

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 900**

51 Int. Cl.:

**C07K 2/00** (2006.01) **C07K 14/33** (2006.01)

**C07K 16/46** (2006.01)

**A61K 39/00** (2006.01)

**A61K 38/19** (2006.01)

**C12P 21/06** (2006.01)

**C12P 19/00** (2006.01)

**C12N 1/20** (2006.01)

**C07H 21/04** (2006.01)

**C07K 19/00** (2006.01)

**C07K 16/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.01.2008 E 08728767 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.12.2014 EP 2114985**

54 Título: **Antígenos multivariantes en complejo con anticuerpo monoclonal humanizado de dirección**

30 Prioridad:

**02.02.2007 US 888029 P**

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

**29.05.2015**

73 Titular/es:

**BAYLOR RESEARCH INSTITUTE (100.0%)  
SUITE 125, 3434 LIVE OAK STREET  
DALLAS, TX 75204, US**

72 Inventor/es:

**ZURAWSKI, GERARD**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 536 900 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**

Antígenos multivariados en complejo con anticuerpo monoclonal humanizado de dirección

**5 Campo técnico de la invención**

La presente invención se refiere en general al campo de vacunas nuevas y, más particularmente, al diseño, fabricación y uso de antígenos multivariados en complejo con anticuerpos monoclonales humanizados de dirección.

**10 Antecedentes de la invención**

Sin limitar el alcance de la invención, su fondo se describe en relación con el desarrollo de vacunas.

15 La tecnología de ingeniería proteica en relación con anticuerpos monoclonales está altamente avanzada con respecto a la humanización (es decir, introducción de, por ejemplo, una secuencia de mAb de roedor en una secuencia de mAb humana conservando a la vez sitios de combinación de antígenos específicos del mAb original) y producción (típicamente secretado de líneas celulares de mamíferos). En investigación y desarrollo hay nuevas aplicaciones de rAb relacionadas con la vacunación y se basan en la actualidad en proteínas de fusión de rAb-antígeno modificadas por ingeniería genética (típicamente con la región codificante de antígeno colocada en fase con el codón C terminal de la cadena pesada o H de rAb). Un obstáculo para esta tecnología es la expresión y producción exitosas de rAb-antígeno completamente funcional. En muchos casos, quizá en la mayoría, el antígeno deseado confunde la secreción de rAb-antígeno obtenido por ingeniería genética. Además, la probabilidad de expresión escasa o nula aumenta si la entidad deseada incluye múltiples regiones codificantes de antígeno.

25 Deyev *et al.*, Nature Biotechnology, vol. 21, nº 12, 1 de diciembre de 2003 (01-12-2003), páginas 1486-1492, desvela sistemas de multimerización que comprenden, por ejemplo, el módulo de barnasa-barstar, para producir por ejemplo anticuerpos multivalentes y para purificación. El documento EP 1 441 030 A1 desvela la expresión de moléculas de fusión de cohesina o dockerina en células de *E. coli* o de insecto, y su uso para purificación de proteínas.

**30 Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a vacunas, vectores, células y métodos de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6.

35 La invención proporciona métodos para el ensamblaje de complejos del antígeno de rAb de una manera controlada mediante mezcla sencilla de componentes y acomoda la capacidad para expresar y producir el rAb y antígeno o antígenos en diferentes sistemas de expresión – producción que están más adaptados para el rAb individual y antígeno particular. Además, la invención demuestra la nueva aplicación de la interacción de cohesina-dockerina de alta afinidad y de alta especificidad con sistemas de expresión de mamíferos secretados, permitiendo de este modo el desarrollo de formatos de ingeniería proteica únicos y producción de nuevas herramientas proteicas para investigación y la aplicación clínica.

40 Más particularmente, la presente invención usa los dominios de proteína cohesina-dockerina y su enlazador circundante. Por ejemplo, la invención permite el ensamblaje controlado de anticuerpos monoclonales recombinantes (rAb) en complejo con antígenos, toxinas o agentes activadores celulares. La invención tiene amplia aplicación potencial en vacunación y terapia de cáncer.

45 La invención se basa en componentes particulares del complejo de proteína de degradación de celulosa bacteriana bien estudiado llamado el celulosoma. Específicamente, se utilizan dos dominios proteicos (cohesina y dockerina) y secuencias enlazadoras de proteínas naturales mediante la invención en nuevos contextos y aplicaciones.

50 La presente invención se basa en el descubrimiento de que dominios particulares de cohesina y dockerina pueden secretarse con éxito y eficazmente de células de mamífero como proteínas de fusión manteniendo al mismo tiempo la interacción proteína-proteína de cohesina-dockerina de alta afinidad y específica. Aunque la bibliografía exhaustiva de cohesina-dockerina enseña la expectativa de que dichas proteínas de fusión deberían tener esta funcionalidad, no describe la producción de dichas proteínas de fusión en sistemas de secreción de mamíferos. El estado del conocimiento científico no permite la predicción del descubrimiento ya que las reglas (aparte de elementos tales como el péptido señal) para la secreción exitosa no están completamente establecidas. Además, se sabe que las regiones de enlazador de cohesina están glucosiladas en sus bacterias nativas, y los dominios de cohesina y dockerina contienen sitios de glucosilación predichos. Aunque esto puede favorecer de hecho la secreción de células de mamífero, no está claro si la glucosilación “no natural” alterará la interacción de cohesina-dockerina.

55 Aunque se ha publicado la interacción de cohesina-dockerina para diversas aplicaciones comerciales, la presente invención se basa en un potencial no realizado previamente para esta interacción basado en el ensamblaje de complejos proteicos específicos no relacionados con las aplicaciones de enzimas de ensamblaje controlado.

La invención incluye el uso de todas las secuencias de cohesina-dockerina de diversos microbios degradantes de celulosa, pero describe la aplicación de secuencias de cohesina y dockerina y enlazador específicas del microbio *Clostridium thermocellum*. Por ejemplo, la secuencia descrita en el presente documento codifica la cadena H de un IgG4 humano unido en el codón C-terminal con una secuencia de dockerina de *Clostridium thermocellum* (denominada rAb.doc). Otras realizaciones de las proteínas rAb.doc se describen de forma similar con ejemplos que se modifican por ingeniería genética transfiriendo simplemente la región codificante de dockerina como un fragmento de ADN a vectores que codifican las diferentes entidades de cadena H.

Más particularmente, la presente invención incluye un transportador de rAb modular que incluye un dominio de unión específico de antígeno unido a uno o más dominios transportadores de antígeno y una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina. El dominio de unión específico de antígeno puede ser al menos una parte de un anticuerpo y el anticuerpo es una proteína de fusión con y el par de unión en una proteína de fusión con una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina. El rAb también puede incluir una mitad complementaria del par de unión de cohesina-dockerina unido con un antígeno que forma un complejo con el vehículo de rAb modular. La mitad complementaria del par de unión de cohesina-dockerina puede en sí mismo ser una proteína de fusión con el antígeno transportado como parte del complejo (complejo de antígeno (cohesina-dockerina) de vehículo de rAb modular). Los ejemplos de dominio específico de antígeno incluyen un anticuerpo de longitud completa, un dominio de región variable de anticuerpo, un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab)<sub>2</sub> y un fragmento Fv, y un fragmento Fabc y/o un fragmento Fab con partes de dominio Fc. Los ejemplos no limitantes de fuentes para el par de unión de cohesina-dockerina incluyen *Clostridium thermocellum*, *Clostridium josui*, *Clostridium cellulolyticum* y *Bacteroides cellulosolvens* y combinaciones de los mismos.

El dominio de unión específico de antígeno se dirige a un marcador de superficie celular seleccionado de MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN- $\gamma$  y receptor de IL-2, ICAM-1, receptor de Fc $\gamma$  u otro receptor expresado de forma relativamente específica por células presentadoras de antígeno.

El rAb de la presente invención también puede incluir combinaciones de los dominios que se definen como: un rAb.Doc; un rAb.Coh; un rAb.(Coh)<sub>x</sub>; un rAb.(Doc)<sub>x</sub>; un rAb.(Coh.Doc)<sub>x</sub>; o un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc)<sub>x</sub>; en los que x es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más. Los ejemplos del vehículo de rAb modular en un complejo incluyen:

un rAb.Doc:Coh.antígeno;

un rAb.Coh:Doc.antígeno;

un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc.antígeno)<sub>x</sub>;

un rAb.(Doc)<sub>x</sub>(Coh.antígeno)<sub>x</sub>;

un rAb.(Coh.Doc)<sub>x</sub>(Doc.antígeno<sup>1</sup>)(Coh.antígeno<sup>2</sup>); o

un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc)<sub>x</sub>(Doc.antígeno<sup>1</sup>)<sub>x</sub>(Coh.antígeno<sup>2</sup>)<sub>x</sub>;

en los que x es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

La presente invención también incluye una vacuna de un vehículo de rAb modular que incluye un dominio específico de antígeno unido a uno o más dominios que comprenden una mitad del par de unión de cohesina-dockerina unido con una mitad complementaria del par de unión de cohesina-dockerina unido con un antígeno. El rAb se une con una proteína de superficie celular inmunitaria seleccionada de MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD 19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN- $\gamma$  y receptor de IL-2, ICAM-1, receptor de Fc $\gamma$  u otro receptor expresado de forma relativamente específica por células presentadoras de antígenos. Las dianas para vacunación con el vehículo de antígeno de rAb, incluyen, por ejemplo, una proteína bacteriana, viral, fúngica, protozoaria o cancerosa y fragmentos de la misma. La vacuna de la reivindicación 11, en la que el vehículo de rAb modular se define adicionalmente: un rAb.Doc:Coh.antígeno; un rAb.Coh:Doc.antígeno; un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc.antígeno)<sub>x</sub>; un rAb.(Doc)<sub>x</sub>(Coh.antígeno)<sub>x</sub>; un rAb.(Coh.Doc)<sub>x</sub>(Doc.antígeno<sup>1</sup>)(Coh.antígeno<sup>2</sup>); o un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc)<sub>x</sub>(Doc.antígeno<sup>1</sup>)<sub>x</sub>(Coh.antígeno<sup>2</sup>)<sub>x</sub>; en los que x es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

La presente invención también incluye un ácido nucleico aislado que comprende un segmento codificante de un dominio específico de diana y uno o más dominios y una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina. Por ejemplo, la diana puede ser un antígeno y el dominio específico de diana puede codificar al menos una parte de un anticuerpo. El o los dominios pueden codificar uno o más dominios de cohesina, uno o más dominios de dockerina o una combinación de uno o más dominios de cohesina y dockerina. El rAb se define adicionalmente como: un

rAb.Doc; un rAb.Coh; un rAb.(Coh)<sub>x</sub>; un rAb.(Doc)<sub>x</sub>; un rAb.(Coh.Doc)<sub>x</sub>; o un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc)<sub>x</sub>; en los que x es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

La presente invención también incluye un vector que incluye un ácido nucleico que codifica un dominio específico de antígeno y uno o más dominios que comprenden una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina, una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina con una molécula proteica para transportar y combinaciones de los mismos. La mitad de un par de unión de cohesina-dockerina, una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina con una molécula proteica para transportar y combinaciones de los mismos están bajo el control del mismo promotor, diferentes promotores, transcritos en línea, transcritos en direcciones opuestas.

La presente invención también incluye una célula hospedadora que comprende un vector que comprende un ácido nucleico codifica un dominio específico de antígeno y uno o más dominios y una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina.

Un método para preparar un vehículo de rAb modular combinando un dominio específico de antígeno unido con uno o más dominios de una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina. El rAb se define adicionalmente como: un rAb.Doc; un rAb.Coh; un rAb.(Coh)<sub>x</sub>; un rAb.(Doc)<sub>x</sub>; un rAb.(Coh.Doc)<sub>x</sub>; o un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc)<sub>x</sub>; en los que x es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los ejemplos del rAb forman complejo con una mitad complementaria de un par de cohesina:dockerina unido con un antígeno y se selecciona de: un rAb.Doc:Coh.antígeno; un rAb.Coh.Doc.antígeno; un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc.antígeno)<sub>x</sub>; un rAb.(Doc)<sub>x</sub>(Coh.antígeno)<sub>x</sub>; un rAb.(Coh.Doc)<sub>x</sub>(Doc.antígeno<sup>1</sup>)(Coh.antígeno<sup>2</sup>); o un rAb.(Coh)<sub>x</sub>(Doc)<sub>x</sub>(Doc.antígeno<sup>1</sup>)<sub>x</sub>(Coh.antígeno<sup>2</sup>)<sub>x</sub>; en los que x es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

#### Breve descripción de los dibujos

Para un entendimiento más completo de las características y ventajas de la presente invención, se hace referencia ahora a la descripción detallada de la invención junto con las figuras adjuntas y en las que:

La FIGURA 1 compara la técnica anterior (parte superior) con un ejemplo de los múltiples antígenos diana en un complejo simultáneamente con el mismo mAAb humanizado obtenido por ingeniería genética (MATCHMAB) (parte inferior).

La FIGURA 2 muestra el uso de la presente invención para formar mAAb bi-específicos.

La FIGURA 3 muestra proteínas de rAb secretadas purificadas por afinidad por Proteína G analizadas por SDS.PAGE reductor y tinción con Azul Brillante de Coomassie. Los carriles son de izquierda a derecha.

Las FIGURAS 4A y 4B muestran la medición por ELISA anti-IgFc humano de los niveles de secreción de diversas proteínas de fusión con rAb.

La FIGURA 5 muestra la medición por ELISA anti-IgFc humano (actividad HRP) y unión con LOX-1.fosfatasa alcalina (actividad AP) de proteínas anti-LOX1\_15C4 rAb (símbolos azules) y anti-LOX1\_15C4.doc rAb (símbolos rojos).

La FIGURA 6 muestra que cuando se co-transfecta con un plásmido de expresión de mIgG kappa, el plásmido rAB-pCMV(mIgG2bH-Dockerina) dirige la secreción eficaz de la proteína de fusión rAB-mIgG2b.Dockerina.

Las FIGURAS 7A y 7B muestran que la coh.alcalina fosfatasa secretada (coh.AP) pero no AP se une eficazmente y específicamente con rAb.Doc inmovilizado en plástico.

Las FIGURAS 8A y 8B muestran diversas diluciones de un sobrenadante que contiene G.AP secretada unida a mIgG2a y mIgG2b inmovilizados, pero no rAb.doc, mientras que coh.AP se unió a rAb.doc específicamente.

La FIGURA 9 muestra la estabilidad diferencial de complejos entre una cantidad fija de proG.AP o coh.AP o coh2.AP (0,1 µg) y mIgG2b o rAb.doc inmovilizado (0,25 µg) ensamblado por incubación durante 1 h en una placa de microtitulación.

La FIGURA 10 muestra la estabilidad diferencial en suero humano de complejos entre una cantidad fija de proG.AP o coh.AP (0,1 µg) y mIgG2b o rAb.doc inmovilizado (0,25 µg) se ensamblaron por incubación durante 1 h en una placa de microtitulación.

La FIGURA 11 es un gel que muestra el análisis de SDS.PAGE reducido frente a no reducido de complejos de rAb.doc:Coh2.AP producidos por aplicación secuencial de sobrenadante de rAb.doc y sobrenadante de coh.AP a la misma columna de afinidad por proteína G.

La FIGURA 12 es un análisis de SDS.PAGE no reducido de complejos de rAb.doc:Coh.Flu HA5-1 producidos por aplicación secuencial de sobrenadante de rAb.doc y sobrenadante de coh.Flu HA5-1 a la misma columna de

afinidad por proteína G.

La FIGURA 13 muestra que el complejo anti-DC\_rAb.doc:coh.Flu M1 formado mezclando los componentes purificados individuales fue eficaz *in vitro* en la expansión de linfocitos T específicos de Flu M1.

La FIGURA 14 muestra que los complejos Anti-DC\_rAb.doc:coh.Flu M1 pero no mIgG2b.doc:coh.Flu M1 formados mezclando los componentes purificados individuales fueron eficaces *in vitro* en la expansión de linfocitos T específicos de Flu M1.

La FIGURA 15 muestra que se clasificaron DC humanas CD34+ en subtipos CD1a+ y CD 14+ y se cultivaron con y sin Anti-DC\_rAb.Flu M1 PEP o Anti-DC\_rAb 3 nM.

La FIGURA 16 muestra que se cultivaron *E. coli* que albergaban plásmidos de expresión que dirigían la síntesis de proteínas coh.pep y se indujo en ellas la producción de proteínas específicas. Las células se recogieron y se degradaron por sonicación.

La FIGURA 17 muestra que el DCIR.Doc rAb solo no tuvo ningún efecto sobre la supervivencia de DC, pero DC-SIGN/L.Doc rAb potencia su supervivencia.

La FIGURA 18 muestra que Coh.PE38 por sí solo aumenta ligeramente el número de células apoptóticas con puntuación de 7-AAD (de 22,1-29,8 %), pero cuando se une con DCIR o DC-SIGN/L.Doc rAb, Coh.PE38 potenció en gran medida el número de células apoptóticas con puntuación de 7-AAD.

La FIGURA 19 muestra la expresión de anti-DC-SIGN/L y Anti-DC-ASPGR rAb.Coh y rAb.Doc se secretaban eficazmente.

La FIGURA 20 muestra el efecto de IL-21 y Coh.IL-21 en la proliferación de linfocitos B humanos.

#### Descripción detallada de la invención

Para facilitar el entendimiento de la presente invención, se definen a continuación varios términos. Los términos definidos en el presente documento tienen significados como se entienden habitualmente por un experto en la materia en las áreas relevantes para la presente invención. No se pretende que términos tales como “un” y “el” se refieran solamente a una entidad singular, sino que incluyan la clase general de la que puede usarse un ejemplo específico para ilustración. La terminología en el presente documento se usa para describir realizaciones específicas de la invención, pero su uso no delimita la invención, excepto como se indica en las reivindicaciones.

En la actualidad, la tecnología de ingeniería proteica permiten la adición fácil y controlada de un antígeno (o antígenos diferentes a una de las cadenas) de un mAb recombinante (H o L, habitualmente se usa con frecuencia el extremo C terminal de H). Si es necesario unir diferentes antígenos o diferentes conjuntos de antígenos al mAb, entonces es necesario que el mAb se modifique de nuevo por ingeniería genética, se exprese y se purifique como una entidad diferente.

Se proporciona para la formación de complejos de múltiples antígenos o proteínas (obtenidos por ingeniería genética, expresadas y purificadas independientemente del mAb primario) de una manera controlada, multivariable, a un único mAb recombinante primario. En la actualidad, existen métodos para modificar por ingeniería genética sitios de biotinylation específicos de sitio que posibilita la adición de diferentes proteínas (cada una obtenida por ingeniería genética unida por separado a estreptavidina) al mAb primario. Sin embargo, la presente invención posibilita la adición al mAb de múltiples combinaciones, en relaciones equimolares y localizaciones fijas, de proteínas obtenidas por ingeniería genética por separado.

Como se usa en el presente documento, la expresión “vehículo de rAb modular” se usa para describir un sistema de anticuerpo recombinante que se ha modificado por ingeniería genética para proporcionar la adición modular controlada de diversos antígenos, proteínas activadoras u otros anticuerpos a un único anticuerpo monoclonal recombinante (mAb). El rAb puede ser un anticuerpo monoclonal preparado usando técnicas de hibridomas convencionales, presentación de anticuerpos recombinantes, anticuerpos monoclonales humanizados y similares. El vehículo del rAb modular puede usarse, por ejemplo, para dirigir (mediante un anticuerpo recombinante primario contra un receptor internalizador, por ejemplo, un receptor de células dendríticas humano) múltiples antígenos y/o antígenos y una citocina activadora a células dendríticas (DC). El vehículo del rAb modular también puede usarse para unir dos mAb recombinantes diferentes extremo con extremo de una manera controlada y definida.

La parte de unión a antígeno del “vehículo de rAb modular” puede ser uno o más dominios variables, uno o más dominios variables y el primero constante, un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab)<sub>2</sub>, y un fragmento Fv y fragmento Fabc y/o un fragmento Fab con partes del dominio Fc al que se añaden las partes de unión modulares afines a la secuencia de aminoácidos y/o se unen. El anticuerpo para su uso en el vehículo de rAb modular puede ser de cualquier isotipo o clase, subclase o de cualquier fuente (animal y/o recombinante).

5 En un ejemplo no limitante, el vehículo del rAb modular se modifica por ingeniería genética para que tenga uno o más dominios de proteína de cohesina-dockerina modulares para preparar complejos proteicos específicos y definidos en el contexto de mAb recombinantes modificados por ingeniería genética. El mAb es una parte de una proteína de fusión que incluye uno o más dominios de proteína cohesina-dockerina modulares en posición carboxilo con respecto a los dominios de unión a antígeno del mAb. Los dominios de proteínas cohesina-dockerina pueden incluso unirse postraduccionalmente, por ejemplo, usando agentes de entrecruzamiento químicos y/o enlace por disulfuro.

10 El vehículo del rAb modular se usará para transportar una molécula separada, por ejemplo, un péptido, proteína, lípido, carbohidrato, ácido nucleico (oligonucleótido, aptámero, vector con o sin modificaciones de bases o de cadena principal) o combinaciones de los mismos uniendo esa molécula separada con la mitad complementaria del par de cohesina:dockerina. Por ejemplo, bien la dockerina o bien la cohesina puede prepararse en una proteína de fusión o unirse químicamente a un antígeno, un péptido, una proteína, una toxina, una citocina, una enzima, una proteína estructural, una proteína de matriz extracelular, otro anticuerpo, una célula o fragmentos de los mismos. El vehículo de rAb modular puede tener uno o más dominios de cohesina, dockerina o tanto cohesina como dockerina que permite la formación de un complejo con una o más moléculas de cohesina/dockerina complementarias para suministro mediante el dominio de reconocimiento de antígenos del vehículo de rAb modular.

20 El término "antígeno" como se usa en el presente documento se refiere a una molécula que puede iniciar una respuesta inmunitaria humoral y/o celular en un receptor del antígeno. El antígeno puede usarse en dos contextos diferentes con la presente invención: como una diana para el anticuerpo u otro dominio de reconocimiento de antígenos del rAb o como la molécula que se transporta a y/o en una célula o diana por el rAb como parte de un complemento de molécula de dockerina/cohesina para el vehículo del rAb modular. El antígeno es habitualmente un agente que provoca una enfermedad para la que sería un tratamiento ventajoso una vacunación. Cuando el antígeno se presenta en MHC, el péptido es con frecuencia de aproximadamente 8 a aproximadamente 25 aminoácidos. Los antígenos incluyen cualquier tipo de molécula biológica, incluyendo, por ejemplo, metabolitos intermediarios sencillos, azúcares, lípidos y hormonas así como macromoléculas tales como carbohidratos complejos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas. Las categorías habituales de antígenos incluyen, pero sin limitación, antígenos virales, antígenos bacterianos, antígenos fúngicos, antígenos protozoarios y otros parasitarios, antígenos tumorales, antígenos implicados en enfermedad autoinmunitaria, alergia y rechazo de injertos y otros antígenos misceláneos.

35 El vehículo de rAb modular es capaz de portar cualquier número de agentes activos, por ejemplo, antibióticos, agentes antiinfecciosos, agentes antivirales, agentes antitumorales, antipiréticos, analgésicos, agentes antiinflamatorios, agentes terapéuticos para osteoporosis, enzimas, citocinas, anticoagulantes, polisacáridos, colágenos, células y combinaciones de dos o más de los agentes activos anteriores. Los ejemplos de antibióticos para suministrar usando la presente invención incluyen, sin limitación, tetraciclina, aminoglucósidos, penicilinas, cefalosporinas, fármacos de sulfonamida, succinato sódico de cloranfenicol, eritromicina, vancomicina, lincomicina, clindamicina, nistatina, anfotericina B, amantidina, idoxuridina, ácido *p*-amino salicílico, isoniazida, rifampina, antinomocina D, mitramicina, daunomicina, adriamicina, bleomicina, vinblastina, vincristina, procarbazona, imidazol carboxamida, y similares.

40 Los ejemplos de agentes antitumorales para suministro usando la presente invención incluyen, sin limitación, doxorubicina, Daunorubicina, taxol, metotrexato y similares. Los ejemplos de antipiréticos y analgésicos incluyen aspirina, Motrin®, Ibuprofeno®, naprosina, acetaminofén y similares.

Los ejemplos de agentes antiinflamatorios para suministro usando la presente invención incluyen, sin limitación, AINE, aspirina, esteroides, dexametasona, hidrocortisona, prednisolona, Diclofenaco Na y similares.

50 Los ejemplos de agentes terapéuticos para tratar la osteoporosis y otros factores que actúan en el hueso y esqueleto para suministro usando la presente invención, incluyen, sin limitación, calcio, alendronato, péptido GLa del hueso, hormona paratiroidea y sus fragmentos activos, péptido de formación y proliferación de hueso relacionado con histona H4 y mutaciones y derivados y análogos de los mismos.

55 Los ejemplos de agentes de enzimas y co-factores enzimáticos para suministro usando la presente invención incluyen, sin limitación, pancreasa, L-asparaginasa, hialuronidasa, quimotripsina, tripsina, tPA, estreptoquinasa, uroquinasa, pancreatina, colagenasa, tripsinógeno, quimotripsinógeno, plasminógeno, estreptoquinasa, adenil ciclasa, superóxido dismutasa (SOD), y similares.

60 Los ejemplos de citocinas para suministro usando la presente invención incluyen, sin limitación, interleucinas, factores de crecimiento transformante (TGF), factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), factores de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factores de crecimiento epidérmico (EGF), péptidos activados por tejido conectivo (CTAP), factores osteogénicos y análogos biológicamente activos, fragmentos y derivados de dichos factores de crecimiento. Las citocinas pueden ser factores de diferenciación de linfocitos B/T, factores de crecimiento de linfocitos B/T, citocinas mitógenas, citocinas quimiotácticas, factores estimulantes de colonias, factores de angiogénesis, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12, IL13, IL14, IL15, IL16,

IL17, IL18, etc., leptina, miostatina, proteína estimulante de macrófagos, factor de crecimiento derivado de plaquetas, TFN- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , NGF, CD40L, CD137L/4-1BBL, linfotóxina humana- $\beta$ , G-CSF, M-CSF, GM-CSF, PDGF, IL-1 $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IP-10, PF4, GRO, 9E3, eritropoyetina, endostatina, angiostatina, VEGF o cualquier fragmento o combinaciones de los mismos. Otras citocinas incluyen miembros de la familia supergénica del factor de crecimiento transformante (TGF) incluyendo los factores de crecimiento transformante beta (por ejemplo, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3); proteínas morfogenéticas del hueso (por ejemplo, BMP-1, BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-8, BMP-9); factores de crecimiento de unión a heparina (por ejemplo, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de tipo insulina (IGF)); Inhibinas (por ejemplo, Inhibina A, Inhibina B); factores de diferenciación del crecimiento (por ejemplo, GDF-1); y Activinas (por ejemplo, Activina A, Activina B, Activina AB).

Los ejemplos de factores de crecimiento para suministro usando la presente invención incluyen, sin limitación, factores de crecimiento que pueden aislarse de fuentes nativas o naturales, tales como de células de mamífero, o pueden prepararse de forma sintética, tal como por técnicas de ADN recombinante o por diversos procesos químicos. Además, pueden usarse análogos, fragmentos o derivados de estos factores siempre que muestren al menos algo de la actividad biológica de la molécula nativa. Por ejemplo, pueden prepararse análogos por expresión de genes alterados por mutagénesis específica u otras técnicas de ingeniería genética.

Los ejemplos de anticoagulantes para suministro usando la presente invención incluyen, sin limitación, warfarina, heparina, Hirudina y similares. Los ejemplos de factores que actúan en el sistema inmunitario incluyen para suministro usando la presente invención incluyendo, sin limitación, factores que controlan la inflamación y neoplasias malignas y factores que atacan a microorganismos infecciosos, tales como péptidos quimiotácticos y bradiquininas.

Los ejemplos de antígenos virales y/o dianas antigénicas virales incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, antígenos retrovirales tales como antígenos retrovirales de los antígenos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tales como productos génicos de los genes gag, pol y env, la proteína Nef, transcriptasa inversa y otros componentes de VIH; antígenos virales de hepatitis tales como las proteínas S, M y L del virus de la hepatitis B, el antígeno pre-S del virus de la hepatitis B y otros componentes virales de la hepatitis, por ejemplo, hepatitis A, B y C, tales como ARN viral de la hepatitis C; antígenos virales de la gripe tales como hemaglutinina y neuramidasa y otros componentes virales de la gripe; antígenos virales del sarampión tales como la proteína de fusión del virus del sarampión y otros componentes del virus del sarampión; antígenos virales de la rubéola tales como proteínas E1 y E2 y otros componentes del virus de la rubéola; antígenos rotavirales tales como VP7sc y otros componentes rotavirales; antígenos citomegalovirales tales como glucoproteína de envoltura B y otros componentes antigénicos citomegalovirales; antígenos de virus sincitial respiratorio tales como la proteína de fusión de VSR, la proteína M2 y otros componentes de antígenos del virus sincitial respiratorio; antígenos del virus del herpes simple tales como proteínas tempranas inmediatas, glucoproteína D, y otros componentes antigénicos virales del herpes simple; antígenos virales de la varicela zoster tales como gpl, gpII y otros componentes antigénicos virales de la varicela zoster; antígenos virales de la encefalitis japonesa tales como proteínas E, M-E, M-E-NS1, NS1, NS1-NS2A, E 80 % y otros componentes antigénicos virales de la encefalitis japonesa; antígenos virales de la rabia tales como glucoproteína de la rabia, nucleoproteína de la rabia y otros componentes antigénicos virales de la rabia. Véase Fundamental Virology, Segunda Edición, eds. Fields, B. N. y Knipe, D. M. (Raven Press, Nueva York, 1991) para ejemplos adicionales de antígenos virales.

Los antígenos y/o dianas antigénicas que pueden suministrarse usando las vacunas de rAb-DC/DC-antígeno de la presente invención incluyen genes que codifican antígenos tales como antígenos virales, antígenos bacterianos, antígenos fúngicos o antígenos parasitarios. Los virus incluyen picornavirus, coronavirus, togavirus, flavivirus, rhabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus, bunyavirus, arenavirus, reovirus, retrovirus, papilomavirus, parvovirus, herpesvirus, poxvirus, hepadnavirus y virus espongiiforme. Otras dianas virales incluyen gripe, virus del herpes simple 1 y 2, sarampión, dengue, viruela, polio o VIH. Los patógenos incluyen tripanosomas, cestodos, anélidos, helmintos, malaria. Pueden marcarse como objetivos de esta manera marcadores tumorales, tales como antígeno fetal o antígeno específico de próstata. Otros ejemplos incluyen: proteínas env del VIH y antígeno de superficie de hepatitis B. La administración de un vector de acuerdo con la presente invención para fines de vacunación requeriría que los antígenos asociados al vector fueran suficientemente no inmunogénicos para permitir una expresión a largo plazo del transgén, para lo que se desearía una respuesta inmunitaria fuerte. En algunos casos, la vacunación de un individuo puede requerirse solamente de forma infrecuente, tal como anual o bienalmente, y proporcionar protección inmunológica a largo plazo contra el agente infeccioso. Pueden encontrarse ejemplos específicos de organismos, alérgenos y secuencias de ácidos nucleicos y de aminoácidos para uso en vectores y en última instancia como antígenos con la presente invención la Patente de Estados Unidos N° 6.541.011, en particular, las tablas que emparejan organismos y secuencias específicas que pueden usarse con la presente invención.

Los antígenos bacterianos para su uso con la vacuna de rAb desvelada en el presente documento incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, antígenos bacterianos tales como toxina de pertussis, hemaglutinina filamentosa, pertactina, FIM2, FIM3, adenilato ciclasa y otros componentes de antígenos bacterianos de pertussis; antígenos bacterianos de difteria tales como toxina o toxoide diftérico y otros componentes de antígenos bacterianos de difteria; antígenos bacterianos del tétanos tales como toxina o toxoide del tétanos y otros componentes antigénicos bacterianos del tétanos; antígenos bacterianos estreptocócicos tales como proteínas M y otros componentes antigénicos bacterianos

estreptocócicos; antígenos bacterianos de bacilos gram negativos tales como lipopolisacáridos y otros componentes antigénicos bacterianos gram negativos, antígenos bacterianos de *Mycobacterium tuberculosis* tales como ácido micólico, proteína de choque térmico 65 (HSP65), la proteína secretada mayor de 30 kDa, antígeno 85A y otros componentes antigénicos micobacterianos; componentes antigénicos bacterianos de *Helicobacter pylori*; antígenos bacterianos neumocócicos tales como pneumolisina, polisacáridos capsulares neumocócicos y otros componentes antigénicos bacterianos neumocócicos; antígenos bacterianos de *Haemophilus influenzae* tales como polisacáridos capsulares y otros componentes antigénicos bacterianos de *Haemophilus influenzae*; antígenos bacterianos de carbunco, tales como antígeno protector de carbunco y otros componentes antigénicos bacterianos de carbunco; antígenos bacterianos de rickettsias tales como rompA y otros componentes antigénicos bacterianos de rickettsias.

También se incluyen con los antígenos bacterianos descritos en el presente documento cualquier otro antígeno bacteriano, micobacteriano, micoplásmico, de rickettsia o clamidia. Los patógenos parciales o completos también pueden ser: *Haemophilus influenzae*; *Plasmodium falciparum*; *Neisseria meningitidis*; *Streptococcus pneumoniae*; *Neisseria gonorrhoeae*; *Salmonella* serotipo typhi; *Shigella*; *Vibrio cholerae*; Fiebre Dengue; Encefalitis; Encefalitis Japonesa; enfermedad de Lyme; *Yersinia pestis*; virus del Nilo occidental; fiebre amarilla; tularemia; hepatitis (viral; bacteriana); VSR (virus sincitial respiratorio); HPIV 1 y HPIV 3; adenovirus; viruela; alergias y cánceres.

Los antígenos fúngicos para uso con composiciones y métodos de la invención incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, componentes antigénicos fúngicos de candida; antígenos fúngicos de histoplasma tales como proteína de choque térmico 60 (HSP60) y otros componentes antigénicos fúngicos de histoplasma; antígenos fúngicos criptocócicos, tales como polisacáridos capsulares y otros componentes antigénicos fúngicos criptocócicos; antígenos fúngicos de coccidioides tales como antígenos de esférulas y otros componentes antigénicos fúngicos de coccidioides; y antígenos fúngicos de tinia tales como tricofitina y otros componentes antigénicos fúngicos de coccidioides.

Los ejemplos de antígenos protozoarios y otros parásitos incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, antígenos de *Plasmodium falciparum*, tales como antígenos de superficie de merozoito, antígenos de superficie de esperozoito, antígenos de circumsporozoito, antígenos de superficie de gametocito/gameto, antígeno de estadio sanguíneo pf 155/RESA y otros componentes antigénicos de plasmodios; antígenos de toxoplasma tales como SAG-1, p30 y otros componentes antigénicos de toxoplasma; antígenos de esquistosomas tales como glutatión-S-transferasa, paramiosina, y otros componentes antigénicos de esquistosomas; *Leishmania major* y otros antígenos de leishmanias tales como gp63, lipofosfoglucono y su proteína asociada y otros componentes antigénicos de leishmania; y antígenos de *Trypanosoma cruzi* tales como el antígeno de 75-77 kDa, el antígeno de 56 kDa y otros componentes antigénicos de tripanosomas.

Los antígenos diana en superficies celulares inmunitarias que pueden marcarse como objetivo usando el sitio de reconocimiento de antígenos de la parte de anticuerpo del rAb de la presente invención generalmente se seleccionarán basándose en varios factores, incluyendo: probabilidad de internalización, nivel de especificidad celular inmunitaria, tipo de célula inmunitaria diana, nivel de la madurez de la célula inmunitaria y/o activación y similares. Los ejemplos de marcadores de superficie celular para células dendríticas incluyen, pero sin limitación, MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD 19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN- $\gamma$  y receptor de IL-2, ICAM-1, receptor de Fc $\gamma$  u otro receptor expresado de forma relativamente específica por células presentadoras de antígenos. Los ejemplos de marcadores de superficie celular para células presentadoras de antígenos incluyen, pero sin limitación, MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD 19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN- $\gamma$  y receptor de IL-2, ICAM-1, receptor de Fc $\gamma$  u otro receptor expresado de forma relativamente específica por células presentadoras de antígenos. Los ejemplos de marcadores de superficie celular para linfocitos T incluyen, pero sin limitación, CD3, CD4, CD8, CD 14, CD20, CD11b, CD16, CD45 y HLA-DR.

Los antígenos diana en superficies celulares para suministro incluyen los característicos de antígenos tumorales que típicamente derivarán de la superficie celular, citoplasma, núcleo, orgánulos y similares de células de tejido tumoral. Los ejemplos de dianas tumorales para la parte de anticuerpo de la presente invención incluyen, sin limitación, cánceres hematológicos, tales como leucemias y linfomas, tumores neurológicos tales como astrocitomas o glioblastomas, melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, tumores gastrointestinales tales como cáncer gástrico o de colon, cáncer de hígado, cáncer pancreático, tumores genitourinarios tales como cáncer de cuello uterino, útero, ovario, cáncer vaginal, cáncer testicular, cáncer de próstata o cáncer penil, tumores del hueso, tumores vasculares o cánceres del labio, nasofaringe, faringe y cavidad oral, esófago, recto, vesícula biliar, árbol biliar, laringe, pulmón y bronquios, vejiga, riñón, cerebro y otras partes del sistema nervioso, tiroides, enfermedad de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, mieloma múltiple y leucemia.

Los ejemplos de antígenos que pueden suministrarse solos o en combinación a células inmunitarias para presentación de antígenos usando la presente invención incluyen proteínas tumorales, por ejemplo, oncogenes mutados; proteínas virales asociadas con tumores; y mucinas tumorales y glucolípidos. Los antígenos pueden ser



proteínas virales asociadas con tumores que serían de las clases de virus indicadas anteriormente. Ciertos antígenos pueden ser característicos de tumores (siendo un subconjunto proteínas no expresadas habitualmente por una célula precursora tumoral), o puede ser una proteína que se exprese normalmente en una célula precursora tumoral, pero que tenga una mutación característica de un tumor. Otros antígenos incluyen una variante o variantes mutantes de la proteína normal que tiene una actividad o distribución celular alterada, por ejemplo, mutaciones de genes que dan lugar a antígenos tumorales.

Los ejemplos no limitantes específicos de antígenos tumorales incluyen: CEA, antígeno específico de próstata (PSA), HER-2/neu, BAGE, GAGE, MAGE 1-4, 6 y 12, MUC (Mucina) (por ejemplo, MUC-1, MUC-2, etc.), GM2 y gangliósidos GD2, ras, myc, tirosinasa, MART (antígeno de melanoma), Pmel 17 (gp100), secuencia del intrón V Gnt-V (secuencia del intrón V de *N*-acetilglucoamiltransferasa V), Ca psm de próstata, PRAME (antígeno de melanoma),  $\beta$ -catenina, MUM-1-B (producto génico mutado ubicuo en melanoma), GAGE (antígeno de melanoma) 1, BAGE (antígeno de melanoma) 2-10, c-ERB2 (Her2/neu), EBNA (antígeno nuclear del Virus de Epstein-Barr Virus) 1-6, gp75, virus del papiloma humano (VPH) E6 y E7, p53, proteína de resistencia del pulmón (LRP), Bcl-2, y Ki-67. Además, la molécula inmunogénica puede ser un autoantígeno implicado en el inicio y/o propagación de una enfermedad autoinmunitaria, cuya patología se debe en gran medida a la actividad de anticuerpos específicos para una molécula expresada por el órgano, tejido o células diana relevantes, por ejemplo, SLE o MG. En dichas enfermedades, puede ser deseable dirigir una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpo continuada, (es decir, un tipo Th2) al autoantígeno relevante para una respuesta inmunitaria celular (es decir, un tipo Th1). Como alternativa, puede ser deseable evitar la aparición de o reducir el nivel de una respuesta de Th2 al autoantígeno en un sujeto que no tenga, pero que se sospeche que sea susceptible de, la enfermedad autoinmunitaria relevante induciendo de forma profiláctica una respuesta Th1 al autoantígeno apropiado. Los autoantígenos de interés incluyen, sin limitación: (a) con respecto a SLE, la proteína Smith, ribonucleoproteína RNP y las proteínas SS-A y SS-B; y (b) con respecto a MG, el receptor de acetilcolina. Los ejemplos de otros antígenos misceláneos implicados en uno o más tipos de respuesta autoinmunitaria incluyen, por ejemplo, hormonas endógenas tales como hormona luteinizante, hormona folículo estimulante, testosterona, hormona del crecimiento, prolactina y otras hormonas.

Los antígenos implicados en enfermedades autoinmunitarias, alergia y rechazo de injertos pueden usarse en las composiciones y métodos de la invención. Por ejemplo, un antígeno implicado en una cualquiera o más de las siguientes enfermedades o trastornos puede usarse en la presente invención: diabetes, diabetes mellitus, artritis (incluyendo artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis, artritis psoriásica), esclerosis múltiple, miastenia grave, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis autoinmunitaria, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica y dermatitis eccematosa), psoriasis, Síndrome de Sjogren, incluyendo queratoconjuntivitis seca secundaria de Síndrome de Sjogren, alopecia areata, respuestas alérgicas debidas a reacciones a mordedura de artrópodos, enfermedad de Crohn, úlcera aftosa, iritis, conjuntivitis, queratoconjuntivitis, colitis ulcerosa, asma, asma alérgica, enfermedad de Crohn, úlcera aftosa, iritis, conjuntivitis, queratoconjuntivitis, colitis ulcerosa, asma, asma alérgica, lupus eritematoso cutáneo, esclerodermia, vaginitis, proctitis, erupciones por fármaco, reacciones de inversión de lepra, eritema nodoso leproso, uveítis autoinmunitaria, encefalomielitis alérgica, encefalopatía hemorrágica necrotizante aguda, pérdida de audición sensoroneuronal progresiva bilateral idiopática, anemia aplásica, anemia de glóbulos rojos pura, trombocitopenia idiopática, policondritis, granulomatosis de Wegener, hepatitis activa crónica, síndrome de Stevens-Johnson, esprúe idiopático, liquen plano, enfermedad de Crohn, oftalmopatía de Graves, sarcoidosis, cirrosis biliar primaria, uveítis posterior y fibrosis pulmonar intersticial. Los ejemplos de antígenos implicados en enfermedad autoinmunitaria incluyen ácido glutámico descarboxilasa 65 (GAD 65), ADN nativo, proteína básica de mielina, proteína proteolípídica de mielina, componentes de receptor de acetilcolina, tiroglobulina y el receptor de la hormona estimulante de tiroides (TSH). Los ejemplos de antígenos implicados en la alergia incluyen antígenos de polen tales como antígeno de polen de cedro japonés, antígenos de polen de ambrosía, antígenos de polen de ballico, antígenos derivados de animales tales como antígenos de ácaros del polvo y antígenos felinos, antígenos de histocompatibilidad y penicilina y otros fármacos terapéuticos. Los ejemplos de antígenos implicados en el rechazo de injerto incluyen componentes antigénicos del injerto para trasplantar al receptor del injerto tales como componentes del injerto de corazón, pulmón, hígado, páncreas, riñón y neural. El antígeno puede ser un ligando peptídico alterado útil en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria.

Como se usa en el presente documento, la expresión "epítipo o epítipos" se refiere a un antígeno peptídico o proteico que incluye una estructura primaria, secundaria o terciaria similar a un epítipo localizado dentro de cualquiera de varios polipéptidos patógenos codificados por el ADN o ARN patógeno. El nivel de similitud generalmente será hasta tal grado que los anticuerpos monoclonales o policlonales dirigidos contra dichos polipéptidos también se unirán con, reaccionarán con, o reconocerán de otro modo, el antígeno peptídico o proteico. Pueden emplearse diversos métodos de inmunoensayo junto con dichos anticuerpos, tales como, por ejemplo, transferencia de Western, ELISA, RIA y similares, todos los cuales se conocen por los expertos en la materia. La identificación de epítipos patógenos, adecuados para su uso en vacunas es parte de la presente invención. Por ejemplo, se pueden emplear los métodos de Hopp, como se enseña en la Patente de Estados Unidos N° 4.554.101, que enseña la identificación y preparación de epítipos de secuencias de aminoácidos basándose en la hidrofilia. Los métodos descritos en varios otros artículos y programas de software basados en los mismos, también pueden usarse para identificar secuencias de núcleo epitópicas (véase, por ejemplo, Jameson y Wolf, 1988; Wolf *et al.*, 1988; Patente de Estados Unidos N° 4.554.101). La secuencia de aminoácidos de estas "secuencias de núcleo epitópicas" puede incorporarse después fácilmente en péptidos, bien mediante la aplicación de síntesis peptídica o bien mediante tecnología recombinante.

Como se usa en el presente documento, el término “promotor” describe una secuencia de control que es una región de una secuencia de ácido nucleico en la que se controlan el inicio y la velocidad de transcripción. Puede contener elementos genéticos en los que pueden unirse proteínas reguladoras y moléculas tales como ARN polimerasa y otros factores de transcripción. Las expresiones “situado operativamente”, “unido operativamente”, “bajo el control” y “bajo el control transcripcional” significan que un promotor está en una localización y/u orientación funcional correcta en relación con una secuencia de ácido nucleico (es decir, ORF) para controlar el inicio de la transcripción y/o la expresión de esa secuencia. Un promotor puede usarse o no junto con un “potenciador”, que se refiere a una secuencia reguladora de acción en cis implicada en la activación de la transcripción de una secuencia de ácido nucleico. Se describe un listado de promotores y/o potenciadores que pueden usarse con la presente invención en, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 6.410.241.

Como se usa en el presente documento, las expresiones “célula”, “línea celular” y “cultivo celular” pueden usarse de forma intercambiable. Todas estas expresiones también incluyen su descendencia, que es todas y cada una de las generaciones posteriores *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*. Se entiende que toda la descendencia puede no ser idéntica debido a mutaciones deliberadas o involuntarias. En el contexto de la expresión de una secuencia de ácido nucleico heteróloga, “célula hospedadora” se refiere a una célula procarionota o eucariota, e incluye cualquier organismo transformable que sea capaz de expresar un gen heterólogo codificado por un vector suministrado usando el vector de proteína rAb de la presente invención. Una célula hospedadora puede usarse, y se ha usado, como un receptor para vectores. Una célula hospedadora puede “transfectarse” o “transformarse”, lo que se refiere a un proceso por el que el ácido nucleico exógeno que expresa un antígeno, como se desvela en el presente documento, se transfiere o se introduce en la célula hospedadora. Una célula transformada incluye la célula objeto primaria y su descendencia.

La preparación de composiciones de vacuna que incluye los ácidos nucleicos que codifican antígenos de la invención como el principio activo, pueden prepararse como inyectables, bien como soluciones o suspensiones líquidas; también pueden prepararse formas sólidas adecuadas para solución en, o suspensión en, líquido antes de su infección. La preparación puede ser emulsionada, encapsulada en liposomas. Los principios activos inmunogénicos se mezclan con frecuencia con vehículos que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el principio activo.

La expresión “vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a un vehículo que no provoca una reacción alérgica u otro efecto adverso en los sujetos a los que se administra. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, por ejemplo, uno o más de agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol o similares y combinaciones de los mismos. Además, si se desea, la vacuna puede contener cantidades menores de sustancias adyuvantes tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponantes de pH, y/o adyuvantes que potencian la eficacia de la vacuna. Los ejemplos de adyuvantes que pueden ser eficaces incluyen pero sin limitación: hidróxido de aluminio, *N*-acetil-muramil-*L*-treonil-*D*-isoglutamina (thr-MDP), *N*-acetil-nor-muramil-*L*-alanil-*D*-isoglutamina MTP-PE y RIBI, que contiene tres componentes extraídos de bacterias, monofosforil lípido A, dimicolato de trehalosa y esqueleto de pared celular (MPL+TDM+CWS) en una emulsión de escualeno 2 %/Tween 80. Otros ejemplos de adyuvantes incluyen DDA (bromuro de dimetildioctadecilamonio), adyuvantes completo e incompleto de Freund y QuilA. Además, pueden usarse sustancias inmunomoduladoras tales como linfocinas (por ejemplo, IFN- $\gamma$ , IL-2 e IL-2) o inductores de IFN- $\gamma$  sintéticos, tales como poli I:C en combinación con adyuvantes descritos en el presente documento.

Los productos farmacéuticos que pueden incluir un polinucleótido desnudo con una única o múltiples copias de las secuencias de nucleótidos específicas que se unen con sitios de unión a ADN específicos de las apolipoproteínas presentes en lipoproteínas del plasma como se describe en la presente invención. El polinucleótido puede codificar un péptido biológicamente activo, ARN antisentido o ribozima y se proporcionará en una forma administrable fisiológicamente aceptable. Otro producto farmacéutico que puede surgir de la presente invención puede incluir una fracción de lipoproteína en plasma altamente purificada, aislada de acuerdo con la metodología, descrita en el presente documento de la sangre de los pacientes u otra fuente, y un polinucleótido que contenga una única o múltiples copias de las secuencias de nucleótidos específicas que se unen con sitios de unión a ADN específicas de las apolipoproteínas presentes en lipoproteínas del plasma, preunidas a la fracción de lipoproteína purificada en una forma administrable fisiológicamente aceptable.

Otro producto farmacéutico más puede incluir una fracción lipoproteica de plasma altamente purificada que contiene fragmentos apolipoproteicos recombinantes que contienen copias individuales o múltiples de motivos de unión a ADN específicos, preunidos a un polinucleótido que contiene copias individuales o múltiples de las secuencias de nucleótidos específicas, en una forma administrable fisiológicamente aceptable. Otro producto farmacéutico más puede incluir una fracción de lipoproteína de plasma altamente purificada que contiene fragmentos de apolipoproteína recombinante que contienen copias individuales o múltiples de motivos de unión a ADN específicos, preunidos a un polinucleótido que contiene copias individuales o múltiples de las secuencias de nucleótidos específicas, en una forma administrable fisiológicamente aceptable.

La dosificación para administrar depende en gran medida del peso corporal y la condición física del sujeto que se trate así como la vía de administración y frecuencia del tratamiento. Una composición farmacéutica que incluye el polinucleótido desnudo preunido con una fracción de lipoproteína altamente purificada puede administrarse en

cantidades que varían de 1 µg a 1 mg de polinucleótido y 1 µg a 100 mg de proteína.

La administración de la partícula viral terapéutica a un paciente seguirá protocolos generales para la administración de productos quimioterapéuticos, teniendo en cuenta la toxicidad, si la hubiera, del vector. Se anticipa que los ciclos de tratamiento se repetirían según fuera necesario. También se contempla que diversas terapias convencionales, así como intervención quirúrgica, pueden aplicarse en combinación con la terapia génica descrita.

Cuando se contempla la aplicación clínica de una terapia génica, será necesario preparar el complejo como una composición farmacéutica apropiada para la aplicación pretendida. En general esto implicará preparar una composición farmacéutica que esté esencialmente sin pirógenos, así como cualquier otra impureza que pudiera ser perjudicial para seres humanos o animales. También se deseará en general emplear sales y tampones apropiados para hacer al complejo estable y permitir la captación compleja por células diana.

Las composiciones acuosas de la presente invención pueden incluir una cantidad eficaz del compuesto, disuelto o disperso en un vehículo o medio acuoso farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones también pueden denominarse inóculos. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional es incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. También pueden incorporarse principios activos complementarios a las composiciones. Las composiciones de la presente invención pueden incluir preparaciones farmacéuticas clásicas. También pueden prepararse dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones convencionales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

Patologías. Dependiendo de la enfermedad particular para tratar, la administración de composiciones terapéuticas de acuerdo con la presente invención será mediante cualquier vía habitual siempre que el tejido diana esté disponible por esa vía para maximizar el suministro del antígeno a un sitio para respuesta inmunitaria máxima (o en algunos casos mínima). La administración será en general por inyección ortotópica, intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa. Otras áreas para suministro incluyen: oral, nasal, bucal, rectal, vaginal o tópica. La administración tópica sería particularmente ventajosa para el tratamiento de cánceres cutáneos. Dichas composiciones normalmente se administrarían como composiciones farmacéuticamente aceptables que incluyen vehículos fisiológicamente aceptables, tampones u otros excipientes.

Las composiciones de vacuna o tratamiento de la invención pueden administrarse por vía parenteral, por inyección, por ejemplo, bien por vía subcutánea o bien por vía intramuscular. Las formulaciones adicionales que son adecuadas para otros modos de administración incluyen supositorios, y en algunos casos, formulaciones orales o formulaciones adecuadas para distribución como aerosoles. En el caso de las formulaciones orales, en la manipulación de subconjuntos de linfocitos T que emplean adyuvantes, empaquetamiento de antígenos o la adición de citocinas individuales a diversas formulaciones que dan como resultado vacunas orales mejoradas con respuestas inmunitarias optimizadas. Para supositorios, los aglutinantes y vehículos tradicionales pueden incluir, por ejemplo, polialquilenglicoles o triglicéridos; dichos supositorios pueden formarse a partir de mezclas que contienen el principio activo en el intervalo del 0,5 % al 10 %, preferentemente 1 %-2 %. Las formulaciones orales incluyen excipientes empleados habitualmente, tales como, por ejemplo, usos farmacéuticos de manitol, lactosa, estearato de magnesio de almidón, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio y similares. Estas composiciones toman la forma de soluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, formulaciones de liberación sostenida o polvos y contienen 10 %-95 % de principio activo, preferentemente 25-70 %.

Los ácidos nucleicos codificantes de antígenos de la invención pueden formularse en la vacuna o composiciones de tratamiento como formas neutras o salinas. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido (formado con grupos amino libres del péptido) y que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o con ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, maleico y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilos libres pueden también derivar de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, sodio, potasio, amonio, calcio o hidróxidos férricos, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína y similares.

Se administran composiciones de vacuna o tratamiento de una manera compatible con la formulación de dosificación, y en cantidad tal que sea profilácticamente y/o terapéuticamente eficaz. La cantidad para administrar depende del sujeto para tratar, incluyendo, por ejemplo, la capacidad del sistema inmunitario del sujeto para sintetizar anticuerpos y el grado de protección o tratamiento deseado. Los intervalos de dosificación adecuados son del orden de varios cientos de microgramos de principio activo por vacunación con un intervalo de aproximadamente 0,1 mg a 1000 mg, tal como en el intervalo de aproximadamente 1 mg a 300 mg, y preferentemente en el intervalo de aproximadamente 10 mg a 50 mg. Los regímenes adecuados para inyecciones de administración inicial y de refuerzo también son variables pero se tipifican por una administración inicial seguida de inoculaciones posteriores u otras administraciones. Las cantidades precisas de principio activo requeridas para administrar dependen del criterio del practicante y pueden ser peculiares para cada sujeto. Resultará evidente para los expertos en la materia que la cantidad terapéuticamente eficaz de molécula de ácido nucleico o polipéptidos de fusión de la presente invención dependerá, entre otros, del programa de administración, la dosis unitaria de antígeno administrado, si la molécula de

ácido nucleico o el polipéptido de fusión se administra en combinación con otros agentes terapéuticos, el estado inmunitario y salud del receptor, y la actividad terapéutica de la molécula de ácido nucleico particular o polipéptido de fusión.

5 Las composiciones pueden proporcionarse en un programa de dosis individual o en un programa de dosis múltiple. Un programa de dosis múltiple es uno en el que un ciclo primario de vacunación puede incluir, por ejemplo, 1-10 dosis separadas, seguido de otras dosis proporcionadas en intervalos temporales posteriores requeridos para mantener y/o reforzar la respuesta inmunitaria, por ejemplo, a los 1-4 meses para una segunda dosis y, si es necesario, una dosis o dosis posteriores después de varios meses. Son deseables refuerzos periódicos a intervalos  
10 de 1-5 años, habitualmente 3 años, para mantener los niveles deseados de inmunidad protectora. El ciclo de la inmunización puede seguirse por ensayos de proliferación *in vitro* de linfocitos de sangre periférica (PBL) cocultivados con ESAT6 o ST-CF y midiendo los niveles de IFN- $\gamma$  liberado de los linfocitos sensibilizados. Los ensayos pueden realizarse usando marcadores convencionales, tales como radionúclidos, enzimas, marcadores fluorescentes y similares. Estas técnicas se conocen por los expertos en la materia y pueden encontrarse en las Patentes de Estados Unidos N° 3.791.932, 4.174.384 y 3.949.064.

El vehículo de rAb modular y/o complejo de vehículo de rAb-(cohesina/dockerina y/o dockerina-cohesina)-antígeno conjugado (vacuna de rAb-DC/DC-antígeno) puede proporcionarse en una o más "dosis unitarias" dependiendo de si se usan los vectores de ácido nucleico, las proteínas purificadas finales o la forma de vacuna final. Se define que la dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de la composición terapéutica que se ha calculado que produce las respuestas deseadas en asociación con su administración, es decir, la vía y el régimen de tratamiento apropiados. La cantidad para administrar, y la vía y formulación particulares, está dentro de la experiencia de los expertos en la técnica clínica. El sujeto para tratar también puede evaluarse, en particular, el estado del sistema inmunitario del sujeto y la protección deseados. No es necesario administrar una dosis unitaria como una única inyección sino que puede incluir infusión continua durante un periodo de tiempo determinado. La dosis unitaria de la presente invención puede describirse convenientemente con respecto a ADN/kg (o proteína/kg) de peso corporal, administrándose a intervalos entre aproximadamente 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,5, 1, 10, 50, 100, 1.000 o más mg/ADN o proteína/kg de peso corporal. De forma similar la cantidad de vacuna de rAb-DC/DC-antígeno suministrada puede variar de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 8,0 mg/kg de peso corporal. Por lo tanto, en realizaciones particulares, pueden suministrarse 0,4 mg, 0,5 mg, 0,8 mg, 1,0 mg, 1,5 mg, 2,0 mg, 2,5 mg, 3,0 mg, 4,0 mg, 5,0 mg, 5,5 mg, 6,0 mg, 6,5 mg, 7,0 mg y 7,5 mg de la vacuna a un individuo *in vivo*. La dosificación de vacuna de rAb-DC/DC-antígeno para administrar depende en gran medida del peso y la condición física del sujeto que se trate así como la vía de administración y la frecuencia de tratamiento. Una composición farmacéutica que incluye un polinucleótido desnudo previamente unido a un vector de suministro liposómico o viral puede administrarse en cantidades que varían de 1  $\mu$ g a 1 mg de polinucleótido para 1  $\mu$ g a 100 mg de proteína. Por lo tanto, las composiciones particulares pueden incluir entre aproximadamente 1  $\mu$ g, 5  $\mu$ g, 10  $\mu$ g, 20  $\mu$ g, 30  $\mu$ g, 40  $\mu$ g, 50  $\mu$ g, 60  $\mu$ g, 70  $\mu$ g, 80  $\mu$ g, 100  $\mu$ g, 150  $\mu$ g, 200  $\mu$ g, 250  $\mu$ g, 500  $\mu$ g, 600  $\mu$ g, 700  $\mu$ g, 800  $\mu$ g, 900  $\mu$ g o 1.000  $\mu$ g de polinucleótido o proteína que se unen independientemente a 1  $\mu$ g, 5  $\mu$ g, 10  $\mu$ g, 20  $\mu$ g, 30  $\mu$ g, 40  $\mu$ g, 50  $\mu$ g, 60  $\mu$ g, 70  $\mu$ g, 80  $\mu$ g, 100  $\mu$ g, 150  $\mu$ g, 200  $\mu$ g, 250  $\mu$ g, 500  $\mu$ g, 600  $\mu$ g, 700  $\mu$ g, 800  $\mu$ g, 900  $\mu$ g, 1 mg, 1,5 mg, 5 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg o 100 mg de vector.

La presente invención se ensayó en un sistema celular *in vitro* que mide la estimulación inmunitaria de linfocitos T específicos de gripe humana por células dendríticas a las que se ha dirigido el antígeno de gripe. Los resultados mostrados en el presente documento demuestran la expansión específica de dichas células específicas de antígeno a dosis del antígeno que son en sí mismas ineficaces en este sistema.

La presente invención también puede usarse para preparar un vehículo de rAb modular que es, por ejemplo, un mAb humanizado recombinante (dirigido a un receptor de células dendríticas humanas específico) en complejo con antígenos protectores de ricina, toxina de carbunco y enterotoxina de *Staphylococcus* B. El mercado potencial para esta entidad es la vacunación de todo personal militar y vacuna almacenada conservada en reserva para administrar a grandes centros poblacionales en respuesta a cualquier amenaza biológica relacionada con estos agentes. La invención tiene una aplicación amplia para el diseño de vacunas en general, para uso tanto humano como animal. Son industrias de interés la farmacéutica y biotecnológica.

55 Una aplicación comercial de la invención es un mAb humanizado recombinante (dirigido al receptor de células dendríticas humanas específico DCIR) fusionado mediante la cadena pesada de Ab con antígenos que se sabe o que se sospecha que codifican antígenos protectores. Estos incluyen como ejemplos para vacunación contra diversos agentes, hemaglutininas de gripe H5N1; gag de VIH de toxinas atenuadas de ricina, toxina de carbunco y enterotoxina de *Staphylococcus* B; "cadena" de péptidos antigénicos de antígenos de melanoma, etc. El mercado potencial para esta entidad es la vacunación preventiva o terapéutica de personas infectadas o en riesgo. La invención tiene una aplicación amplia para vacunación contra muchas enfermedades y cánceres, para uso tanto humano como animal. Son industrias de interés la farmacéutica y biotecnológica. Además, la presente invención tiene implicaciones más allá de la aplicación anti-DCIR ya que describe un método para identificar secuencias particularmente favorables para potenciar la secreción de anticuerpos recombinantes.

65

La aplicación de regiones de combinación anti-DCIR para preparar anticuerpos monoclonales recombinantes modificados por ingeniería genética fusionados con antígenos como agentes de vacunación terapéuticos o preventivos potentes. Uso de diferentes secuencias de región V contra la misma especificidad de combinación para encontrar las más compatibles con la expresión eficaz de un antígeno unido a extremo C terminal de cadena H u otra secuencia proteica.

EJEMPLO 1. Múltiples Antígenos Diana en un Complejo simultáneamente con el mismo mAb humanizado obtenido por ingeniería genética (MATCHMAB).

Un tipo de entidad terapéutica (en este caso, vacunación) previsto es una proteína de fusión de DC-mAb de dirección-antígeno humanizada, en la que la especificidad de región variable de anticuerpo se dirige contra un receptor de células dendríticas humano de internalización. El presente estado de la técnica es obtener por ingeniería genética la fusión de un antígeno deseado con el extremo C terminal de la cadena H del mAb. Este paradigma permite obviamente que se obtengan por ingeniería genética antígenos (A1, A2, A3) para la misma cadena principal de mAb de dirección demostrada (Y en la figura posterior), extendiendo de este modo la utilidad del mAb para inmunizar contra diferentes agentes patógenos. Este concepto puede extenderse adicionalmente modificando por ingeniería genética, por ejemplo, la regiones codificantes A1, A2, A3 fusionadas extremo con extremo con la región codificante C terminal de IgGFc.

La presente invención describe un nuevo paradigma para unir el antígeno del mAb de dirección que extiende el concepto por primera vez a múltiples antígenos diana en un complejo simultáneamente con el mismo mAb humanizado por ingeniería genética (MATCHMAB).

La Figura 1 compara la técnica anterior (parte superior) con un ejemplo de los múltiples antígenos diana en un complejo simultáneamente con el mismo mAb humanizado por ingeniería genética (MATCHMAB) (parte inferior). Y representa el mAb de dirección anti-DC humanizado; A1, A2, A3, son antígenos protectores independientes o cualquier otro dominio proteico deseado; C1, C2, C2 son dominios de captura de alta afinidad específicos para, respectivamente, dominios de anclaje D1, D2, D3; y DnAn son las proteínas de fusión de anclaje-antígeno correspondientes. Obsérvese que los diversos dominios no están dibujados a escala. El mAb en sí mismo es de ~150 kDa, C es de ~17 Da, D es de ~8 kDa y A varía, pero es habitualmente >20 kDa).

El MATCHMAB se basa en el uso de secuencias de cohesina-dockerina de ensamblaje de celulosoma para formar complejos de antígeno-mAb de dirección no covalentes modulares. Los dominios de interacción proteína-proteína de cohesina-dockerina relativamente pequeños y específicos pueden permitir una formulación adaptada sencilla de complejos de antígeno-mAb de dirección. Por lo tanto, un único mAb humanizado fabricado (en la notación anterior: Y.C1.C2.C3.Cn) puede usarse como la base del suministro de múltiples antígenos en diversas combinaciones, estrictamente definidas.

Se toma un ejemplo de la secuencia que codifica C1.C2.C3.Cn de la secuencia pública >gi|50656899|gb|AAT79550.1| del precursor B de armazón de anclaje de celulosoma (*Bacteroides cellulosolvens*). Debajo en azul se muestra la secuencia de secreción líder y en amarillo y gris se destacan diversos dominios de cohesina. Las regiones rojas son enlazadores que separan algunos de los dominios de cohesina.



dockerina (es decir, antígeno fusionado con el extremo N terminal de una dockerina). Sin embargo, tanto a partir de la estructura como a partir de la naturaleza de la organización del dominio de cohesina dentro de los armazones, resulta evidente que las cohesiones pueden fusionarse extremo con extremo, incluso sin secuencias espaciadoras. Además, resulta evidente que están disponibles técnicas bien descritas para obtener por ingeniería genética versiones miniaturizadas de los dominios de cohesina y dockerina (véase por ejemplo, Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 94, pp. 10080-10085, septiembre de 1997. Structural mimicry of a native protein by a minimized binding domain. Melissa A. Starovasnik, Andrew C. Braisted, y James A. Wells).

Se reconoce en el presente documento que las secuencias enlazadoras tienen una propensión a glucosilación ligada a O resultante de riqueza de ST. Además, los dominios tanto C como D pueden tener sitios unidos a N potenciales. Estas características pueden ser ventajosas en la potenciación de la solubilidad del mAb obtenido por ingeniería genética expresado en células de mamífero mediante decoración con carbohidratos. Por supuesto, es necesario comprobar las consecuencias de la glucosilación de los dominios C por función (unión con el afín D), y si es necesario rectificar por mutagénesis dirigida. Una característica atractiva de la presente invención es que D-A puede expresarse en cualquier sistema que se sepa que es mejor. Por ejemplo, el antígeno tumoral MART1 es una proteína de membrana y se prepara mejor en alto rendimiento mediante cuerpos de inclusión de *E. coli*. Los esquemas que usan antígenos directamente fusionados con el mAb se limitan a antígenos que son compatibles con expresión en células de mamífero.

Otra realización de la invención es el uso de la interacción D-C para preparar mAb biespecíficos unidos cola con cola. La Figura 2 muestra el uso de la presente invención para formar mAb biespecíficos. mAb1 (negro) se expresa con C1 C terminal y mAb2 (magenta) se expresa con D1 C terminal. La mezcla de mAb1 y mAb2 equimolares dará como resultado un complejo biespecífico 1:1. Obsérvese que, ya que cada molécula de mAb contiene dos equivalentes molares de C o D (el mAb es en sí mismo una estructura dimerica), el mAb biespecífico se estabilizará en gran medida por dos interacciones C-D simultáneas. Especialmente a menor (mAb), esta será la configuración más estable.

#### EJEMPLO 2. Combinación de dominios y antígenos de Cohesina/Dockerina y Anticuerpo

El Ejemplo 2 muestra que los dominios de cohesina y dockerina particulares pueden secretarse con éxito y eficazmente de células de mamífero como proteínas de fusión manteniendo a la vez la interacción proteína-proteína de cohesina-dockerina específica y de alta afinidad. Aunque la extensiva bibliografía de cohesina-dockerina enseña la expectativa de que dichas proteínas de fusión deberían tener esta funcionalidad, no describe la producción de dichas proteínas de fusión en sistemas de secreción de mamíferos. El estado del conocimiento científico no permite la predicción de descubrimiento ya que las reglas (además de elementos tales como el péptido señal) para la secreción exitosa no están completamente establecidas. Además, se sabe que las regiones enlazadoras de cohesina están glucosiladas en sus bacterias nativas, y los dominios de cohesina y dockerina contienen sitios de glucosilación predichos. Aunque esto puede favorecer de hecho la secreción de células de mamífero, no está claro si la glucosilación "no natural" alterará la interacción cohesina-dockerina.

Aunque la interacción cohesina-dockerina para diversas aplicaciones comerciales se ha publicado, la presente invención se basa en una utilidad previamente no realizada para esta interacción basada en el ensamblaje de complejos proteicos específicos no relacionados con las aplicaciones enzimáticas de ensamblaje controlado previstas.

La invención incluye el uso de todas las secuencias de cohesina-dockerina de diversos microbios degradantes de celulosa, pero describe la aplicación de secuencias de cohesina y dockerina y enlazador específicas del microbio *Clostridium thermocellum*. Por ejemplo, la secuencia descrita en la Tabla 1 codifica la cadena H de una IgG4 humana unida en el codón C terminal con una secuencia de dockerina de *Clostridium thermocellum* (denominada rAb.doc). Otras realizaciones de proteínas rAb.doc se describen de forma similar en la Tabla 2 y estas se obtienen por ingeniería genética simplemente transfiriendo la región codificante de dockerina como un fragmento de ADN a vectores que codifican las diferentes entidades de cadena H.

La TABLA 1 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de rAB-pIRES2(hlgG4H-Dockerina) o C52. La secuencia de ADN (región codificante completa) y aminoácidos (el producto secretado predicho) de la proteína de fusión IgG4H humana.doc se muestra a continuación. El dominio de dockerina (tomado de una célula de *Clostridium thermocellum*) está destacado en amarillo y la secuencia de cadena H de unión a dockerina está subrayada. El sitio de glucosilación ligada a N altamente predicho dentro del dominio de dockerina está destacado en rojo.

TABLA 1. rAB-pIRES2(hlgG4H-Dockerina) o C52

ATGGACCTCCTGTGCAAGAACATGAAGCACCTGTGGTTCTTCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCAGATGGGTCCGTGCCGGCTGCA
GCTGCAGGAGTCGGGCCAGGCCTGCTGAAGCCTTCGGTGACCCTGTCCCTCACCTGCCTGTCTCGGGTGACTCCGTCGCCAGTA
GTTCTTATTACTGGGGTGGGTCCGTCAGCCCCAGGGAAGGACTCGAGTGGATAGGGACTATCAATTTTAGTGGCAATATGTAT
TATAGTCCGTCCTCAGGAGTCGAGTGACCATGTCCGGCAGACATGTCCGAGAACTCCTTCTATCTGAAATTTGGACTCTGTGACCGC
AGCAGACACGGCCGTCTATTATTGTGCGGCAGGACACCTCGTTATGGGATTGGGGCCACTGGGGACAGGGAAAACCTGGTCTCCG
TCTCTCCAGCTTCCACCAAGGGCCCATCCGTTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGC
TGCTTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGCTGCACACCTTCCCCGGC
TGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCA
ACGTAGATCACAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGATTGAGTCCAAATATGGTCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCT
GAGTTCGAAGGGGACCATCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTG
CGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGAGGAGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCTCCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAG
TACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACA
GGTGTACACCTTCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCACGGC
ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCGGAGAAACAATCAAGACACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTC
TTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA
CAACCACTACACAGAAGAGCCTTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGCAATTCTCTCAAAATGAAGTACTGTACGGAGATGTGA
ATGATGACGGAAAAGTAACTCCACTGACTTACTTTGTTAAAAAGATATGTTCTTAAAGCCGTCTCAACTCTCCCTTCTTCCAAA
GCTGAAAAGAACGCAGATGTAAATCGTGACGGAAAGAGTTAATTCAGTGATGTCAATACTTTCAAGATATTTGATAAGGGTAAT
CGAGAAATTACCAATATAA (SEC. ID N°: 2)

5

RLQLQESGPGLLKPSVTLTSLTCTVSGDSVASSSYWGWVRQPPGKLEWIGTINFSGNMYSPLRSRVTMSADMSNSFYLKLD
VTAADTAVYYCAAGHLVMGFAGHWGQGLVSVSPASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPPKPKDLMISRTPE
VTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQP
EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHE
ALHNHYTQKLSLSLGLKASNSPQNEVLYGDNVDDGKVINSDITLLKRYLKAIVSTLPSKAEKNADVNRDGRV...SDVTLLSRYL
RVIEKLP (SEC ID N°: 3).

La TABLA 2 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de rAB-pIRES2(mAnti-DCIR2C9H-LV-
hlgG4HC-Dockerina) o C82. Se muestra la secuencia de ADN (región codificante completa) y aminoácidos (el
producto secretado predicho) a continuación. El dominio de dockerina está destacado en amarillo y la secuencia de
unión de cadena H y dockerina está subrayada. La región variable de IgG está destacada en azul. El sitio de
glucosilación ligada a N altamente predicho dentro del dominio de dockerina está destacado en rojo.

TABLA 2. rAB-pIRES2(mAnti-DCIR2C9H-LV-hlgG4HC-Dockerina) o C82

ATGAAATGCAGCTGGGTCACTTCTTCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTAGAGGTTAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGA
GCTTGTGAGGCCAGGGCCCTTAGTCAAGTTGCTGCAAAAGCTTCTGGCTTCAACATTAATGACTACTATAATCCACTGGGTGAAGC
AGCGGTGAACAGGGGCTGGAGCGGATTGGATTGATCTCTGACAATGGTAATACTATATATGACCCGAAGTTCAGGGCAAG
GCCAGTATAACAGCAGACACATCCCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTACTG
TGCTAGAACCCGATCTCCTATGGTTACGACGGGGTTTGTACTGGGGCAAGGGACTGTGGTCACTGTCTCTGCAGCCAAAACGA
AGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC
TTCGCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAAGCCCA
GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCACCTGCCACAGCAGCCTGAGTTGCAAGGGGGACCA
TCAGTCTTCTGTTCGCCCAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGTGGACGTGAG
CCAGGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACRAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
TCAACAGCAGTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCC
AACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCC
ATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACCTGACCTGGTCAAAGGCTTACCCACGACATCCGCGTGGAGTGGG
AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTA
ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAA
GAGCCTCTCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGCAATTCTCTCAAAATGAAGTACTGTACGGAGATGTGAATGATGACGGAAAAGTAA
ACTCCACTGACTTACTTTGTTAAAAAGATATGTTCTTAAAGCCGTCTCAACTCTCCCTTCTTCCAAGGCTGAAAAGAACGCAGAT
GTAATCGTGACGGAAAGAGTTAATTCAGTGATGTCAATACTTTCAAGATATTTGATAAGGGTAATCGAGAAATTACCAATATA
A (SEC ID N°: 4)

20

EVQLQDSGAEELVPPGALVPLSCKASGFNIIDYFIHWVKORPEOGLERIGVTDPDHGTIYDPKFOGKASITADTSPTAYEQLSSE
ISEDTAVYICARTSEPVVITGFVYWGQETLVTVSAAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHT
TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPPKPKDLMISRTPE
EVTCTVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQP
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMH
EALHNHYTQKLSLSLGLKASNSPQNEVLYGDNVDDGKVINSDITLLKRYLKAIVSTLPSKAEKNADVNRDGRV...SDVTLLSRYL
RVIEKLP (SEC ID N°: 5)



La Tabla 3 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de rAB(mAnti-ASGPR\_49C11\_7H-SLAML-V-hlgG4H-C-Dockerina) o C153. Se muestra a continuación la secuencia de ADN (región codificante completa) y aminoácidos (el producto secretado predicho). El dominio de dockerina está destacado en amarillo y la secuencia de unión de cadena H y dockerina está subrayada. La región variable de IgG está destacada en azul. El sitio de glucosilación ligada a N altamente predicho dentro del dominio de dockerina está destacado en rojo.

5

TABLA 3. rAB-(mAnti-ASGPR\_49C11\_7H-SLAML-V-hlgG4H-C-Dockerina) o C153.

ATGGACCCCAAAGGCTCCCTTTCCTGGAGAATACTTCTGTTTCTCCCTGGCTTTTGTAGTTGTCGTACGGAGATGTGCAGCTTCA  
GGAGTCAGGACCTGACCTGGTGAAACCTTCTCAGTCACCTTCACTCACCTGCACTGTCACTGGCTACTCCATACCAGTGGTTATA  
GCTGGCACTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAATGGATGGGCTACATACTTCTCAGTGGTAGCACTAACTACAACCCA  
TCTCTGAAAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGACACATCCAAGAACCAGTTCTTCTGCACTTGAATCTGTGACTACTGAGGACAC  
AGCCACATATTTCTGTGCAAGATCTAACTATGGTTCTTGTCTTCTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTGTGAGCCAAAA  
CAAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC  
TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCAGGCTGTCTACAGTCTC  
AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGC  
CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCCTGCCAGCAGCTGAGTTCGAAGGGGGA  
CCATCAGTCTTCTGTTCCTCCCAAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACGTGGCTGGTGGTCAAGCAGT  
GAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCAGTTCAACTGGTACGTGGGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC  
AGTTCACAGCAGCTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTC  
TCCAACAAGGCTTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCCTGCC  
CCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGGCACATCGCCGTGGAGT  
GGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAAACAACAAGACCAAGCCTCCCGTGGTGGTCAAGGCTTCTTCTCTACAGCAGG  
CTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACA  
GAAGAGCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAGCTAGCAATCTCCTCAAATGAAGTACTGTACGGAGATGTGAATGATGACGGAAG  
TAACTCCACTGACTTACTTGTAAAAAGATATGTTCTTAAAGCGTCTCAACTCTCCCTTCTTCAAAGCTGAAAAGAACGCA  
GATGTAATCGTGACGGAAGATTAATTCAGTGATGTACAATACTTCAAGATATTTGATAAGGGTAATCGAGAAATTACCAAT  
ATAA (SEC ID N°: 6)

DVQLQDGGGELVLPKPSQSLDTCTVTHYSITSGYSWRWIRQFCHLEWMCYHLESGSTHMPSLKSEIETDPSKMTFAQLN  
EEDTATVFCARSHYGFASWGGTLLVYSAAKTKGPSVFFLAFCRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPA  
VLQSSGLYSLSSVIVPSSSLGTKTYICNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPFCFAPEFEGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTC  
VVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQ  
VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSLGKASNSPQNEVLYGDDVDDGKVNSTDLTLLKRYVILKAVSTLPSKAEKQADVNRDGRVLSDDVTILGRYLLIRVI  
EKLEI (SEC ID N°: 7)

10 La Tabla 4 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de rAB-pIRES2(mAnti-DC-SIGNAL16E7H-LV-  
hlgG4H-C-Dockerina) o C92. Se muestra a continuación la secuencia de ADN (región codificante completa) y  
aminoácidos (el producto secretado predicho). El dominio de dockerina está destacado en amarillo y la secuencia de  
unión de cadena H y dockerina está subrayada. La región variable de IgG está destacada en azul. El sitio de  
15 glucosilación ligada a N altamente predicho dentro del dominio de dockerina está destacado en rojo.

TABLA 4. rAB-pIRES2(mAnti-DC-SIGNL16E7H-LV-hlgG4H-C-Dockerina) o C92

ATGGAAGGCACTGGATCTTTCTCTTCCTGTTTTTCAGTAAGTGCAGGTGCCACTCCCAGGTCCAGCTTCAGCAGTCTGGGGCTGA  
 GCTGGCAAAACCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCTGCAAGGCTTCTGGTACACCTTTACTACCTACTGGATGCACCTGGGTAAAAC  
 AGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAAATGGATTGGATACATTAATCCTATCACTGGTTATACTGAGTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAG  
 GCCACCTTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCTACATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTG  
 TGCAAGAGAGGGTTAAGTGCATGGACTATTGGGGTCAGGAACCTCAGTCACCGTCACTCAGCCAAAACAACGGGGCCATCCG  
 TCTTCCCCTGGCGCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCCGCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCG  
 GTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCAGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCT  
 CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAGCAACACCAAGG  
 TGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGGGACCATCAGTCTTCTCTG  
 TTCCCCCAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCC  
 CGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGT  
 ACCGTGTGGTCCAGCTCCTCACCCTGTCACAGGACTGGTGAACGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTTCTCAACAAAGGCTC  
 CCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCAGGAGGA  
 GATGACCAAGAACCAAGTGCAGCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG  
 AGCCGAGAACAACTACAAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAG  
 AGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCT  
 GTCTCTGGGTAAGCTAGCAATCTCCTCAAAATGAAGTACTGTACGGAGATGTGAATGATGACGGAAAAGTAAATCCACTGACT  
 TGACTTTGTTAAAAGATATGTTCTTAAAGCCGCTCAACTCTCCCTTCTTCCAAAGCTGAAAAGAACGCAGATGTAAATCGTGAC  
 GGAAGAGTTAATCCAGTGATGCACAATACTTTCAAGATATTTGATAAGGGTAATCGAGAAATTACCAATATAA (SEC ID  
 N°: 8)

OVOLQGGAEELAKPQASVKMSEFASGYFTTYWHRVQRPCGLEWIGYINFLGYTEMIOKFKDKATLITADKSSSTAYMQLSSL  
 FSEDSAVVYCARFEDDAMDYWGCGTGVYTSAKTTGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHIFPA  
 VLQSSGLYLSLSSVTVFSSSLGKTYTENVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFEGGPFVFLFPKPKDITLMSRTPVETC  
 VVVVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQ  
 VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTIPVLDSDGSPFLYSRLTVDKSRWQEGNVPFSCVMHEALH  
 NHYTKQSLSLSLGKASNSPQNEVLYGDDVNDGKVNSTDLTLLKRYVLIKAVSLPSSKAEKNADVNRDGRV DVTILSRYLIRVI  
 EKLPI (SEC ID N°: 9)

5 Se crean plásmidos de expresión de mamíferos que codifican dichas proteínas de cadena H de IgG rAb.doc usando técnicas de biología molecular convencionales y pueden basarse en vectores de plásmidos de expresión disponibles en el mercado, tales como pIRES2-DsRed2 (BD Biosciences). Para producir rAb.doc secretado, se co-transfectan células de mamífero con este plásmido de expresión y un plásmido de expresión que codifica una cadena L de IgG complementaria (ejemplificada en la Tabla 3). Se usan protocolos convencionales (tales como el Sistema de Expresión FreeStyle™ 293, Invitrogen) para células de mamífero, reactivos de transfección y medios de cultivo. Las células transfectadas se cultivan durante 3-7 días y el sobrenadante del cultivo se recoge por centrifugación, se clarifica por filtración, y la proteína rAB.doc se purifica por cromatografía de afinidad de Proteína G usando protocolos del fabricante de la columna (GE Pharmacia).

15 La Figura 3 muestra análisis de productos de rAb.doc secretados típicos por SDS.PAGE reductor con tinción por azul brillante de Coomassie. Este análisis muestra que el rAb.doc se produce eficazmente como un dímero de cadena H + L secretado. La heterogeneidad en la cadena H refleja probablemente la glucosilación ligada a N en un sitio altamente predicho (Potencial 0,6426, Servidor NetNGlyc 1.0 - Universidad Técnica de Dinamarca) dentro de la secuencia de dockerina.

20 La Tabla 5 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de rAB-pIRES2 (mAnti-DC-SIGNL16E7K-LV-hlgGK-C) o C73. Secuencia de ADN (región codificante completa) y aminoácidos (el producto secretado predicho) de la proteína de IgG Kappa que fusiona la región V del hibridoma mAnti-DC-SIGNL16E7 (destacado en azul) con una región C humana (destacada en amarillo).

25 Tabla 5. rAB-pIRES2 (mAnti-DC-SIGNL16E7K-LV-hlgGK-C) o C73.

ATGCATCGCACCAGCATGGGCATCAAGATGGAGTACAGATTCAGGCATTTGATTCGTGTTTCTCTGGTGTCTGGTGTGGCGG  
 AGACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCCAGGCTCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATG  
 TGAATCTGCTGTAGCCTGGTATCAACAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCATCCACCCGGCACACTGGA  
 GTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTAATCTCACCATCAGCAGTGGGCGAGGCTGAAGACCTGGCACTTTA  
 TTACTGTCAACATAATATAGCGCTCCTCGGACGTTCCGGTGGAGGACCAAGCTCGAGATCAACACGAAGTGTGGTGCACCATCTG  
 TCTTCACTTCCCAGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAG  
 GCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC  
 CTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAGTCTATGCCTGCGAAGTCAACCCATCAGGGCC  
 TGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEC ID N°: 10)

SEVMTQCKRINSTLSDRSTTTPADSDYTSAVANYGQKPKSFPKELYNASTNHTGVFDRFTGPESSSTDYTLTTEGQAEELALY  
 YGHQYMCAPHTFGGSGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKRGTTASVCLLNNFYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSI  
 YSLSSITLTLKADYVEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEG. (SEC ID N°: 11)

30 La Figura 3 muestra proteínas rAB secretadas purificadas por afinidad por proteína G analizadas por SDS.PAGE reductor y tinción con azul brillante de Coomassie. Los carriles son de izquierda a derecha.

La invención incorpora la presencia no anticipada y el uso de este sitio de glucosilación que probablemente confiere a proteínas de fusión de dockerina secretada de células de mamífero solubilidad y propiedades farmacocinéticas deseables que se sabe bien que están asociadas con la glucosilación. La Figura 2 muestra que las proteínas de fusión de rAb. antígeno que emplean secuencias H y L de IgG idénticas pueden diferir drásticamente en su eficacia de secreción. En ambos ejemplos citados, las entidades de rAb.doc se expresan bien en comparación con rAb fusionado con secuencias HA5 de la gripe que típicamente se expresan muy poco. La invención también incorpora la capacidad no anticipada del dominio de dockerina para no impedir significativamente la secreción de la entidad de rAb asociada. Además, la invención incorpora la propiedad del dominio de dockerina de no impedir la funcionalidad de las regiones que se combinan con antígenos específicos de rAb. Esta propiedad se ejemplifica en la Figura 5 que muestra concordancia entre la reactividad de IgFc y reactividad de LOX-1 entre proteínas anti-LOX1\_15C4 rAb y anti-LOX1\_15C4.doc.

Las figuras 4A y 4B muestran la medición por ELISA anti-IgFc humano de niveles de secreción de diversas proteínas de fusión rAb. Se transfectoron 2,5 µg de cada uno de los plásmidos de expresión de cadena H y L en células 293F y se ensayaron diluciones dobles de muestras de sobrenadante después de tres días de cultivo. Los valores del eje Y son actividad de HRP arbitraria.

La Figura 5 muestra la medición por ELISA anti-IgFc humano (actividad de HRP) y unión de LOX-1. fosfatasa alcalina (actividad AP) de anti-LOX1\_15C4 rAb secretado (símbolos azules) y anti-LOX1\_15C4.doc rAb (símbolos rojos). Se transfectoron diferentes relaciones que sumaban un total de 5 µg de los plásmidos de expresión de cadena H y L en células 293F y se ensayaron muestras de sobrenadante después de tres días de cultivo.

La invención incorpora la propiedad del dominio de dockerina para expresar eficaz y funcionalmente en el contexto de proteínas de fusión distintas de hIgG4 y sus derivados cercanos. Por ejemplo, la Tabla 6 muestra la secuencia de una entidad rAb.doc basada en una proteína de fusión de cadena H de IgG2b de ratón.

La Tabla 6 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos para rAB-pCMV (mIgG2bH-Dockerina) o C19. Se muestra la secuencia de ADN (región codificante completa) y aminoácidos (el producto secretado predicho). El dominio de dockerina está destacado en amarillo y la secuencia de unión de cadena H y dockerina está subrayada. El sitio de glucosilación ligada a N altamente predicho dentro del dominio de dockerina está destacado en rojo.

Tabla 6. rAB-pCMV (mIgG2bH-Dockerina) o C19.

```

ATGGGATGGTCATGTATCATCTTTTCTAGTAGCAACTGCAACTGGAGTACATTACAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGA
GCTGGTGAGGCCTGGGACTTCAGTGAAGTTGTCTGCAAGGCTTCTGGTTACATCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAGC
AGAGCCCTGGACAAGGCCTTGGTGGATCGGACTGATTGATCCTTCTGATAGTTATAGTAAGTACAATCAAAGTCAAGGGCAAG
GCCACATTGACTGTAGACACATCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGCAGATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTG
TGCAAGAGGGGAGCTCAGTGAATCTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCCAAAACAACACCCCATCAGTCTATC
CACTGGCCCTGGGGTGGAGATACAACCTGGTTCTCTGTGACTCTGGGATGCTGGTCAAGGGCTACTTCCCTGAGTCAAGTGAAGT
GTGACTTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCAGTGTGCACACCTTCCAGCTCTCCTGCAGTCTGGACTCTACACTATGAGCAGCTC
AGTGACTGTCCCTCCAGCACCTGGCCAAAGTCAGACCGTCACTGCAGCGTTGCTCACCCAGCCAGCAGCACCACGGTGGACAAAA
AACTTGAGCCAGCGGGCCATTTCAACAATCAACCCCTGTCTCCATGCAAGGAGTGTCAAAATGCCAGCTCCTAACCTCGAG
GGTGGACCATCCGTCTTCATCTCCCTCCAAATATCAAGGATGTAATCATGATCTCCCTGACACCCAAAGTCAAGTGTGTGGTGGT
GGATGTGAGCGAGGATGACCCAGACGTCGGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATA
GAGAGGATTACAACAGTACTATCCCGGTGGTCAAGTCCCTCCCATCCAGCACCAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGC
AAGGTCAACAACAAGACCTCCCATCACCATCGAGAGAACCATCTCAAAAATTAAGGGCTAGTCAGAGCTCCACAAGTATACAT
CTTGCCGCCACCAGCAGAGCAGTGTGTCAGGAAAGATGTCAGTCTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTC
TGGAGTGGACCAAGCAATGGGCATACAGAGGAGAACTACAAGGACACCCAGCAGTCCCTGGACTCTGACGGTCTTACTTCATATAC
AGCAAGCTCGATATAAAAACAAGCAAGTGGGAGAAAACAGATTCCTTCTCATGCAACGTGAGACACGAGGGTCTGAAAAATTAATA
CCTGAAGAAGACCATCTCCCGGTCTCCGGTAAAGCTAGCAATTCCTTCAAAATGAAGTACTGTACGGAGATGTGAATGATGACG
GAAAAGTAACTCCACTGACTTGACTTGTAAAAAGATATGTTCTTAAAGCCGTCTCAACTCTGCCTTCTTCCAAAGCTGAAAAG
AACGCAGATGTAATCGTGGAGGAAAGATTAATCCAGTGTATGCACAATACTTCAAGATATTTGATAAGGGTAATCGAGAAAT
ACCAATATAA (SEC ID N°: 12)

```

```

QVQLQPGAELVRFPGTSVKLSCKASGYIFTSYWMHWKQRPQGLEWIGLIDPSDSYSKYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSL
TSEDSAVYYCARGELSDFWGQFTLLTVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGGSSVTLGCLVKGYFPESVTVWNSGSLSSSVHTFPALL
QSGLYTMSSSVTVFSTWPSQVTVCSVAHFASSTTVDKKLEFSGPISTINPCPPCKECKKCPAPNLEGGPSVFIFFPNIKDVLMI
LTPKVTQVVDVSEDDPDVRI SWFVNNVEVHTAQTHREDYNTIRVVSALPIHQDWMGKFEKFKVNNKDLPSPIERTISKIK
GLVRAPQVYILPFAEQLSRQDVSLTCLVVGFPNGDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSDGSYFIYSKLDIKTSKWEKTDSEFCN
VRHEGLKNYYLKKTI SRSPGKASNSPQNEVLYGVDVDDGKVNSTDLTLTKRYLKAUSTLPSKAERKADVNRDGRV DVTLLS
RYLRIRVIEKLPI. (SEC ID N°: 13)

```

La Figura 6 muestra que cuando se co-transfecta con un plásmido de expresión kappa de mlgG, el plásmido rAB-pCMV(mIgG2bH-Dockerina) dirige la secreción eficaz de la proteína de fusión rAB-mIgG2b.Dockerina. En la figura 6, una proteína rAb purificada por afinidad por proteína G secretada de células 293 F transfectoradas se analizó por SDS.PAGE reductor y tinción con azul brillante de Coomassie. Los carriles 11 y 12 muestran productos de mlgG2b.doc.



Tabla 8. Mam-pCDM8(Cohesina-Cohesina-SLAMF-AP-6xHis) o C17.

ATGGATCCCAAAGGATCCCTTTCCTGGAGAATACTTCTGTTTCTCTCCCTGGCTTTTGAGTTGAGCTACGGACTCGACGATCTGGA
TGCAGTAAGGATTAAGTGGACACAGTAAATGCAAAACCGGGAGACACAGTAAGAATACCTGTAAGATTACAGCGGTATACCATCCA
AGGGAATAGCAAACCTGTGACTTTGTATACAGCTATGACCCGAATGTACTTGAGATAATAGAGATAAAACCGGGAGAATTGATAGTT
GACCCGAATCCTGACAAGAGCTTTGATACTGCAGTATATCCTGACAGAAAGATAATAGTATTCCTGTTTGACAGAACAGCGGAAC
AGGAGCGTATGCAATAAATAAGACGGAGTATTGCTACGATAGTAGCGAAAGTAAATCAGGAGCACCTAACGGACTCAGTGTA
TCAAATTTGTAGAAGTAGGCGGATTTGCGAATAATGACCTTTGTAGAACAGAAGACACAGTTCTTTGACGGTGGAGTAAATGTTGGA
GATACAACAGAACCTGCAACACCTTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACAGATGATCTGGATGCAGTAAGGATTAAGTGGA
CACAGTAAATGCAAAACCGGGAGACACAGTAAATATACCTGTAAGATTCAGTGGTATACCATCCAAGGGAATAGCAAACCTGTGACT
TTGTATACAGCTATGACCCGAATGTACTTGAGATAATAGAGATAAAACCGGGAGAATTGATAGTTGACCCGAATCCTACCAAGAGC
TTTGATACTGCAGTATATCCTGACAGAAAGATGATAGTATTCCTGTTTGCAGGAGACAGCGGAACAGGAGCGTATGCAATAACTAA
AGACGGAGTATTTGCTACGATAGTAGCGAAAGTAAAGAAGGAGCACCTAACGGACTCAGTGTAAATCAAATTTGTAGAAGTAGGCG
GATTTGCGAACAATGACCTTTGTAGAACAGAAGACACAGTTCTTTGACGGTGGAGTAAATGTTGAGATAACAACAGAACCTGCAACA
CCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACAGATGATCTGGATGCAGTACAGATCATCCAGTTGAGGAGGAGAACCCTGGACTT
CTGGAACCGCGAGGACAGCGAGGCCCTGGGTGCCGCAAGAAAGTGCAGCTGCAGAGACAGCGCAAGAACCTCATCATCTTCC
TGGGCGATGGGATGGGGTGTCTACGGTGCAGCTGCCAGGATCCTAAAAGGGCAGAAGAAGGACAAACTGGGCCCTGAGTTACCC
CTGGCCATGGACCGCTTCCATATGTGGCTCTGTCCAAGACATACATGTAGACAAACATGTGCCAGACAGTGGAGCCACAGCCAC
GGCCTACCTGTGCGGGGTCAAGGGCAACTTCCAGACCATTTGGCTTGAAGTGCAGCCGCCCTTTAACCAAGTGCACACGACAGCGG
GCAACAGGCTCATCTCCGTGATGAATCGGGCCAGAAAGCAGGAAAGTGCAGCTGCAGGAGTGGTAACCACACAGCGTATGCAACAGCC
TCGCCAGCCGGCCTACCGCCACACCGTGAACCGCAACTGGTACTCGGACCGCAGCTGCCTGCCTCGGCCGCCAGGAGGGGTG
CCAGGACATCGCTACGAGCTCATCTCAACATGGACATGACGTGATCCTAGGTGGAGCCGAAAGTACATGTTTCGCATGGGAA
CCCCAGCCCTGATACCCAGATGACTACAGCCAAAGGTGGGACAGGCTGGACGGGAAGAAATCTGGTGCAGGAATGGCTGGCGAAG
CGCCAGGTTGCCCGGTACGTGTGGAACCGCACTGAGCTCATGCAGGCTTCCCTGGACCCGTCTGTGACCATCTCATGGTCTCTT
TGAGCCTGGAGACATGAAATACGAGATCCACCGAGACTCCACCTGACCCCTCCCTGATGGAGATGACAGAGGCTGCCCTGCGCC
TGCTGAGCAGGAACCCCGCGGCTTCTTCTCTTCTGAGGGTGGTTCGCATCGACCATGGTTCATGAAAGCAGGGCTTACCGG
GCACTGACTGAGACGATCATGTTTCGACGACGCCATTGAGAGGGCGGGCCAGCTCACCAGCGAGGAGGACACGCTGAGCCTCGTCAC
TGCCGACCACTCCACGCTTCTCTCTTCCGAGGCTACCCCTGCGAGGGAGCTCCATCTTCGGGCTGGCCCTGGCAAGGCCCGGG
ACAGGAAGGCCTACACGGTCTCCTATACGGAACCGTCCAGGCTATGTGCTCAAGGACGGCGCCCGGATGTTACCGAGAGC
GAGAGCGGGAGCCCGAGTATCGGCAGCAGTACAGCAGTGCCTGGACGAAAGAGACCCACGAGGCGAGGACGTGGCGGTGTTTCG
CGCGGCCCGCAGGCGCACCTGGTTCAGCGCGTGCAGGAGCAGACCTTCATAGCGCACGTATGGCCTTCGCCGCTGCCTGGAGC
CCTACACCGCTGCAGCTGGCGCCCGCCGACCAACCCACCATCACCATCACCATGA (SEC ID N°: 16)

LDLDAVRIKVDVTNAKPGDVTNIPVRFSGIPSRGIANCDFVYSYDPNVLEIIEIKPEGLIVDPNPKSFDTAVYFDRKIIIVLFAE
DSGTGAYATIKDGVFATIVAKVKSAGPGLSVIKFVEVGGFANNDLVEQKTOFFDGGVNVGDNEPAKFPVPPDDLDAVE
IKVDVTNAKPGDVTNIPVRFSGIPSRGIANCDFVYSYDPNVLEIIEIKPEGLIVDPNPKSFDTAVYFDRKIIIVLFAEDSGTGAY
ATIKDGVFATIVAKVKSAGPGLSVIKFVEVGGFANNDLVEQKTOFFDGGVNVGDNEPAKFPVPPDDLDALEIIVVEE
NPDFWNREAAEALGAAKKLQPAQTAAKNLIIFLDGDMGVSTVTAARI LKQKKDKLGPPELPLAMDREPYVALSKTYNVDKHVPDSG
ATATAYLCGVKGNFOTIGLSAAARFNQCNTTRGNEVISVMNRRAKAGKSVGVVTTTRVQHASPAGTYAHTVNRNWYSADVPASAR
QEGCQDIATQLISNMDIDVILGGGRKYMFRMGTPEPEYDDYSQGGTRLDGKNLVQEWLAKRQGARYVWNRTELMQASLDPSVTHL
MGLFEPGDMKYEIHRDSTLDPPLMTEAALRLLSRNPRGFFLVEGGRIIDHGHESRAYRALTETIMFDDAIERAGQLTSEEDTL
SLVTADHSHVFSFGGYPLRGSIFGLAPGKARDRKAYTVLLYGNPQVYVLDGARPDVTESESGSPEYRQSAVFLDEETHAGEDV
AVFARGPQAHLVHGVQEQTFAHVMAFAACLEPYTACDLAPPAGTT (SEC ID N°: 17)

5 La Tabla 9 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de Mam-pCDM8(SLAMF-Cohesina-hPSA) o
C149. Se muestra a continuación la secuencia de ADN (región codificante completa) y aminoácidos (el producto
secretado predicho). El dominio de cohesina está destacado en amarillo y la secuencia de unión de cohesina y
hPSA está subrayada. Los sitios de glucosilación ligada a O altamente predichos dentro del enlazador distante de
10 los dominios de cohesina y un único sitio de glucosilación ligada a N altamente predicho dentro del dominio de
cohesina están destacados en rojo.

Tabla 9. Mam-pCDM8(SLAML-Cohesina-hPSA) o C149.

ATGGATCCCAAAGGATCCCTTTCCTGGAGAATACTTCTGTTTCTCTCCCTGGCTTTTGAGTTGAGTACGGACTCGACGATCTGGA
TGCAGTAAGGATTAAGTGGACACAGTAAATGCAAAACCGGGAGACACAGTAAGAATACCTGTAAGATTACAGCGGTATACCATCCA
AGGGAATAGCAAACCTGTGACTTTGTATACAGCTATGACCCGAAATGTACTTGAGATAATAGAGATAGAACCGGGAGACATAATAGTT
GACCCGAATCCTGACAAGAGCTTTGATACTGCAGTATATCCTGACAGAAAGATAATAGTATTCCTGTTTGCAGAAGACAGCGGAAC
AGGAGCGTATGCAATAACTAAAGACGGAGTATTTGCTACGATAGTAGCGAAAGTAAAAGAAGGAGCACCTAACGGACTCAGTGTAA
TCAAATTTGTAGAAGTAGCGGATTTGGCAACAATGACCTTGTAGAACAAGAAGACACAGTTCTTTGACGGTGGAGTAAATGTTGGA
GATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACCCGACAACAACAGATGATCTGGATGCACTCGAGGCGCCCTCAT
CCTGTCTCGATTGTGGGAGGCTGGGAGTGCAGAAAGCATFCCAACCCCTGGCAGGTGCTTGTGGCCTCTCGTGGCAGGGCAGTCT
GCGGCGGTGTTCTGGTGCACCCCACTGGGTCTCACAGCTGCCACTGCATCAGGAACAAAAGCGTATCTTGTGGGTGCGCAC
AGCCTGTTTATCCTGAAGACACAGGCCAGGTATTTAGGTACGCCACAGCTTCCACACCCGCTTACGATAIGAGCCTCCTGAA
GAATCGATTCTCAGGCCAGGTGATGACTCCAGCCAGCCTCATGCTGCTCCGCTGTGAGAGCCTGCCGAGCTCACGGATGCTG
TGAAGGTATGAGACTGCCACCCAGGAGCCAGCACTGGGAGCCACTGCTACGCCTCAGGCTGGGGCAGCATTGAACCAGAGGAG
TTCTTGACCCCAAAGAACTTCAAGTGTGGACCTCCATGTTATTCCAATGACGTGTGCGCGCAAGTTTACCCTCAGAAGGTGAC
CAAGTTCATGCTGTGCTGGACGCTGGACAGGGGGCAAAGACACTGCTCGGGTATTCTGGGGCCACTGTCTGTAATGGTG
TGCTTCAAGGTATCAGTCTATGGGGCAGTGAACCATGTGCCCTGCCCGAAAGGCCTTCCCTGTACACCAAGGTGGTGCATTACCGG
AAGTGGATCAAGGACACCATCGTGGCAACCCCTGA (SEC ID N°: 18)

LDLDAVRIKVDTVNAKPGDTVRIIPVRFSGIPIESKGIANCDFVYSYDFNVLEIIEIETEPGELIVDPNEPKSFDTAVYFDRKMIVFLFA
EDSGTGAYAITEDGVFATIVAKVKSGAPNGLSVIKFVEVGGFANNDLVEOKTQFFDGGVIVGDPEAPFPVPPDLDLAL
EAPLILSRIVGGWECEKHSQPWQVLVSRGRAVCGGVLVHPQVWLTAAHCIRNKSVILLGRHSLFHPEDTGQVQVSHSFFHPLYD
MELLKRNRLRPGDDSDHLLMLLRLSEPAELTDAVKVMDLPTQEPALGTTTCYASGWSIEPEEFLTPKKLQCVDLHVINDVDCAQVH
PQVTKFMLCAGRWTGGKSTCSGDSGGPLVNCVGLQGITSWGSSEPCALPERPSLYTKVHYRKKWKDITIVANP (SEC ID N°:
19)

5 La Tabla 10 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos de Mam-pCDM8(SLAML-Cohesina-FluHA5-1-
6xHis) o C24. Se muestra a continuación la secuencia de ADN (región codificante completa) y aminoácidos (el
producto secretado predicho). El dominio de cohesina está destacado en amarillo y la secuencia de unión de
cohesina y Flu HA5-1 está subrayada. Los sitios de glucosilación ligada a O altamente predichos dentro del
enlazador distante de los dominios de cohesina y un único sitio de glucosilación ligada a N altamente predicho
dentro del dominio de cohesina están destacados en rojo. Los restos destacados en gris son un marcador de His C
terminal para facilitar la purificación mediante cromatografía de afinidad metálica.

10 Tabla 10. Mam-pCDM8(SLAML-Cohesina-FluHA5-1-6xHis) o C24.

ATGGATCCCAAAGGATCCCTTTCCTGGAGAATACTTCTGTTTCTCTCCCTGGCTTTTGAGTTGAGTACGGACTCGACGATCTGGA
TGCAGTAAGGATTAAGTGGACACAGTAAATGCAAAACCGGGAGACACAGTAAGAATACCTGTAAGATTACAGCGGTATACCATCCA
AGGGAATAGCAAACCTGTGACTTTGTATACAGCTATGACCCGAAATGTACTTGAGATAATAGAGATAGAACCGGGAGACATAATAGTT
GACCCGAATCCTGACAAGAGCTTTGATACTGCAGTATATCCTGACAGAAAGATAATAGTATTCCTGTTTGCAGAAGACAGCGGAAC
AGGAGCGTATGCAATAACTAAAGACGGAGTATTTGCTACGATAGTAGCGAAAGTAAAAGAAGGAGCACCTAACGGACTCAGTGTAA
TCAAATTTGTAGAAGTAGCGGATTTGGCAACAATGACCTTGTAGAACAAGAAGACACAGTTCTTTGACGGTGGAGTAAATGTTGGA
GATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACCCGACAACAACAGATGATCTGGATGCACTCGAGGATCAGATCTTG
CATTGGTTACCATGCAAAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACACAATAATGAAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGCATAAC
TGAAAAAGAAACACAACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAGCGTAGCTGGATGGCTC

CTCGGAAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTGCCGGAATGGTCTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTG
TTACCAGGGGATTTCAATGACTATGAAAATGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTCAGATATCCCCA
AAAGTCTTTGGTCCAGTCATGAAGCCTCATTAGGGGTGAGCTCAGCATGTCCATACCAGGAAAGTCTCCTTTTTCAGAAATGTG
GTATGGCTTATCAAAAAGAACAGTACATACCCCAACAATAAGAGGAGCTACATAATAACCAACCAAGAGATCTTTGGTACTGTG
GGGATTCACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCAACCCATATATTTCCGTTGGGACATCAACAC
TAAACCAGAGATTGTTACCAAGATAGCTACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGAAAGATGGAGTCTTCTGGACAATTTTA
AAGCCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTCAATGCTCCAGAATATGCATACAAAATGTCAAGAAAGGGGACTC
AACAAATTAAGAAAGTGAATGGAAATATGGTAACCTGCAACACCAAGTGTCAAACCTCAATGGGGGCGATAAACCTAGCATGCCAT
TCCACAATAACACCCCTCACCATTGGGGAATGCCCAAAATATGTGAAATCAAACAGATTAGTCCTTGGCCACCATCACCATCAC
CATTGA (SEC ID N°: 20)

LDLDAVRIKVDTVNAKPGDTVRIIPVRFSGIPIESKGIANCDFVYSYDFNVLEIIEIETEPGELIVDPNEPKSFDTAVYFDRKMIVFLFA
EDSGTGAYAITEDGVFATIVAKVKSGAPNGLSVIKFVEVGGFANNDLVEOKTQFFDGGVIVGDPEAPFPVPPDLDLAL
EDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKKNHNGKLCDLGDKVPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPWSYIWEKANP
VNDLCYPGDFNDYEKHLKLLSRINHFELIKIIPKSSWSSHEASLGVSSACPYQKSSFFRNVVWLIKKNSTYPTIKRSYNNNTNQED
LLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLNQRLVPRRIATRSKVNQSGRMEFFWTILKFNDAINFESNGNFIAPEYAYKIV
KKGDSTIMKSELEYGNCNTKQCPTMGAINSSMPFHNIHPLTIGCEPKYVKSNNRLVLA (SEC ID N°: 21)

15 De forma similar a las construcciones de rAb.doc anteriormente mencionadas, la invención incorpora la secreción
eficaz de células de mamífero de proteínas de fusión de cohesina funcionales (denominadas en el presente
documento coh.fusiones). No fue obvio que los dominios de cohesina pudieran secretarse tan exitosamente
manteniendo a la vez la función de unión a dockerina. La Figura 5 demuestra que el sobrenadante que contiene
coh.fosfatasa alcalina (coh.AP) secretada se une específicamente con una proteína rAb.doc inmovilizada en una
superficie de plástico.

Las Figuras 7A y 7B muestran que los plásmidos de expresión que codifican la fosfatasa alcalina secretada (AP) o coh.AP dirigieron la secreción de proteínas funcionales de células 293F transfectadas. Después de 3 días de cultivo los sobrenadantes se recogieron y se ensayaron con respecto a su capacidad para unir 0,25 µg de rAb.doc (panel superior) o rAb (panel inferior) con una placa de micro-titulación de 96 pocillos. Después de 1 hora de incubación las placas se lavaron y se revelaron con un sustrato de AP cromogénico.

La invención incorpora la aplicación del ensamblaje de complejos proteicos específicos basándose en la interacción de cohesina.dockerina. También pueden ensamblarse complejos de anticuerpo.antígeno específicos usando la interacción establecida de dominios de unión de IgFc a proteína A o proteína G. La invención incorpora propiedades únicas de la interacción de cohesina.dockerina que dan como resultado una formación de complejo altamente superior en comparación con, por ejemplo, la interacción de proteína G con IgG. En las figuras 6 y 7 se muestra que la interacción de una proteína cohesina.AP (llamada Coh.AP) es específica para una proteína rAb.Doc.

Las Figuras 8A y 8B muestran diversas diluciones de un sobrenadante que contiene G.AP secretada que se incubaron durante 1 hora en pocillos de micro-titulación que contenían 0,25 µg de mlgG2a, mlgG2b o un rAb.doc basado en mlgG2b inmovilizado. Después de lavar se reveló la actividad de la AP unida usando sustrato de AP cromogénico. La proG.AP no se unió con el rAb.doc ya que era una variante de isotipo de mlgG2b que no interaccionaba con el dominio de proteína G particular usado en la construcción de proG.AP.

La Figura 8B muestra un estudio idéntico, pero empleando diluciones de un sobrenadante que contenía Coh.AP secretada. Coh.AP se une solamente con rAb.doc, demostrando de nuevo la especificidad de la interacción de coh.doc.

La Figura 9 demuestra la estabilidad sobradamente superior de los complejos preensamblados basándose en la interacción de coh.doc en comparación con la interacción de proG.IgGFc. La Figura 9 muestra la formación de complejos entre una cantidad fija de proG.AP o coh.AP o coh2.AP (0,1 µg) y mlgG2b o rAb.doc inmovilizado (0,25 µg) se ensamblaron por incubación durante 1 hora en una placa de micro-titulación. En diversos momentos se añadió un exceso de 20 veces de mlgG2b soluble o rAb.doc y la incubación continuó durante diversos tiempos. Las placas se lavaron después y se accedió a la actividad de AP unida mediante adición de sustrato de AP cromogénico.

Este ejemplo muestra el uso de dichos complejos de coh.doc en entornos que contienen suero (por ejemplo, medio de cultivo tisular y administración *in vivo*). La Figura 10 demuestra la amplia superioridad de los complejos de coh.doc en comparación con complejos de proG.IgGFc en dicho entorno. En las condiciones usadas, Ig ~ 15 µg/ml fue suficiente para desplazar completamente la proG.AP unida, mientras que la coh.AP permaneció unida de forma estable con rAb.doc incluso en presencia de suero puro (Ig 15 mg/ml).

La Figura 10 muestra la formación de complejos entre una cantidad fija de proG.AP o coh.AP (0,1 µg) y mlgG2b o rAb.doc inmovilizado (0,25 µg) se ensamblaron por incubación durante 1 hora en una placa de micro-titulación. Se añadieron diversas diluciones de suero humano y la incubación continuó durante 4 horas. Las placas se lavaron después y se accedió a la actividad de AP unida mediante adición de sustrato de AP cromogénico.

La invención también incorpora una utilidad particular de la interacción coh.doc que permite un proceso de producción que asegura la formación de complejo completo y que puede ser en conjunto con un proceso de purificación para la entidad proteica coh.fusión. La presente invención se ejemplifica en las Figuras 11 y 12, que ilustran este proceso mediante captura secuencial de rAb.doc de sobrenadante de cultivo por cromatografía de afinidad por proteína G, seguido de captura de coh.antígeno de sobrenadante de cultivo por la columna de proteína G:rAb.doc. La elución con pH bajo libera después rAb.doc:coh.antígeno puro. Si hay un exceso de coh.antígeno frente a rAb.doc, entonces se producirá un complejo completo y entero. Una realización relacionada de la presente invención sería la aplicación al rAb.doc capturado por proteína G de proteína coh.fusión pura o parcialmente purificada en exceso.

La Figura 11 muestra un análisis de un gel de SDS.PAGE reducido frente a no reducido de complejos rAb.doc:Coh2.AP producidos por aplicación secuencial del sobrenadante de rAb.doc y sobrenadante de coh.AP a la misma columna de afinidad de proteína G. Los carriles 2 y 4 muestran que Coh2.AP se co-purifica con rAb.doc.

La Figura 12 es un análisis de SDS.PAGE no reducido de complejos de rAb.doc:Coh.Flu HA5-1 producidos por aplicación secuencial de sobrenadante de rAb.doc y sobrenadante de coh.Flu HA5-1 a la misma columna de afinidad de proteína G. Los carriles 1 a 4 de izquierda a derecha muestran que Coh.Flu HA5-1 se co-purifica con rAb.doc.

Una característica bien descrita de los dominios de cohesina es su compatibilidad con el sistema de expresión bacteriano de *E. coli* convencional. La invención incorpora el uso nuevo de la expresión de proteínas de fusión de dockerina en sistemas de secreción de mamíferos, y también abarca la formación de complejos coh.doc en los que los diferentes componentes (es decir, coh y doc) se expresan en sistemas diferentes. Esta es una gran ventaja, ya que permite la posibilidad de usar el sistema de expresión más favorable para cada componente. Por ejemplo, las construcciones de expresión de coh.Flu M1 no consiguieron dirigir eficazmente la síntesis del producto secretado de

células de mamífero transfectadas. Sin embargo, coh.Flu M1 se expresó muy eficazmente como una proteína soluble en *E. coli*. La Tabla 6 muestra la secuencia del coh.Flu M1 usado en este ejemplo.

5 La Tabla 11 muestra la secuencia de ácido nucleico y aminoácidos de *E. coli*-pET28 (Cohesina-Flu M1-6xHis) o C32 se muestra posteriormente. En la secuencia de aminoácidos el dominio de cohesina está destacado en amarillo y el punto de fusión entre la proteína de cohesión y M1 de gripe A está subrayado. Los restos destacados en gris son un marcador His C terminal para facilitar la purificación mediante cromatografía de afinidad metálica.

Tabla 11. *E. coli*-pET28 (Cohesina-Flu M1-6xHis) o C32.

```

ATGGATCTGGATGCAGTAAGGATTAAGTGGACACAGTAAATGCAAAACCGGGAGACACAGTAAATATACCTGTAAGATTTCAGTGG
TATACCATCCAAGGAATAGCAAACCTGTGACTTGTATAACAGCTATGACCCGAATGTACTTGAGATAATAGAGATAAAACCGGGAG
AATTGATAGTTGACCCGAATCCTACCAAGAGCTTTGATACTGCAGTATATCCTGACAGAAAGATGATAGTATTCTGTTTGCGGAA
GACAGCGGAACAGGAGCGTATGCAATAACTAAAGACGGAGTATTTGCTACGATAGTAGCGAAAGTAAAAGAAGGAGCACCTAACGG
GCTCAGTGAATCAAATTTGTAGAAGTAGGCGGATTTGCGAACAAATGACCTGTAGAACAGAAGACACAGTCTTTGACGGTGGAG
TAAATGTTGGAGATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACAGATGATCTGGATGCAGCTAGC
CTTCTAACCGGAGGTCGAAACGTACGTTCTCTCTATCATCCCGTCAGGCCCCCTCAAAGCCGAGATCGCACAGAGACTTGAAGATT
CTTTCAGGGAAGAACACCCGATCTTGAGGTTCTCATGGAATGGCTAAAGACAAGACCAATCCTGTCACCTCTGACTAAGGGGATTT
TAGGATTTGTGTTTACGCTCACCGTGCCAGTGAGCGGGGACTGCAGCGTAGACGCTTTGTCCAAAATGCTCTTAATGGGAACGGA
GATCCAAATAACATGGACAAGCAGTTAAACTGTATAGGAAGCTTAAGAGGGAGATAACATTCCATGGGGCCAAAGAAATAGCACT
CAGTTATCTGCTGGTGCAGTGGCAGTTGTATGGCCTCATATACAACAGGATGGGGGCTGTGACCACTGAAGTGGCATTGCGCC
TGGTATGCGCAACCTGTGAACAGATTGCTGACTCCAGCATCGGTCTCATAGGCAATGGTGACAACAACCAATCCACTAATCAGA
CATGAGAACAGAAATGGTTCTAGCCAGCACTACAGCTAAGGCTATGGAGCAAATGGCTGGATCGAGTGAGCAAGCAGCAGAGGCCAT
GGATATTGCTAGTCAGGCCAGGCAAATGGTGACGGCGATGAGAACCATTGGGACTCATCTAGCTCCAGTGTGCTTAAAGATG
ATCTTCTGAAAATTTGCAGGCTTACCAGAAACGGATGGGGTGCAGATGCAGCGATTCAAGCTCGAGCACCACCACCACCACC
TGA (SEC ID N°: 22)

```

```

MDLDAVRIRKVDIVNAKPGDVTNIPVRFSGIIPSKGIANCDFVYSYDPNVLEIIEIKPGELIVDPNPKSEDTAVYEDRMIVFLFAE
DSGTGAYATTKDGYEATIVAKVKEGAPNGLSVIKFVEVGGFANNDLVEQKTFQFDGGVIRUGDITTEPATPTTFVTTPTTTDDLDAAS
LLEVEVTVLSIIIPSGPLKAEIAQRLEDVDFAGKNTDLEVLMEWLKTRPILSPLTKGILGFVFTLTVPSERLQRRRFVQNALNGNG
DPNMDKAVKLYRKLKREITFHGAKELALSYSAGALASCMGLIYNRMGAVTTEVAFGLVCATCEQIADSQHRSHRQMVTTNPLIR
HENRMVLASTTAKAMEQMAGSSEQAAEAMDIASQARQVMQAMRTITGHPSSSAGLKDDLLENLQAYQKRMGVQMQRFLKLEHHHHH
(SEC ID N°: 23)

```

10 La invención incorpora el uso de la interacción de dockerina.cohesina para ensamblar complejos ordenados y específicos para diversos fines terapéuticos o de vacunación. Un ejemplo es el uso de rAb.doc con especificidad de unión para un receptor de células dendríticas humanas de internalización en complejo con la proteína coh.Flu M1. La figura 11 demuestra esta utilidad por un estudio *in vitro*. DC cultivadas con anti-DC\_rAb.doc: coh.Flu M1, co-cultivadas después con linfocitos T autólogos, dirigieron la expansión de linfocitos T con memoria específica de Flu M1. Las dosis equivalentes de coh.Flu M1 solo no tuvieron dicho efecto. El estudio muestra una potenciación de al menos 50 veces de la expansión de linfocitos T específica de Flu M1 mediante el anti-DC\_rAb.doc:coh.Flu M1 en comparación con coh.Flu M1 solo.

20 La Figura 13 muestra que el complejo anti-DC\_rAb.doc:coh.Flu M1 funcional se formó mezclando los componentes purificados individuales. Diversas cantidades del complejo, o coh.Flu M1 solo, se incubaron en medio de cultivo con DC humanas 5E4 (de un donante de HLA201) y linfocitos T autólogos 10E5. Después de 24 horas, las DC se activaron con CD40L y la incubación continuó durante 9 días adicionales. Las células se recogieron y se tiñeron con un tetrámero de HLA-A2 de péptido Flu M1 marcado con PE GILGFVFTL (SEC ID N°: 24) y se analizaron con respecto a la frecuencia de células CD8+ específicas de antígeno.

30 La Figura 14 muestra un ejemplo similar que incorpora el control adicional de coh.Flu M1 en complejo con un mAb.doc del mismo isotipo sin unión con las DC humanas. La Figura 12 muestra que en Anti-DC\_rAb unido directamente mediante una fusión de cadena H con un fragmento peptídico que abarcaba el epítipo de Flu M1 GILGFVFTL también es eficaz en la inducción de suministro de antígeno dirigido a DC que da como resultado la expansión de linfocitos T específicos de Flu M1. Sin embargo la entidad anti-DC\_rAb.Flu M1 PEP se secretó muy escasamente de células de mamífero, probablemente evitando la producción de dicha vacuna. Este problema ilustra la realización de la invención que permite resolver problemas de producción empleando sistemas de expresión apropiados para (en este caso) el antígeno de vacuna.

40 La Figura 14 muestra que se formaron complejos Anti-DC\_rAb.doc: coh.Flu M1 o mlgG2b.doc: coh.Flu M1 mezclando los componentes purificados individuales. Se incubaron diversas cantidades de los complejos, o coh.Flu M1 solo, en medio de cultivo con DC humanas 5E4 (de un donante de HLA201) y linfocitos T autólogos 10E5. Después de 24 horas, las DC se activaron con CD40L y la incubación continuó durante 9 días adicionales. Las células se recogieron y se tiñeron con un tetrámero de HLA-A2 de péptido Flu M1 marcado con PE GILGFVFTL (SEC ID N°: 24) y se analizaron con respecto a la frecuencia de células CD8+ específicas de antígeno. Las concentraciones para complejos de mlgG2.doc fueron las mismas que las de complejos Anti-DC\_rAb.

45 La Figura 15 muestra que las DC humanas CD34+ se clasificaron en subtipos CD1a+ y CD14+ y se cultivaron con y sin Anti-DC\_rAb.Flu M1 PEP o Anti-DC\_rAb 3 nM. Se añadieron linfocitos T autólogos después de 1 día y el cultivo



continuó durante 8 días adicionales. El análisis fue como se ha descrito anteriormente. Las células CD1a+ fueron muy eficaces en la expansión de células CD8+ específicas de Flu M1 solamente con tratamiento de Anti-DC\_rAb.Flu M1 PEP.

5 Aunque un tipo de realización de la invención es una vacuna compuesta de un complejo de Anti-DC-rAb.doc: coh.antígeno, se prevé que en algunos casos una vacuna dirigida a DC preferida será Anti-DC-rAb .antígeno en la que el antígeno es probablemente una cadena de antígenos protectores. La identificación de dichos antígenos en combinaciones eficaces compatibles con la expresión eficaz en sistemas de producción es extremadamente problemática. Una realización de la invención proporciona un método para optimizar el ensayo de combinaciones de epítomos de antígenos para el desarrollo de dichas vacunas. Específicamente, la invención enseña un método para 10 explorar epítomos antigénicos probables solos y en combinaciones para mayor eficacia como un prelude a abordar la producción del Anti-DC-rAb.antígeno deseado. Por ejemplo, la Tabla 13 muestra las secuencias de construcciones de cohesina.péptido ejemplares que pueden expresarse fácilmente mediante sistemas de *E. coli*. Usando técnicas similares a las descritas en la Figura 11, pueden ensayarse fácilmente diversas colecciones de 15 proteínas coh.pep con respecto a eficacia como complejos con una única entidad anti-DC\_rAb.doc. Los compuestos coh.pep más eficaces pueden después producirse por ingeniería genética directamente como proteínas de fusión anti-DC\_rAb.péptido. La Figura 16 muestra ejemplos de proteínas coh.PEP purificadas expresadas en *E. coli*.

20 La Tabla 12 muestra la secuencia de aminoácidos del antígeno asociado con melanoma gp100. Están sombreados péptidos dominantes restringidos a HLA-A201 bien conocidos y se detallan debajo de la secuencia. Las secuencias peptídicas marcadas con M son variantes con afinidad potenciada por HLA-A201. C180 es una construcción de expresión de *E. coli* que codifica la secuencia mostrada a continuación en la que el dominio de cohesina está sombreado en azul y el péptido gp100 está sombreado en gris. Los restos subrayados que se unen con el péptido son nativos de gp100. Los marcadores de His C terminales son para facilitar la purificación mediante cromatografía 25 de afinidad metálica.

Se muestra a continuación la secuencia de gp100 y los péptidos asociados indicados anteriormente.

```
MDLVLRKRLHLHLAVIGALLAVGATKVPFRNQDWLGVSRQLRTKAWNRQLYPEWTEAQRLLDCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSI
ALNFPQSQKVLDPGQVIWVNNITINGSQVWGGQPVYPOETDDACIFPDGGPCPSGWSQKRSFVYVWKKKGGYNOVLGGPVSGLSI
GTGRAMLGTHTMEVTYHRRGSRSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQRALDGGNKHFLRNQPLTFALQLHDPGYLEADLSY
TWDGDSSTLISRALVVTHYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPPTTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAE
PSGTTSVQVPTTEVI STAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAAQVTTTEWVETTARE
LPIPEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGFSFVTLDDIVQGI ESAEILQAVPSGEGDAFELTVSC
QGGLPKAEACMEISSPGCQPPAQRLLCQVPLPSPACQLVLHQLKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIMPGQAEAGLGQVPLIVGI
LLVLMVAVLASLIYRRRLMKQDFVSPQLPHSSSHWLRRLPRIFCSCPIGENSPLLSGQQV (SEC ID N°: 25)
```

30 Las secuencias peptídicas restringidas a HLA-A0201 son:

GP100 WT: 154-162: KTWGQYWQV (SEC ID N°: 26)

35 GP100 M: 209-217 (2M): IMDQVPFSV (SEC ID N°: 27.); 209-217 WT: ITDQVPFSV (SEC ID N°: 28)

GP100 M: 280-288 (9V): YLEPGVTV (SEC ID N°: 29) 280-288 WT: YLEPGVTA (SEC ID N°: 30)

C180 es *E. coli*-pET28 (Cohesina-hgp100-PéptidoA-6xHis):

```
MDLDAVRIKVDIVNAKPGDVTNIPVRFSGIIPSKGIANCDFVYSYDENVLETTIKPGELIVDENPTKSFEDTAVYEDRKMIVFLFAE
DSGTGAYALTKDGVFATIVAKVKEGAPNGLSVIKFVEVGGFANNDDLVDOKTQFFDGGVNVGDTTEPATPTTPTTTDDLLDAAE
SAFTIMDQVPFSVSVSASGAAALEHHHHHH. (SEC ID N°: 31)
```

40 La Tabla 13 muestra la secuencia de aminoácidos del antígeno de melanoma MART-1. Están sombreados péptidos dominantes restringidos a HLA-A201 bien conocidos y se detallan debajo de la secuencia. Los péptidos M muestran variantes de secuencia peptídica con afinidad potenciada por HLA-A201. C181 es una construcción de expresión de *E. coli* que codifica la secuencia mostrada a continuación en la que el dominio de cohesina está sombreado en amarillo y el péptido MART-1 está sombreado en gris. Los restos subrayados que limitan el péptido son nativos de MART-1. C172 y C174 son dos construcciones que dirigen la expresión del péptido anti-DC\_rAb.MART-1 y una cadena de péptido H de rAb.MART-1 de control coincidente. Solamente se muestran las secuencias unidas al resto 45 C terminal. Los marcadores His C terminales son para facilitar la purificación mediante cromatografía de afinidad metálica.

MART-1 es:

```
MPREDAHFYIGYPKKGHGHSYTTAEFAAGKILGVLLIIGCWYCRRRNGYRALMDKSLHVGTQCALTRRCPQEGFDHRDSKV
SLQEKNCPEVVPNAPPAYEKLSAEQSPPPYSP (SEC ID N°: 32)
```

55

Las secuencias peptídicas restringidas a HLA-A0201 son:

MARTI WT: 9 unidades: **AAGIGILTV** (SEC ID Nº: 33)

MARTI WT: 10 unidades: **EAAGIGILTV** (SEC ID Nº: 34)

5 MARTI M: 10 unidades: **ELAGIGILTV** (SEC ID Nº: 35)

C181 es *E. coli*-pET28(Cohesina-hMART-1-PéptidoB-6xHis)

MDLDAVRIKVDTVNAKPGDTVNI~~EVRFSGIPSKGLAN~~CD~~FVYSYDPNVLEIIEIKPGELIVDENPTKSFDTAVYEDR~~KMI~~VFLFAE~~  
 DSGTGAYAITKDGVEFATIVAKVKEGAPNGLSVIKFVEVGGFANNDLVEOKTQFFDGGVNVGDTTEPATPTTPVTTPTTTDDLDAA  
 TAEELAGIGILTVILGASGAAALEHHHHHH. (SEC ID Nº: 36)

10

C186 es *E. coli*-pET28(Cohesina-Flex-hMART-1-PéptidoA-6xHis)

MDLDAVRIKVDTVNAKPGDTVNI~~EVRFSGIPSKGLAN~~CD~~FVYSYDPNVLEIIEIKPGELIVDENPTKSFDTAVYEDR~~KMI~~VFLFAE~~  
 DSGTGAYAITKDGVEFATIVAKVKEGAPNGLSVIKFVEVGGFANNDLVEOKTQFFDGGVNVGDTTEPATPTTPVTTPTTTDDLDAA  
 DTTEARHPHPVTTPTTDGTTAEELAGIGILTVILGGTNNSTPTKGEFCRYPSHWRPLEHHHHHH (SEC ID Nº: 37)

15 C172 es rAB-pIRES2 (mAnti-ASGPR\_49C11\_7H-LV-hlgG4H-hMART-1-PéptidoA)

C174 es rAB-pIRES2 (hlgG4H-hMART-1-PéptidoA)

... .ASDTTEARHPHPVTTPTTDGTTAEELAGIGILTVILGGTNNSTPTKGEFCRYPSHWRPRL (SEC ID Nº: 38)

20

La Figura 16 muestra *E. coli* que alberga plásmidos de expresión que dirigen la síntesis de proteínas coh.pep que se cultivaron y en las que se indujo la producción de proteína específica. Las células se recogieron y se rompieron por sonicación. Las fracciones de sobrenadantes se aplicaron purificadas por cromatografía de afinidad metálica. El análisis fue por gel de SDS.PAGE reductor teñido con azul brillante de Coomassie. La figura muestra proteínas coh.pep de producto típico marcadas de izquierda a derecha.

25

Este ejemplo muestra el uso exitoso de proteínas de fusión de cohesina y dockerina secretadas de células de mamífero. Si ambos compañeros de fusión son rAb con diferentes especificidades (es decir, rAb1.doc y rAb2.coh), entonces la mezcla sencilla da como resultado rAb1.doc:rAb2.coh que es un anticuerpo bi-específico. Los anticuerpos bi-específicos tienen muchas aplicaciones terapéuticas y técnicas potenciales. La invención proporciona un medio sencillo y predecible para ensamblar dichas entidades mediante la interacción de doc:coh. Como alternativa, si rAb1.doc:rAb1.coh se ensamblaron, dichas entidades representan mAbs entrecruzados controlados con propiedades biológicas potencialmente únicas.

30

35 Existen moléculas de cohesina.dockerina en diversas especies degradantes de celulosa. Aunque tienen similitudes de secuencia, pueden tener especificidades que no cruzan entre especies. Esto proporciona una oportunidad de construir nuevos armazones compuestos de cohesinas con diferentes especificidades y usar este armazón para ensamblar complejos de alto orden de una manera controlada espacial y numéricamente. Otras personas han descrito la tecnología básica para usar esta noción para aplicaciones biotecnológicas (véase Fierobe, H.-P., Mechaly, A., Tardif, C., Belaich, A., Lamed, R., Shoham, Y., Belaich, J.-P., y Bayer, E. A. (2001) Design and production of active cellulosome chimeras: Selective incorporation of dockerin-containing enzymes into defined functional complexes. *J. Biol. Chem.* 276, 21257-21261.). La invención incorpora el uso específico de esta tecnología para aplicaciones relacionadas con la fabricación de complejos de rAb (doc:coh.fusión)<sub>n</sub> en los que n representa >1 emparejamientos de interacciones de doc:coh con especificidades únicas. Por lo tanto, la invención prevé el ensamblaje (por mezcla sencilla de componentes) de complejos ordenados espacialmente entre rAb.doc1.doc2.doc3.etc. y coh1.fusiónA, coh2.fusiónB, coh3.fusión3, etc. Las proteínas de coh.fusión podrían representar diferentes antígenos, o combinaciones de antígenos y agentes activadores como citocinas.

45

50 Por extensión también podrían usarse especificidades de coh.doc múltiples para realizar rAb bivalentes con especificidades de antígenos de mayor orden. Las bacterias degradantes de celulosa y organismos similares también usan dominios de unión a celulosa (CBD) para organizar la maquinaria de degradación. La estructura de un CDB de *Clostridium thermocellum* muestra que los extremos N y C terminales están en proximidad estrecha y no son una parte integral de la estructura funcional del CDB. De hecho se produce típicamente CDB unido a otros dominios tales como coh.CBD.coh en cipA. La invención abarca el uso de entidades tales como coh.CBD.coh para ensamblar complejos ordenados espacial y numéricamente que imitan anticuerpos y receptores de múltiples subunidades. Por ejemplo, una región v de cadena kappa de IgG fusionada con doc 1 y una región V de cadena H de IgG unida con doc2 pueden ensamblarse con coh1.CBD.coh2 para producir VL.doc1:coh1.CBD.coh2:VH.doc2 para producir una entidad con afinidad y especificidad de unión análogas al mAAb original. Dichas entidades deberían ser, por ejemplo, herramientas de exploración muy útiles para refinar las especificidades de mAAb mediante procedimientos de mutagénesis, particularmente ya que el componente de VL y VH podrían mutarse independientemente y combinarse

60

mezclando en diversas combinaciones. Como se ha descrito anteriormente, esta tecnología puede extenderse fácilmente a combinaciones de coh:V.doc controladas múltiples produciendo potencialmente entidades de unión con especificidades y afinidades extremadamente altas. Una extensión de esto sería usar por ejemplo coh1.coh2.CBD.coh3 como un molde para ensamblaje de cytoR1.doc + cytoR2.doc + cytoR3.doc (en las que cytoR representa el ectodominio de una subunidad de un receptor de citocinas complejo). Dichas entidades tendrán utilidad para bloquear las interacciones de citocinas para terapia y en biotecnología para medir citocinas en sobrenadantes complejos.

EJEMPLO 3. Uso de Tecnología de Cohesina-Dockerina para Terapia de Inmunotoxinas.

En la actualidad 1,2 millones de americanos desarrollan cáncer cada año y aproximadamente 500.000 mueren de la enfermedad, debido a que la mayoría de los cánceres no pueden curarse una vez que se han metastasizado. Para desarrollar un nuevo tratamiento para cáncer metastásico, se ha usado ingeniería genética para modificar una potente toxina bacteriana, exotoxina A de *Pseudomonas* (PE), de modo que en lugar de destruir células normales destruya selectivamente células cancerosas. La PE es una proteína de tres dominios compuesta de 613 aminoácidos. Se producen agentes antineoplásicos suprimiendo su dominio de unión (aa 1-252) y reemplazándolo con el fragmento Fv de un anticuerpo o con un factor de crecimiento que se une con antígenos presentes en células cancerosas. Estos agentes se denominan inmunotoxinas recombinantes (RIT). Se han realizado RIT que se dirigen a Ley presente en cánceres de colon, mama, pulmón y otros epiteliales (B3(Fv)-PE38), que se dirigen al receptor de EGF sobreexpresado en glioblastomas (TGF-alfa-PE38), que se dirigen a receptores de EGF mutantes presentes en glioblastomas (MR-1(Fv)-PE38KDEL), y que se dirigen al receptor de IL-2 presente en muchas leucemias de linfocitos T y B y linfomas LMB-2 o anti-Tac(Fv)-PE38 y que se dirigen a CD22 en tumores malignos de linfocitos B y que se dirigen a BL22 o RFB4(dsFv)-PE38 en cánceres ováricos y mesoteliomas (SS1P). Estos agentes se producen en *E. coli* porque pueden purificarse fácilmente grandes cantidades a partir de esta fuente y porque la toxina en sí misma destruiría a células de mamífero que la expresaran. Cuando se administran a ratones con el xenoinjerto de cáncer humano apropiado, todas estas RIT producen regresiones tumorales completas. La mayoría de estos agentes están ahora en ensayos clínicos en seres humanos y varios han producido remisiones completas y parciales en seres humanos con cáncer.

Una inmunotoxina ideal estaría muy activa de modo que solo sería necesario proporcionar cantidades pequeñas para provocar regresiones tumorales, estables de modo que sigan siendo funcionales durante las 5-10 horas requeridas para alcanzar el interior de un tumor, y no inmunogénicas de modo que pudieran proporcionarse repetidamente. Inicialmente, las inmunotoxinas recombinantes contenían los aminoácidos 253-613 de PE (dominios II y III). Se ha determinado que los aminoácidos 364-395 pueden suprimirse sin pérdida de actividad. La estabilidad aumentada puede abordarse uniendo la toxina con un anticuerpo completo, que se sabe bien que tienen semi-vidas largas y la tecnología en la invención proporciona esta solución.

Aunque puede aplicarse la tecnología de rAb.Doc:Coh.toxina a antígenos de cáncer conocidos, también puede ensayarse para destruir DC intra-tumorales que se sospecha que fomentan el escape del tumor de la vigilancia inmunitaria. En este último caso, la terapia de toxina anti-DC podría ser doblemente ventajosa ya que la acumulación de inmunidad contra la toxina administrada en sí misma debería suprimirse (es decir debido a que las DC en sí mismas son claves para el inicio de esta respuesta inmunitaria mediante la captación y procesamiento del antígeno. En esta terapia, las DC que captan el antígeno mueren y no pueden montar la respuesta anti-toxina).

Frankel (Clinical Cancer Research, 8, 942-944, 2002) describe problemas que impiden la aplicación más amplia de inmunotoxinas. Estos incluyen problemas de producción que requieren con frecuencia el replegamiento del material expresado por cuerpos de inclusión de *E. coli* en los que los contaminantes con plegamiento erróneo son problemáticos. Además, la afinidad de la inmunotoxina por su diana es con frecuencia difícil de obtener con suficiente fuerza. La base tecnológica de la presente invención aborda ambos de estos problemas, en primer lugar, los inventores descubrieron que la proteína de fusión de cohesina.PE38 se expresa en *E. coli* como una proteína soluble que puede purificarse en un estado completamente funcional (con las actividades tanto de cohesina como de toxina intactas) por medios bioquímicos sencillos sin replegamiento complejo. En segundo lugar, pueden obtenerse de forma rutinaria anticuerpos monoclonales de alta afinidad contra antígenos diana por un experto en la materia. Lo que es difícil es obtener por ingeniería genética las regiones variables de anticuerpo en una forma que se fusione con la toxina y sea completamente funcional para unión a diana. Los medios habituales (por ejemplo, formas de sFv) de ingeniería genética conducen invariablemente a pérdida significativa de afinidad contra la diana en comparación con el anticuerpo monoclonal inicial. La tecnología de rAb.Doc:Coh.toxina evita este problema proporcionando un medio para conservar tanto los sitios de unión de alta afinidad del mAb inicial (obsérvese que la humanización de las regiones V de mAb de ratón manteniendo a la vez actividad de unión alta y específica es rutinaria para un experto en la materia), así como las propiedades beneficiosas de la semi-vida larga y ausencia de antigenicidad de un contexto de hlgG recombinante completo.

Además, ya que la cohesina.toxina se produce de forma independiente, una formulación de la toxina puede conjugarse con cualquier variedad de proteínas rAb.Doc de dirección producidas por separado por mezcla sencilla del componente antes de la inyección al paciente. Esto simplifica en gran medida la fabricación así como el tiempo de desarrollo de investigación. La tecnología descrita en la invención puede aplicarse fácilmente a cualquier toxina y



Por lo tanto los dominios tanto de Cohesina como de Dockerina se expresan fácilmente como proteínas de fusión de rAb. Esta propiedad es esencial para el uso de complejos de (rAb1.Coh:rAb2.Doc) como anticuerpos bivalentes (es decir, que tiene dos especificidades de combinación diferentes en una proteína). Los anticuerpos bivalentes tienen muchas características deseables adecuadas para aplicaciones industriales, analíticas y terapéuticas. Son, sin embargo, difíciles de desarrollar y las herramientas moleculares usadas para modificarlos por ingeniería genética típicamente alteran las características deseables de alta afinidad y especificidad inherentes de los anticuerpos monoclonales parentales. La tecnología de (rAb1.Coh:rAb2.Doc) evita este obstáculo y es, además, extensible a una valencia mayor (de 2) de la potencia combinatoria incorporando múltiples cadenas de Cohesina o Dockerina con especificidades por pares como se describe en otra parte en la presente solicitud. Además, esta tecnología puede extenderse al uso, por ejemplo, de una citocina para proporcionar la valencia adicional (es decir, rAb1.Doc:Coh.citocina).

Por ejemplo, se produjo una proteína de fusión entre un dominio de Cohesina e IL-21 por ingeniería genética como una construcción de expresión y la proteína Coh.IL-21 se secretó eficazmente de células 293F transfectadas de forma transitoria y se purificó sencillamente por Q Sepharose secuencial y cromatografía de afinidad anti-Cohesina. La secuencia del producto secretado se muestra a continuación con el dominio de cohesina mostrado en gris y el dominio de IL-21 en amarillo. Este producto fue completamente funcional como se determina por su eficacia en el mantenimiento de la proliferación de linfocitos B humanos.

Mam-pCDM8(SLAML-Cohesina-hIL-21)

```
LDLDDAVRNRVDRNVAAPSQVAVRPPVAFSSHPKQKACNCEVYASMPDMLEFEDIEPQDIAAPNEPKSSTQVAVM-DRKQIMLELAP
DDEICAAATRRDSDYRNRVAVKFKGADNGLSVAKAVVZGEPANNDVQKRICHPDGGVAVGCDTTEPATPTTPVTTPTTDDLDALAA
DGGQDRHMTFMROLIDIVDQLKNYNDLVPEFLPAPEDVETNCEVSAFSCGOKAOLKSANTGNNERTLNVSLKLLKRPKPPSTNAGRR
QKHRLICDSCDSYERKPPKPEFERFKSLLQRTIHOHLSRTHGSEDS (SEC ID N°: 43)
```

Por lo tanto, rAb.Doc:Coh.IL-21 puede proporcionar señales de proliferación y activación conjuntas a un linfocito B (es decir, si el rAb en sí mismo tiene propiedades de activación). Esta noción puede extenderse a cualquier rAb con propiedades biológicas dirigidas a un tipo celular particular y cualquier citocina con actividad dirigida al mismo tipo celular. La Figura 20 muestra el efecto de IL-21 y Coh.IL-21 en la proliferación de linfocitos B humanos.

Se contempla que cualquier realización analizada en la presente memoria descriptiva puede implementarse con respecto a cualquier método, kit, reactivo, o composición de la invención, y viceversa. Además, las composiciones de la invención pueden usarse para conseguir métodos de la invención.

El uso de la palabra "un" cuando se usa junto con la expresión "que comprende" en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva puede significar "uno", pero también es coherente con el significado de "uno o más", "al menos uno" y "uno o más de uno". El uso del término "o" en las reivindicaciones se usa para indicar "y/o" a no ser que se indique explícitamente que se refiera a alternativas solamente o las alternativas sean mutuamente excluyentes, aunque la divulgación apoye una definición que se refiere a solamente alternativas y "y/o". A lo largo de la presente solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la variación inherente del error para el dispositivo, empleándose el método para determinar el valor, o la variación que existe entre los sujetos de estudio.

Como se usa en la presente memoria descriptiva y la reivindicación o las reivindicaciones, las palabras "que comprende" (y cualquier forma de que comprende, tal como "comprender" y "comprende"), "que tiene" (y cualquier forma de que tiene, tal como "tener" y "tiene"), "que incluye" (y cualquier forma de que incluye, tal como "incluye" e "incluir") o "que contiene" (y cualquier forma de que contiene, tal como "contiene" y "contener") son incluyentes o abiertas y no excluyen elementos o etapas de métodos adicionales, no indicados.

La expresión "o combinaciones de los mismos" como se usa en el presente documento se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los artículos enumerados antes de la expresión. Por ejemplo, se entiende que "A, B, C o combinaciones de los mismos" incluye al menos uno de: A, B, C, AB, AC, BC o ABC, y si el orden es importante en un contexto particular, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC o CAB. Continuando con este ejemplo, se incluyen expresamente combinaciones que contienen repeticiones de uno o más artículos o términos, tales como BB, AAA, MB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, y así sucesivamente. El experto en la materia entenderá que típicamente no hay límite al número de artículos o términos en ninguna combinación, a no ser que sea evidente de otro modo a partir del contexto.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Baylor Research Institute Zurawski, Gerard

<120> ANTÍGENOS MULTIVARIABLES EN COMPLEJO CON ANTICUERPO MONOCLONAL HUMANIZADO DE DIRECCIÓN

ES 2 536 900 T3

<130> BHCS:2094

<150> US 60/888.029

<151> 02-02-2007

5

<160> 43

<170> PatentIn versión 3.4

10

<210> 1

<211> 2299

<212> PRT

<213> *Bacteroides cellulosolvens*

15

<400> 1

Met Gln Ser Pro Arg Leu Lys Arg Lys Ile Leu Ser Val Ile Leu Ala  
1 5 10 15

Val Cys Tyr Ile Ile Ser Ser Phe Ser Ile Gln Phe Ala Ala Thr Pro  
20 25 30

Gln Val Asn Ile Ile Ile Gly Ser Ala Gln Gly Ile Pro Gly Ser Thr  
35 40 45

Val Lys Val Pro Ile Asn Leu Gln Asn Val Pro Glu Ile Gly Ile Asn  
50 55 60

Asn Cys Asp Phe Thr Ile Lys Phe Asp Ser Asp Ile Leu Asp Phe Asn  
65 70 75 80

Ser Val Glu Ala Gly Asp Ile Val Pro Leu Pro Val Ala Ser Phe Ser  
85 90 95

Ser Asn Asn Ser Lys Asp Ile Ile Lys Phe Leu Phe Ser Asp Ala Thr  
100 105 110

Gln Gly Asn Met Pro Ile Asn Glu Asn Gly Leu Phe Ala Val Ile Ser  
115 120 125

Phe Lys Ile Lys Asp Asn Ala Gln Lys Gly Ile Ser Asn Ile Lys Val  
130 135 140

Ser Ser Tyr Gly Ser Phe Ser Gly Met Ser Gly Lys Glu Met Gln Ser



ES 2 536 900 T3

Asp Ala Gly Asp Ile Val Thr Leu Pro Met Ala Asn Tyr Ser Tyr Asn  
405 410 415

Met Pro Ser Asp Gly Leu Val Lys Phe Leu Tyr Asn Asp Gln Ala Gln  
420 425 430

Gly Ala Met Ser Ile Lys Glu Asp Gly Thr Phe Ala Asn Val Lys Phe  
435 440 445

Lys Ile Lys Gln Ser Ala Ala Phe Gly Lys Tyr Ser Val Gly Ile Lys  
450 455 460

Ala Ile Gly Ser Ile Ser Ala Leu Ser Asn Ser Lys Leu Ile Pro Ile  
465 470 475 480

Glu Ser Ile Phe Lys Asp Gly Ser Ile Thr Val Thr Asn Lys Pro Ile  
485 490 495

Val Asn Ile Glu Ile Gly Lys Val Lys Val Lys Ala Gly Asp Lys Ile  
500 505 510

Lys Val Pro Val Glu Ile Lys Asp Ile Pro Ser Ile Gly Ile Asn Asn  
515 520 525

Cys Asn Phe Thr Leu Lys Tyr Asn Ser Asn Val Leu Lys Tyr Val Ser  
530 535 540

Asn Glu Ala Gly Thr Ile Val Pro Ala Pro Leu Ala Asn Leu Ser Ile  
545 550 555 560

Asn Lys Pro Asp Glu Gly Ile Ile Lys Leu Leu Phe Ser Asp Ala Ser  
565 570 575

Gln Gly Gly Met Pro Ile Lys Asp Asn Gly Ile Phe Val Asn Leu Glu  
580 585 590

Phe Gln Ala Val Asn Asp Ala Asn Ile Gly Val Tyr Gly Leu Glu Leu  
595 600 605

Asp Thr Ile Gly Ala Phe Ser Gly Ile Ser Ser Ala Lys Met Thr Ser  
610 615 620

Ile Glu Pro Gln Phe Asn Asn Gly Ser Ile Glu Ile Phe Asn Ser Ala  
625 630 635 640



ES 2 536 900 T3

Gln Thr Pro Val Pro Ser Asn Thr Glu Val Gln Thr Pro Thr Asn Thr  
645 650 655

Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr  
660 665 670

Pro Lys Pro Asn Pro Leu Tyr Asn Leu Asn Val Asn Ile Gly Glu Ile  
675 685

Ser Gly Glu Ala Gly Gly Val Ile Glu Val Pro Ile Glu Phe Lys Asn  
690 695 700

Val Pro Asp Phe Gly Ile Asn Asn Cys Asp Phe Ser Val Lys Tyr Asp  
705 710 715 720

Lys Ser Ile Phe Glu Tyr Val Thr Tyr Glu Ala Gly Ser Ile Val Lys  
725 730 735

Asp Ser Ile Val Asn Leu Ala Cys Met Glu Asn Ser Gly Ile Ile Asn  
740 745 750

Leu Leu Phe Asn Asp Ala Thr Gln Ser Ser Ser Pro Ile Lys Asn Asn  
755 760 765

Gly Val Phe Ala Lys Leu Lys Phe Lys Ile Asn Ser Asn Ala Ala Ser  
770 775 780

Gly Thr Tyr Gln Ile Asn Ala Glu Gly Tyr Gly Lys Phe Ser Gly Asn  
785 790 795 800

Leu Asn Gly Lys Leu Thr Ser Ile Asn Pro Ile Phe Glu Asn Gly Ile  
805 810 815

Ile Asn Ile Gly Asn Val Thr Val Lys Pro Thr Ser Thr Pro Ala Asp  
820 825 830

Ser Ser Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Pro Thr Ala Thr Pro Thr Ile  
835 840 845

Lys Gly Thr Pro Thr Val Thr Pro Ile Tyr Trp Met Asn Val Leu Ile  
850 855 860

Gly Asn Met Asn Ala Ala Ile Gly Glu Glu Val Val Val Pro Ile Glu  
865 870 875 880

ES 2 536 900 T3

Phe Lys Asn Val Pro Pro Phe Gly Ile Asn Asn Cys Asp Phe Lys Leu  
 885 890 895  
 Val Tyr Asp Ser Asn Ala Leu Glu Leu Lys Lys Val Glu Ala Gly Asp  
 900 905 910  
 Ile Val Pro Glu Pro Leu Ala Asn Leu Ser Ser Asn Lys Ser Glu Gly  
 915 920 925  
 Lys Ile Gln Phe Leu Phe Asn Asp Ala Ser Gln Gly Ser Met Gln Ile  
 930 935 940  
 Glu Asn Gly Gly Val Phe Ala Lys Ile Thr Phe Lys Val Lys Ser Thr  
 945 950 955 960  
 Ala Ala Ser Gly Ile Tyr Asn Ile Arg Lys Asp Ser Val Gly Ser Phe  
 965 970 975  
 Ser Gly Leu Ile Asp Asn Lys Met Thr Ser Ile Gly Pro Lys Phe Thr  
 980 985 990  
 Asp Gly Ser Ile Val Val Gly Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr  
 995 1000 1005  
 Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys  
 1010 1015 1020  
 Pro Ile Ala Thr Pro Thr Ile Lys Gly Thr Pro Thr Ala Thr Pro  
 1025 1030 1035  
 Met Tyr Trp Met Asn Val Val Ile Gly Lys Met Asn Ala Glu Val  
 1040 1045 1050  
 Gly Gly Glu Val Val Val Pro Ile Glu Phe Asn Asn Val Pro Ser  
 1055 1060 1065  
 Phe Gly Ile Asn Asn Cys Asp Phe Lys Leu Val Tyr Asp Ala Thr  
 1070 1075 1080  
 Ala Leu Glu Leu Lys Asn Val Glu Ala Gly Asp Ile Ile Lys Thr  
 1085 1090 1095  
 Pro Leu Ala Asn Phe Ser Asn Asn Lys Ser Glu Glu Gly Lys Ile  
 1100 1105 1110  
 Ser Phe Leu Phe Asn Asp Ala Ser Gln Gly Ser Met Gln Ile Glu

ES 2 536 900 T3

1115						1120						1125			
Asn Gly	Gly Val	Phe Ala	Lys	Ile Thr	Phe Lys	Val	Lys Ser	Thr							
1130			1135			1140									
Thr Ala	Thr Gly	Val Tyr	Asp	Leu Arg	Lys Asp	Leu	Val Gly	Ser							
1145			1150			1155									
Phe Ser	Gly Leu	Lys Asp	Asn	Lys Met	Thr Ser	Ile	Gly Ala	Glu							
1160			1165			1170									
Phe Thr	Asn Gly	Ser Ile	Thr	Val Ala	Ala Thr	Ala	Pro Thr	Val							
1175			1180			1185									
Thr Pro	Thr Val	Asn Ala	Thr	Pro Ser	Ala Ala	Thr	Pro Thr	Val							
1190			1195			1200									
Thr Pro	Thr Ala	Thr Ala	Thr	Pro Ser	Val Thr	Ile	Pro Thr	Val							
1205			1210			1215									
Thr Pro	Thr Ala	Thr Ala	Thr	Pro Ser	Val Thr	Ile	Pro Thr	Val							
1220			1225			1230									
Thr Pro	Thr Ala	Thr Ala	Thr	Pro Ser	Ala Ala	Thr	Pro Thr	Val							
1235			1240			1245									
Thr Pro	Thr Ala	Thr Ala	Thr	Pro Ser	Val Thr	Ile	Pro Thr	Val							
1250			1255			1260									
Thr Pro	Thr Val	Thr Ala	Thr	Pro Ser	Asp Thr	Ile	Pro Thr	Val							
1265			1270			1275									
Thr Pro	Thr Ala	Thr Ala	Thr	Pro Ser	Ala Ile	Val	Thr Thr	Ile							
1280			1285			1290									
Thr Pro	Thr Ala	Thr Ala	Lys	Pro Ile	Ala Thr	Pro	Thr Ile	Lys							
1295			1300			1305									
Gly Thr	Pro Thr	Ala Thr	Pro	Met Tyr	Trp Met	Asn	Val Val	Ile							
1310			1315			1320									
Gly Lys	Met Asn	Ala Glu	Val	Gly Gly	Glu Val	Val	Val Pro	Ile							
1325			1330			1335									
Glu Phe	Lys Asn	Val Pro	Ser	Phe Gly	Ile Asn	Asn	Cys Asp	Phe							
1340			1345			1350									

ES 2 536 900 T3

Lys Leu Val Tyr Asp Ala Thr Ala Leu Glu Leu Lys Asn Val Glu  
1355 1360 1365

Ala Gly Asp Ile Ile Lys Thr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Asn Asn  
1370 1375 1380

Lys Ser Glu Glu Gly Lys Ile Ser Phe Leu Phe Asn Asp Ala Ser  
1385 1390 1395

Gln Gly Ser Met Gln Ile Glu Asn Gly Gly Val Ser Ala Lys Ile  
1400 1405 1410

Thr Phe Lys Val Lys Ser Thr Thr Ala Ile Gly Val Tyr Asp Ile  
1415 1420 1425

Arg Lys Asp Leu Ile Gly Ser Phe Ser Gly Leu Lys Asp Ser Lys  
1430 1435 1440

Met Thr Ser Ile Gly Ala Glu Phe Thr Asn Gly Ser Ile Thr Val  
1445 1450 1455

Ala Thr Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro  
1460 1465 1470

Ser Val Thr Ile Pro Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro  
1475 1480 1485

Gly Thr Ala Thr Pro Gly Thr Ala Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr  
1490 1495 1500

Pro Gly Ala Ala Thr Pro Thr Glu Thr Ala Thr Pro Ser Val Met  
1505 1510 1515

Ile Pro Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Thr Ala Thr  
1520 1525 1530

Ala Thr Pro Thr Val Lys Gly Thr Pro Thr Ile Lys Pro Val Tyr  
1535 1540 1545

Lys Met Asn Val Val Ile Gly Arg Val Asn Val Val Ala Gly Glu  
1550 1555 1560

Glu Val Val Val Pro Val Glu Phe Lys Asn Ile Pro Ala Ile Gly  
1565 1570 1575

ES 2 536 900 T3

Val Asn Asn Cys Asn Phe Val Leu Glu Tyr Asp Ala Asn Val Leu  
 1580 1585 1590

Glu Val Lys Lys Val Asp Ala Gly Glu Ile Val Pro Asp Ala Leu  
 1595 1600 1605

Ile Asn Phe Gly Ser Asn Asn Ser Asp Glu Gly Lys Val Tyr Phe  
 1610 1615 1620

Leu Phe Asn Asp Ala Leu Gln Gly Arg Met Gln Ile Ala Asn Asp  
 1625 1630 1635

Gly Ile Phe Ala Asn Ile Thr Phe Lys Val Lys Ser Ser Ala Ala  
 1640 1645 1650

Ala Gly Ile Tyr Asn Ile Arg Lys Asp Ser Val Gly Ala Phe Ser  
 1655 1660 1665

Gly Leu Val Asp Lys Leu Val Pro Ile Ser Ala Glu Phe Thr Asp  
 1670 1675 1680

Gly Ser Ile Ser Val Glu Ser Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Thr  
 1685 1690 1695

Ala Thr Gly Thr Asn Val Thr Pro Thr Val Ala Ala Thr Val Thr  
 1700 1705 1710

Pro Thr Ala Thr Pro Ala Ser Thr Thr Pro Thr Ala Thr Pro Thr  
 1715 1720 1725

Ala Thr Ser Thr Val Lys Gly Thr Pro Thr Ala Thr Pro Leu Tyr  
 1730 1735 1740

Ser Met Asn Val Ile Ile Gly Lys Val Asn Ala Glu Ala Ser Gly  
 1745 1750 1755

Glu Val Val Val Pro Val Glu Phe Lys Asp Val Pro Ser Ile Gly  
 1760 1765 1770

Ile Asn Asn Cys Asn Phe Ile Leu Glu Tyr Asp Ala Ser Ala Leu  
 1775 1780 1785

Glu Leu Asp Ser Ala Glu Ala Gly Glu Ile Val Pro Val Pro Leu  
 1790 1795 1800

ES 2 536 900 T3

Gly Asn Phe Ser Ser Asn Asn Lys Asp Glu Gly Lys Ile Tyr Phe  
 1805 1810 1815

Leu Phe Ser Asp Gly Thr Gln Gly Arg Met Gln Ile Val Asn Asp  
 1820 1825 1830

Gly Ile Phe Ala Lys Ile Lys Phe Lys Val Lys Ser Thr Ala Ser  
 1835 1840 1845

Asp Gly Thr Tyr Tyr Ile Arg Lys Asp Ser Val Gly Ala Phe Ser  
 1850 1855 1860

Gly Leu Ile Glu Lys Lys Ile Ile Lys Ile Gly Ala Glu Phe Thr  
 1865 1870 1875

Asp Gly Ser Ile Thr Val Arg Ser Leu Thr Pro Thr Pro Thr Val  
 1880 1885 1890

Thr Pro Asn Val Ala Ser Pro Thr Pro Thr Lys Val Val Ala Glu  
 1895 1900 1905

Pro Thr Ser Asn Gln Pro Ala Gly Pro Gly Pro Ile Thr Gly Thr  
 1910 1915 1920

Ile Pro Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr Pro Thr Lys Ala  
 1925 1930 1935

Ser Val Ala Thr Ala Thr Pro Thr Ala Thr Pro Ile Val Val Val  
 1940 1945 1950

Glu Pro Thr Ile Val Arg Pro Gly Tyr Asn Lys Asp Ala Asp Leu  
 1955 1960 1965

Ala Val Phe Ile Ser Ser Asp Lys Ser Arg Tyr Glu Glu Ser Ser  
 1970 1975 1980

Ile Ile Thr Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Asn Ile Gly Lys Val Asn  
 1985 1990 1995

Ala Thr Asn Val Lys Ile Ala Ala Gln Ile Pro Lys Phe Thr Lys  
 2000 2005 2010

Val Tyr Asp Ala Ala Lys Gly Ala Val Lys Gly Ser Glu Ile Val  
 2015 2020 2025

Trp Met Ile Gly Asn Leu Ala Val Gly Glu Ser Tyr Thr Lys Glu

ES 2 536 900 T3

2030						2035						2040			
Tyr	Lys	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Leu	Thr	Lys	Ser	Glu	Glu	Tyr	Thr	
2045						2050					2055				
Asp	Asn	Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Ser	Asp	Gln	Thr	Val	Asp	Ile	Pro	
2060						2065					2070				
Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Asn	Asp	Asp	Lys	Ser	Thr	Ile	Arg	Val	
2075						2080					2085				
Met	Leu	Tyr	Ser	Asn	Arg	Phe	Thr	Pro	Gly	Ser	His	Ser	Ser	Tyr	
2090						2095					2100				
Ile	Leu	Gly	Tyr	Lys	Asp	Lys	Thr	Phe	Lys	Pro	Lys	Gln	Asn	Val	
2105						2110					2115				
Thr	Arg	Ala	Glu	Val	Ala	Ala	Met	Phe	Ala	Arg	Ile	Met	Gly	Leu	
2120						2125					2130				
Thr	Val	Lys	Asp	Gly	Ala	Lys	Ser	Ser	Tyr	Lys	Asp	Val	Ser	Asn	
2135						2140					2145				
Lys	His	Trp	Ala	Leu	Lys	Tyr	Ile	Glu	Ala	Val	Thr	Lys	Ser	Gly	
2150						2155					2160				
Ile	Phe	Lys	Gly	Tyr	Lys	Asp	Ser	Thr	Phe	His	Pro	Asn	Ala	Pro	
2165						2170					2175				
Ile	Thr	Arg	Ala	Glu	Leu	Ser	Thr	Val	Ile	Phe	Asn	Tyr	Leu	His	
2180						2185					2190				
Leu	Asn	Asn	Ile	Ala	Pro	Ser	Lys	Val	His	Phe	Thr	Asp	Ile	Asn	
2195						2200					2205				
Lys	His	Trp	Ala	Lys	Asn	Tyr	Ile	Glu	Glu	Ile	Tyr	Arg	Phe	Lys	
2210						2215					2220				
Leu	Ile	Gln	Gly	Tyr	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Lys	Pro	Asn	Asn	Asn	
2225						2230					2235				
Ile	Thr	Arg	Ala	Glu	Val	Val	Thr	Met	Ile	Asn	Arg	Met	Leu	Tyr	
2240						2245					2250				
Arg	Gly	Pro	Leu	Lys	Val	Lys	Val	Gly	Ser	Phe	Pro	Asp	Val	Ser	
2255						2260					2265				

ES 2 536 900 T3

Pro Lys Tyr Trp Ala Tyr Gly Asp Ile Glu Glu Ala Ser Arg Asn  
 2270 2275 2280

His Lys Tyr Thr Arg Asp Glu Lys Asp Gly Ser Glu Ile Leu Ile  
 2285 2290 2295

Glu

<210> 2  
 <211> 1653  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

10

<400> 2

```

atggacctcc tgtgcaagaa catgaagcac ctgtggttct tcctcctgct ggtggcggtc      60
cccagatggg tcctgtcccg gctgcagctg caggagtcgg gcccaggcct gctgaagcct      120
toggtgacct tgccctcac ctgcactgtc tcgggtgact ccgtcgccag tagttcttat      180
tactggggct gggtcctca gccccaggg aagggactcg agtggatagg gactatcaat      240
tttagtgcca atatgtatta tagtccgtcc ctcaggagtc gagtgaccat gtcggcagac      300
atgtccgaga actccttcta tctgaaattg gactctgtga ccgcagcaga cacggccgtc      360
tattattgtg cggcaggaca cctcgttatg ggatttgggg cccactgggg acagggaaaa      420
ctgggtctccg tctctccagc ttccaccaag ggcccatccg tcttccccct ggcgccttgc      480
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc      540
gaaccgggtga cgggtgctgt gaactcaggc gccctgacca ggggcgtgca caccttcccg      600
gctgtcctac agtctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc      660
agcttgggca cgaagacct cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg      720
gacaagagag ttgagtcaa atatggtccc coatgcccac cctgcccagc acctgagttc      780
gaagggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca aggacactct catgatctcc      840
cggacccttg aggtcacgtg cgtgggtgtg gacgtgagcc aggaagacct cgaggtccag      900
ttcaactggt acgtgatgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag      960
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tctgcacca ggactggctg     1020
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtctc catcgagaaa     1080
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct gcccccattc     1140
    
```



ES 2 536 900 T3

caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaag cttctacccc 1200  
 agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1260  
 cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaggctaac cgtggacaag 1320  
 agcaggtggc aggaggggaa tgtctctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac 1380  
 cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaag cttagcaattc tcctcaaaat 1440  
 gaagtactgt accgagatgt gaatgatgac ggaaaagtaa actccactga cttgactttg 1500  
 ttaaaaagat atgttcttaa agcctctca actctccctt cttccaaagc tgaaaagaac 1560  
 gcagatgtaa atcgtgacgg aagagttaat tccagtgatg tcacaatact ttcaagatat 1620  
 ttgataaggg taatcgagaa attaccaata taa 1653

<210> 3

<211> 524

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 3

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

ES 2 536 900 T3

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala  
 130 135 140  
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145 150 155 160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
 165 170 175  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys  
 195 200 205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro  
 210 215 220  
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350  
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355 360 365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

ES 2 536 900 T3

370		375		380													
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser		
385					390					395					400		
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg		
				405					410					415			
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu		
			420					425					430				
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Ala		
		435					440						445				
Ser	Asn	Ser	Pro	Gln	Asn	Glu	Val	Leu	Tyr	Gly	Asp	Val	Asn	Asp	Asp		
	450					455					460						
Gly	Lys	Val	Asn	Ser	Thr	Asp	Leu	Thr	Leu	Leu	Lys	Arg	Tyr	Val	Leu		
465					470					475					480		
Lys	Ala	Val	Ser	Thr	Leu	Pro	Ser	Ser	Lys	Ala	Glu	Lys	Asn	Ala	Asp		
				485					490						495		
Val	Asn	Arg	Asp	Gly	Arg	Val	Asn	Ser	Ser	Asp	Val	Thr	Ile	Leu	Ser		
			500					505					510				
Arg	Tyr	Leu	Ile	Arg	Val	Ile	Glu	Lys	Leu	Pro	Ile						
		515					520										

5 <210> 4  
 <211> 1635  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Oligonucleótido sintetizado químicamente  
 <400> 4

ES 2 536 900 T3

atgaaatgca gctgggtcat cttcttctg atggcagtg ttacaggggt caattcagag 60  
 gttcagctgc agcagctctgg ggctgagctt gtgaggccag gggccttagt caagttgtcc 120  
 tgcaaagctt ctggcttcaa cattaatgac tactatatcc actgggtgaa gcagcggcct 180  
 gaacagggcc tggagcggat tggatggatt gatcctgaca atggtaatac tatatatgac 240  
 ccgaagttcc agggcaaggc cagtataaca gcagacacat cccccaacac agcctacctg 300  
 cagctcagca gcctgacatc tgaggacact gccgtctatt actgtgctag aaccgatct 360  
 cctatggtta cgacgggggt tgtttactgg ggccaagggg ctgtggtcac tgtctctgca 420  
 gccaaaacga agggcccatc cgtcttcccc ctggcgcctt gctccaggag cacctccgag 480  
 agcacagccg ccctgggctg cctgggcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg 540  
 tggaaactcag ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtctca 600  
 ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 660  
 tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtc 720  
 aatatggtc ccccatgccc accctgccc gcacctgagt tcgaaggggg accatcagtc 780  
 ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 840  
 tgcgtgggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 900  
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacraag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 960  
 cgtgtgggtca ggcctctcac cgtctctgac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 1020  
 tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgctc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080  
 gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag 1140  
 aaccaggtca gcctgacctg cctgggcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgcctggag 1200  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 1260  
 gaoggtctct tcttctctca cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 1320  
 aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 1380  
 ctctccctgt ctctgggtaa agctagcaat tctctcaaa atgaagtact gtacggagat 1440  
 gtgaatgatg acggaaaagt aaactccact gacttgactt tgttaaaaag atatgttctt 1500  
 aaagcogtct caactctccc ttcttcaaaa gctgaaaaga acgcagatgt aaatcgtgac 1560  
 ggaagagtta attccagtga tgtcacaata ctttcaagat atttgataag ggtaatcgag 1620  
 aaattaccaa tataa 1635

<210> 5  
 <211> 525  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>

ES 2 536 900 T3

<223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 5

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Leu Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Asn Asp Tyr  
20 25 30

5

ES 2 536 900 T3

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Arg Ile  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Asp Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Pro Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Thr Arg Ser Pro Met Val Thr Thr Gly Phe Val Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly  
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser  
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro  
 260 265 270

ES 2 536 900 T3

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 305 310 315 320

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

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440 445

Ala Ser Asn Ser Pro Gln Asn Glu Val Leu Tyr Gly Asp Val Asn Asp  
 450 455 460

Asp Gly Lys Val Asn Ser Thr Asp Leu Thr Leu Leu Lys Arg Tyr Val  
 465 470 475 480

Leu Lys Ala Val Ser Thr Leu Pro Ser Ser Lys Ala Glu Lys Asn Ala  
 485 490 495

Asp Val Asn Arg Asp Gly Arg Val Asn Ser Ser Asp Val Thr Ile Leu  
 500 505 510

Ser Arg Tyr Leu Ile Arg Val Ile Glu Lys Leu Pro Ile

# ES 2 536 900 T3

515

520

525

5  
<210> 6  
<211> 1638  
<212> ADN  
<213> Artificial

10  
<220>  
<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente  
<400> 6



ES 2 536 900 T3

atggacccca aaggtccct ttctggaga atactttctgt ttctctccct ggcttttgag 60  
 ttgtcgtacg gagatgtgca gcttcaggag tcaggacctg acctggtgaa accttctcag 120  
 tcaactttcac tcacctgcac tgtcactggc tactccatca ccagtgggta tagctggcac 180  
 tggatccggc agtttccagg aaacaaactg gaatggatgg gctacatact cttcagtggg 240  
 agcactaact acaaccatc tctgaaaagt cgaatctcta tcaactcgaga cacatccaag 300  
 aaccagttct tctgcagtt gaattctgtg actactgagg acacagccac atatttctgt 360  
 gcaagatcta actatggttc ctttgettcc tggggccaag ggactctggt cactgtctct 420  
 gcagccaaaa caaagggcc atccgtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 480  
 gagagcacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggg 540  
 tcgtggaact caggcgcct gaccagcggc gtgcacacct tccggctgt cctacagtec 600  
 tcaggactct actccctoag cagcgtggg accgtgcct ccagcagctt gggcacgaag 660  
 acctacaact gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 720  
 tccaaatatg gtccccatg cccacctgc ccagcacctg agtccgaag gggaccatca 780  
 gtcttctgt tcccccaaa acccaaggac actctcatga tctccggac cctgaggtc 840  
 acgtgogtg tggtggacgt gagccaggaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtagctg 900  
 gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgoggg aggagcagtt caacagcacg 960  
 taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 1020  
 aagtgcagg tctccaaca aggctccc tctccatcg agaaaaccat ctccaagcc 1080  
 aaagggcagc cccgagagcc acaggtgtac accctgcccc catcccagga ggagatgacc 1140  
 aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg 1200  
 gagtgggaga gcaatgggca gcgggagaac aactacaaga ccagcctcc cgtgctggac 1260  
 tccgacggct ctttcttct ctacagcagg ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag 1320  
 gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgac acaaccacta cacacagaag 1380  
 agcctctccc tgtctctggg taaagctagc aattctctc aaaatgaagt actgtacgga 1440  
 gatgtgaatg atgacggaaa agtaaactcc actgacttga ctttggtaaa aagatatggt 1500  
  
 cttaaagccg tctcaactct ccttcttcc aaagctgaaa agaacgcaga tgtaaactgt 1560  
 gacggaagag ttaattccag tgatgtcaca atactttcaa gatatttgat aagggtaatc 1620  
 gagaaattac caatataa 1638

<210> 7  
 <211> 521  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente

ES 2 536 900 T3

<400> 7

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly  
 20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp  
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Leu Phe Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
 50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe  
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
 85 90 95

Ala Arg Ser Asn Tyr Gly Ser Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

ES 2 536 900 T3

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro  
 210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

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

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
 405 410 415

ES 2 536 900 T3

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ala Ser Asn Ser  
435 440 445

Pro Gln Asn Glu Val Leu Tyr Gly Asp Val Asn Asp Asp Gly Lys Val  
450 455 460

Asn Ser Thr Asp Leu Thr Leu Leu Lys Arg Tyr Val Leu Lys Ala Val  
465 470 475 480

Ser Thr Leu Pro Ser Ser Lys Ala Glu Lys Asn Ala Asp Val Asn Arg  
485 490 495

Asp Gly Arg Val Asn Ser Ser Asp Val Thr Ile Leu Ser Arg Tyr Leu  
500 505 510

Ile Arg Val Ile Glu Lys Leu Pro Ile  
515 520

<210> 8  
<211> 1623  
<212> ADN  
<213> Artificial

5

<220>  
<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

10

<400> 8

ES 2 536 900 T3

atggaaggc actggatctt tctcttctg ttttcagtaa ctgcagggtg ccaactcccag 60  
gtccagcttc agcagtctgg ggctgagctg gcaaaacctg gggcctcagt gaagatgtcc 120  
tgcaaggctt ctggctacac ctttactacc tactggatgc actgggtaaa acagaggcct 180  
ggacagggtc tggaatggat tggatacatt aatcctatca ctggttatac tgagtacaat 240  
cagaagttca aggacaaggc caccttgact gcagacaaat cctccagcag agcctacatg 300  
caactgagca gcctgacatc tgaggactct gcagttctatt actgtgcaag agagggttta 360  
agtgtctatgg actattgggg tcaggggaacc tcagtcaccg tcacctcagc caaaacaacg 420  
ggcccatccg tcttcccctt ggccgcctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 480  
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgctgtg gaactcaggc 540  
gccctgacca gggcgctgca caccttcccg gctgtctctac agtcctcagg actctactcc 600  
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagacctt cacctgcaac 660  
gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagtccaa atatggctcc 720  
  
ccatgcccac cctgcccagc acctgagttc gaagggggac catcagtctt cctgttcccc 780  
ccaaaaccca aggacactct catgatctcc cggacccttg aggtcacgtg cgtgggtggtg 840  
gacgtgagcc aggaagacce cgaggctccag ttcaactggt acgtggatgg cgtggaggtg 900  
cataatgcca agacaaagcc gggggaggag cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 960  
gtcctcaccg tcttgacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 1020  
aaciaaggcc tcccgtctc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1080  
gagccacagg tgtacacctt gccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1140  
ctgacctgcc tggtaaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200  
gggcagccgg agaacaacta caagaccagc cctcccgctg tggactccga cggctcctc 1260  
ttctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcagggtggc aggaggggaa tgtcttctca 1320  
tgctccgtga tgcatgagc tctgcacaac cactacacac agaagagcct ctccctgtct 1380  
ctgggtaaaag ctagcaattc tctcaaaat gaagtactgt acggagatgt gaatgatgac 1440  
ggaaaagtaa actccactga cttgactttg ttaaaaagat atgttcttaa agccgtctca 1500  
actctccctt cttccaaagc tgaaaagaac gcagatgtaa atcgtgacgg aagagttaat 1560  
tccagtgatg tcacaatact ttcaagatat ttgataaggg taatcgagaa attaccaata 1620  
taa 1623

<210> 9  
<211> 521  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 536 900 T3

<220>

<223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 9

5

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr  
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ile Thr Gly Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe  
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

ES 2 536 900 T3

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Leu Ser Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser  
100 105 110

Val Thr Val Thr Ser Ala Lys Thr Thr Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro  
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

ES 2 536 900 T3

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

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln  
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ala Ser Asn Ser  
 435 440 445

Pro Gln Asn Glu Val Leu Tyr Gly Asp Val Asn Asp Asp Gly Lys Val  
 450 455 460

Asn Ser Thr Asp Leu Thr Leu Leu Lys Arg Tyr Val Leu Lys Ala Val  
 465 470 475 480

Ser Thr Leu Pro Ser Ser Lys Ala Glu Lys Asn Ala Asp Val Asn Arg  
 485 490 495

Asp Gly Arg Val Asn Ser Ser Asp Val Thr Ile Leu Ser Arg Tyr Leu  
 500 505 510

Ile Arg Val Ile Glu Lys Leu Pro Ile  
 515 520

<210> 10  
 <211> 732  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

10

<400> 10



ES 2 536 900 T3

atgcatcgca ccagcatggg catcaagatg gagtcacaga ttcaggcatt tgtattcgtg 60  
 tttctctggg tgtctgggtg tggcgggagac attgtgatga cccagtcctca caaattcatg 120  
 tccacatcag taggagacag ggtcagcgtc acctgcaagg ccagtcagga tgtgacttct 180  
 gctgtagcct ggtatcaaca aaaaccaggg caatctccta aactactgat ttactgggca 240  
 tccacccggc aactgggagt cctgatcgc ttcacaggca gtggatctgg gacagattat 300  
 actctacca tcagcagtg gaggctgaa gacctggcac ttattactg tcaccaatat 360  
 tatagcgtc ctggagcgtt cgggtggagg accaagctcg agatcaaacg aactgtggct 420  
 gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct 480  
 gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc agagaggcca aagtacagtg gaaggaggat 540  
 aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag agtgtcacag agcaggacag caaggacagc 600  
 acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc 660  
 tatgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg 720  
 ggagagtgtt ag 732

5 <210> 11  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente  
 <400> 11

ES 2 536 900 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Thr Ser Ala  
 20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Gly Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Ser Ala Pro Arg  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 12  
 <211> 1644  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

ES 2 536 900 T3

<220>

<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

<400> 12

5

```

atgggatggt catgtatcat cctttttcta gtagcaactg caactggagt acattcacag      60
gtccaactgc agcagcctgg ggctgagctg gtgaggcctg ggacttcagt gaagttgtcc      120
tgcaaggctt ctggttacat ctttaccagc tactggatgc actgggtaaa gcagaggcct      180
ggacaaggcc ttgagtggat cggactgatt gatccttctg atagttatag taagtacaat      240
caaaagttca agggcaagge cacattgact gtagacacat cctccagcac agcctacatg      300
cagctcagca gctgacatc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aggggagctc      360
agtgacttct ggggccaagg caccactctc acagtctcct cagccaaaac aacaccccca      420
tcagtctatc cactggcccc tgggtgtgga gatacaactg gttcctctgt gactctggga      480
tgcttggtca agggctactt cctgagtca gtgactgtga cttggaactc tggatccctg      540
tccagcagtg tgcacacctt cccagctctc ctgcagtctg gactctacac tatgagcagc      600
tcagtgactg tcccctccag cacctggcca agtcagaccg tcacctgcag cgttgctcac      660
ccagccagca gcaccacggt ggacaaaaaa cttgagccca gcgggcccac ttcaacaatc      720
aaccctgtc ctccatgcaa ggagtgtcac aatgcccag ctccctaacct cgagggtgga      780
ccatccgtct tcacttccc tccaaatate aaggatgtac tcatgatctc cctgacaccc      840
aaggtcacgt gtgtggtggt ggatgtgagc gaggatgacc cagacgtccg gatcagctgg      900
tttgtgaaca acgtggaagt acacacagct cagacacaaa cccatagaga ggattacaac      960
agtactatcc ggggtggtcag tgccctccc atccagcacc aggactggat gagtggcaag     1020
gagttcaaat gcaaggtcaa caacaagac ctcccatcac ccatcgagag aaccatctca     1080
aaaattaaag ggctagtcag agctccaaa gtatacatct tgccgccacc agcagagcag     1140
ttgtccagga aagatgtcag tctcacttgc ctggtcgtgg gcttcaaccc tggagacatc     1200
agtgtggagt ggaccagcaa tgggcataca gaggagaact acaaggacac cgcaccagtc     1260
ctggactctg acggttctta cttcatatac agcaagctcg atataaaaac aagcaagtgg     1320
gagaaaacag attccttctc atgcaacgtg agacacgagg gtctgaaaaa ttactaactg     1380
aagaagacca tctcccgtc tccgggtaaa gctagcaatt ctctcaaaa tgaagtactg     1440
tacggagatg tgaatgatga cggaaaagta aactccactg acttgacttt gttaaaaaga     1500
tatgttctta aagccgtctc aactctgect tcttccaaag ctgaaaagaa cgcagatgta     1560
aatogtgacg gaagagttaa ttccagtgat gtcacaatac tttcaagata tttgataagg     1620
gtaatcgaga aattaccaat ataa                                             1644

```

<210> 13

ES 2 536 900 T3

<211> 528  
<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 13

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr  
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

Gly Leu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Ser Lys Tyr Asn Gln Lys Phe

10

ES 2 536 900 T3

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

ES 2 536 900 T3

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly  
 305 310 315 320

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser Pro Ile  
 325 330 335

Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln Val  
 340 345 350

Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val Ser  
 355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val Glu  
 370 375 380

Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala Pro  
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asp Ile  
 405 410 415

Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val Arg  
 420 425 430

His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser Arg Ser  
 435 440 445

Pro Gly Lys Ala Ser Asn Ser Pro Gln Asn Glu Val Leu Tyr Gly Asp  
 450 455 460

Val Asn Asp Asp Gly Lys Val Asn Ser Thr Asp Leu Thr Leu Leu Lys  
 465 470 475 480

Arg Tyr Val Leu Lys Ala Val Ser Thr Leu Pro Ser Ser Lys Ala Glu  
 485 490 495

Lys Asn Ala Asp Val Asn Arg Asp Gly Arg Val Asn Ser Ser Asp Val  
 500 505 510

Thr Ile Leu Ser Arg Tyr Leu Ile Arg Val Ile Glu Lys Leu Pro Ile  
 515 520 525

5 <210> 14  
 <211> 2061  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>

ES 2 536 900 T3

<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

<400> 14

atggatccca aaggatccct ttctggaga atacttctgt ttctctccct ggcttttgag	60
ttgagctacg gactcgacga tctggatgca gtaaggatta aagtggacac agtaaatgca	120
aaaccgggag acacagtaag aatacctgta agattcagcg gtataccatc caaggaata	180
gcaaactgtg actttgtata cagctatgac ccgaatgtac ttgagataat agagatagaa	240
ccgggagaca taatagttga cccgaatcct gacaagagct ttgatactgc agtatatcct	300
gacagaaaga taatagtatt cctgtttga gaagacagcg gaacaggagc gtatgcaata	360
actaaagacg gagtatttgc tacgatagta gcgaaagtaa aagaaggagc acctaacgga	420
ctcagtgtaa tcaaatttgt agaagtaggc ggatttgcga acaatgacct tgtagaacag	480
aagacacagt tctttgacgg tggagtaaat gttggagata caacagaacc tgcaacacct	540
acaacacctg taacaacacc gacaacaaca gatgatctgg atgcactcga gatcatccca	600
gttgaggagg agaaccgga cttctggaac cgcgaggcag ccgaggccct gggtgccgcc	660
aagaagctgc agcctgcaca gacagccgcc aagaacctca tcattcttct gggcgatggg	720
atgggggtgt ctacggtgac agctgccagg atcctaaaag ggcagaagaa ggacaaactg	780
gggcctgagt taccctggc catggaccgc ttcccatatg tggctctgtc caagacatac	840
aatgtagaca aacatgtgcc agacagtgga gccacagcca cggcctacct gtgcggggtc	900
aagggcaact tccagaccat tggcttgagt gcagccgcc gctttaacca gtgcaacacg	960
acacgcgca acgaggtcat ctccgtgatg aatcgggcca agaaagcagg gaagtcagtg	1020
ggagtggtaa ccaccacacg agtgcagcac gcctcgccag ccggcaccta cgccacacg	1080
gtgaaccgca actggtactc ggacgcccag gtgcctgcct cggcccgcca ggaggggtgc	1140
caggacatcg ctacgcagct catctccaac atggacattg acgtgatcct aggtggaggc	1200
cgaaagtaca tgtttcgcat ggaacccca gaccctgagt acccagatga ctacagccaa	1260
ggtgggacca ggctggacgg gaagaatctg gtgcaggaat ggctggcgaa gcgccagggt	1320
gcccggtacg tgtggaaccg cactgagctc atgcaggctt ccctggacce gtctgtgacc	1380
catctcatgg gtctctttga gcctggagac atgaaatacg agatccaccg agactccaca	1440
ctggaccctt cctgatgga gatgacagag gctgcctgc gcctgctgag caggaacccc	1500
cgcggcttct tctcttctgt ggaggggtgt cgcctcgacc atggatcatca tgaagcagg	1560
gcttaccggg cactgactga gacgatcatg ttocagcagc ccattgagag ggcgggccag	1620
ctcaccagcg aggaggacac gctgagcctc gtcactgccg accactccca cgtcttctcc	1680

ES 2 536 900 T3

ttcggagggt accccctgcg agggagctcc atcttcgggc tggcccctgg caaggcccgg 1740  
 gacaggaagg cctacacggg cctcctatac ggaaacgggc caggctatgt gctcaaggac 1800  
 ggcgcccggc cggatgttac cgagagcgag agcggggagcc ccgagtatcg gcagcagtca 1860  
 gcagtgcccc tggacgaaga gacccacgca ggcgaggacg tggcggtggt cgcgcgcggc 1920  
 ccgcaggcgc acctgggtca cggcgtgcag gacgagacct tcatagcgca cgtcatggcc 1980  
 ttgcgcgct gcttggagcc ctacaccgcc tgcgacctgg cgcccccgc cggcaccacc 2040  
 caccatcacc atcaccattg a 2061

<210> 15  
 <211> 662  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente

10

<400> 15

Leu Asp Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala  
 1 5 10 15

Lys Pro Gly Asp Thr Val Arg Ile Pro Val Arg Phe Ser Gly Ile Pro  
 20 25 30

Ser Lys Gly Ile Ala Asn Cys Asp Phe Val Tyr Ser Tyr Asp Pro Asn  
 35 40 45

Val Leu Glu Ile Ile Glu Ile Glu Pro Gly Glu Leu Ile Val Asp Pro  
 50 55 60

Asn Pro Thr Lys Ser Phe Asp Thr Ala Val Tyr Pro Asp Arg Lys Met  
 65 70 75 80

Ile Val Phe Leu Phe Ala Glu Asp Ser Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Ile  
 85 90 95

Thr Glu Asp Gly Val Phe Ala Thr Ile Val Ala Lys Val Lys Ser Gly  
 100 105 110

Ala Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu Val Gly Gly Phe  
 115 120 125

Ala Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe Phe Asp Gly Gly  
 130 135 140



ES 2 536 900 T3

Val Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val  
 145 150 155 160

Thr Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Leu Glu Ile Ile Pro  
 165 170 175

Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp Phe Trp Asn Arg Glu Ala Ala Glu Ala  
 180 185 190

Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ala Gln Thr Ala Ala Lys Asn  
 195 200 205

Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala  
 210 215 220

Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Lys Asp Lys Leu Gly Pro Glu Leu  
 225 230 235 240

Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr  
 245 250 255

Asn Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly Ala Thr Ala Thr Ala Tyr  
 260 265 270

Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Phe Gln Thr Ile Gly Leu Ser Ala Ala  
 275 280 285

Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg Gly Asn Glu Val Ile Ser  
 290 295 300

Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys Ser Val Gly Val Val Thr  
 305 310 315 320

Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala Gly Thr Tyr Ala His Thr  
 325 330 335

Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp Val Pro Ala Ser Ala Arg  
 340 345 350

Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln Leu Ile Ser Asn Met Asp  
 355 360 365

Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys Tyr Met Phe Arg Met Gly  
 370 375 380

ES 2 536 900 T3

Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Tyr Ser Gln Gly Gly Thr Arg  
385 390 395 400

Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp Leu Ala Lys Arg Gln Gly  
405 410 415

Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu Met Gln Ala Ser Leu Asp  
420 425 430

Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Lys  
435 440 445

Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser Thr Leu Asp Pro Ser Leu Met Glu Met  
450 455 460

Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu Leu Ser Arg Asn Pro Arg Gly Phe Phe  
465 470 475 480

Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His Gly His His Glu Ser Arg  
485 490 495

Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu Thr Ile Met Phe Asp Asp Ala Ile Glu  
500 505 510

Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp Thr Leu Ser Leu Val Thr  
515 520 525

Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly Gly Tyr Pro Leu Arg Gly  
530 535 540

Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys Ala Arg Asp Arg Lys Ala  
545 550 555 560

Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly Asn Gly Pro Gly Tyr Val Leu Lys Asp  
565 570 575

Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr Glu Ser Glu Ser Gly Ser Pro Glu Tyr  
580 585 590

Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Glu Glu Thr His Ala Gly Glu  
595 600 605

Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln Ala His Leu Val His Gly  
610 615 620

Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val Met Ala Phe Ala Ala Cys



ES 2 536 900 T3

aagaaggaca aactggggcc tgagttaccc ctggccatgg accgcttccc atatgtggct 1320  
ctgtccaaga catacaatgt agacaaacat gtgccagaca gtggagccac agccacggcc 1380  
tacctgtgcg gggcaaggc caacttccag accattggct tgagtgcagc cgcccgttt 1440  
aaccagtgca acacgacacg cggcaacgag gtcattctccg tgatgaatcg ggccaagaaa 1500  
gcagggaagt cagtgggagt ggtaaccacc acacgagtgc agcacgcctc gccagccggc 1560  
acctacgccc acacggtgaa ccgcaactgg tactcggacg ccgacgtgcc tgccctcggcc 1620  
cgccaggagg ggtgccagga catcgctacg cagctcatct ccaacatgga cattgaogtg 1680  
atcctaggtg gaggccgaaa gtacatgttt cgcattggaa cccagaccc tgagtaccca 1740  
gatgactaca gccaagggtg gaccaggctg gacgggaaga atctggtgca ggaatggctg 1800  
gcgaagcggc aggggtgccc gtacgtgtgg aaccgcaactg agctcatgca ggcttccctg 1860  
gaccctgtctg tgacccatct catgggtctc tttgagcctg gagacatgaa atacgagatc 1920  
caccgagact ccacactgga cccctccctg atggagatga cagaggctgc cctgcgcctg 1980  
ctgagcagga acccccggg cttcttctc ttcgtggagg gtggtcgcac cgaccatggt 2040  
catcatgaaa gcagggtta ccgggcaactg actgagacga tcatgttcga cgacgccatt 2100  
gagagggcgg gccagctcac cagcagaggag gacacgctga gcctcgtcac tgccgaccac 2160  
tcccagctct tctccttcgg aggctacccc ctgcgaggga gctccatctt cgggctggcc 2220  
cctggcaagg cccgggacag gaaggcctac acggctctcc tatacggaaa cggccagggc 2280  
tatgtgctca aggacggcgc ccggccggat gttaccgaga gcgagagcgg gagccccgag 2340  
tatcggcagc agtcagcagt gcccctggac gaagagaccc acgcaggcga ggacgtggcg 2400  
gtgttcgccc gcggcccgca ggcgcacctg gttcacggcg tgcaggagca gacctcata 2460  
gcgcacgtca tggccttcgc cgctgcctg gagccctaca ccgctgcga cctggcgccc 2520  
ccgcgggca ccaccacca tcaccatcac cattga 2556

<210> 17  
<211> 826  
<212> PRT  
<213> Artificial

5

<220>  
<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

10

<400> 17

Leu Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala Lys  
1 5 10 15

Pro Gly Asp Thr Val Arg Ile Pro Val Arg Phe Ser Gly Ile Pro Ser



ES 2 536 900 T3

Val Lys Glu Gly Ala Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu  
 275 280 285

Val Gly Gly Phe Ala Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe  
 290 295 300

Phe Asp Gly Gly Val Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro  
 305 310 315 320

Thr Thr Pro Val Thr Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Leu  
 325 330 335

Glu Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp Phe Trp Asn Arg Glu  
 340 345 350

Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ala Gln Thr  
 355 360 365

Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser  
 370 375 380

Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Lys Asp Lys Leu  
 385 390 395 400

Gly Pro Glu Leu Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val Ala Leu  
 405 410 415

Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly Ala Thr  
 420 425 430

Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Phe Gln Thr Ile Gly  
 435 440 445

Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg Gly Asn  
 450 455 460

Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys Ser Val  
 465 470 475 480

Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala Gly Thr  
 485 490 495

Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp Val Pro  
 500 505 510

ES 2 536 900 T3

Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln Leu Ile  
515 520 525

Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys Tyr Met  
530 535 540

Phe Arg Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Tyr Ser Gln  
545 550 555 560

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

Lys Arg Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu Met Gln  
580 585 590

Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe Glu Pro  
595 600 605

Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser Thr Leu Asp Pro Ser  
610 615 620

Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu Leu Ser Arg Asn Pro  
625 630 635 640

Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His Gly His  
645 650 655

His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu Thr Ile Met Phe Asp  
660 665 670

Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp Thr Leu  
675 680 685

Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly Gly Tyr  
690 695 700

Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys Ala Arg  
705 710 715 720

Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly Asn Gly Pro Gly Tyr  
725 730 735

Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr Glu Ser Glu Ser Gly  
740 745 750

ES 2 536 900 T3

Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Glu Glu Thr  
755 760 765

His Ala Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln Ala His  
770 775 780

Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val Met Ala  
785 790 795 800

Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala Pro Pro  
805 810 815

Ala Gly Thr Thr His His His His His His  
820 825

<210> 18  
<211> 1326  
<212> ADN  
<213> Artificial

5

<220>  
<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

10

<400> 18



ES 2 536 900 T3

atggatccca aaggatccct ttccctggaga atactttctgt ttctctccct ggcttttgag 60  
 ttgagctacg gactcgacga tctggatgca gtaaggatta aagtggacac agtaaatgca 120  
 aaaccgggag acacagtaag aatacctgta agattcagcg gtataccatc caaggaata 180  
 gcaaactgtg actttgtata cagctatgac ccgaatgtac ttgagataat agagatagaa 240  
 ccgggagaca taatagttga cccgaatcct gacaagagct ttgatactgc agtatatcct 300  
 gacagaaaga taatagtatt cctgtttgca gaagacagcg gaacaggagc gtatgcaata 360  
 actaaagacg gagtatgtgc tacgatagta gcgaaagtaa aagaaggagc acctaacgga 420  
 ctcagtgtaa tcaaatttgt agaagtaggc ggatttgoga acaatgacct tgtagaacag 480  
 aagacacagt tctttgacgg tggagtaaat gttggagata caacagaacc tgcaaacacct 540  
 acaaacacctg taacaacacc gacaacaaca gatgatctgg atgcactcga ggcgccctc 600  
 atcctgtctc ggattgtggg aggctgggag tgcgagaagc attccaacc ctggcaggtg 660  
 cttgtggcct ctctgtggcag ggcagtctgc ggcggtgttc tgggtgcacc ccagtgggtc 720  
 ctcacagctg cccactgcat caggaacaaa agcgtgatct tgctgggtcg gcacagcctg 780  
 tttcatcctg aagacacagg ccaggtattt caggtcagcc acagcttccc acaccgctc 840  
 tacgatatga gcctoctgaa gaatcgattc ctcaggccag gtgatgactc cagccacgac 900  
 ctcattgtgc tccgctgtc agagcctgcc gagctcaagg atgctgtgaa ggcatggac 960  
 ctgccaccc aggagccagc actggggacc acctgctacg cctcaggctg gggcagcatt 1020  
 gaaccagagg agttcttgac cccaaagaaa cttcagtgtg tggacctcca tgttatttcc 1080  
 aatgacgtgt gcgcgcaagt tcaccctcag aaggtagcca agttcatgct gtgtgctgga 1140  
 cgctggacag ggggcaaaag cacctgctcg ggtgattctg ggggcccact tgtctgtaat 1200  
 ggtgtgcttc aaggatcac gtcattgggc agtgaaccat gtgccctgcc cgaaaggcct 1260  
 tcctgtaca ccaagggtgt gcattaccgg aagtggatca aggacacat cgtggccaac 1320  
 ccctga 1326

5 <210> 19  
 <211> 417  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente  
 <400> 19

ES 2 536 900 T3

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

ES 2 536 900 T3

Val Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val  
 145 150 155 160

Thr Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Leu Glu Ala Pro Leu  
 165 170 175

Ile Leu Ser Arg Ile Val Gly Gly Trp Glu Cys Glu Lys His Ser Gln  
 180 185 190

Pro Trp Gln Val Leu Val Ala Ser Arg Gly Arg Ala Val Cys Gly Gly  
 195 200 205

Val Leu Val His Pro Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Ile Arg  
 210 215 220

Asn Lys Ser Val Ile Leu Leu Gly Arg His Ser Leu Phe His Pro Glu  
 225 230 235 240

Asp Thr Gly Gln Val Phe Gln Val Ser His Ser Phe Pro His Pro Leu  
 245 250 255

Tyr Asp Met Ser Leu Leu Lys Asn Arg Phe Leu Arg Pro Gly Asp Asp  
 260 265 270

Ser Ser His Asp Leu Met Leu Leu Arg Leu Ser Glu Pro Ala Glu Leu  
 275 280 285

Thr Asp Ala Val Lys Val Met Asp Leu Pro Thr Gln Glu Pro Ala Leu  
 290 295 300

Gly Thr Thr Cys Tyr Ala Ser Gly Trp Gly Ser Ile Glu Pro Glu Glu  
 305 310 315 320

Phe Leu Thr Pro Lys Lys Leu Gln Cys Val Asp Leu His Val Ile Ser  
 325 330 335

Asn Asp Val Cys Ala Gln Val His Pro Gln Lys Val Thr Lys Phe Met  
 340 345 350

Leu Cys Ala Gly Arg Trp Thr Gly Gly Lys Ser Thr Cys Ser Gly Asp  
 355 360 365

Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Gly Val Leu Gln Gly Ile Thr Ser  
 370 375 380

Trp Gly Ser Glu Pro Cys Ala Leu Pro Glu Arg Pro Ser Leu Tyr Thr

ES 2 536 900 T3

385

390

395

400

Lys Val Val His Tyr Arg Lys Trp Ile Lys Asp Thr Ile Val Ala Asn  
405 410 415

Pro

5 <210> 20  
<211> 1554  
<212> ADN  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

<400> 20

ES 2 536 900 T3

atggatccca aaggatccct ttctggaga ataactctgt ttctotocct ggcttttgag 60  
 ttgagctacg gactcgacga tetggatgca gtaaggatta aagtggacac agtaaagca 120  
 aaaccgggag acacagtaag aatacctgta agattcagcg gtataccatc caagggaata 180  
 gcaaactgtg actttgtata cagctatgac ccgaatgtac ttgagataat agagatagaa 240  
 ccgggagaca taatagttga cccgaatcct gacaagagct ttgatactgc agtatatcct 300  
 gacagaaaga taatagtatt cctgtttgca gaagacagcg gaacaggagc gtatgcaata 360  
 actaaagacg gagtatttgc tacgatagta gcgaaagtaa aagaaggagc acctaacgga 420  
 ctcagtgtaa tcaaatttgt agaagtaggc ggatttgoga acaatgacct tgtagaacag 480  
 aagacacagt tctttgacgg tggagtaaat gttggagata caacagaacc tgcaacacct 540  
 acaacacctg taacaacacc gacaacaaca gatgatctgg atgcaactcga ggatcagatt 600  
 tgcattgggt accatgcaaa caactcgaca gagcaggttg acacaataat ggaaaagaac 660  
 gttactgtta cacatgccca agacatactg gaaaagaaac acaacgggaa gctctgcat 720  
 ctagatggag tgaagcctct aattttgaga gattgtagcg tagctggatg gctcctcgga 780  
 aacccaatgt gtgacgaatt catcaatgtg ccggaatggt cttacatagt ggagaaggcc 840  
 aatccagtca atgacctctg ttaccaggg gatttcaatg actatgaaaa attgaaacac 900  
 ctattgagca gaataacca ttttgagaaa attcagatca tccccaaaag ttcttggtcc 960  
 agtcatgaag cctcattagg ggtgagctca gcattgocat accagggaaa gtctctcttt 1020  
 ttcagaaatg tggatggct tatcaaaaag aacagtacat acccaacaat aaagaggagc 1080  
 tacaataata ccaaccaaga agatcttttg gtactgtggg ggattcacca tccaatgat 1140  
 gcggcagagc agacaaagct ctatcaaac ccaaccacct atatttccgt tgggacatca 1200  
 aactaaacc agagattggt accaagaata gctactagat ccaaagtaaa cgggcaaagt 1260  
 ggaaggatgg agttctctg gacaatttta aagccgaatg atgcaatcaa ctctgagagt 1320  
 aatggaaatt tcattgctcc agaatagca taaaaaattg tcaagaaagg ggactcaaca 1380  
 attatgaaaa gtgaattgga atatgtaac tgcaacacca agtgtcaaac tccaatgggg 1440  
 gcgataaact ctagcatgcc attccacaat atacaccctc tcaccattgg ggaatgcccc 1500  
 aatatgtga aatcaaacag attagtcctt gcgcaccatc accatcacca ttga 1554

<210> 21  
 <211> 493  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 21

5

10

ES 2 536 900 T3

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

ES 2 536 900 T3

Thr Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Leu Glu Asp Gln Ile  
 165 170 175

Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile  
 180 185 190

Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys  
 195 200 205

Lys His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile  
 210 215 220

Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys  
 225 230 235 240

Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ala  
 245 250 255

Asn Pro Val Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn Asp Tyr Glu  
 260 265 270

Lys Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln  
 275 280 285

Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Ser His Glu Ala Ser Leu Gly Val  
 290 295 300

Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe Arg Asn Val  
 305 310 315 320

Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Ser Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Arg Ser  
 325 330 335

Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His  
 340 345 350

His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Lys Leu Tyr Gln Asn Pro Thr  
 355 360 365

Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro  
 370 375 380

Arg Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Met Glu  
 385 390 395 400

ES 2 536 900 T3

Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn Phe Glu Ser  
405 410 415

Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys  
420 425 430

Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn  
435 440 445

Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe  
450 455 460

His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys  
465 470 475 480

Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala His His His His His His  
485 490

<210> 22  
<211> 1293  
<212> ADN  
<213> Artificial

5

<220>  
<223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

10

<400> 22



ES 2 536 900 T3

atggatctgg atgcagtaag gattaaagtg gacacagtaa atgcaaaacc gggagacaca 60  
gtaaataaac ctgtaagatt cagtggata ccatccaagg gaatagcaaa ctgtgacttt 120  
gtatacagct atgacccgaa tgtacttgag ataatagaga taaaaccggg agaattgata 180  
gttgaccoga atcctaccaa gagctttgat actgcagtat atcctgacag aaagatgata 240  
gtattcctgt ttgcggaaga cagcgggaaca ggagcgtatg caataactaa agacggagta 300  
tttgctacga tagtagcga agtaaaagaa ggagcaccta acgggctcag tgtaatcaaa 360  
tttgtagaag taggcggatt tgcgaacaat gacctttag aacagaagac acagttcttt 420  
gacggtggag taaatggtg agatacaaca gaacctgcaa cacctacaac acctgtaaca 480  
acaccgaaa caacagatga tctggatgca gctagccttc taaccgaggt cgaaacgtac 540  
gttctcteta tcatcccgtc aggcccccctc aaagccgaga tcgcacagag acttgaagat 600  
gtctttgcag ggaagaacac cgatcttgag gttctcatgg aatggctaaa gacaagacca 660  
atcctgtcac ctctgactaa ggggatttta ggatttgtgt tcacgctcac cgtgccagct 720  
gagcggggac tgcagcgtag acgctttgtc caaaatgctc ttaatgggaa cggagatcca 780  
aataacatgg acaaagcagt taaactgtat aggaagctta agagggagat aacattccat 840  
ggggccaaag aaatagcact cagttattct gctggtgcac ttgccagttg tatgggcctc 900  
atatacaaca ggatgggggc tgtgaccact gaagtggcat ttggcctggt atgcgcaacc 960  
tgtgaacaga ttgctgactc ccagcatcgg tctcataggc aaatggtgac aacaaccaat 1020  
ccactaatca gacatgagaa cagaatggtt ctagccagca ctacagctaa ggctatggag 1080  
caaatggctg gatcgagtga gcaagcagca gaggccatgg atattgctag tcaggccagg 1140  
caaatggtgc aggcgatgag aaccattggg actcatccta gctccagtgc tggctctaaaa 1200  
gatgatcttc ttgaaaattt gcaggcttac cagaaacgga tgggggtgca gatgcagcga 1260  
ttcaagctcg agcaccacca ccaccaccac tga 1293

- 5 <210> 23
- <211> 430
- <212> PRT
- <213> Artificial
  
- 10 <220>
- <223> Péptido sintetizado químicamente
  
- <400> 23

ES 2 536 900 T3

Met Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala Lys  
 1 5 10 15

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

Lys Gly Ile Ala Asn Cys Asp Phe Val Tyr Ser Tyr Asp Pro Asn Val  
 35 40 45

Leu Glu Ile Ile Glu Ile Lys Pro Gly Glu Leu Ile Val Asp Pro Asn  
 50 55 60

Pro Thr Lys Ser Phe Asp Thr Ala Val Tyr Pro Asp Arg Lys Met Ile  
 65 70 75 80

Val Phe Leu Phe Ala Glu Asp Ser Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Ile Thr  
 85 90 95

Lys Asp Gly Val Phe Ala Thr Ile Val Ala Lys Val Lys Glu Gly Ala  
 100 105 110

Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu Val Gly Gly Phe Ala  
 115 120 125

Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe Phe Asp Gly Gly Val  
 130 135 140

ES 2 536 900 T3

Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val Thr  
 145 150 155 160

Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ser Leu Leu Thr Glu  
 165 170 175

Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Ile Pro Ser Gly Pro Leu Lys Ala  
 180 185 190

Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe Ala Gly Lys Asn Thr Asp  
 195 200 205

Leu Glu Val Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr Arg Pro Ile Leu Ser Pro  
 210 215 220

Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu Thr Val Pro Ser  
 225 230 235 240

Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val Gln Asn Ala Leu Asn Gly  
 245 250 255

Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Lys Ala Val Lys Leu Tyr Arg Lys  
 260 265 270

Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala Lys Glu Ile Ala Leu Ser  
 275 280 285

Tyr Ser Ala Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met Gly Leu Ile Tyr Asn Arg  
 290 295 300

Met Gly Ala Val Thr Thr Glu Val Ala Phe Gly Leu Val Cys Ala Thr  
 305 310 315 320

Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg Ser His Arg Gln Met Val  
 325 330 335

Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu Asn Arg Met Val Leu Ala  
 340 345 350

Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met Ala Gly Ser Ser Glu Gln  
 355 360 365

Ala Ala Glu Ala Met Asp Ile Ala Ser Gln Ala Arg Gln Met Val Gln  
 370 375 380

ES 2 536 900 T3

Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser Ser Ser Ala Gly Leu Lys  
385 390 395 400

Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr Gln Lys Arg Met Gly Val  
405 410 415

Gln Met Gln Arg Phe Lys Leu Glu His His His His His His  
420 425 430

5 <210> 24  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
10 <220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente  
  
<400> 24

Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu  
1 5

15 <210> 25  
<211> 661  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
20 <220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente  
  
<400> 25

Met Asp Leu Val Leu Lys Arg Cys Leu Leu His Leu Ala Val Ile Gly  
1 5 10 15

Ala Leu Leu Ala Val Gly Ala Thr Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp  
20 25 30

Leu Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Thr Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu  
35 40 45

Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Cys Trp Arg Gly Gly  
50 55 60

Gln Val Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala  
65 70 75 80

Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu Asn Phe Pro Gly Ser Gln Lys Val  
85 90 95

25

ES 2 536 900 T3

Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Val Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly  
 100 105 110

Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Pro Val Tyr Pro Gln Glu Thr Asp Asp  
 115 120 125

Ala Cys Ile Phe Pro Asp Gly Gly Pro Cys Pro Ser Gly Ser Trp Ser  
 130 135 140

Gln Lys Arg Ser Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp  
 145 150 155 160

Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Gly Arg  
 165 170 175

Ala Met Leu Gly Thr His Thr Met Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg  
 180 185 190

Gly Ser Arg Ser Tyr Val Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr  
 195 200 205

Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Arg Ala  
 210 215 220

Leu Asp Gly Gly Asn Lys His Phe Leu Arg Asn Gln Pro Leu Thr Phe  
 225 230 235 240

Ala Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Glu Ala Asp Leu  
 245 250 255

Ser Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Ser Gly Thr Leu Ile Ser Arg  
 260 265 270

Ala Leu Val Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala  
 275 280 285

Gln Val Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser  
 290 295 300

Pro Val Pro Gly Thr Thr Asp Gly His Arg Pro Thr Ala Glu Ala Pro  
 305 310 315 320

Asn Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Val Gly Thr Thr  
 325 330 335

Pro Gly Gln Ala Pro Thr Ala Glu Pro Ser Gly Thr Thr Ser Val Gln



ES 2 536 900 T3

Leu Gly Gln Val Pro Leu Ile Val Gly Ile Leu Leu Val Leu Met Ala  
 595 600 605

Val Val Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys Gln Asp  
 610 615 620

Phe Ser Val Pro Gln Leu Pro His Ser Ser Ser His Trp Leu Arg Leu  
 625 630 635 640

Pro Arg Ile Phe Cys Ser Cys Pro Ile Gly Glu Asn Ser Pro Leu Leu  
 645 650 655

Ser Gly Gln Gln Val  
 660

5 <210> 26  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente  
 <400> 26

Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp Gln Val  
 1 5

15 <210> 27  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente  
 <400> 27

Ile Met Asp Gln Val Pro Phe Ser Val  
 1 5

25 <210> 28  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente  
 <400> 28

Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val

1 5

ES 2 536 900 T3

5 <210> 29  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente  
10 <400> 29

Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Val  
1 5

15 <210> 30  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente  
20 <400> 30

Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala  
1 5

25 <210> 31  
<211> 204  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente  
35 <400> 31



ES 2 536 900 T3

Met Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala Lys  
 1 5 10 15

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

Lys Gly Ile Ala Asn Cys Asp Phe Val Tyr Ser Tyr Asp Pro Asn Val  
 35 40 45

Leu Glu Ile Ile Glu Ile Lys Pro Gly Glu Leu Ile Val Asp Pro Asn  
 50 55 60

Pro Thr Lys Ser Phe Asp Thr Ala Val Tyr Pro Asp Arg Lys Met Ile  
 65 70 75 80

Val Phe Leu Phe Ala Glu Asp Ser Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Ile Thr  
 85 90 95

Lys Asp Gly Val Phe Ala Thr Ile Val Ala Lys Val Lys Glu Gly Ala  
 100 105 110

Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu Val Gly Gly Phe Ala  
 115 120 125

Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe Phe Asp Gly Gly Val  
 130 135 140

Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val Thr  
 145 150 155 160

Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Ala Arg Ser Ala Phe Thr  
 165 170 175

Ile Met Asp Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Ala Ser Arg Lys  
 180 185 190

Gly Ala Ala Ala Leu Glu His His His His His  
 195 200

<210> 32  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente

10

<400> 32

ES 2 536 900 T3

Met Pro Arg Glu Asp Ala His Phe Ile Tyr Gly Tyr Pro Lys Lys Gly  
 1 5 10 15

His Gly His Ser Tyr Thr Thr Ala Glu Glu Ala Ala Gly Ile Gly Ile  
 20 25 30

Leu Thr Val Ile Leu Gly Val Leu Leu Leu Ile Gly Cys Trp Tyr Cys  
 35 40 45

Arg Arg Arg Asn Gly Tyr Arg Ala Leu Met Asp Lys Ser Leu His Val  
 50 55 60

Gly Thr Gln Cys Ala Leu Thr Arg Arg Cys Pro Gln Glu Gly Phe Asp  
 65 70 75 80

His Arg Asp Ser Lys Val Ser Leu Gln Glu Lys Asn Cys Glu Pro Val  
 85 90 95

Val Pro Asn Ala Pro Pro Ala Tyr Glu Lys Leu Ser Ala Glu Gln Ser  
 100 105 110

Pro Pro Pro Tyr Ser Pro  
 115

5 <210> 33  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente  
 <400> 33

Ala Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val  
 1 5

15 <210> 34  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente  
 <400> 34

Glu Ala Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val  
 1 5 10

25



ES 2 536 900 T3

Met Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala Lys  
 1 5 10 15

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

Lys Gly Ile Ala Asn Cys Asp Phe Val Tyr Ser Tyr Asp Pro Asn Val  
 35 40 45

Leu Glu Ile Ile Glu Ile Lys Pro Gly Glu Leu Ile Val Asp Pro Asn  
 50 55 60

Pro Thr Lys Ser Phe Asp Thr Ala Val Tyr Pro Asp Arg Lys Met Ile  
 65 70 75 80

Val Phe Leu Phe Ala Glu Asp Ser Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Ile Thr  
 85 90 95

Lys Asp Gly Val Phe Ala Thr Ile Val Ala Lys Val Lys Glu Gly Ala  
 100 105 110

Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu Val Gly Gly Phe Ala  
 115 120 125

Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe Phe Asp Gly Gly Val  
 130 135 140

Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val Thr  
 145 150 155 160

Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Ala Arg Thr Ala Glu Glu  
 165 170 175

Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly Ala Ser Arg Lys  
 180 185 190

Gly Ala Ala Ala Leu Glu His His His His His His  
 195 200

<210> 37  
 <211> 241  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 37

ES 2 536 900 T3

Met Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala Lys  
1 5 10 15

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

Lys Gly Ile Ala Asn Cys Asp Phe Val Tyr Ser Tyr Asp Pro Asn Val  
35 40 45

Leu Glu Ile Ile Glu Ile Lys Pro Gly Glu Leu Ile Val Asp Pro Asn  
50 55 60

Pro Thr Lys Ser Phe Asp Thr Ala Val Tyr Pro Asp Arg Lys Met Ile  
65 70 75 80

Val Phe Leu Phe Ala Glu Asp Ser Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Ile Thr  
85 90 95

Lys Asp Gly Val Phe Ala Thr Ile Val Ala Lys Val Lys Glu Gly Ala  
100 105 110

Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu Val Gly Gly Phe Ala  
115 120 125

Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe Phe Asp Gly Gly Val  
130 135 140

Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val Thr  
145 150 155 160

Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ser Asp Thr Thr Glu  
165 170 175

Ala Arg His Pro His Pro Pro Val Thr Thr Pro Thr Thr Asp Arg Lys  
180 185 190

Gly Thr Thr Ala Glu Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile  
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Arg Thr Asn Asn Ser Thr Pro Thr Lys Gly Glu Phe  
210 215 220

ES 2 536 900 T3

Cys Arg Tyr Pro Ser His Trp Arg Pro Leu Glu His His His His His  
 225 230 235 240

His

5 <210> 38  
 <211> 66  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 38

Ala Ser Asp Thr Thr Glu Ala Arg His Pro His Pro Pro Val Thr Thr  
 1 5 10 15

Pro Thr Thr Thr Asp Arg Lys Gly Thr Thr Ala Glu Glu Leu Ala Gly  
 20 25 30

Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly Gly Lys Arg Thr Asn Asn Ser  
 35 40 45

Thr Pro Thr Lys Gly Glu Phe Cys Arg Tyr Pro Ser His Trp Arg Pro  
 50 55 60

Arg Leu  
 65

15 <210> 39  
 <211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

25 <400> 39  
 cacggtcacc gtcctcaaag ctccggagc tagcgagggc ggcagcctgg cgcgct 57

30 <210> 40  
 <211> 70  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintetizado químicamente

35 <400> 40

ggccggctcc tgcgaagggg gccggccggt cgcggccgct tacttcaggt cctcgcgcgg 60

cggtttgccc 70

ES 2 536 900 T3

<210> 41  
 <211> 518  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintetizado químicamente

10

```

Met Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala Lys
1          5          10          15

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

Lys Gly Ile Ala Asn Cys Asp Phe Val Tyr Ser Tyr Asp Pro Asn Val
          35          40          45

Leu Glu Ile Ile Glu Ile Lys Pro Gly Glu Leu Ile Val Asp Pro Asn
50          55          60

Pro Thr Lys Ser Phe Asp Thr Ala Val Tyr Pro Asp Arg Lys Met Ile
65          70          75          80

Val Phe Leu Phe Ala Glu Asp Ser Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Ile Thr
          85          90          95

Lys Asp Gly Val Phe Ala Thr Ile Val Ala Lys Val Lys Glu Gly Ala
          100          105          110

Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu Val Gly Gly Phe Ala
          115          120          125

Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe Phe Asp Gly Gly Val
130          135          140

Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val Thr
145          150          155          160

Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ser Glu Gly Gly Ser
          165          170          175

Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr
          180          185          190
    
```

ES 2 536 900 T3

Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys  
 195 200 205

Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu  
 210 215 220

Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro  
 225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln  
 245 250 255

Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val  
 260 265 270

Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Gly Pro Ala  
 275 280 285

Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu  
 290 295 300

Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln  
 305 310 315 320

Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu  
 325 330 335

Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala  
 340 345 350

Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp  
 355 360 365

Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr  
 370 375 380

Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn  
 385 390 395 400

Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe  
 405 410 415

Tyr Arg Thr Ser Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val  
 420 425 430

Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr



ES 2 536 900 T3

435

440

445

Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro  
450 455 460

Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro  
465 470 475 480

Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu  
485 490 495

Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro  
500 505 510

Pro Arg Glu Asp Leu Lys  
515

<210> 42  
<211> 614  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 42

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu  
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr  
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met  
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ala Asp Asp Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Phe Arg Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

ES 2 536 900 T3

Thr Thr Leu Thr Gly Ser Ser Ala Lys Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

ES 2 536 900 T3

	355						360								365
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
	370					375					380				
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
385					390					395					400
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405					410					415	
Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
			420					425					430		
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Ala	Ser
		435					440					445			
Thr	Thr	Glu	Pro	Ala	Thr	Pro	Thr	Thr	Pro	Val	Thr	Thr	Pro	Thr	Thr
	450					455						460			
Thr	Asp	Asp	Leu	Asp	Ala	Val	Arg	Ile	Lys	Val	Asp	Thr	Val	Asn	Ala
465					470					475					480
Lys	Pro	Gly	Asp	Thr	Val	Asn	Ile	Pro	Val	Arg	Phe	Ser	Gly	Ile	Pro
				485					490					495	
Ser	Lys	Gly	Ile	Ala	Asn	Cys	Asp	Phe	Val	Tyr	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asn
			500					505					510		
Val	Leu	Glu	Ile	Ile	Glu	Ile	Lys	Pro	Gly	Glu	Leu	Ile	Val	Asp	Pro
		515					520					525			
Asn	Pro	Thr	Lys	Ser	Phe	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Pro	Asp	Arg	Lys	Met
	530					535						540			
Ile	Val	Phe	Leu	Phe	Ala	Glu	Asp	Ser	Gly	Thr	Gly	Ala	Tyr	Ala	Ile
545					550					555					560
Thr	Lys	Asp	Gly	Val	Phe	Ala	Thr	Ile	Val	Ala	Lys	Val	Lys	Glu	Gly
				565					570					575	
Ala	Pro	Asn	Gly	Leu	Ser	Val	Ile	Lys	Phe	Val	Glu	Val	Gly	Gly	Phe
			580					585					590		
Ala	Asn	Asn	Asp	Leu	Val	Glu	Gln	Lys	Thr	Gln	Phe	Phe	Asp	Gly	Gly
		595					600					605			

ES 2 536 900 T3

Val Asn Val Gly Asp Thr  
610

5 <210> 43  
<211> 308  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintetizado químicamente

<400> 43

Leu Asp Asp Leu Asp Ala Val Arg Ile Lys Val Asp Thr Val Asn Ala  
1 5 10 15

Lys Pro Gly Asp Thr Val Arg Ile Pro Val Arg Phe Ser Gly Ile Pro  
20 25 30

Ser Lys Gly Ile Ala Asn Cys Asp Phe Val Tyr Ser Tyr Asp Pro Asn  
35 40 45

Val Leu Glu Ile Ile Glu Ile Glu Pro Gly Asp Ile Ile Val Asp Pro  
50 55 60

Asn Pro Asp Lys Ser Phe Asp Thr Ala Val Tyr Pro Asp Arg Lys Ile  
65 70 75 80

Ile Val Phe Leu Phe Ala Glu Asp Ser Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Ile  
85 90 95

Thr Lys Asp Gly Val Phe Ala Thr Ile Val Ala Lys Val Lys Glu Gly  
100 105 110

Ala Pro Asn Gly Leu Ser Val Ile Lys Phe Val Glu Val Gly Gly Phe  
115 120 125

Ala Asn Asn Asp Leu Val Glu Gln Lys Thr Gln Phe Phe Asp Gly Gly  
130 135 140

Val Asn Val Gly Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val  
145 150 155 160

Thr Thr Pro Thr Thr Thr Asp Asp Leu Asp Ala Leu Glu Ala Asp Gln  
165 170 175

Gly Gln Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val



## REIVINDICACIONES

1. Una vacuna que comprende un anticuerpo monoclonal recombinante (rAb) que comprende un dominio específico de antígeno unido a uno o más dominios que comprenden una primera mitad de un par de unión de cohesina-dockerina, la primera mitad del par de unión de cohesina-dockerina unida a una segunda mitad del par de unión de cohesina-dockerina, la segunda mitad **caracterizada por que** es complementaria de la primera mitad y además **caracterizada por que** la segunda mitad del par de unión de cohesina-dockerina está en una proteína de fusión con un antígeno; y  
 5 el dominio específico de antígeno **caracterizado por que** se dirige al MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN- $\gamma$ , receptor de IL-2, ICAM-1, receptor de Fc $\gamma$  u otro receptor expresado específicamente por células presentadoras de antígenos.
- 10
- 15 2. La vacuna de la reivindicación 1, en la que la vacuna se define además como:  
 un rAb.Doc:Coh.antígeno;  
 un rAb.Coh:Doc.antígeno;  
 un rAb.(Coh)<sub>x</sub>:(Doc.antígeno)<sub>x</sub>;  
 20 un rAb.(Doc)<sub>x</sub>:(Coh.antígeno)<sub>x</sub>;  
 un rAb.(Coh.Doc)<sub>x</sub>:(Doc.antígeno<sup>1</sup>)(Coh.antígeno<sup>2</sup>); o  
 un rAb. (Coh)<sub>x</sub>(Doc)<sub>x</sub>: (Doc.antígeno<sup>1</sup>)<sub>x</sub>(Coh.antígeno<sup>2</sup>)<sub>x</sub>;  
 en los que "Doc" representa un dominio de dockerina, "Coh" representa un dominio de cohesina, "." representa una fusión entre el polipéptido antes y el polipéptido después del ".", ":" representa una interacción entre cohesina y dockerina que da como resultado la formación de un complejo y en los que "x" es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.
- 25
3. Un ácido nucleico aislado que comprende un segmento que codifica  
 un rAb.Doc;  
 un rAb.Coh;  
 30 un rAb (Coh)<sub>x</sub>;  
 un rAb (Doc)<sub>x</sub>;  
 un rAb (Coh.Doc)<sub>x</sub>; o  
 un rAb (Coh)<sub>x</sub> (Doc)<sub>x</sub>;  
 en los que "Doc" representa un dominio de dockerina, "Coh" representa un dominio de cohesina, "." representa una fusión entre el polipéptido antes de y el polipéptido después del "." y en los que "x" es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.
- 35
4. Un vector que comprende un ácido nucleico que codifica un anticuerpo monoclonal recombinante (rAb) como se define en la reivindicación 1 o 2.
- 40
5. Una célula hospedadora aislada que comprende un vector de acuerdo con la reivindicación 4.
6. Un método para preparar un rAb como se define en la reivindicación 1 o 2 que comprende:  
 45 combinar un dominio específico de antígeno unido con uno o más dominios que comprenden una mitad de un par de unión de cohesina-dockerina.

Proteínas de fusión de mAb-antígeno de dirección individual



Complejos de mAb-antígeno de dirección multivariable

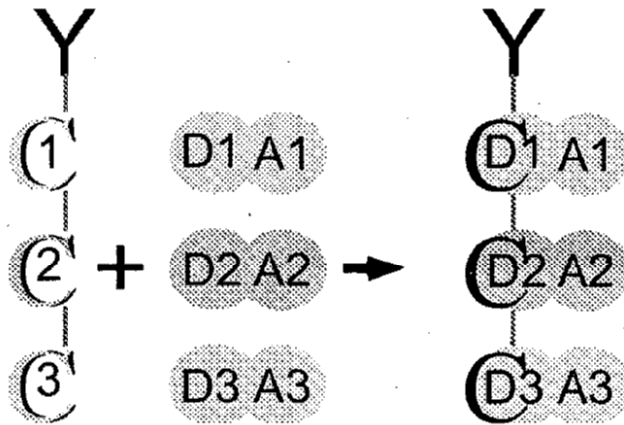


Figura 1

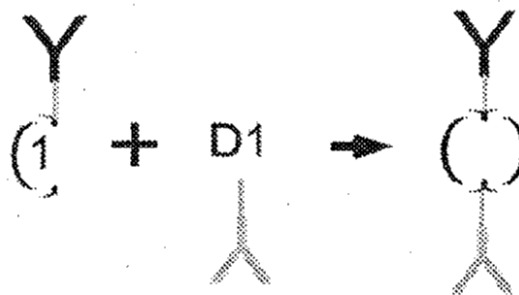
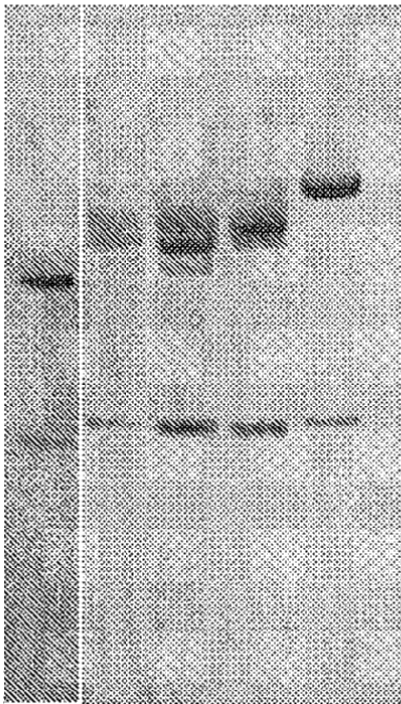


Figura 2



Carril 1: mIgG2b ~1 ug  
 Carril 2: anti-DCIR\_2C9.doc 15 ul  
 Carril 3: anti-ASGPR\_49C11.doc 15 ul  
 Carril 4: anti-DCSIGN/L\_16E7.doc 15 ul  
 Carril 5: anti-LOX1\_15C4.PSA 15 ul

Figura 3

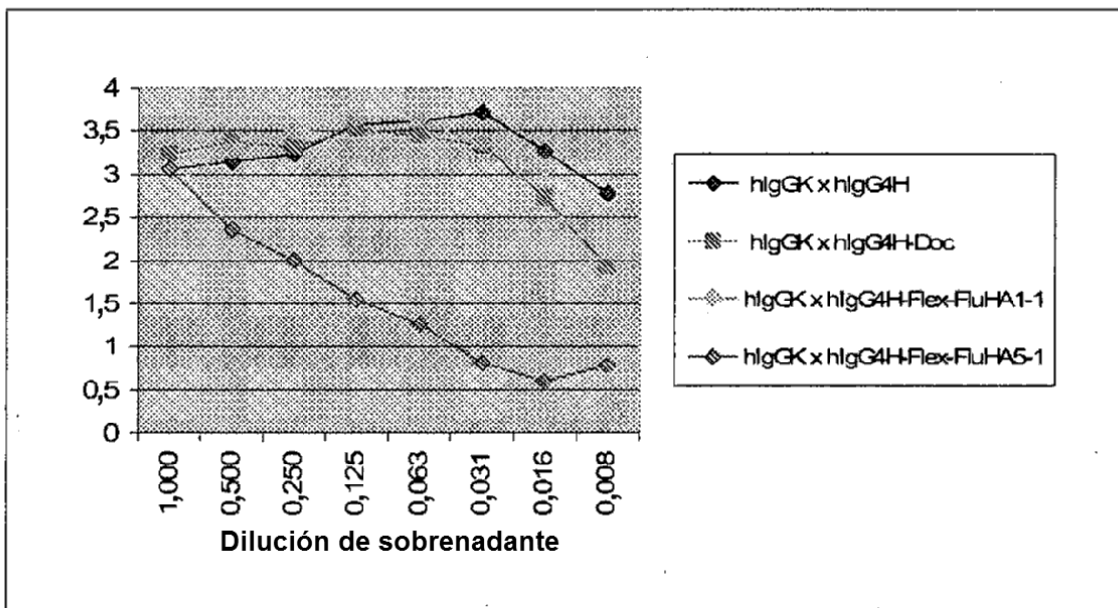


Figura 4A



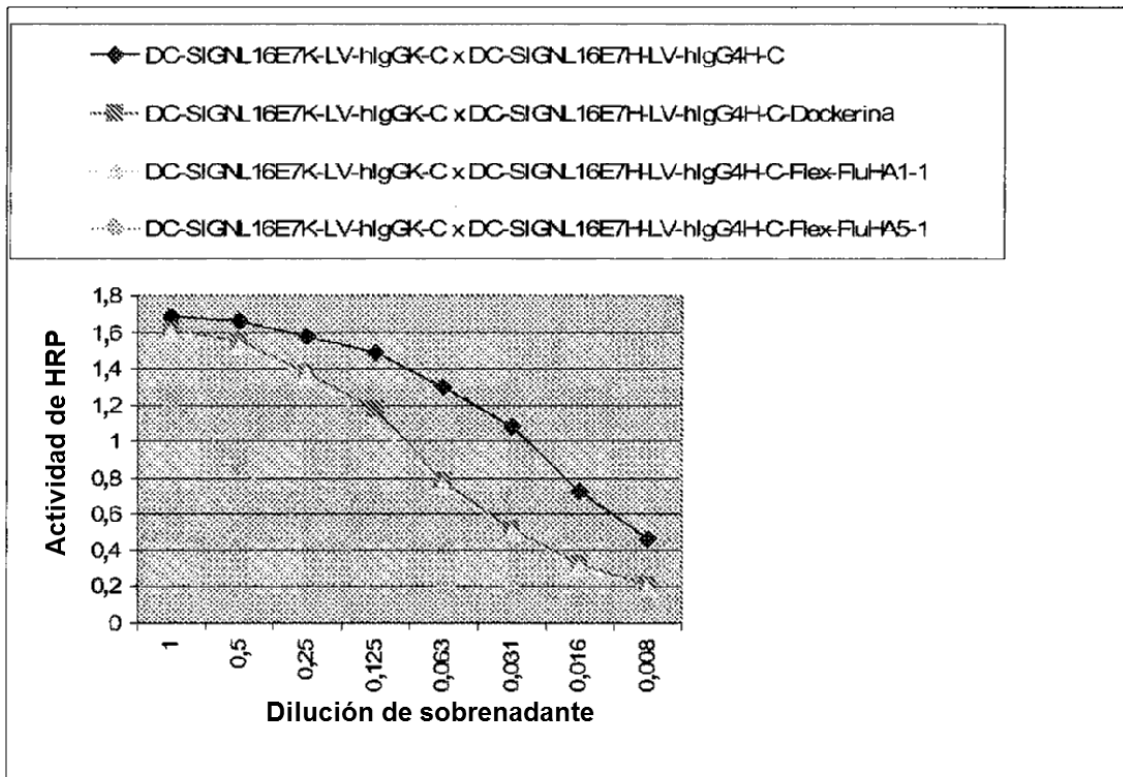


Figura 4B

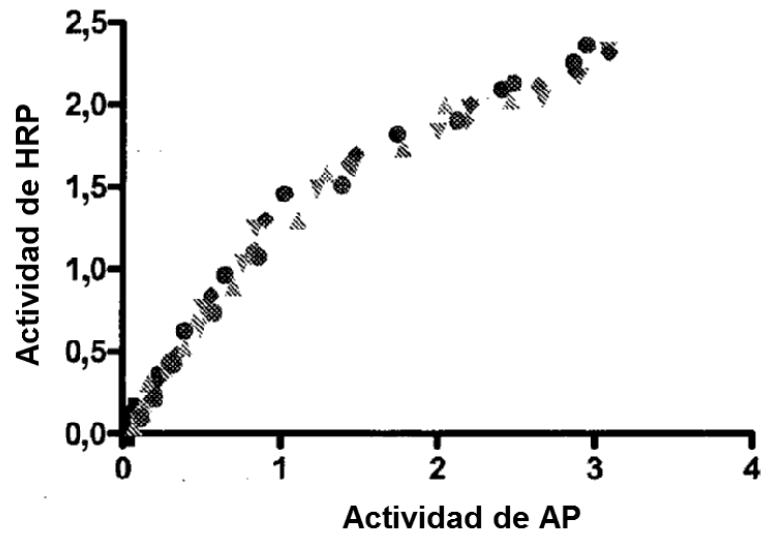


Figura 5

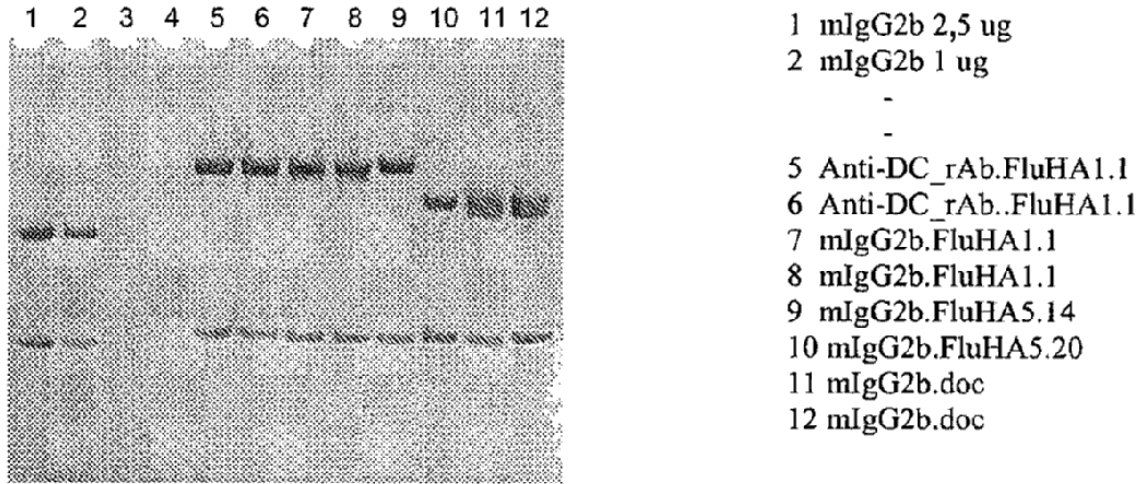


Figura 6

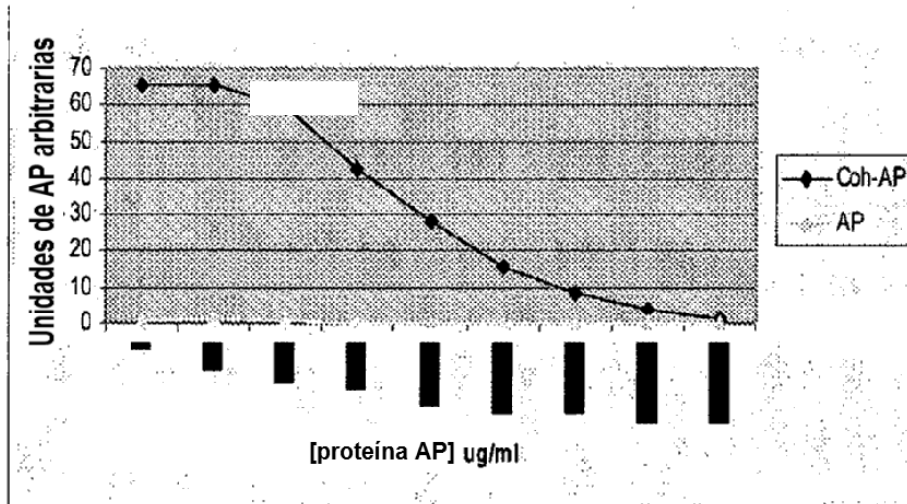


Figura 7A

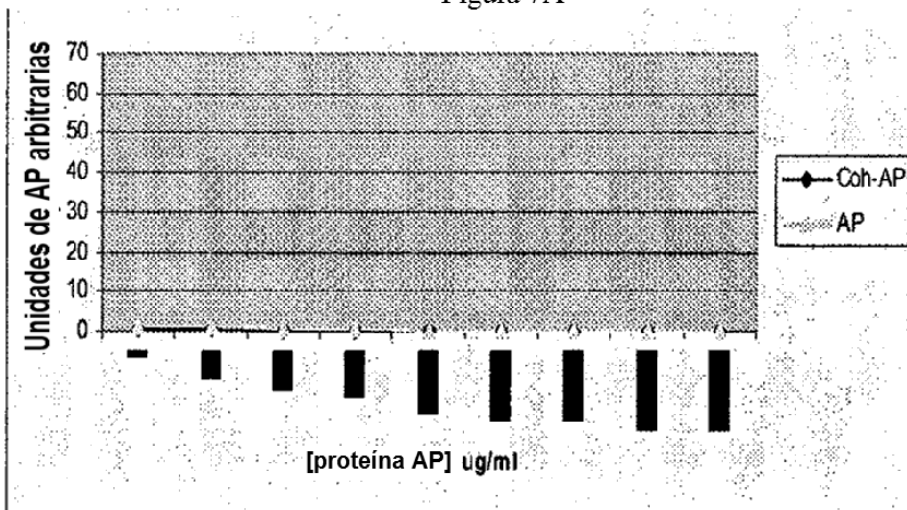


Figura 7B

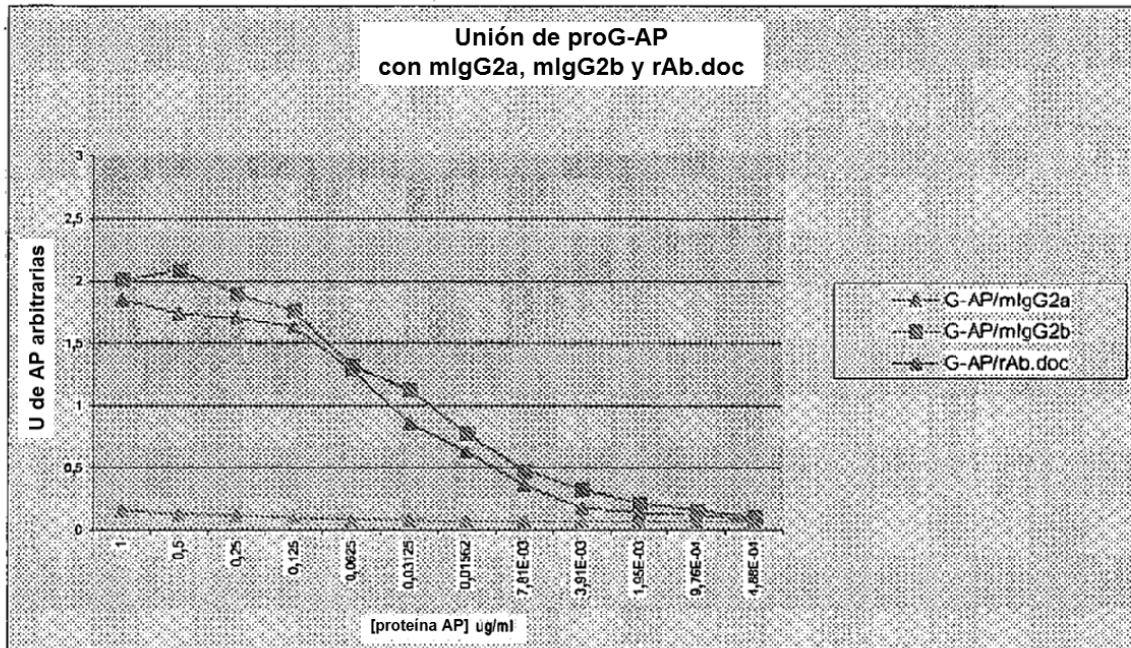


Figura 8A

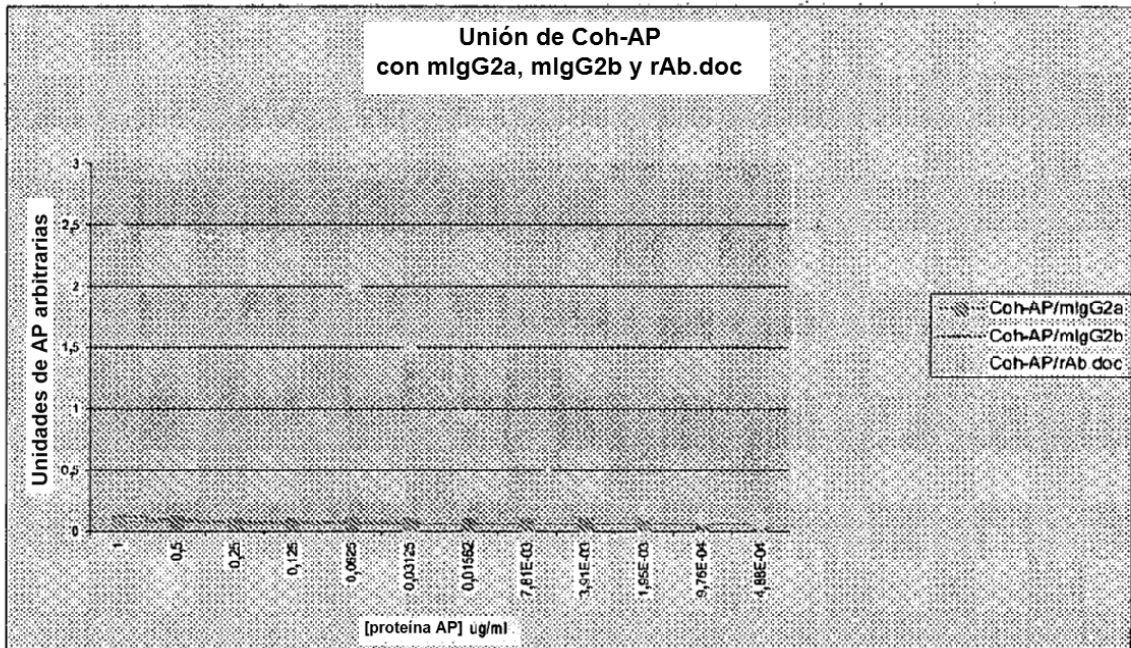


Figura 8B

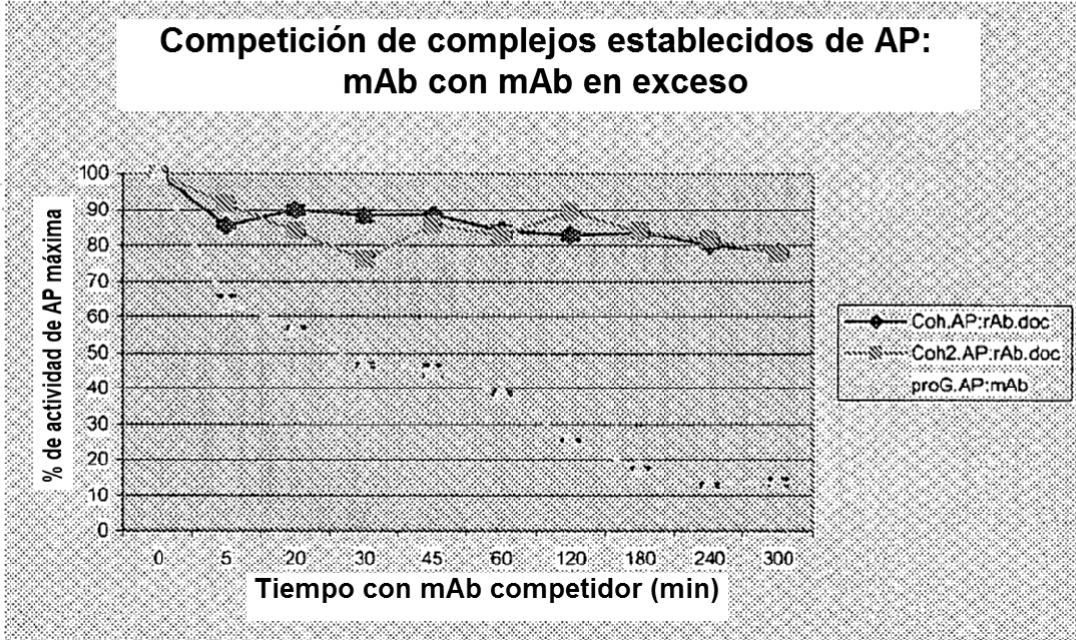


Figura 9

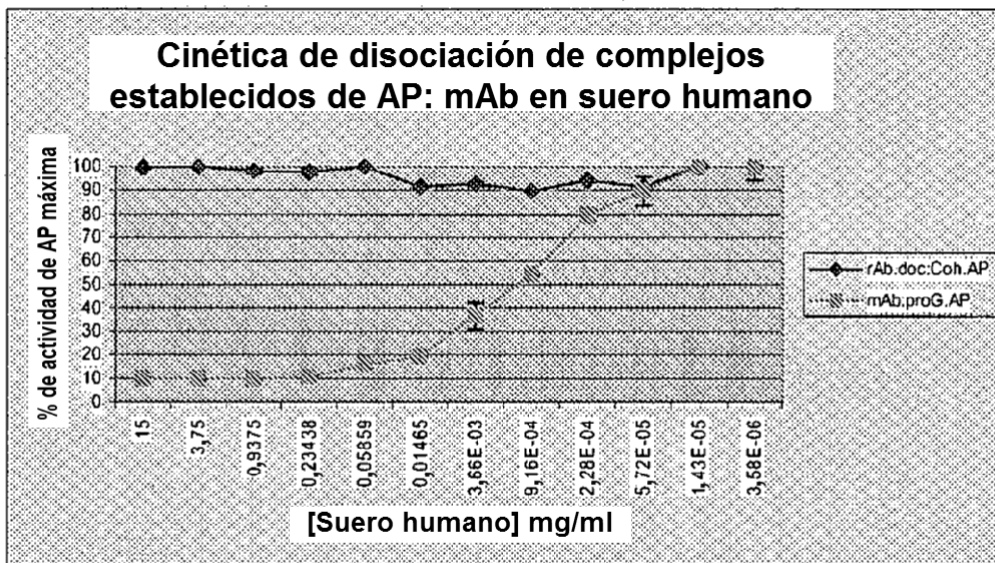


Figura 10

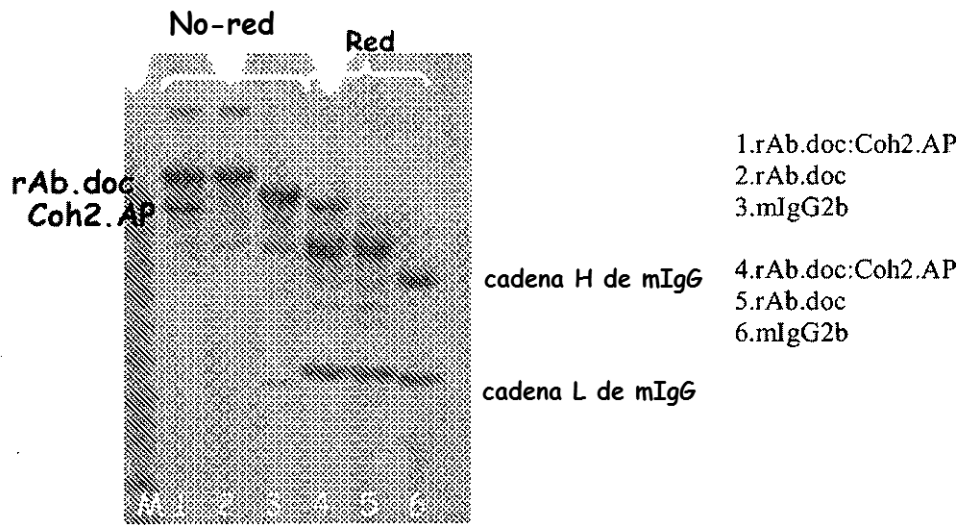


Figura 11

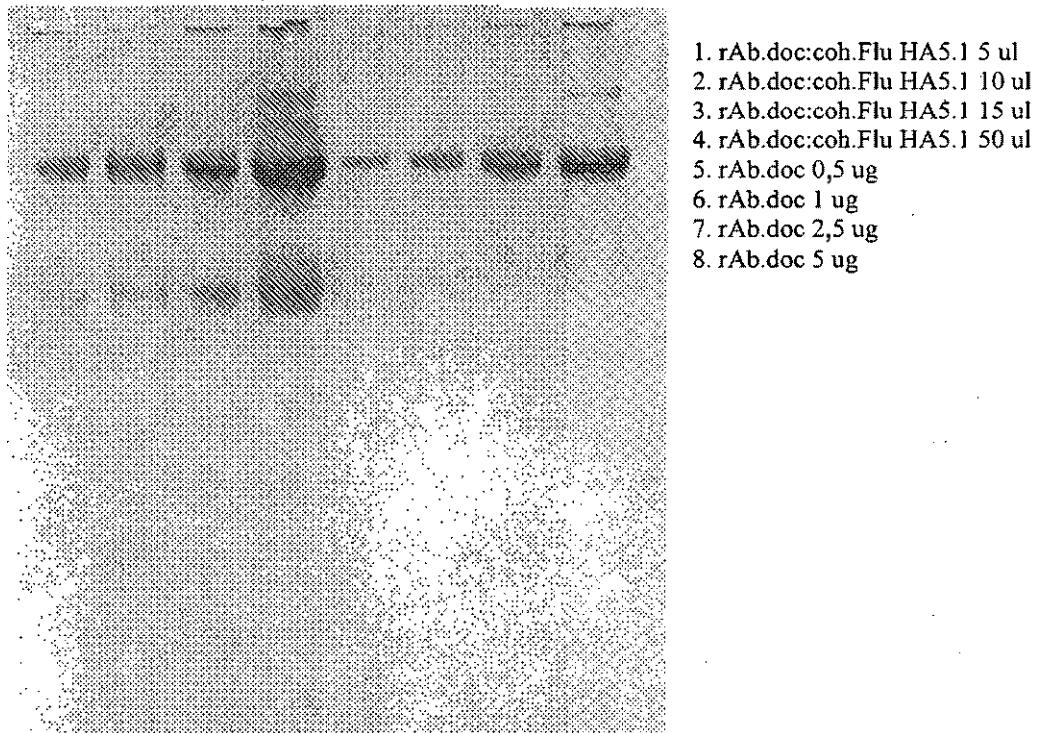


Figura 12

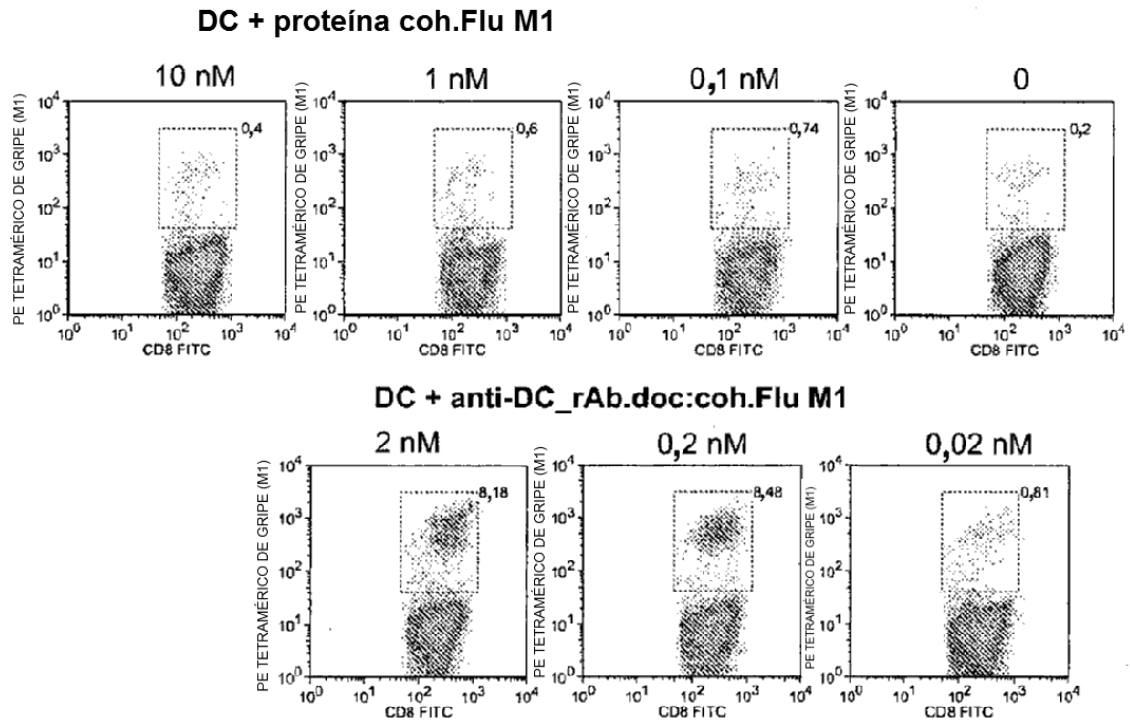


Figura 13

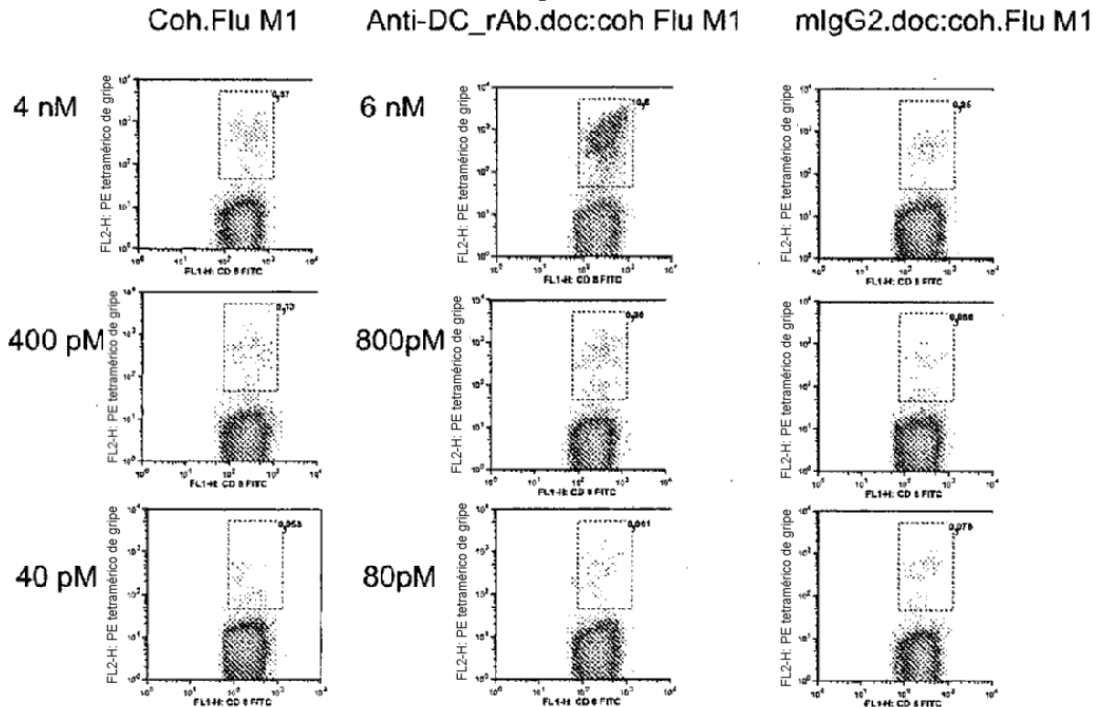


Figura 14

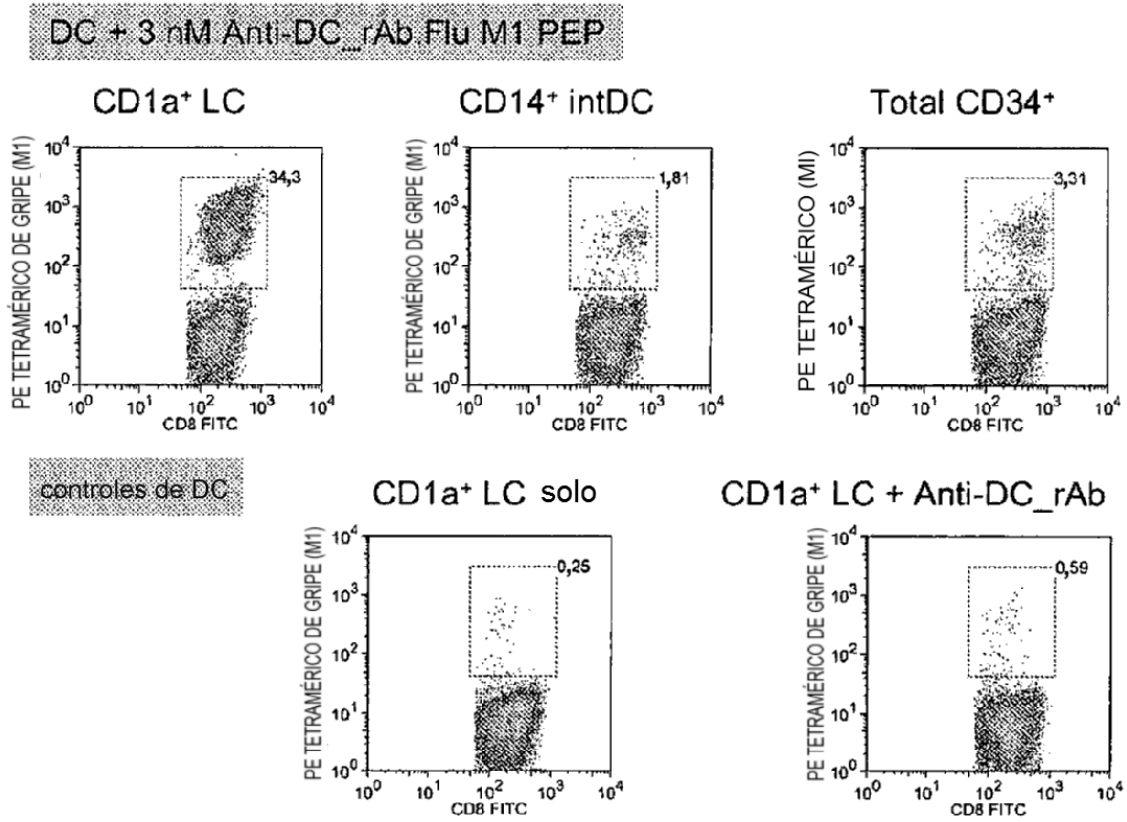


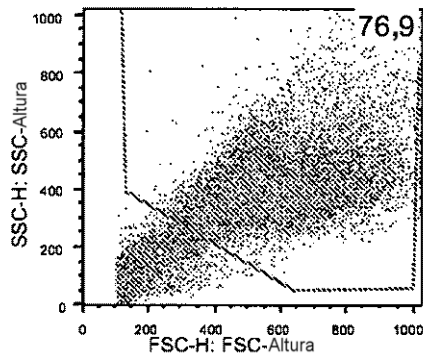
Figura 15



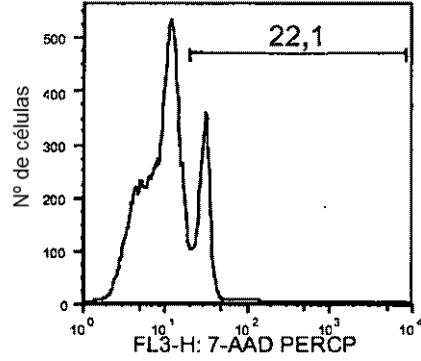
- 1: Cohesina-hgp100-Péptido A
- 2: Cohesina-hMART-1-Péptido B
- 3: Cohesina-Flex-hMART-1-Péptido A

Figura 16

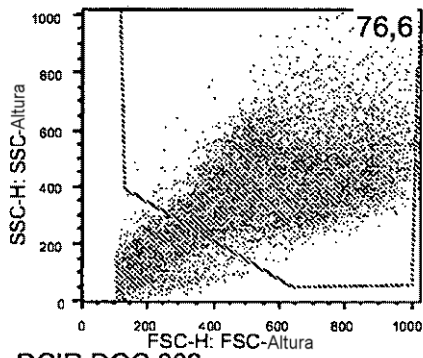
DC GM IL-4 ND 161 de 6 días + DCIR.DOC o DC  
SIGN/L.DOC + Coh.PE38  
2,5 ug/ml, 48 HORAS de incubación



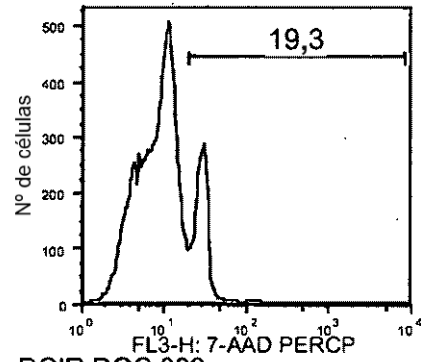
DC IL4 6d solo.001



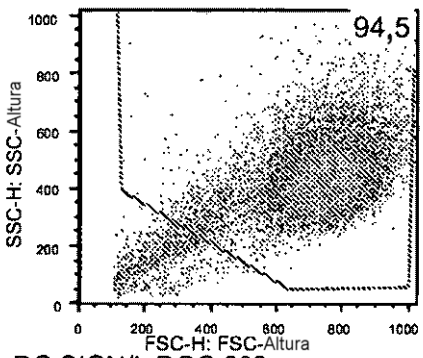
DC IL4 6d solo.001



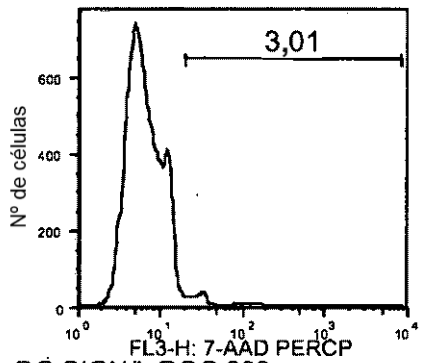
DCIR.DOC.002



DCIR.DOC.002



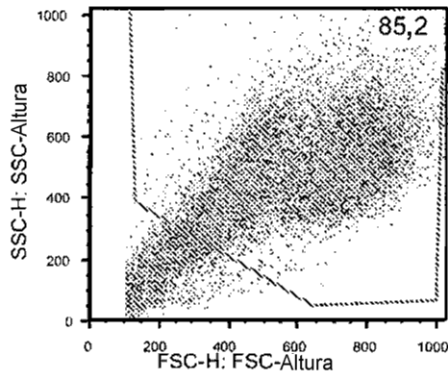
DC SIGN/L.DOC.003



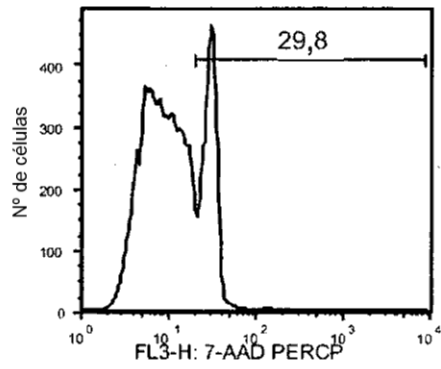
DC SIGN/L.DOC.003

Figura 17

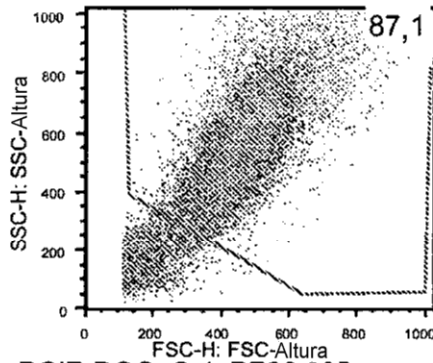




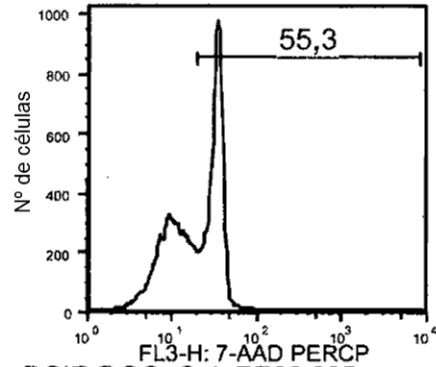
Coh.PE38.004



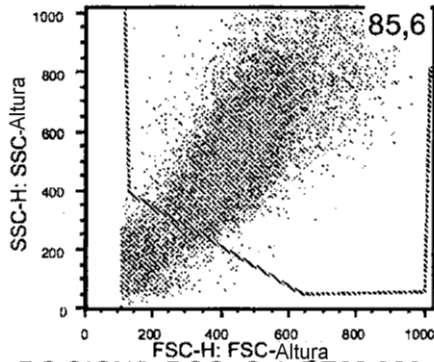
Coh.PE38.004



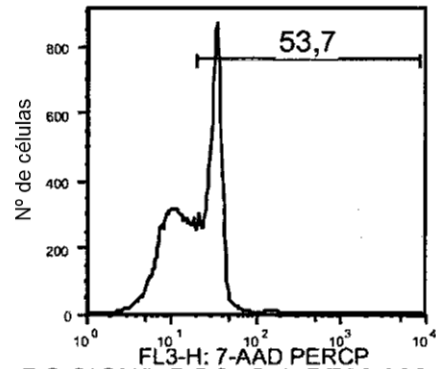
DCIR.DOC+Coh.PE38.005



DCIR.DOC+Coh.PE38.005



DC SIGN/L.DOC+Coh.PE38.006



DC SIGN/L.DOC+Coh.PE38.006

Figura 18

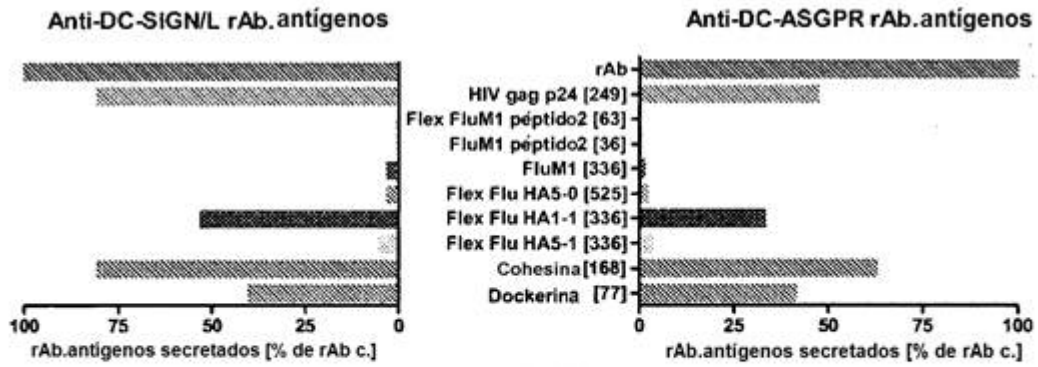


Figura 19

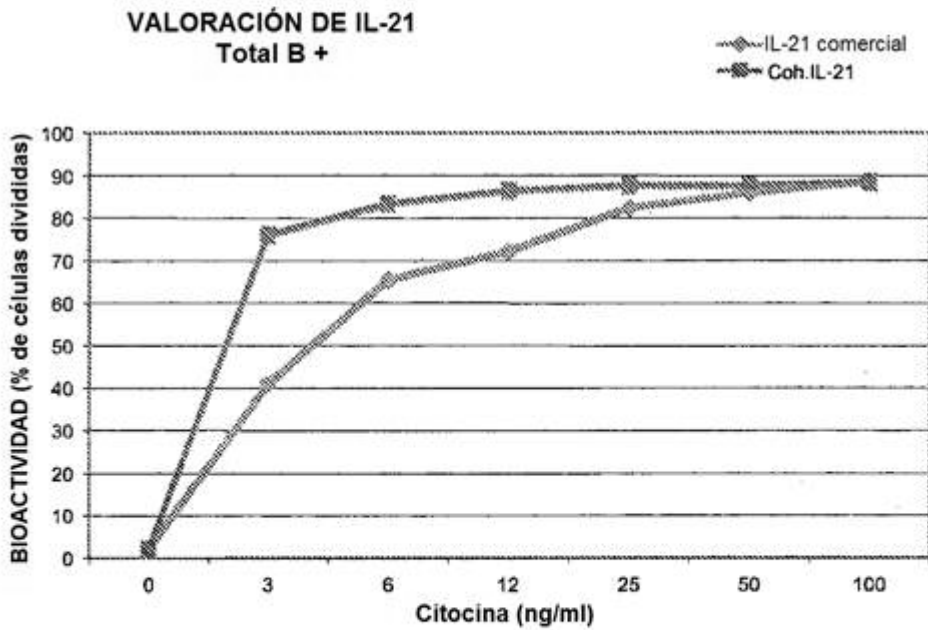


Figura 20