYVHEGIRTYFVQ - FLNTVAIPDSVQILV - QRFHNIRGRWTGRCM -
 TNTGLYNLLIRCLRCQ - IEFITFLGALKSFLK - PEWIQRQTVLQHSFN -
 LFVVYRDSIPHAACHK - IRTLEDLLMGTGIV - LDLQPETTDLYCYEQ -
 LQAIEL QLTLETIYN - FQQLFLNTLSFVCPW - WKHMRLECAIYYKAR -
 LCTELQTTIHDIILE - FKTLIQPFILYAHIQ - LYWYKTGISNISEVY -
 EVFEFAFKDLFVYR - HKAIELQMALQGLAQ - AKFVAAWTLKAAA

FIGURA 1

FIGURA 5

A. Secuencia de aminoácidos ICCG6137

MGMQVQIQSLFLLLLWVPGSRGAFTDLTIVYNSTWHWTGCNKKAAAKLLEKLLCINA
 YQFAFKDLCVKMVMLLVRFKNAALQDKILDHYKAAFLLCFCVLLNSVYGTTLERN
 AVTTRYPLLRNATLQEIIVLHVNYITETGIWKVFIYIPLFNQTEPDTSNYGAAELD
 PVDLLCYKAAALTDVSIACVYNAARTEVYQFAFRNPYLHSRLVFNISFAGIVTKKV
 MDDSEIAYNAFYSRIRELRFKAAAFIYIPLFVIKAVFTFPHAFPFNAFYSKVSEFRW
 KSLVFLLCFSVNAATAALYWRKATLYAHIQCLNAAHYTNWKFIFNAANTELYNLL
 INASYFGMSFIHFKLTKNGICDLNSVYGETLEKNVYVCAFAWLLNVYGTTLKLLKLS
 QMVQWAYKAAAYVWDSIYYINGTGCNGWFYGAAAVMCRHYKRNFLCFSVCLNAVY
 QFAFKDLKAAKVSEFRWRYKYTNWKFYLNAAALSSALEIPYKAAFLFTDLTIVNAA
 TPIIHLKNAARQMNMSQWIKNTGILTVTYNVFTFPNPFKAAAEIVLHLEPQNE
 LDPVGPVGIIRILQELLMGSGIVGPGPGTGRCIACWRRPRTETGPGPGWKHIRLEC
 VLMYKARGPGLCIVYRDCIAYAACHGPGPPEWIERQTVLQHSFNGPVPINIS
 KSKAHKAIELGPGPLRTLQQLFLSTLSFVGPFGFHSIAGQYRQCNTCGPVGTT
 PIIHLKGDANILKGPVGDWMAIFGVNPTVAEGFGPVGPRKLHELSSALEIPYGP
 GPGFKTLIKPATLYAHIQGPVGTIPNSVQISVGYMTIGPVGNGWFYVEAVIDRQT
 GPGVGLDFAFTDLTIVYRDGPGVAKFVAAWTLKAAA
 (ID SEC N° 123)

B. Secuencia de ADN ICCG6137

ATGGGCATGCAGGTGCAGATCCAGAGCCTGTTCCCTGCTGCTGCTGCTGGGTGCCCGGC
 AGCAGGGGCGCTTTCACCGACCTGACCATCGTGTACAACAGCACCTGGCACTGGACC
 GGCTGCAACAAGAAAGCCGCTGCCAAGCTGCTGGAAAAGCTGCTGTGCATCAACGCC
 TATCAGTTTGCCTTCAAGGACCTGTGCGTGAAGATGGTGATGCTGATGCTGGTGCGG
 TTCAAGAATGCCGCTCTCCAGGACAAGATCCTGGACCACTACAAGGCCCTTTCTG
 CTGTGCTTCTGCGTGTGCTGAACAGCGTGTACGGCACCACCCTGGAACGGAACGCC
 GCCGTGACCACCAGATACCCCTGCTGCGGAATGCCACCCTCCAGGAAATCGTCCTG
 CACGTCAATTACTACATCACCGAGACCGGCATCTGGAAGGTGGTGTTCATCTACATC
 CCCCTGTTCAACCAGACCGAGCCCGACACCAGCAACTACGGAGCCGCCGAACCTCGAT
 CCCGTGGACCTGCTGTGCTACAAAGCCGCTGCCCTGACCGACGTGAGCATCGCCTGC
 GTGTACAACGCCCGCAGGACCGAGGTGTACCAGTTTGCCTTTCGGAACCCCTACCTG
 CACAGCAGACTGGTGGTGTAAACATCAGTTTCGCCGGCATCGTGACCAAGAAAGTG
 ATGGACGACAGCGAGATCGCCTACAACGCCTTCTACAGCCGGATCAGAGAGCTGAGG
 TTCAAAGCCGCTGCCTTTATCTACATTCCTCTGTTCTGATCAAGGCCGTGTTACC
 TTCCCCACGCCTTCCCTTTCAATGCCTTCTACTCCAAGGTGTCGGAGTTCGGGTGG
 AAGAGCCTGGTGTTCCTGCTGTGTTTCAGCGTGAACGCCAGCACCGCCGCTGCCCTG
 TACTGGTACAGGAAGGCCACCCTGTACGCCCATATCCAGTGCCTGAATGCCGCCAC
 TACACCAACTGGAAGTTCATCTTCAATGCCGCCAACACCGAGCTGTACAACCTGCTG
 ATCAACGCCAGCTACTTCGGCATGAGCTTCATCCACTTCAAGCTGACCAACAAGGGC
 ATCTCGACCTGAACTCCGTGTACGGCGAGACACTGGAAAAGAACGTGTACGTGTGC
 GCCTTCGCCTGGCTGCTGAACGTGTATGGCACAACACTGGAAAAGAACGTGTACGTGTGC
 CAGATGGTGCAGTGGGCCATAAAGCCGCCCGCTACGTGGTGTGGGACAGCATCTAC
 TATATCAACGGCACCGGCTGTAACGGCTGGTTTTACGGCGCCGCTGCCGTGATGTGC
 CGGCACTACAAGCGGAATTTCTGCTGTGTTTTCCGTGTGCTGAAACGCCGTGAT

CAGTTCGCCTTTAAGGATCTGAAGGCTGCCAAAGTGTCTGAGTTCAGATGGTACAGG
TACAAGTACACAAATTGGAAGTTTATCTATCTGAACGCCGCCCTGAGCAGCGCCCTG
GAAATCCCCTATAAGGCTGCCTTCTGTTACCGATCTGACTATTGTGAACGCCGCC
ACCACCCCATCATCCACCTGAAAAACGCCGCTGCCAGGCAGATGAACATGAGCCAG
TGGATCAAGAACACCGGCATCCTGACCGTGACCTACAACGTGTTTACCTTTCCCAAC
CCTTTCCCTTTAAAGCCGCTGCCGAGATCGTGCTGCACCTGGAACCCAGAACGAG
CTGGACCCTGTGGGCCCTGGCCCTGGCATCAGAATCCTCCAGGAAGTCTGATGGGC
AGCTTCGGCATCGTGGGCCAGGCCCGGAACCGGCCGGTGCATCGCCTGTTGGCGG
AGGCCCGGACCGAGACAGGCCCTGGACCCGGCTGGAAGCACATCCGGCTGGAATGC
GTGCTGATGTACAAGGCCAGGGGACCCGGCCCTGGCCTCTGTATCGTGTACCGCGAC
TGCATCGCCTACGCCGCTGCCACGGCCAGGACCTGGCCCCGAGTGGATCGAGCGG
CAGACCGTGCTCCAGCATAGCTTCAACGGACCCGGACCAGGCCCATCAACATCAGC
AAGAGCAAGGCCACAAGGCCATCGAGCTGGGCCCTGGGCCCGGACTGCGGACCCTC
CAGCAGCTGTTCTGAGCACCTGAGCTTCGTGGGACCTGGGCCAGGCTTCCACAGC
ATCGCCGGCCAGTACCGGGGCCAGTGCAACACCTGCGGCCAGGGCCAGGCACCACA
CCTATTATTCACCTGAAGGGCGACGCCAACATCCTGAAGGGGCCAGGACCCGGCGAC
TGGGTGATGGCCATCTTCGGCGTGAACCCACCGTGGCCGAGGGCTTCGGACCTGGA
CCTGGGCCCTAGGAAGCTGCACGAGCTGTCTCTGCCCTGGAAATTCCTTACGGCCCT
GGCCAGGCTTCAAGACCCTGATCAAGCCCGCCACACTGTATGCCACATTCAGGGC
CCTGGACCAGGCACCATCCCCAACAGCGTGCAGATCAGCGTGGGCTACATGACCATC
GGACCAGGGCCTGGCAATGGCTGGTTCTACGTGGAGGCCGTGATCGACAGGCAGACC
GGCGGACCTGGCCAGGGGTGCTGGACTTCGCCTTTACAGACCTGACAATTGTGTAC
CGGGACGGCCCTGGGCCCTGGCGCCAAGTTCGTGGCCGCTGGACCCTGAAGGCCGCT
GCCTGA

(ID SEC N° 124)

C.

AFTDLTIVYNSTWHWTGCNKKAAAKLLEKLLCINAYQFAFKDLCVKMVMLMLVRFKN
AALQDKILDHYKAAFLLCFCVLLNSVYGTTLERNAAVTTRYPLLRNATLQEIVLHVN
YYITETGIWKVFIYIPLFNQTEPDTSNYGAELDPVDLLCYKAAALTDVSIACVYN
AARTEVYQFAFRNPYLHSRLVVFNI SFAGIVTKKVMDDSEIAYNAFYSRIRELRFKA
AAFIYIPLFVIKAVFTFPHAFPFNAFYSKVSEFRWKS LVFLLCFSVNASTAAALYWY
RKATLYAHIQCLNAAHYTNWKFIFNAANTELYNLLINASYFGMSFIHFKLTKNGICD
LNSVYGETLEKNVYVCAFAWLLNVYGTTLKLLKLSQMVQWAYKAAAYVVWDSIYYIN
GTGCNGWFYGAAMCRHYKRNFLLCFVCLNAVYQFAFKDLKAAKVSEFRWYRYKY
TNWKFYILNAALSSALEIPYKAAFLFTDLTIVNAATTPIIHLKNAARQMNMSQWIK
NTGILTVTYNVFTFPNPFKAAA EIVLHLEPQNELDPVGP GPGIRILQELLMGSFG
IVGPGPGTGRCIACWRRPRTETGPGPGWKHIRLECVL MYKARGP GPGLCIVYRDCIA
YAACHGPGPPEWIERQTVLQHSFN GPGPGPINISKSKAHKAIELGPGPLRTLQQL
FLSTLSFVGP GPGFHSIAGQYRQCNTCGPGGTTPIIHLKGDANILKGP GPGDWVM
AIFGVNPTVAEGFGPGPGPRKLHELSSALEIPYGP GPGFKTLIKPATLYAHIQGPGP
GTIPNSVQISVGYMTIGPGPGNGW FYVEAVIDRQTGGPGPGVLDF AFTDLTIVYRDG
PGPGAKFVAAWTLKAAA

(ID SEC N° 156)

FIGURA 5 cont.1

D.

GCTTTCACCGACCTGACCATCGTGTACAACAGCACCTGGCACTGGACCGGCTGCAAC
 AAGAAAGCCGCTGCCAAGCTGCTGGAAAAGCTGCTGTGCATCAACGCCATCAGTTT
 GCCTTCAAGGACCTGTGCGTGAAGATGGTGTGCTGATGCTGGTGGGTTCAAGAAT
 GCCGCTCTCCAGGACAAGATCCTGGACCACTACAAGGCCGCTTTCTGCTGTGCTTC
 TGGGTGCTGCTGAACAGCGTGTACGGCACCACCCTGGAACGGAACGCCGCCGTGACC
 ACCAGATACCCCTGCTGCGGAATGCCACCCTCCAGGAAATCGTCCTGCACGTCAAT
 TACTACATCACCGAGACCGGCATCTGGAAGGTGGTGTTCATCTACATCCCCCTGTTT
 AACCAGACCGAGCCCGACACCAGCAACTACGGAGCCGCCGAACCTCGATCCCGTGGAC
 CTGCTGTGCTACAAAGCCGCTGCCCTGACCGACGTGAGCATCGCCTGCGTGTACAAC
 GCCGCCAGGACCGAGGTGTACCAGTTTGCCTTTTCGGAACCCCTACCTGCACAGCAGA
 CTGGTGGTGTTTAACATCAGCTTCGCCGGCATCGTGACCAAGAAAGTGTGAGCAGC
 AGCGAGATCGCTACAACGCCTTCTACAGCCGGATCAGAGAGCTGAGGTTCAAAGCC
 GCTGCCTTTATCTACATTCCTCTGTTTCGTGATCAAGGCCGTGTTACCTTCCCCCAC
 GCCTTCCCTTTCAATGCCTTCTACTCCAAGGTGTCCGAGTTCGGGTGGAAGAGCCTG
 GTGTTCTGCTGTGTTTACGCGTGAACGCCAGCACCGCCGCTGCCCTGACTGGTAC
 AGGAAGGCCACCCTGTACGCCATATCCAGTGCCTGAATGCCGCCACTACACCAAC
 TGGAAGTTCATCTTCAATGCCGCCAACACCGAGCTGTACAACCTGCTGATCAACGCC
 AGCTACTTCGGCATGAGCTTCATCCACTTCAAGCTGACCAACAAGGGCATCTGCGAC
 CTGAACTCCGTGTACGGCGAGACACTGGAAAAGAACGTGTACGTGTGCGCCTTCGCC
 TGGCTGCTGAACGTGTATGGCACAACACTGGAAAACTGAAGCTGTCCAGATGGTG
 CAGTGGGCCTATAAAGCCGCCCTACGTGGTGTGGGACAGCATCTACTATATCAAC
 GGCACCGGCTGTAACGGCTGGTTTTACGGCGCCGCTGCCGTGATGTGCCGGCACTAC
 AAGCGGAATTTTCTGCTGTGTTTTTCCGTGTGCCTGAACGCCGTGTATCAGTTCGCC
 TTTAAGGATCTGAAGGCTGCCAAAGTGTCTGAGTTCAGATGGTACAGGTACAAGTAC
 ACAAATTGGAAGTTTATCTATCTGAACGCCGCCCTGAGCAGCGCCCTGGAATCCCC
 TATAAGGCTGCCTTCTGTTACCGATCTGACTATTGTGAACGCCGCCACCACCCCC
 ATCATCCACCTGAAAACGCCGCTGCCAGGCAGATGAACATGAGCCAGTGGATCAAG
 AACACCGGCATCCTGACCGTGACCTACAACGTGTTTACCTTTCCCAACCTTTCCCC
 TTTAAAGCCGCTGCCGAGATCGTGTGCACCTGGAACCCAGAACGAGCTGGACCCT
 GTGGGCCCTGGCCCTGGCATCAGAATCCTCCAGGAACTGCTGATGGGCAGCTTCGGC
 ATCGTGGGCCAGGCCCGGAACCGGCCGGTGCATCGCCTGTTGGCGGAGGCCCGG
 ACCGAGACAGGCCCTGGACCCGGCTGGAAGCACATCCGGCTGGAATGCGTGTGATG
 TACAAGGCCAGGGGACCCGGCCCTGGCCTCTGTATCGTGTACCGCGACTGCATCGCC
 TACGCCGCTGCCACGGCCAGGACCTGGCCCCGAGTGGATCGAGCGGCAGACCGTG
 CTCCAGCATAGCTTCAACGGACCCGGACCAGGCCCATCAACATCAGCAAGAGCAAG
 GCCACAAGGCCATCGAGCTGGGCCCTGGGCCCGGACTGCGGACCCTCCAGCAGCTG
 TTCCTGAGCACCTGAGCTTCGTGGGACCTGGGCCAGGCTTCCACAGCATCGCCGGC
 CAGTACCGGGGCCAGTGCAACACCTGCGGCCAGGGCCAGGCACCACACCTATTATT
 CACCTGAAGGGCGACGCCAACATCCTGAAGGGGCCAGGACCCGGCGACTGGGTGATG
 GCCATCTTCGGCGTAACCCACCGTGGCCGAGGGCTTCGGACCTGGACCTGGGCCT
 AGGAAGCTGCACGAGCTGTCTCTGCCCTGGAAATTCCTTACGGCCCTGGCCCAGGC
 TTCAAGACCCTGATCAAGCCGCCACACTGTATGCCACATTCAGGGCCCTGGACCA
 GGCACCATCCCCAACAGCGTGCAGATCAGCGTGGGCTACATGACCATCGGACCAGGG
 CCTGGCAATGGCTGGTTCTACGTGGAGGCCGTGATCGACAGGCAGACCGGCGGACCT
 GGCCAGGGGTGCTGGACTTCGCCTTTACAGACCTGACAATTGTGTACCGGGACGGC
 CCTGGGCCCTGGCGCCAAGTTCGTGGCCGCTGGACCCTGAAGGCCGCTGCC
 (ID SEC N° 157)

FIGURA 5 cont. 2

FIGURA 6

A. Secuencia de aminoácidos ICCG6138

MGMQVQIQSLFLLLLWVPGSRGFYSKVSEFRWKAARTEVYQFAFRNAAVTTRYPLLR
 NVFTFPNPFNYTNWKFYILNASVYGETLEKGAAVMCRHYKRNAVYGTTLKCLKVV
 FIYIPLFGAAKLLEKLLCINGTGCCNGWFYNQTEPDTSNYNAAAPYLHSRLVVFVAAA
 LTDVSIACVYNAHYTNWKFIFGAAFIYIPLFVIKAAAMVMLMLVRFKNAANTELYNL
 LINFLFTDLTIVNFLLCFCVLLNAATTPIIHLKGAAKLTNKGICDLNALQDKILDHY
 KNTGILTIVTYGAAVMDDSEIAYNSTWHWTGCNKKAAASYFGMSFIHFKLSSALEIPY
 KLSQMVQWAYNSLVFLLCFSVNATLYAHIQCLNVFTFPHAFPFNAAARQMNMSQWIK
 NATLQEIVLHVNAAFDILTIVYNISFAGIVTKKYVWDSIYYINYITETGIWKA
 FYSRIRELRFKVVYQFAFKDLKAFLLCFSVCLNAAAYQFAFKDLCVKSUYGTTLERNKV
 SEFRWYRYKAAELDPVDLLCYKSTAAALYWRKAAAVYVCAFAWLEIVLHLEPQNE
 LDPVGPVGPVIRILQELLMGSGFIVGPGPGTGRCIACWRRRPTETGPGPGWKHIRLEC
 VLMYKARGPVGGLCIVYRDCIAYAACHGPGPGPEWIERQTVLQHSFNPGPGPINIS
 KSKAHKAIELGPGPLRTLQQLFLSTLSFVGPVGFHFIAGQYRQCNTCGPGPGTT
 PIIHLKGDANILKGPVGDWMAIFGVNPTVAEGFVGPVGPVPRKLHELSSALEIPYGP
 GPGFKTLIKPATLYAHIQVGPVGTIPNSVQISVGYMTIGVGPVNGWFYVEAVIDRQT
 GPGVGLDFAFTDLTIVYRDGPGVAKFVAAWTLKAAA
 (ID SEC N° 125)

B. Secuencia de ADN ICCG6138

ATGGGCATGCAGGTGCAGATCCAGAGCCTGTTCCCTGCTGCTGCTGTGGGTGCCCGGC
 AGCCGGGGCTTCTACAGCAAGGTGTCCGAGTTCGGTGGAAGGCCGCCAGGACCGAG
 GTGTACCAGTTCGCCTTCCGGAACGCCCGCTGACCACCAGATACCCCTGCTGCCG
 AACGTGTTACCTTCCCAACCCCTTCCCTTCAACTACACCAACTGGAAGTTCATC
 TACCTGAACGCCAGCGTGTACGGCGAGACCCTGGAAAAGGGAGCAGCCGTGATGTGC
 CGGCACTACAAGCGGAACGCCGTGTACGGCACCACTGGAAAAGCTGAAGGTGGTG
 TTCATCTACATCCCCCTGTTCCGAGCCGCCAAGCTGCTGGAAAAGCTGCTGTGCATC
 AACGGCACCGGTGCAACGGCTGTTCTACAACCAGACCGAGCCGACACCAGCAAC
 TACAATGCTGCCGCCCCCTACCTGCACAGCAGACTGGTGGTGTGGGGCTGCCGCC
 CTGACCGACGTGAGCATCGCTGCGTGTACAACGCCACTACACAAATTGGAAATTC
 ATTTTGGAGCCGCTTCATCTATATTCCTCTGTTCTGATCAAAGCCGCGCTATG
 GTGATGCTGATGCTGGTGCGGTTCAAGAACGCCGCAACACCGAGCTGTACAACCTG
 CTGATCAACTTCTGTTACCGACCTGACCATCGTGAACCTTCTCCTGTGTTTCTGC
 GTGCTCTGAATGCCGCCACAACCCCATCATCCACCTGAAGGGAGCCGCCAAACTG
 ACCAACAAGGGCATCTGCGACCTGAATGCCCTCCAGGACAAGATCCTGGACCACTAC
 AAGAACACCGGCATCCTGACCGTGACCTATGGAGCCGCTGCCGTGATGGACGACAGC
 GAGATCGCCTACAACAGCACCTGGCACTGGACCGGCTGTAACAAGAAGGCCGCTCC
 TACTTCGGCATGAGCTTCATCCACTTCAAGCTGTCCAGCGCCCTGGAAATCCCCTAC
 AAGCTGTCCCAGATGGTGCAGTGGCCTACAACCTCCCTGGTGTTCCTGCTGTGTTTC
 AGCGTGAACGCAACCCCTCTATGCCACATCCAGTGCCTGAATGTGTTTACCTTCCCT
 CACGCCTTCCCTTCAATGCCGCCGAGACAGATGAACATGAGCCAGTGGATCAAG
 AATGCCACCCTCCAGGAGATTGCTCTGCACGTCAATGCCGCTTACTGATCTGACT
 ATCGTGTACAACATCAGCTTCCCGGCATCGTGACCAAGAAATACGTGGTGTGGGAC
 AGCATCTACTACATCAATTACTACATCACCGAGACCGGCATCTGGAAAGCTGCCGCC

TTCTACAGCCGGATCAGGGAGCTGAGGTTCAAAGTGTATCAGTTTGCTTTCAAAGAC
 CTGAAAGCCTTCCTGCTGTGCTTTTCCGTGTGCCTGAACGCCGCTACCAGTTTGCC
 TTTAAGGATCTGTGCGTGAAGAGCGTGTATGGCACAACCCTGGAACGGAACAAAGTG
 TCTGAGTTCCGCTGGTACAGGTATAAGGCCGCCGAACTCGATCCCGTGGATCTGCTG
 TGTTACAAGAGCACTGCCGCCGCACTGTACTGGTATAGGAAGGCTGCCGCCGTGTAC
 GTGTGCGCCTTCGCCTGGCTGCTGGAGATCGTGCTGCACCTGGAACCCGAGAACGAG
 CTGGACCCTGTGGGCCCTGGCCCTGGCATCAGAATCCTCCAGGAACTGCTGATGGGC
 AGCTTCGGCATCGTGGGCCAGGCCCGGAACCGGCCGGTGCATCGCCTGTTGGCGG
 AGGCCCGGACCGAGACAGGCCCTGGACCCGGCTGGAAGCACATCCGGCTGGAATGC
 GTGCTGATGTACAAGGCCAGGGGACCCGGCCCTGGCCTCTGTATCGTGTACCGCGAC
 TGCATCGCCTACGCCGCTGCCACGGCCAGGACCTGGCCCCGAGTGGATCGAGCGG
 CAGACCGTGCTCCAGCATAGCTTCAACGGACCCGGACCAGGCCCATCAACATCAGC
 AAGAGCAAGGCCACAAGGCCATCGAGCTGGGCCCTGGGCCCGGACTGCGGACCCTC
 CAGCAGCTGTTCTGAGCACCTGAGCTTCGTGGGACCTGGGCCAGGCTTCCACAGC
 ATCGCCGGCCAGTACCGGGGCCAGTGCAACACCTGCGGCCAGGGCCAGGCACCACA
 CCTATTATTCACCTGAAGGGCGACGCCAACATCCTGAAGGGGCCAGGACCCGGCGAC
 TGGGTGATGGCCATCTTCGGCGTGAACCCACCGTGGCCGAGGGCTTCGGACCTGGA
 CCTGGGCCCTAGGAAGCTGCACGAGCTGTCTCTGCCCTGGAAATTCCTTACGGCCCT
 GGCCAGGCTTCAAGACCCTGATCAAGCCCGCCACACTGTATGCCACATTCAGGGC
 CCTGGACCAGGCACCATCCCAACAGCGTGCAGATCAGCGTGGGCTACATGACCATC
 GGACCAGGGCCTGGCAATGGCTGGTTCTACGTGGAGGCCGTGATCGACAGGCAGACC
 GGGCGACCTGGCCAGGGGTGCTGGACTTCGCCTTTACAGACCTGACAATTGTGTAC
 CGGGACGGCCCTGGGCCCTGGCGCCAAGTTCGTGGCCGCCTGGACCCTGAAGGCCGCT
 GCCTGA

(ID SEC N° 126)

C.

FYSKVSEFRWKAARTEVYQFAFRNAAVTTRYPLLRNVFTFPNPFNFNYTNWKFYILN
 ASVYGETLEKGAAVMCRHYKRNAVYGTTLEKLKVVFIYIPLFGAAKLEKLLCINGT
 GCNGWFYNQTEPDTSNYNAAAPYLHSRLVVFGAALTDVSIACVYNAHYTNWKFIFG
 AAFIYIPLFVIKAAAMVMLMLVRFKNAANTELYNLLINFLFDLTIVNFLLCFCVLL
 NAATTPIIHLKGAAKLTNKGICDLNALQDKILDHYKNTGILTVTYGAAAVMDDSEIA
 YNSTWHWTGCNKAASYFGMSFIHFKLSSALEIPYKLSQMVQWAYNSLVFLLCFSVN
 ATLYAHIQCLNVFTFPHAFPFNAAARQMMSQWIKNATLQEIVLHVNAAFDLDLTIYV
 NISFAGIVTKKYVWDSIYYINYYITETGIWKAAAFYSRIRELRFKYVQFAFKDLKA
 FLLCFSVCLNAAYQFAFKDLCVKSUYGTTLERNKVSEFRWYRYKAAELDPVDLLCYK
 STAAALYWRKAAAVYVCAFAWLEIVLHLEPQNELDPVGPVGPVIRILQELLMGSFG
 IVGPGPGTGRCIACWRRPRTETGPGPGWKHIRLECVLMYKARGPVPGLCIVYRDCIA
 YAACHGPGPPEWIERQTVLQHSFNPGPGPINISKSKAHKAIELGPGPGLRTLQQL
 FLSTLSFVGPVGFHESIAGQYRGQCNTCGPVPPTPIIHLKGDANILKGPVPGDWM
 AIFGVNPTVAEGFPGPGRKLHELSSALEIPYGPVPGFKTLIKPATLYAHIQVGPV
 GTIPNSVQISVGYMTIGPVPVNGWFYVEAVIDRQTGGPVPVLDFAFTDLTIYVYRDG
 PVPVAKFVAAWTLKAAA

(ID SEC N° 158)

FIGURA 6 cont. 1

D.

TTCTACAGCAAGGTGTCCGAGTTCCGGTGGAAAGGCCGCCAGGACCGAGGTGTACCAG
 TTCGCCTTCCGGAACGCCGCCGTGACCACCAGATACCCCCTGCTGCGGAACGTGTTCC
 ACCTTCCCAACCCCTTCCCTTTCAACTACACCAACTGGAAGTTCATCTACCTGAAC
 GCCAGCGTGTACGGCGAGACCCTGGAAAAGGGAGCAGCCGTGATGTGCCGGCACTAC
 AAGCGGAACGCCGTGTACGGCACCACACTGGAAAAGCTGAAGGTGGTGTTCATCTAC
 ATCCCCCTGTTCCGGAGCCGCCAAGCTGCTGGAAAAGCTGCTGTGCATCAACGGCACC
 GGCTGCAACGGCTGGTCTACAACCAGACCAGCCCGACACCAGCAACTACAATGCT
 GCCGCCCCCTACCTGCACAGCAGACTGGTGGTGTGGGGCTGCCGCCCTGACCAGC
 GTGAGCATCGCTGCGTGTACAACGCCCACTACACAAATTGGAAATTCATTTTTGGA
 GCCGCCTTCATCTATATTCTCTGTTCTGTGATCAAAGCCGCCGCTATGGTGATGCTG
 ATGCTGGTGGGTTCAAGAACGCCGCCAACACCCGAGCTGTACAACCTGCTGATCAAC
 TTCCTGTTACCGACCTGACCATCGTGAACCTTCTCCTGTGTTTCTGCGTGCTCCTG
 AATGCCGCCACAACCCCATCATCCACCTGAAGGGAGCCGCCAACTGACCAACAAG
 GGCATCTGCGACCTGAATGCCCTCCAGGACAAGATCCTGGACCACTACAAGAACC
 GGCATCCTGACCGTGACCTATGGAGCCGCTGCCGTGATGGACGACAGCGAGATCGCC
 TACAACAGCACCTGGCACTGGACCGGCTGTAACAAGAAGGCCGCCTCCTACTTCGGC
 ATGAGCTTCATCCACTTCAAGCTGTCCAGCGCCCTGGAAATCCCCTACAAGCTGTCC
 CAGATGGTGCAGTGGGCTACAACCTCCCTGGTGTTCCTGCTGTGTTTCAGCGTGAAC
 GCAACCCTCTATGCCACATCCAGTGCCTGAATGTGTTTACCTTCCCTCACGCCTTT
 CCCTTCAATGCCGCCGCCAGACAGATGAACATGAGCCAGTGGATCAAGAATGCCACC
 CTCCAGGAGATTGCTCCTGCACGTCAATGCCGCCTTACTGATCTGACTATCGTGAC
 AACATCAGCTTCGCCGGCATCGTGACCAAGAAATACGTGGTGTGGGACAGCATCTAC
 TACATCAATTACTACATCACCGAGACCGGCATCTGGAAAGCTGCCGCCCTTCTACAGC
 CGGATCAGGGAGCTGAGGTTCAAAGTGTATCAGTTTGCTTTCAAAGACCTGAAAGCC
 TTCCTGCTGTGCTTTTCCGTGTGCCTGAACGCCGCCTACCAGTTTGCCTTTAAGGAT
 CTGTGCGTGAAGAGCGTGTATGGCACAACCCTGGAACGGAACAAAGTGTCTGAGTTC
 CGCTGGTACAGGTATAAGGCCGCCGAACCTCGATCCCGTGGATCTGCTGTGTTACAAG
 AGCACTGCCGCCGCACTGTACTGGTATAGGAAGGCTGCCGCCGTGTACGTGTGCCCC
 TTCCTGCTGCTGCTGGAGATCGTGCTGCACCTGGAACCCAGAACGAGCTGGACCCT
 GTGGGCCCTGGCCCTGGCATCAGAACTCCTCCAGGAAGCTGCTGATGGGCAGCTTCGGC
 ATCGTGGGCCAGGCCCGGAACCGCCGGTGCATCGCTGTTGGCGGAGGCCCGG
 ACCGAGACAGGCCCTGGACCCGGCTGGAAGCACATCCGGCTGGAATGCGTGCTGATG
 TACAAGGCCAGGGGACCCGGCCCTGGCCTCTGTATCGTGTACCGGACTGCATCGCC
 TACGCCGCTGCCACGGCCAGGACCTGGCCCGAGTGGATCGAGCGGCAGACCGTG
 CTCCAGCATAGCTTCAACGGACCCGGACCAGGCCCATCAACATCAGCAAGAGCAAG
 GCCACAAGGCCATCGAGCTGGGCCCTGGGCCCGGACTGCGGACCCCTCAGCAGCTG
 TTCCTGAGCACCTGAGCTTCGTGGGACCTGGGCCAGGCTTCCACAGCATCGCCGGC
 CAGTACCGGGGCCAGTGCAACACCTGCGGCCAGGGCCAGGCACACACCTATTATT
 CACCTGAAGGGCGACGCCAACATCCTGAAGGGGCCAGGACCCGGCGACTGGGTGATG
 GCCATCTTCGGCGTGAACCCACCGTGGCCGAGGGCTTCGGACCTGGACCTGGGCCT
 AGGAAGCTGCACGAGCTGTCCTCTGCCCTGGAAATTCCTTACGGCCCTGGCCAGGC
 TTCAAGACCCTGATCAAGCCCGCCACACTGTATGCCACATTCAGGGCCCTGGACCA
 GGCACCATCCCAACAGCGTGCAGATCAGCGTGGGCTACATGACCATCGGACCAGGG
 CCTGGCAATGGCTGGTCTACGTGGAGGCCGTGATCGACAGGCAGACCGGCGGACCT
 GGCCAGGGGTGCTGGACTTCGCCTTACAGACCTGACAATTGTGTACCGGGACGGC
 CCTGGGCCTGGCGCCAAGTTCGTGGCCGCTGGACCCTGAAGGCCGCTGCC
 (ID SEC N° 159)

FIGURA 6 cont.2

FIGURA 7

A. Secuencia de aminoácidos ICCG6149

MGMQVQIQSLFLLLLWVPGSRGKSLFGMSLMKNSTAAALYWKKAACYSLYGTTFKA
 AAVAWDSVYYMKSTDLRDHIDYNI SDYRHYCYKAAQVVPAYNISKNGYNTFYIEFKL
 QDKIIDHYKAACLYLHIQSLNAAAATLQDIVLHGTVYVFCFLNAILYAHIQCLNAA
 LYNLLIRCFKAAFVYIPLFLINTVSATQLVKNGTGCNGWFYNAATKYPLLKNVYVFC
 FL LPMNATLHDII LECVKAALYGVSFSELKQVDYYGLYYGAYYMTDAGTWNAAPYA
 VCDKCFKQGAMLAVFKKAAAVVLLLVRYNAAAASYFGMSFIHFKAALLSKLLCVNA
 AAATMCRHYKRNAASTVSVGTAKNAALSQMVQWAYKLTNTGLYNVNAATCVSHRG
 LYNAAKSAIVTLTYKAAADSVYGDTLERNMYVCCHVPLNAAFHNIRGRFKAASFVY
 RDSIPKNASLQDIEITCVKAVYDFAFRDLCIKYMLDLQPETVNAAGTLGIVCPVNS
 VICFVNSKNATLEKLTNTGLYNAGLYVHEGIRTYFVQGP GPGFLNTVAIPDSVQIL
 VGP GPGQRFHNIRGRWTGRMGP GPGTNTGLYNLLIRCLRCQGP GPGIEFITFLGAL
 KSFLKGP GPGPEWIQRQTVLQHSFN GPGPLFVVYRDSIPHAACHKGP GPGIRTLED
 LLMGTLGIVGP GPGLDLQPETTDLYCYEQGPGPLQAI ELQLTLETIYNGP GPGFQO
 LFLNTLSFVCPWGP GPGWKHMRLECAIYYKARGP GPGLC TELQTTI HDII LEGP GPG
 FKTLIQPFILYAHIQGPGGLYWKGTGISNISEVYGP GPGGEVFEFAFKDLFVVYRGP
 GPGHKAIELQMALQGLAQGPGGAKFVAAWTLKAAA
 (ID SEC N° 127)

B. Secuencia de ADN ICCG6149

ATGGGCATGCAGGTGCAGATCCAGAGCCTGTTCTGCTGCTGCTGTGGGTGCCGGC
 AGCCGGGGCAAGAGCCTGTTTGGCATGAGCCTGATGAAGAACAGCACCGCCGCTGCC
 CTCTATTGGTACAAAAAGGCCGCTGCTACAGCCTGTACGGCACCACTTCAAGGCT
 GCTGCCGTGGCCTGGGACAGCGTGTACTACATGAAGAGCACCGACCTGCGGGACCAC
 ATCGACTACAACATCAGCGACTACCGGCACTACTGCTACAAGGCCGCCAGGTGGTG
 CCCGCCTACAACATCTCCAAGAACGGCTACAACACCTTCTACATCGAGTTCAAGCTC
 CAGGACAAGATCATCGACCACTACAAGCCGCTGCTGTACCTGCACATCCAGAGT
 CTGAACGCAGCCGCTGCAACCCTCCAGGACATCGTGCTGCACGGCACCGTGTACGTG
 TTCTGCTTCTGCTGAACGCCATCCTGTACGCCACATCCAGTGTCTGAATGCCGCC
 CTGTACAACCTGCTGATCCGGTGCTTTAAGGCCGCTTCTGTACATCCCCCTGTTT
 CTGATCAACACCGTGAGCGCCACCCAGCTGGTGAAGAATGGCACCGCTGCAACGGC
 TGGTTCTACAATGCCGCCACCAAGTACCCCTGCTGAAGAACGTGTATGTGTTTTGT
 TTTCTGCTGCCATGAACGCCACACTGCACGACATTATCTGGAATGCGTCAAGGCC
 GCTGCCCTGTATGGCGTGAGCTTCAGCGAGCTGAAGCAGGTGGACTACTACGGCCTG
 TACTACGGCGCCTACTACATGACCGACGCCGGCACCTGGAATGCCGCCCTTACGCC
 GTGTGCGACAAGTGCTTCAAGCAGGGCGCCATGCTGGCCGTGTTCAAGAAAGCCGCT
 GCCGTGGTGCTGCTGCTGGTGCGGTATAAGAAATGCCGCCGCGCAGCTACTTCGGCATG
 AGCTTCATCCACTTTAAAGCCGCCAAGCTGCTGTCTAAGCTGCTGTGCGTGAATGCC
 GCTGCTGCCACAATGTGCCGGCACTACAAGAGAAATGCCGCTGCCAGCACCGTGAGC
 GTGGGCACCGCCAAGAACGCCGCCCTGAGCCAGATGGTGCAGTGGGCCTACAAGCTG
 ACCAACACCGGCCTGTACAACGTGAACGCCGCTGCCACCTGCGTGAGCCACCGGGGC
 CTGTATAACGCCGCCAAGAGCGCCATCGTGACCCTGACCTATAAGGCCGCTGCCGAC
 AGCGTGTACGGCGACACCCTGGAACGGAACATGTACGTGTGCTGCCACGTGCCCTG
 AATGCCGCCAGGTTCCACAACATCCGGGGCAGGTTCAAAGCCGCTTTGTGGTGAC

CGGGACAGCATCCCCAAGAATGCCAGCCTCCAGGATATTGAGATCACCTGTGTGAAG
 GCCGTGTACGACTTCGCCTTCGGGACCTGTGCATCAAGTACATGCTGGACCTCCAG
 CCCGAGACAGTGAACGCCGCCGCTGGCACACTGGGCATCGTGTGCCCCGTGAACAGC
 GTGATCTGCTTCGTGAACAGCAAAAACGCCACCCTGGAAAAGCTGACAAATACAGGG
 CTGTACAATGCCGGCTGTATTACGTGCACGAGGGCATCCGGACCTACTTCGTGCAG
 GGCCCAGGGCCAGGCTTCCTGAACACCGTGGCCATCCCCGACTCCGTGCAGATCCTG
 GTCGGCCAGGACCAGGGCAGCGGTTCCACAATATCAGAGGCCGGTGGACCGGCAGA
 TGCATGGGCCAGGACCTGGCACAAATACCGGACTGTATAATCTGCTGATTGCTGC
 CTGCCGTGCCAGGGTCCAGGACCAGGCATCGAGTTTATCACCTTTCTGGGCGCCCTG
 AAGAGCTTCTGAAAGGACCTGGACCAGGACCCGAGTGGATTGAGCGGCAGACCGTG
 CTCCAGCACAGCTTCAACGGACCCGGACCCGGCCTGTTCTGGTGTACAGAGACTCC
 ATCCCCCACGCCGCTGTCAAGGGACCTGGACCAGGCATCAGGACCCTGGAGGAC
 CTGCTGATGGGCACCTGGGCATTGTGGGGCCTGGACCTGGACTGGATCTCCAGCCT
 GAAACCACCGACCTGTACTGCTACGAGCAGGGGCCAGGACCTGGGCTCCAGGCTATC
 GAACTCCAGCTGACCCTGGAAACCATCTACAATGGCCCCGGACCAGGCTTCCAGCAG
 CTGTTCTGAATACCTGAGCTTCGTGTGCCCTTGGGGACCAGGGCCGGATGGAAG
 CACATGCGGCTGGAATGCGCCATCTACTACAAGGCCAGAGGCCAGGACCCGGACTG
 TGCACCGAACTCCAGACCACCATCCACGACATCATTCTGGAAGGACCAGGGCCAGGC
 TTTAAGACCCTGATCCAGCCCTTCAATTCTGTATGCCACATTGAGGACCTGGGCCT
 GGCCTGTATTGGTATAAGACCGGCATCAGCAACA TCTCCGAGGTGTACGGGCCTGGA
 CCAGGCGAGGTGTTGAGTTCGCCTTCAAGGATCTGTTTGTGGTGTATAGAGGCCCC
 GGACCTGGCCACAAGGCCATTGAACTCCAGATGGCCCTCCAGGGGCTGGCCCAGGGA
 CCAGGCCCTGGCGCCAAGTTCGTGGCCGCTGGACCCTGAAAGCCGCCGCTGA
 (ID SEC N° 128)

C.

KSLFGMSLMKNSTAAALYWYKKAACYSLYGTTFKAAVAWDSVYYMKSTDLRDHIDY
 NISDYRHYCYKAAQVVPAYNISKNGYNTFYIEFKLQDKIIDHYKAACLYLHIQSLNA
 AAATLQDIVLHGTVVFCFLLNAIYAHIQCLNAALYNLLIRCFKAAFVYIPLFLIN
 TVSATQLVKNGTGCNGWFYNAATKYPLLKNVYVFCFLLPMNATLHDIILECVKAAAL
 YGVSFSELKQVDYGLYGYMMDAGTWNAAAPYAVCDKCFKQGAMLAVFKAAAVV
 LLLVRYKNAASVYFGMSFIHFKAALKLLSKLLCVNAAAATMCRHYKRNAASTVSVGT
 AKNAALSQM VQWAYKLTNTGLYNVNAATCVSHRGLYNAAKSAIVTLTYKAAADSVY
 GDTLERNMYVCCHVPLNAARFHNIRGRFKAFFVYRDSIPKNASLQDIEITCVKAVY
 DFAFRDLCKIYMLDLQPETVNAAAGTLGIVCPVNSVICFVNSKNATLEKLTNTGLYN
 AGLYYVHEGIRTYFVQGGPGFLNTVAIPDSVQILVGPQPGQRFHNIRGRWTGRCMG
 PPGTNTGLYNLLIRCLRCQGGPGGIEFITFLGALKSFLKGGPGGPEWIQRQTVLQH
 SFNGPGPGLFVVYRDSIPHAACHKGGPGGIRTLEDLLMGTGIVGPGPGLDLQPETT
 DLYCYEQGGPGLQAIELQLTLETIYNGPGPGFQQLFLNTLSFVCPWGPGGWGHMR
 LECAIYYKARGPGPGLCTELQTTIHDIILEGPGPGFKTLIQPFILYAHIQGGPGGLY
 WYKTGISNISEVYGGPGEVFEFAFKDLFVYRGGPGPGHKAIELQMALQGLAQGGPGP
 GAKFVAAWTLKAAA
 (ID SEC N° 160)

FIGURA 7 cont.1

D.

AAGAGCCTGTTTGGCATGAGCCTGATGAAGAACAGCACCGCCGCTGCCCTCTATTGG
 TACAAAAGGCCGCTGCTACAGCCTGTACGGCACCACCTTCAAGGCTGCTGCCGTG
 GCCTGGGACAGCGTGTACTACATGAAGAGCACCGACCTGCGGGACCACATCGACTAC
 AACATCAGCGACTACCGGCACTACTGCTACAAGGCCGCCAGGTGGTGCCCGCCTAC
 AACATCTCCAAGAACGGCTACAACACCTTCTACATCGAGTTCAAGCTCCAGGACAAG
 ATCATCGACCACTACAAAGCCGCTGCCTGTACCTGCACATCCAGAGTCTGAACGCA
 GCCGCTGCAACCCTCCAGGACATCGTGCTGCACGGCACCGTGTACGTGTTCTGCTTC
 CTGCTGAACGCCATCCTGTACGCCACATCCAGTGTCTGAATGCCGCCCTGTACAAC
 CTGCTGATCCGGTGTCTTAAGGCCGCTTCGTGTACATCCCCCTGTTTCTGATCAAC
 ACCGTGAGCGCCACCCAGCTGGTGAAGAATGGCACCGGCTGCAACGGCTGGTTCTAC
 AATGCCGCCACCAAGTACCCCTGCTGAAGAACGTGTATGTGTTTTGTTTTCTGCTG
 CCCATGAACGCCACACTGCACGACATTATCCTGGAATGCGTCAAGGCCGCTGCCCTG
 TATGGCGTGAGCTTCAGCGAGCTGAAGCAGGTGGACTACTACGGCCTGTACTACGGC
 GCCTACTACATGACCGACGCCGGCACCTGGAATGCCGCCCTTACGCCGTGTGCGAC
 AAGTGCTTCAAGCAGGGCGCCATGCTGGCCGTGTTCAAGAAAGCCGCTGCCGTGGTG
 CTGCTGCTGGTGCGGTATAAGAATGCCGCCGCCAGCTACTTCGGCATGAGCTTCATC
 CACTTTAAAGCCGCCAAGCTGCTGTC TAAGCTGCTGTGCGTGAATGCCGCTGCTGCC
 ACAATGTGCCGGCACTACAAGAGAAATGCCGCTGCCAGCACCGTGAGCGTGGGCACC
 GCCAAGAACGCCGCCCTGAGCCAGATGGTGCAGTGGGCCTACAAGCTGACCAACACC
 GGCCTGTACAACGTGAACGCCGCTGCCACCTGCGTGAGCCACCGGGGCTGTATAAC
 GCCGCCAAGAGCGCCATCGTGACCCTGACCTATAAGGCCGCTGCCGACAGCGTGAC
 GCGGACACCC TGGAACGGAACATGTACGTGTGCTGCCACGTGCCCTGAATGCCGCC
 AGGTTCCACAACATCCGGGGCAGGTTCAAAGCCGCTTTGTGGTGTACCGGGACAGC
 ATCCCAAGAATGCCAGCCTCCAGGATATTGAGATCACCTGTGTGAAGGCCGTGTAC
 GACTTCGCCTTCCGGGACCTGTGCATCAAGTACATGCTGGACCTCCAGCCGAGACA
 GTGAACGCCGCCGCTGGCACACTGGGCATCGTGTGCCCGTGAACAGCGTGATCTGC
 TTCGTGAACAGCAAAAACGCCACCCTGGAAAAGCTGACAAATACAGGGCTGTACAAT
 GCCGGCCTGTATTACGTGCACGAGGGCATCCGGACCTACTTCGTGCAGGGCCAGGG
 CCAGGCTTCTGAACACCCTGGCCATCCCCGACTCCGTGCAGATCCTGGTCGGCCCA
 GGACCAGGGCAGCGGTTCCACAATATCAGAGGCCGGTGGACCGGCAGATGCATGGGC
 CCAGGACCTGGCACAAAATACCGGACTGTATAATCTGCTGATTCTGCTGCCTGCGGTGC
 CAGGGTCCAGGACCAGGCATCGAGTTTATCACCTTTCTGGGGCCCTGAAGAGCTTC
 CTGAAAGGACCTGGACCAGGACCCGAGTGGATT CAGCGGCAGACCGTGCTCCAGCAC
 AGCTTCAACGGACCCGGACCCGGCCTGTTCTGTGGTGTACAGAGACTCCATCCCCAC
 GCCGCTGTCAAGGGACCTGGACCAGGCATCAGGACCCTGGAGGACCTGCTGATG
 GGCACCCTGGGATTGTGGGGCCTGGACCTGGACTGGATCTCCAGCCTGAAACCACC
 GACCTGTACTGCTACGAGCAGGGGCCAGGACCTGGGCTCCAGGCTATCGAACTCCAG
 CTGACCCTGGAAACCATCTACAATGGCCCCGGACCAGGCTTCCAGCAGCTGTTCTG
 AATACCCTGAGCTTCGTGTGCCCTTGGGGACCAGGGCCCGGATGGAAGCACATGCGG
 CTGGAATGCGCCATCTACTACAAGGCCAGAGGCCAGGACCCGACTGTGCACCGAA
 CTCCAGACCACCATCCACGACATCATTCTGGAAGGACCAGGGCCAGGCTTTAAGACC
 CTGATCCAGCCCTTCACTTCTGTATGCCACATTCAGGGACCTGGGCTGGCCTGTAT
 TGGTATAAGACCGGCATCAGCAACATCTCCGAGGTGTACGGCCTGGACCAGGCGAG
 GTGTTTCGAGTTCGCCTTCAAGGATCTGTTTGTGGTGTATAGAGGCCCGGACCTGGC
 CACAAGGCCATTGAACTCCAGATGGCCCTCCAGGGGCTGGCCAGGGACCAGGCCCT
 GCGCCAAGTTCGTGGCCGCTGGACCCTGAAAGCCGCCGCC

(ID SEC N° 161)

FIGURA 7 cont.2

FIGURA 8

A. Secuencia de aminoácidos ICCG6150

MGMQVQIQSLFLLLLWPGSRGATCVSHRGLYNAASTDLRDHIDYNAAAATMCRHYK
 RNAILYAHIQCLNAAAGTLGIVCPVNAACYSLYGTTFKAAADSVYGDTLERNQVVP
 AYNISKNAALYNLLIRCFKAAFVYIPLFLINYMTDAGTWGAVVLLLVRYNAAISD
 YRHICYKAATVSATQLVKKASTAAALYWKAAAFVVYRDSIPKNASYFGMSFIHFKA
 AYMLDLQPETVNAAVYDFAFRDLCIKAALQDKIIDHYKAATLHDIIIECVKKLNTG
 LYNVGAASVICFVNSKGAAAMYVCHVPLNASLQDIEITCVKCLYLHIQSLNAATK
 YPLLKNVYVFCFLPMNAKQGAMLAVFKKAALSQMVQWAYKAAPYAVCDKCFKAATV
 YVFCFLNAAAATLQDIVLHGAKSLFGMSLMKNGTGCNGWFYNARFHNIRGRFKA
 LLSKLLCVNAAASTVSVGTAKNVAWDSVYYMKAAGYNTFYIEFKAAALYGVSFSEL
 KQVDYYGLYNAAKSAIVTLTYKAAATLEKLTNTGLYNAGLYVHEGIRTYFVQGP
 PGFLNTVAIPDSVQILVGPQPGQRFHNIRGRWTGRCMGPQPGTNTGLYNLLIRCLR
 QGPGPIEFITFLGALKSFLKGPQPGPEWIQRQTVLQHSFNPGPGLFVVYRDSIPH
 AACHKGPQPIRTLEDLLMGTGIVGPGGLDLQPETTDLYCYEQGPGPGLQAIELQ
 LTLETIYNGPQPGFQQLFLNTLSFVCPWGPQPGWKHMRLECAIYYKARGPQGLCTE
 LQTTIHDIIIEGPGPGFKTLIQPFILYAHIQGPGPGLYWKGTGISNISEVYGPQPG
 VFEFAFKDLFVVYRGPQPGHKAIELQMALQGLAQGPGQPGAKFVAAWTLKAAA
 (ID SEC N° 129)

B. Secuencia de ADN ICCG6150

ATGGGCATGCAGGTGCAGATCCAGAGCCTGTTCTGCTGCTGCTGTTGGGTGCCGGC
 AGCAGAGGCCACCTGCGTGAGCCACAGGGGCTCTACAACGCCGCCAGCACCGAC
 CTGCGGGACCACATCGACTACAATGCTGCTGCCGCTACAATGTGCCGGCACTACAAG
 CGGAACGCCATCCTGTACGCCACATCCAGTGCTGAATGCTGCCGCTGGCACACTG
 GGCAATCGTGTGCCCCGTGAATGCCGCCGCTGCTACAGCCTGTACGGCACCACCTTC
 AAGGCCGCTGCCGACTCCGTGTACGGCGACACCCTGGAACGGAACCAGGTGGTGCC
 GCCTACAACATCTCTAAGAATGCCGCTCTGTACAACCTGCTGATCCGGTGCTTTAAG
 GCTGCCCTCGTGTACATCCCCCTGTTTCTGATCAACTACTACATGACCGACCGGGC
 ACATGGGGAGCCGTGGTGCTGCTGCTGGTGCGGTACAAGAATGCCGCCATCAGCGAC
 TACCGCACTACTGCTACAAGGCCGCCACCGTCAGCGCCACCCAGCTGGTGAAGAAG
 GCCAGCACAGCCGCCGCTCTATTGGTATAAAAAAGCCGCTTTGTGGTGTACCGG
 GACAGCATCCCCAAGAACGCCAGCTACTTCGGCATGAGCTTCATCCACTTCAAAGCC
 GCCTACATGCTGGACCTCCAGCCGAGACCGTGAACGCTGCCGTGTACGACTTCGCC
 TTCCGGGACCTGTGCATTAAGCCGCACTCCAGGACAAGATCATCGACCATTATAAA
 GCAGCCACCCTGCATGATATTATTCTGGAATGCGTGAAGAAGCTGACCAACACCGGC
 CTCTATAACGTGGGAGCCGCCGCTCTGTGATCTGCTTCGTGAACAGCAAGGGGGCT
 GCCGCCATGTATGTGTGCTGCCACGTGCCCTGAACGCCTCTCTCCAGGATATTGAG
 ATCACCTGTGTGAAGTGCCTGTACCTGCACATTCAGTCTCTGAATGCCGCCACCAAG
 TACCCCTGCTGAAGAACGTGTATGTCTTTTCTCCTGCTGCCCATGAACGCCAAG
 CAGGGCGCCATGCTGGCCGTGTTCAAAAAGGCCGCCCTGAGCCAGATGGTGCAGTGG
 GCCTACAAAGCCGCCCTTACGCCGTGTGCGACAAGTGTTTAAGGCCGCCACAGTG
 TACGTGTTTTGTTTTCTGCTGAATGCCGCTGCCGCCACCTCCAGGACATCGTGCTG
 CACGGCGCCAAGTCCCTGTTCCGGCATGTCCCTGATGAAGAATGGCACCGGCTGCAAC
 GGCTGGTTCTACAACGCCCGGTTCCACAACATCCGGGGCAGGTTTAAAGCCGCCAAG

CTGCTGTCTAAGCTGCTGTGTGTGAACGCCGCCGCTTCCACCGTGAGCGTGGGCACC
 GCCAAGAACGTGGCCTGGGACAGCGTGTACTACATGAAAGCAGCAGCCGGGTACAAC
 ACCTTCTACATCGAGTTTAAAGCTGCCGCCCTGTACGGCGTGAGCTTCAGCGAGCTG
 AAGCAGGTGGACTACTACGGCCTGTACTATAACGCCGCCAAGAGCGCCATCGTGACC
 CTGACCTATAAAGCCGCCGCCACACTGGAAAAGCTGACCAATACAGGGCTGTACAAT
 GCCGGCCTGTATTACGTGCACGAGGGCATCCGGACCTACTTCGTGCAGGGCCCAGGG
 CCAGGCTTCTGAACACCGTGGCCATCCCCGACTCCGTGCAGATCCTGGTCGGCCCA
 GGACCAGGGCAGCGGTTCCACAATATCAGAGGCCGGTGGACCGGCAGATGCATGGGC
 CCAGGACCTGGCACAAATACCGGACTGTATAATCTGCTGATTTCGTGCCTGCGGTGC
 CAGGGTCCAGGACCAGGCATCGAGTTTATCACCTTTCTGGGCGCCCTGAAGAGCTTC
 CTGAAAGGACCTGGACCAGGACCCGAGTGGATTCAGCGGCAGACCGTGTCCAGCAC
 AGCTTCAACGGACCCGGACCCGGCCTGTTTCGTGGTGTACAGAGACTCCATCCCCAC
 GCCGCTGTCAAGGGACCTGGACCAGGCATCAGGACCTGGAGGACCTGCTGATG
 GGCACCTGGGCATTGTGGGGCCTGGACCTGGACTGGATCTCCAGCTGAAACCACC
 GACCTGTACTGCTACGAGCAGGGGCCAGGACCTGGGCTCCAGGCTATCGAACTCCAG
 CTGACCTGGAACCATCTACAATGGCCCCGGACCAGGCTTCCAGCAGCTGTTCTCTG
 AATACCTGAGCTTCGTGTGCCCTTGGGGACCAGGGCCCGGATGGAAGCACATGCGG
 CTGGAATGCGCCATCTACTACAAGGCCAGAGGCCAGGACCCGGACTGTGCACCGAA
 CTCCAGACCACCATCCACGACATCATTCTGGAAGGACCAGGGCCAGGCTTTAAGACC
 CTGATCCAGCCCTTCACTTCTGTATGCCACATTCAGGGACCTGGGCTGGCCTGTAT
 TGGTATAAGACCGGCATCAGCAACATCTCCGAGGTGTACGGGCCTGGACCAGGCGAG
 GTGTTTCGAGTTCGCCTTCAAGGATCTGTTTGTGGTGTATAGAGGCCCCGGACCTGGC
 CACAAGGCCATTGAACTCCAGATGGCCCTCCAGGGGCTGGCCAGGGACCAGGCCCT
 GCGGCCAAGTTCGTGGCCGCCGCTGGACCCTGAAAGCCGCCGCTGA

(ID SEC N° 130)

C.

ATCVSHRGLYNAASTDLRDHIDYNAAAATMCRHYKRNAI LYAHIQCLNAAAGTLGIV
 CPVNAACYSLYGTTFKAAADSVYGDTLERNQVVPAYNISKNAALYNLLIRCFKAAF
 VYIPLFLINYYMTDAGTWGAVVLLLVRYKNAAISDYRHICYKAATVSATQLVKKAST
 AAALYWKKAADFVYRDSIPKNASYFGMSFIHFKAAYMLDLQPETVNAAVYDFAFRD
 LCIKAALQDKIIDHYKAATLHDIILECVKLLTNTGLYNVGAASVICFVNSKGAAM
 YVCCHVPLNASLQDIEITCVKCLYLHIQSLNAATKYPLLKNVYVFCFLLPMNAKQGA
 MLAVFKKAALSQMVQWAYKAAPYAVCDKCFKAATVYVFCFLLNAAATLQDIVLHGA
 KSLFGMSLMKNGTGCNGWFYNARFHNIRGRFKAALKLLSKLLCVNAAASTVSVGTAKN
 VAWDSVYYMKAAGYNTFYIEFKAAALYGVSFSELKQVDYYGLYNAAKSAIVTLTY
 KAAATLEKLTNTGLYNAGLYVHEGIRTYFVQGGPGPGLNTVAIPDSVQILVGGPGG
 QRFHNIRGRWTGRCMGPGBTNTGLYNLLIRCLRCQGGPGGIEFITFLGALKSFLKG
 PGPPEWIRQQTVLQHSFNGPGPGLFVYRDSIPHAACHKGPGGIIRTLEDLLMGTL
 GIVGGPGLDLQPETTDLYCYEQGGPGLQAIELQLTLETIYNGPGPGFQQLFLNTL
 SFVCPWGPGGWKHMRLECAIYYKARGPGLCTELQTTIHDIILEGPGPGFKTLIQ
 PFILYAHIQGGPGLYWKYTGISNISEVYGGPGGEVFEFAFKDLFVYRGPGGPHKA
 IELQMALQGLAQQGGPGAKFVAAWTLKAAA

(ID SEC N° 162)

FIGURA 8 cont.1

D.

GCCACCTGCGTGAGCCACAGGGCCTCTACAACGCCGCCAGCACCGACCTGCGGGAC
 CACATCGACTACAATGCTGCTGCCGCTACAATGTGCCGGCACTACAAGCGGAACGCC
 ATCCTGTACGCCACATCCAGTGCCTGAATGCTGCCGCTGGCACACTGGGCATCGTG
 TGCCCCGTGAATGCCGCCGCTGCTACAGCCTGTACGGCACCACCTTCAAGGCCGCT
 GCCGACTCCGTGTACGGCGACACCCTGGAACGGAACCAGGTGGTGCCCGCCTACAAC
 ATCTCTAAGAATGCCGCTCTGTACAACCTGCTGATCCGGTGCTTTAAGGCTGCCTTC
 GTGTACATCCCCCTGTTTCTGATCAACTACTACATGACCGACGCCGGCACATGGGGA
 GCCGTGGTGTGCTGCTGGTGCGGTACAAGAATGCCGCCATCAGCGACTACCGGCAC
 TACTGCTACAAGGCCGCCACCGTCAGCGCCACCAGCTGGTGAAGAAGGCCAGCACA
 GCCGCCGCTCTCTATTGGTATAAAAAAGCCGCTTTGTGGTGTACCGGGACAGCATC
 CCCAAGAACGCCAGCTACTTCGGCATGAGCTTCATCCACTTCAAAGCCGCCTACATG
 CTGGACCTCCAGCCCAGACCGTGAACGCTGCCGTGTACGACTTCGCCTTCGGGGAC
 CTGTGCATTAAGCCGCACTCCAGGACAAGATCATCGACCATTATAAAGCAGCCACC
 CTGCATGATATTATTCTGGAATGCGTGAAGAAGCTGACCAACACCGGCCTCTATAAC
 GTGGGAGCCGCCGCTCTGTGATCTGCTTCGTGAACAGCAAGGGGGCTGCCGCCATG
 TATGTGTGCTGCCACGTGCCCTGAACGCTCTCTCCAGGATATTGAGATCACCTGT
 GTGAAGTGCTGTACCTGCACATTCAGTCTCTGAATGCCGCCACCAAGTACCCCCTG
 CTGAAGAACGTGTATGTCTTTTGTCTCCTGCTGCCCATGAACGCCAAGCAGGGCGCC
 ATGCTGGCCGTGTTCAAAAAGGCCGCCCTGAGCCAGATGGTGCAGTGGGCCTACAAA
 GCCGCCCTTACGCCGTGTGCGACAAGTGTTTAAGGCCGCCACAGTGTACGTGTTT
 TGTTCCTGCTGAATGCCGCTGCCGCCACCCTCCAGGACATCGTGTGCACGGCGCC
 AAGTCCCTGTTCCGCATGTCCCTGATGAAGAATGGCACCGGTGCAACGGCTGGTTC
 TACAACGCCCGTTCCACAACATCCGGGGCAGGTTTAAAGCCGCCAAGCTGCTGTCT
 AAGCTGCTGTGTGTGAACGCCGCCGCTTCCACCGTGAGCGTGGGCACCGCCAAGAAC
 GTGGCCTGGGACAGCGTGTACTACATGAAAGCAGCAGCCGGGTACAACACCTTCTAC
 ATCGAGTTTAAAGCTGCCGCCCTGTACGGCGTGAGCTTCAGCGAGCTGAAGCAGGTG
 GACTACTACGGCCTGTACTATAACGCCGCCAAGAGCGCCATCGTGACCCTGACCTAT
 AAAGCCGCCGCCACACTGGAAAAGCTGACCAATACAGGGCTGTACAATGCCGGCCTG
 TATTACGTGCACGAGGGCATCCGGACCTACTTCGTGCAGGGCCCAGGGCCAGGCTTC
 CTGAACACCGTGGCCATCCCCGACTCCGTGCAGATCCTGGTCCGGCCAGGACCAGGG
 CAGCGGTTCCACAATATCAGAGGCCGGTGGACCGGCAGATGCATGGGCCAGGACCT
 GGCACAAATACCGGACTGTATAATCTGCTGATTCGCTGCCTGCGGTGCCAGGGTCCA
 GGACCAGGCATCGAGTTTATCACCTTTCTGGGCGCCCTGAAGAGCTTCTGAAAGGA
 CCTGGACCAGGACCCGAGTGGATTCAGCGGCAGACCCTGCTCCAGCACAGCTTCAAC
 GGACCCGGACCCGGCCTGTTCTGTGGTGTACAGAGACTCCATCCCCACGCCGCTGT
 CACAAGGGACCTGGACCAGGCATCAGGACCCTGGAGGACCTGCTGATGGGCACCCTG
 GGCATTGTGGGGCCTGGACCTGGACTGGATCTCCAGCCTGAAACCACCGACCTGTAC
 TGCTACGAGCAGGGGCCAGGACCTGGGCTCCAGGCTATCGAACTCCAGCTGACCCTG
 GAAACCATCTACAATGGCCCCGGACCAGGCTTCCAGCAGCTGTTCTGAATACCCTG
 AGCTTCGTGTGCCCTTGGGGACCAGGGCCCCGGATGGAAGCACATGCGGCTGGAATGC
 GCCATCTACTACAAGGCCAGAGGCCAGGACCCGGACTGTGCACCGAACTCCAGACC
 ACCATCCACGACATCATTCTGGAAGGACCAGGGCCAGGCTTTAAGACCCTGATCCAG
 CCCTTCATTCTGTATGCCACATTCAGGGACCTGGGCCTGGCCTGTATTGGTATAAG
 ACCGGCATCAGCAACATCTCCGAGGTGTACGGGCTGGACCAGGGCAGGTGTTTCGAG
 TTCGCCTTCAAGGATCTGTTTGTGGTGTATAGAGGCCCCGGACCTGGCCACAAGGCC
 ATTGAACTCCAGATGGCCCTCCAGGGGCTGGCCAGGGACCAGGCCCTGGCGCCAAG
 TTCGTGGCCGCTGGACCCTGAAAGCCGCCGCC

(ID SEC N° 163)

FIGURA 8 cont.2

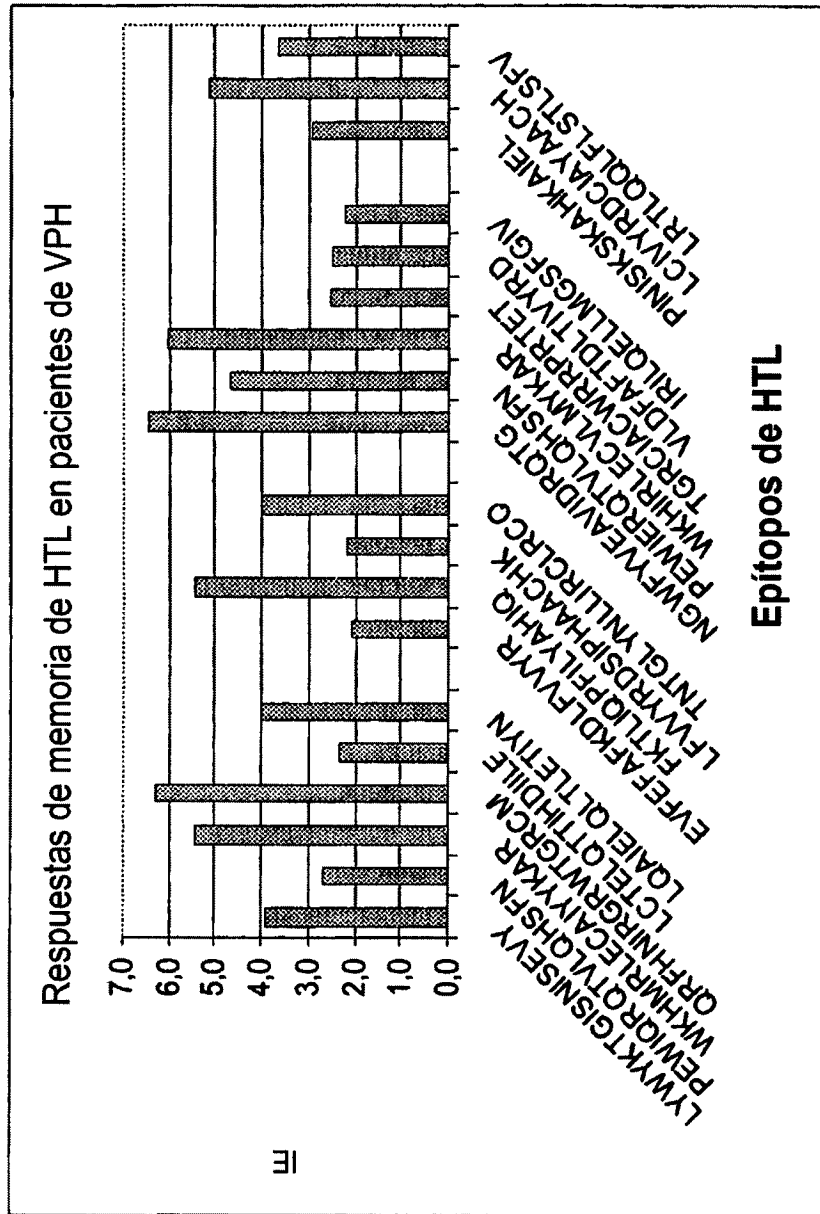


FIGURA 9