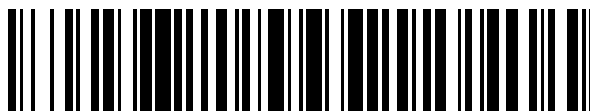


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 584 956**

51 Int. Cl.:

**C07K 19/00** (2006.01)  
**C07K 16/30** (2006.01)  
**C12N 15/63** (2006.01)  
**C12N 15/62** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**C07K 16/28** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)  
**C07K 14/005** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2010 E 10751218 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.05.2016 EP 2406286**

54 Título: **Anticuerpos anti-CD40 y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**10.03.2009 US 159055 P**  
**10.03.2009 US 159059 P**  
**10.03.2009 US 159062 P**  
**05.03.2010 US 718365**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.09.2016**

73 Titular/es:

**BAYLOR RESEARCH INSTITUTE (100.0%)**  
**3310 Live Oak Street, Suite 501**  
**Dallas, TX 75204, US**

72 Inventor/es:

**BANCHEREAU, JACQUES, F.;**  
**ZURAWSKI, GERARD;**  
**ZURAWSKI, SANDRA y**  
**OH, SANGKON**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 584 956 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

Anticuerpos anti-CD40 y usos de los mismos

5 **Campo técnico de la invención**

La presente invención se refiere en general al campo de la inmunización, y más particularmente, a nuevos anticuerpos anti-CD40 y vacunas basadas en anticuerpos anti-CD40.

10 **Antecedentes de la técnica**

Sin limitar el alcance de la invención, su antecedente se describe en conexión con presentación de antígenos. Un ejemplo de vacunas y métodos para presentación de antígenos se enseña en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 7.118.751, expedida por Ledbetter, *et al.*, para vacunas de ADN que codifican un antígeno en el extremo amino-terminal unido a un dominio en el extremo carboxi-terminal que se une a CD40. En resumen, se enseña que algunas vacunas que dirigen uno o más antígenos a un receptor de superficie celular para aumentar la respuesta inmunológica humoral y celular específica del antígeno. El antígeno o antígenos unidos a un dominio que se une a un receptor de superficie celular es tan internalizados, portando antígeno o antígenos en un compartimento intracelular en el que el antígeno o antígenos se digieren en péptidos y se cargan en moléculas de MHC. Los linfocitos T específicos para los antígenos peptídicos se activan, lo que conduce a un aumento de la respuesta inmunológica. La vacuna puede comprender antígeno o antígenos unidos a un dominio que se une al menos a un receptor o un antígeno o antígenos que codifican plásmidos de ADN unidos a un dominio que se une al menos a un receptor. Una realización preferente de la invención dirige el antígeno env del VIH-1 al receptor CD40, dando como resultado el suministro de antígeno a células positivas para CD40, y activación selectiva del receptor de CD40 en células que presentan antígenos de env del VIH-1 a linfocitos T.

Otro ejemplo se encuentra en la solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 20080254026, presentada por Li, *et al.*, para anticuerpos monoclonales anti-CD40 antagonistas y métodos para su uso. En resumen, se desvelan composiciones y métodos para su uso en terapia para tratar enfermedades mediadas por estimulación de la señalización de CD40 en células que expresan CD40. Los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CD40 antagonista o fragmento de unión a antígeno del mismo a un paciente con necesidad del mismo. El anticuerpo anti-CD40 antagonista o fragmento de unión a antígeno del mismo está libre de actividad agonista significativa, representa actividad antagonista cuando el anticuerpo se une a un antígeno CD40 en una célula que expresa CD40 humano. La actividad antagonista del anticuerpo anti-CD40 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe de forma beneficiosa la proliferación y/o diferenciación de células que expresan CD40 humano, tales como linfocitos B.

Además, en la solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 20080241139, presentada por Delucia se enseña otro ejemplo para una combinación de adyuvante que comprende un agonista de TLR microbiano, un agonista de CD40 o de 4-1BB, y opcionalmente un antígeno y el uso del mismo para inducir un aumento sinérgico en la inmunidad celular. En resumen, se dice que la presente solicitud enseña combinaciones de adyuvante que comprenden al menos un agonista de TLR microbiano tal como un virus, bacteria o levadura completos o parte de los mismos tal como una membrana, esferoplasto, citoplasto, o fantasma, un agonista de CD40 o de 4-1BB y opcionalmente un antígeno en el que los 3 restos pueden estar separados o pueden comprender el mismo microorganismo o virus recombinante se desvelan. También se proporciona el uso de estos adyuvantes inmunitarios para el tratamiento de diversas enfermedades crónicas tales como cánceres e infección por VIH.

La solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 20080199471, presentada por Bennett, *et al.*, se refiere a la anticuerpos CD40 optimizados y métodos de uso de los mismos. En resumen, se dice que la presente solicitud enseña anticuerpos que se dirigen a CD40, en la que los anticuerpos comprenden al menos una modificación con respecto a un anticuerpo precursor, en los que la modificación altera la afinidad con respecto a un FcγR o altera la función efectora en comparación con el anticuerpo precursor. También se desvelan métodos para el uso de los anticuerpos de la invención.

La solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 20080181915, presentada por Tripp, *et al.*, se refiere a un adyuvante de ligando de CD40 para virus sincitial respiratorio. En resumen, se dice que la presente solicitud enseña métodos y adyuvantes para aumentar una respuesta inmunológica con respecto al RSV en un hospedador, en la que los métodos y adyuvantes comprenden una fuente de una proteína de unión a CD40. Preferentemente, la proteína de unión a CD40 es CD40L y la fuente es un vector que comprende un promotor unido de forma operativa a una región codificante de CD40L. El aumento de la respuesta inmunológica producida por los adyuvantes y métodos de la presente invención incluyen tanto aumento de la expresión de citoquinas Th1 como aumento de la producción de anticuerpos.

El documento WO 2007/130493 desvela una combinación de adyuvante sinérgico de anticuerpo agonista de CD40/Interferón de tipo 1, conjugados que contienen los mismos y uso de los mismos como un agente terapéutico para aumentar la inmunidad celular.

El documento WO 20 07/051169 desvela el uso de agentes de expansión de linfocitos B en la generación de anticuerpos.

El documento US 2004/120948 desvela un anticuerpo monoclonal anti-CD40.

5

### Divulgación de la invención

En una realización, la presente invención es un anticuerpo recombinante humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD40, que comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de la SEQ ID NO: 7; y al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con una región variable de cadena pesada de anticuerpo de la SEQ ID NO: 6 y en el que el anticuerpo tiene las CDR obtenidas a partir del anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 7. En un aspecto, el anticuerpo comprende adicionalmente una región constante de cadena pesada, en el que la región constante de cadena pesada comprende una región constante de cadena pesada humana gamma-1, gamma-2, gamma-3, o gamma-4 o una variante de la región constante de cadena pesada humana. En un aspecto, el anticuerpo comprende adicionalmente una región constante de cadena ligera, en el que la región constante de cadena ligera comprende una región constante de cadena ligera humana lambda o kappa. En otro aspecto, el fragmento de unión se selecciona entre el grupo que consiste en Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')<sub>2</sub>, y un diacuerpo. En otro aspecto, el anticuerpo comprende la secuencia de polipéptidos de la SEQ ID NO: 6, y el anticuerpo comprende la secuencia de polipéptidos de la SEQ ID NO: 7. En otro aspecto, el anticuerpo se produce por un hibridoma anti-CD40\_11B6.1C3 (Presentación en Depósito n.º HS440, n.º de Registro en la ATCC \_\_). En otro aspecto, el anticuerpo solo es capaz de hacer que las células dendríticas secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IL-12p40 o TNFalfa sin activación anterior de las células dendríticas. En un aspecto, el anticuerpo es capaz de hacer que las células dendríticas activadas con GM-CSF e Interferón alfa secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IP-10, IL-10 o IL-12p40. En otro aspecto, el anticuerpo recombinante comprende al menos una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7; y al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6. El anticuerpo está humanizado.

30 Otra realización de la presente invención es una composición que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en la que el anticuerpo es el anticuerpo de la invención.

35 Otra realización de la presente invención es un anticuerpo recombinante humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de los cuales ambos se unen a CD40, que comprende: a) al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7; y b) al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6. En un aspecto, el anticuerpo comprende adicionalmente una región constante de cadena pesada, en el que la región constante de cadena pesada comprende una región constante de cadena pesada humana gamma-1, gamma-2, gamma-3, o gamma-4 o una variante de la región constante de cadena pesada humana. En un aspecto, el anticuerpo comprende adicionalmente una región constante de cadena ligera, en el que la región constante de cadena ligera comprende una región constante de cadena ligera humana lambda o kappa. En otro aspecto, el fragmento de unión se selecciona entre el grupo que consiste en Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')<sub>2</sub>, y un diacuerpo. En otro aspecto, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende la secuencia de polipéptidos de la SEQ ID NO: 6, y/o la secuencia de polipéptidos de la SEQ ID NO: 7. En un aspecto, el anticuerpo comprende al menos la región variable de anti-CD40\_11B6.1C3 (Presentación en Depósito n.º HS440, n.º de Registro en la ATCC \_\_). En otro aspecto, el anticuerpo humanizado comprende las regiones determinantes de la complementariedad de: a) al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7; y b) al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6 en un armazón de anticuerpo humano.

50 Otra realización de la presente invención es una composición que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en la que el anticuerpo es un anticuerpo recombinante o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de los cuales ambos se unen a CD40, que comprende: al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7; y al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos la región variable de el anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 (Presentación en la ATCC n.º HS440, n.º de Registro \_\_). En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y/o SEQ ID NO: 7.

60 Otra realización de la presente divulgación es un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de las SEQ ID NOS: 1, 3 o 6, y/o SEQ ID NOS.: 2, 4, 5, o 7. En un aspecto de la divulgación, los ácidos nucleicos comprenden adicionalmente secuencias de ácidos nucleicos de anticuerpos humanos que humanizan el anticuerpo. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

65

Otra realización de la presente divulgación es un vector de expresión que comprende el ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de las SEQ ID NOS: 1, 3 o 6, y/o SEQ ID NOS: 2, 4, 5, o 7, unido de forma operativa a secuencias de control reconocidas por una célula hospedadora transfectada con el vector. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

Otra realización de la presente divulgación es una célula hospedadora que comprende el vector que codifica el ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de las SEQ ID NOS: 1, 3 o 6, y/o SEQ ID NOS: 2, 4, 5, o 7. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

Otra realización de la presente divulgación es un método para producir un polipéptido, que comprende cultivar la célula hospedadora que comprende ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de las SEQ ID NOS: 1, 3 o 6, y/o SEQ ID NOS: 2, 4, 5, o 7, en condiciones en las que la secuencia de ácidos nucleicos se expresa, produciendo de ese modo el polipéptido, y recuperar el polipéptido de la célula hospedadora. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

Otra realización de la presente divulgación es un vector de expresión que comprende el ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de las SEQ ID NOS: 1, 3 o 6, y/o SEQ ID NOS: 2, 4, 5, o 7, unido de forma operativa a secuencias de control reconocidas por una célula hospedadora transfectada con el vector. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

Otra realización de la presente divulgación es un método para producir un polipéptido, que comprende cultivar la célula hospedadora que comprende un vector que comprende ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de las SEQ ID NOS: 1, 3 o 6, y/o SEQ ID NOS: 2, 4, 5, o 7, en condiciones en las que la secuencia de ácidos nucleicos se expresa, produciendo de ese modo el polipéptido, y recuperar el polipéptido de la célula hospedadora.

Otra realización de la presente divulgación es una secuencia de ácidos nucleicos aislada que codifica un anticuerpo específico para CD40 que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 9, 11, 12 o 14 y una cadena pesada que tiene la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 8, 10 o 13. En un aspecto, el fragmento de unión es un fragmento de anticuerpo seleccionado entre el grupo que consiste en Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')<sub>2</sub>, y un diacuerpo. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

Otra realización de la presente divulgación es un método para identificar una secuencia de línea germinal aceptora para un anticuerpo humanizado, método que comprende las etapas de: a) identificar un anticuerpo no humano que tiene la actividad biológica deseada seleccionado entre al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 2, 4, 5 o 7; y al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 1, 3 o 7; b) determinar la secuencia de aminoácidos de dominios VH y VL de un anticuerpo no humano; y c) comparar la secuencia del anticuerpo no humano con un grupo de secuencias de línea germinal humana, en el que la comparación comprende las subetapas de: 1) asignar la secuencia de números de restos de secuencias de dominios VH y VL no humanos; 2) definir las regiones CDR y FR en la secuencia; 3) asignar una puntuación numérica determinada previamente a cada posición del resto para el que las secuencias de línea germinal no humana y humana son idénticas; y 4) sumar todas las puntuaciones de los restos para generar una puntuación total para cada secuencia de línea germinal humana; y d) identificar la secuencia de línea germinal humana con la puntuación del resto total más elevada como la secuencia de línea germinal aceptora. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo no humano es específico para CD40. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

Otra realización de la presente divulgación es un anticuerpo generado con el método que comprende a) identificar un anticuerpo no humano que tiene la actividad biológica deseada seleccionado entre al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 2, 4, 5 o 7; y al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 1, 3 o 7; b) determinar la secuencia de aminoácidos de dominios VH y VL de un anticuerpo no humano; y c) comparar la secuencia del anticuerpo no humano con un grupo de secuencias de línea germinal humana, en el que la comparación comprende las subetapas de: 1) asignar la secuencia de números de restos de secuencias de dominios VH y VL no humanos; 2) definir las regiones CDR y FR en la secuencia; 3) asignar una puntuación numérica determinada previamente a cada posición del resto para el que las secuencias de línea germinal no humana y humana son idénticas; y 4) sumar todas las puntuaciones de los restos para generar una puntuación total para cada secuencia de línea germinal humana; y d) identificar la secuencia de línea germinal humana con la puntuación del resto total más elevada como la secuencia de línea germinal aceptora. En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo no humano es específico para CD40. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio

variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NOS.: 7.

Otra realización de la presente invención es un método para preparar un anticuerpo que comprende expresar en una célula hospedadora un anticuerpo recombinante humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de los cuales ambos se unen a CD40, que comprende: al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7; y al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6 en el que la célula hospedadora es una célula bacteriana, fúngica, de insecto, o de mamífero y el anticuerpo es un anticuerpo humanizado y en el que el anticuerpo tiene las CDR obtenidas a partir del anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 7. En otro aspecto, el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 %, 95 %, 99 % o un 100 % con un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7.

Otra realización de la presente divulgación es un anticuerpo recombinante o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD40, en el que el anticuerpo solo es capaz de hacer que las células dendríticas secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IL-12p40 o TNFalfa sin activación anterior de las células dendríticas. El anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de la SEQ ID NO: 7; y al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con una región variable de cadena pesada de anticuerpo de la SEQ ID NO: 6. En otro aspecto, el anticuerpo comprende la secuencia de polipéptidos de la SEQ ID NO: 6, la secuencia de polipéptidos de la SEQ ID NO: 7, o ambas. En otro aspecto, el anticuerpo es producido por un hibridoma anti-CD40\_11B6.1C3 (Presentación en la ATCC n.º HS440, n.º de Registro \_\_). El anticuerpo está humanizado. En otro aspecto, el anticuerpo es capaz de hacer que las células dendríticas activadas con GM-CSF e Interferón alfa secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IP-10, IL-10 o IL-12p40. En otro aspecto, el anticuerpo solo es capaz de causar una proliferación de linfocitos B de al menos un 10 %, 20 %, 25 %, 28 %, 30 % o un 35 %.

Otra realización de la presente invención es un anticuerpo recombinante humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD40, en la que el anticuerpo solo es capaz de causar la proliferación de linfocitos B de al menos un 10 % de los linfocitos B, en la que el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7 y al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6 y en el que el anticuerpo tiene las CDR obtenidas a partir del anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 7. En un aspecto, el porcentaje de linfocitos B que proliferan es al menos un 15 %, 20 %, 25 %, 28 %, 30 % o un 35 %. El anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7; y al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6. En otro aspecto, el anticuerpo comprende la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 6, la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 7, o ambas. En otro aspecto, el anticuerpo está producido por un hibridoma anti-CD40\_11B6.1C3 (Presentación en la ATCC n.º HS440, n.º de Registro \_\_). El anticuerpo está humanizado. En otro aspecto, el anticuerpo solo es capaz de causar que las células dendríticas secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IL-12p40 o TNFalfa sin activación anterior de las células dendríticas. En otro aspecto, el anticuerpo es capaz de hacer que las células dendríticas activadas con GM-CSF e Interferón alfa secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IP-10, IL-10 o IL-12p40.

#### Descripción de las Figuras

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

La Fig. 1 muestra anticuerpos recombinantes de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversos péptidos del VIH (calles 1 a 5) secretados a partir de células 293F transfectadas, analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie.

La Fig. 2 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversos péptidos del VIH (Calles 1 y 2) secretados a partir de células 293F transfectadas, a continuación analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie.

La Fig. 3 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversas cadenas de péptidos de VIH (Calles 1 a 5) secretados a partir de células 293F transfectadas, a continuación analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie.

La Fig. 4 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversas cadenas de péptidos de VIH (Calles 1 a 6) secretados a partir de células 293F transfectadas, a continuación analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie.

La Fig. 5 describe el protocolo usado *in vitro* para someter a ensayo la potencia del anticuerpo recombinante de fusión del péptido del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 (rAb de  $\alpha$ CD40.LIPO5) para provocar la expansión de linfocitos T específicos de antígeno en el contexto de un cultivo de PBMC.

La Fig. 6A-C muestra producción de IFN $\gamma$  específico de péptidos del VIH en PBMC de pacientes con VIH incubadas con diversas concentraciones de vacuna de cadena de péptidos anti-CD40.LIPO5. C es el grupo de

control, que no recibió vacuna, y define la respuesta del valor inicial del cultivo a cada péptido.

La Fig. 7 es un resumen de respuestas de la vacuna de péptidos de  $\alpha$ CD40.LIPO5 frente a las 5 regiones de péptidos de 8 pacientes con VIH.

La Fig. 8A-C muestra que la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provoca expansión de linfocitos T específicos de péptidos del VIH capaces de secretar múltiples citoquinas – una característica deseable en una vacuna. La Fig. 8A-C también muestra que la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provoca respuestas específicas de los péptidos gag253, nef66, nef116 y pol325 caracterizadas por producción de múltiples citoquinas (paciente A5).

La Fig. 9 muestra el protocolo para someter al ensayo la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 por su capacidad para dirigir la expansión de linfocitos T específicos de antígenos que resulta de una captación dirigida por las DC y presentación de epítopos peptídicos en su complejo MHC de superficie.

La Fig. 10A-B muestra la secreción de citoquina como respuesta a péptidos del VIH a partir de cocultivos de células DC-linfocitos T tratados con diversas dosis de vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 (paciente A10).

La Fig. 11A-B muestra las PBMC del paciente A4 tratado con la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provocan la expansión de linfocitos T específicos de antígeno con especificidad hacia la región gag253, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles.

La Fig. 12A es la secuencia de cadena pesada de la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 que muestra las regiones conectoras flexibles en letra negrita, las secuencias de unión subrayadas y las regiones de péptidos del VIH sombreadas en color gris. La Fig. 12A muestra que las PBMC del paciente A3 tratado con la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provocan la expansión de linfocitos T específicos de antígeno con especificidades hacia las regiones gag253, nef66, y nef116, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles.

La Fig. 12B-1 y 12B-2 muestra respuestas de linfocitos T específicas de antígeno de VIH provocadas a partir de las PBMC del paciente A17 con VIH incubadas con 30 nM de tres vacunas diferentes de dirección de DC del péptido HIV5. La Fig. 12C-1 y 12C-2 es un estudio similar al que se muestra en la Fig. 12B-1 y 12B-2, excepto en que las PBMC son de un paciente con VIH diferente (A2). La Fig. 12D muestra 15 respuestas de péptidos del VIH diferentes [5 regiones de péptidos de las que se toman muestras en 3 pacientes], se encontró que la vacuna anti-CD40.HIV5pep era superior a la mezcla anti-DCIR.HIV5pep, anti-LOX-1.HIV5pep y no LIPO5 para provocar una amplia gama de respuestas de linfocitos T CD8<sup>+</sup> y CD4<sup>+</sup> específicos de péptidos del VIH.

La Fig. 13 muestra la internalización de mAb anti-CD40:IL-4DC. Las IL-4DC se trataron con 500 ng/ml de anti-CD40-Alexa 568.

La Fig. 14 muestra proliferación de linfocitos T CD4 y CD8 por las DC dirigidas con anti-CD40-HA1. 5 x 10e3 IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-HA o Ig-HA1 de control se cocultivaron con linfocitos T CD4<sup>+</sup> o CD8<sup>+</sup> autólogos etiquetados con CFSE (2 x 10e5) durante 7 días. A continuación, las células se sometieron a tinción con anticuerpos anti-CD4 o anti-CD8. La proliferación celular se sometió a ensayo midiendo la dilución de CFSE.

La Fig. 15 muestra una valoración de proteína de fusión de HA1 en la proliferación de linfocitos T CD4<sup>+</sup>. Las IFNDC (5 K) cargadas con proteínas de fusión se cocultivaron con linfocitos T CD4<sup>+</sup> etiquetados con CFSE (200 K) durante 7 días.

La Fig. 16 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> se volvieron a estimular con las DC cargadas con 5 uM de los péptidos indicados, y a continuación el IFN $\gamma$  intracelular se sometió a tinción.

La Fig. 17 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> se volvieron a estimular con las DC cargadas con los péptidos indicados durante 36 h, y a continuación el sobrenadante del cultivo se analizó para la medición de IFN $\gamma$ .

La Fig. 18 muestra que la dirección de CD40 da como resultado la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicos de MART-1. Las IFNDC (5 K/pocillo) cargadas con proteínas de fusión se cocultivaron con linfocitos T CD8<sup>+</sup> purificados durante 10 días. Las células se tiñeron con anti-CD8 y tetrámero. Las células son de donantes sanos (HLA-A\*0201+).

La Fig. 19 muestra que la dirección de CD40 da como resultado la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicos de MART-1 (Resumen de 8 experimentos repetidos usando células de diferentes donantes sanos).

La Fig. 20 muestra que los CTL CD8<sup>+</sup> inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-MART-1 son funcionales. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> cocultivados con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión se mezclaron con células T2 cargadas con epítopo de péptido 10 uM.

La Fig. 21 muestra que los CTL CD8<sup>+</sup> inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-Flu M1 son funcionales. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> cocultivados con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión se mezclaron con células T2 cargadas con epítopo de péptido 1,0 nM.

La Fig. 22 muestra un esbozo del protocolo para someter a ensayo la capacidad de una vacuna formada por anti-CD4012E12 unido a PSA (antígeno específico de próstata) para provocar la expansión de una población de linfocitos T sin tratamiento previo. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos de PSA corresponden a una matriz amplia de epítopos de PSA. En resumen, las DC obtenidas mediante cultivo con IFN $\alpha$  y GM-CSF de monocitos de un donante sano se incuban con la vacuna. Al día siguiente, las células se colocan en medio recién preparado y se añaden linfocitos T CD4<sup>+</sup> puros del mismo donante. Varios días más tarde, se añaden péptidos de PSA y, después de cuatro horas, se determinan los niveles de gamma-IFN secretado en los sobrenadantes del cultivo.

La Fig. 23 muestra que muchos péptidos de PSA provocan potentes respuestas de producción de gamma-IFN lo que indica que anti-CD4012E12 y algunos agentes anti-CD40 similares pueden suministrar antígeno a las DC de forma eficaz, dando como resultado la sensibilización de respuestas inmunes frente a múltiples epítopos del antígeno.

La Fig. 24 muestra que las DC dirigidas con anti-CD40-PSA inducen respuestas de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicas de PSA. Las IFNDC se dirigieron con 1 ug de proteína de fusión de mAb con PSA. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> autólogos purificados se cocultivaron durante 10 días. Las células se tiñeron con anti-CD8 y tetrámero de PSA (KLQCVDLHV). Las células son de un donante sano positivo para HLA-A\*0201. Los resultados demuestran que anti-CD40 suministra PSA a las DC de forma eficaz, que a su vez provocan la expansión de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicos de PSA.

La Fig. 25 es un esquema (izquierda) y la producción de IFN $\gamma$  por linfocitos T de las combinaciones de péptidos y control para el Donante 2. Se cocultivaron 5 x 10e3 de las IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 con linfocitos T CD4<sup>+</sup> autólogos purificados (2 x 10e5) durante 8 días. A continuación, las células se volvieron a estimular con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Las células se tiñeron para la medición de la expresión de IFN $\gamma$  intracelular.

La Fig. 26 muestra un barrido de péptidos y producción de IFN $\gamma$  por linfocitos T obtenidos a partir de las combinaciones de péptidos mostrados en la Fig. 25 y control para el Donante 2. Se cocultivaron 5 x 10e3 de las IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 con linfocitos T CD4<sup>+</sup> autólogos purificados (2 x 10e5) durante 8 días. A continuación, las células se volvieron a estimular con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Las células se tiñeron para la medición de la expresión de IFN $\gamma$  intracelular.

La Fig. 27 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-MART-1.

La Fig. 28 es un resumen de los epítomos inmunodominantes de CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> para MART-1.

La Fig. 29 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100.

La Fig. 30 muestra el diseño para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicional.

La Fig. 31 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicional.

La Fig. 32 es un resumen de los epítomos inmunodominantes de CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> para gp100.

La Fig. 33 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicional.

La Fig. 34 muestra los resultados obtenidos con los diversos anticuerpos usando un ensayo que detecta señalización a través de ligación de CD40 - lectura como muerte celular.

La Fig. 35 muestra la unión de diversas construcciones cuando el anticuerpo se ha preparado en una proteína de fusión con doc y a continuación capturas.

Las Figs. 36 y 37 comparan la producción de citoquinas con o sin la adición de GM-CSF e IFN $\alpha$  (Fig. 36 A-D), y anticuerpos solubles solos (Fig. 37A-D) incubados con las DC durante 24 horas.

La Figura 38A-B demuestra el efecto de diversas concentraciones de anticuerpos anti-CD40 de la presente invención en la proliferación de linfocitos B.

## Descripción de la invención

Aunque la preparación y uso de diversas realizaciones de la presente invención se discuten con detalle a continuación, se debería observar que la presente invención proporciona muchos conceptos inventivos aplicables que se pueden realizar en una gran diversidad de contextos específicos. Las realizaciones específicas discutidas en el presente documento son simplemente ilustrativas de formas específicas para preparar y usar la Invención y no delimitan el alcance de la invención.

Para facilitar la comprensión de la presente invención, a continuación se define una serie de términos. Los términos definidos en el presente documento tienen significados como entendiéndolos comúnmente una persona con una experiencia habitual en las áreas relevantes de la presente invención. Algunos términos tales como "un", "una" y "el" no pretenden hacer referencia solamente a una entidad singular, pero incluyen la clase general de la que se puede usar un ejemplo específico para la ilustración. En el presente documento la terminología se usa para describir realizaciones específicas de la invención, pero su uso no delimita la invención, excepto como se indica en las reivindicaciones.

La invención también incluye variantes y otra modificación de un anticuerpo (o "Ab") de los fragmentos de los mismos, por ejemplo, proteína de fusión anti-CD40 (anticuerpo se usa de forma distinta con el término "inmunoglobulina"). Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpos o fragmentos de los mismos", incluye anticuerpos completos o fragmentos de anticuerpo, por ejemplo, Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fc, y fragmentos de Fv monocatenarios (ScFv), o cualquier fragmento biológicamente eficaz de un inmunoglobulina que se une de forma específica a, por ejemplo, CD40. Los anticuerpos de origen humano o anticuerpos humanizados presentan un a reducción o ninguna inmunogenicidad en seres humanos y tienen un número más bajo o ningún epítomo inmunogénico en comparación con los anticuerpos no humanos. Los anticuerpos y sus fragmentos por lo general se seleccionan para que tengan un nivel reducido o ninguna antigenicidad en seres humanos.

Como se usa en el presente documento, los términos "Ag" o "antígeno" se refieren a una sustancia capaz unirse a una región de unión a antígeno de una molécula de inmunoglobulina o de provocar una respuesta inmune, por ejemplo, una respuesta inmunológica mediada por linfocitos T por la presentación del antígeno en proteínas celulares del Antígeno de Histocompatibilidad Mayor (MHC). Como se usa en el presente documento, "antígeno" incluye, pero no se limita a, determinantes antigénicos, haptenos e inmunógenos que pueden ser péptidos,

moléculas pequeñas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos o combinaciones de los mismos. El inmunólogo experto reconocerá que cuando se hace referencia a antígenos que se procesan para su presentación a linfocitos T, el término "antígeno" se refiere a aquellas partes del antígeno (por ejemplo, un fragmento de péptido) que es un epítipo de linfocitos T presentado por MHC al receptor de linfocitos T. Cuando se usa en el contexto de una respuesta inmune mediada por linfocitos B en forma de un anticuerpo que es específico para un "antígeno", la parte del antígeno que se une a las regiones determinantes de la complementariedad de los dominios variables del anticuerpo (ligero y pesado), la parte unida puede ser un epítipo lineal o tridimensional. En el contexto de la presente invención, el término antígeno se usa en ambos contextos, es decir, el anticuerpo es específico para un antígeno de proteína (CD40), pero también porta uno o más epítopos de péptidos para la presentación por MHC a linfocitos T. En ciertos casos, los antígenos administrados por la vacuna o proteína de fusión de la presente invención se internalizan y procesan por las células presentadoras de antígeno antes de presentación, por ejemplo, mediante escisión de una o más partes del anticuerpo o proteína de fusión.

Como se usa en el presente documento, la expresión "péptido antigénico" se refiere a la parte de un antígeno de polipéptido que es reconocido de forma específica por cualquiera de linfocitos B o linfocitos T. Los linfocitos B responden a determinantes antigénicos extraños a través de producción de anticuerpos, mientras que los linfocitos T están mediados por inmunidad celular. Por lo tanto, los péptidos antigénicos son aquellas partes de un antígeno que son reconocidas por anticuerpos, o en el contexto de un MHC, por receptores de linfocitos T.

Como se usa en el presente documento, el término "epítipo" se refiere a cualquier determinante proteico capaz de unirse a una inmunoglobulina o de ser presentado por una proteína del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) (por ejemplo, Clase I o Clase II) a un receptor de linfocitos T. Por lo general, los determinantes epitópicos son péptidos cortos de 5-30 aminoácidos de longitud que se ajustan dentro de la ranura de la molécula del MHC que presenta ciertos grupos laterales de aminoácidos hacia el receptor de linfocitos T y tiene otros ciertos restos en la ranura, por ejemplo, debido a características de carga específicas de la ranura, los grupos laterales del péptido y el receptor de linfocitos T. Por lo general, un anticuerpo se une de forma específica a un antígeno cuando la constante de disociación es 1 mM, 100 nM o incluso 10 nM.

Como se usa en el presente documento, el término "vector" se usa en dos contextos diferentes. Cuando el término "vector" se usa haciendo referencia a una vacuna, un vector se usa para describir una parte no antigénica que se usa para dirigir o entregar la parte antigénica de la vacuna. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmentos del mismo pueden estar unidos a o pueden formar una proteína de fusión con el antígeno que provoca la respuesta inmunológica. Para vacunas celulares, el vector para suministro y/o presentación del antígeno es la célula presentadora de antígeno, que es proporcionada por la célula que se carga con el antígeno. En ciertos casos, el propio vector celular puede también puede procesar y presentar el antígeno o antígenos a los linfocitos T y activar una respuesta inmunológica específica del antígeno. Cuando se usa en el contexto de ácidos nucleicos, un "vector" se refiere a una construcción, que es capaz de entregar, y preferentemente expresar, uno o más genes o secuencias de polinucleótidos de interés en una célula hospedadora. Algunos ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, vectores virales, vectores de expresión de ADN o ARN desnudos, vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de condensación catiónica, vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas y ciertas células eucariotas, tales como células productoras.

Como se usa en el presente documento, los términos "estable" e "inestable" cuando se refieren a proteínas se usan para describir un péptido o proteína que mantiene su estructura y/o actividad tridimensional (estable) o que pierde inmediatamente o con el tiempo su actividad estructura y/o actividad tridimensional (inestable). Como se usa en el presente documento, el término "insoluble" se refiere a aquellas proteínas que cuando se producen en una célula (por ejemplo, una proteína recombinante expresada en una célula eucariota o procarionta o *in vitro*) no son solubles en solución sin el uso de condiciones o agentes de desnaturalización (por ejemplo, agentes de desnaturalización por calor o químicos, respectivamente). Se ha encontrado que el anticuerpo o fragmento del mismo y los conectores enseñados en el presente documento convierten proteínas de fusión de anticuerpo con los péptidos de insolubles y/o inestables en proteínas que son estables y/o solubles. Otro ejemplo de estabilidad con respecto a inestabilidad es cuando el dominio de la proteína con una conformación estable tiene una temperatura de fusión más elevada ( $T_f$ ) que el dominio inestable de la proteína cuando se mide en la misma solución. Un dominio es estable con respecto a otro dominio cuando la diferencia en la  $T_f$  es al menos aproximadamente 2 °C, más preferentemente de aproximadamente 4 °C, a un más preferentemente de aproximadamente 7 °C, todavía más preferentemente de aproximadamente 10 °C, incluso más preferentemente de aproximadamente 15 °C, aún más preferentemente de aproximadamente 20 °C, incluso a un más preferentemente de aproximadamente 25 °C, y lo más preferentemente aproximadamente 30 °C, cuando se mide en la misma solución.

Como se usa en el presente documento, "polinucleótido" o "ácido nucleico" se refiere a una hebra de desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos en cualquiera de una forma de una sola hebra o de doble hebra (incluyendo análogos conocidos de nucleótidos naturales). Una secuencia de ácidos nucleicos de doble cadena incluirá la secuencia complementaria. La secuencia de polinucleótidos puede codificar dominios de región variable y/o constante de inmunoglobulina que se forman en una proteína de fusión con uno o más conectores. Para uso con la presente divulgación, múltiples sitios de clonación (MCS) se pueden modificar por ingeniería en los lugares en el extremo carboxi-terminal de las cadenas pesadas y/o ligeras de los anticuerpos para permitir una inserción en fase



del péptido para expresión entre los conectores. Como se usa en el presente documento, la expresión "polinucleótido aislado" se refiere a un polinucleótido de origen genómico, ADNc, o sintético o alguna combinación de los mismos. En virtud de su origen, el "polinucleótido aislado" (1) no se asocia con toda o una parte de un polinucleótido en el que los "polinucleótidos aislados" se encuentran en la naturaleza, (2) se une de forma operativa a un polinucleótido que no está unido en la naturaleza, o (3) no se produce en la naturaleza como parte de una secuencia de mayor tamaño. El experto en la materia reconocerá que para diseño y puesta en marcha, un vector se puede manipular al nivel del ácido nucleico mediante el uso de técnicas conocidas en la técnica, tales como las que se enseñan en *Current Protocols in Molecular Biology*, 2007 de John Wiley e Hijos. En resumen, las secuencias de ácidos nucleicos de codificación se pueden insertar usando reacción en cadena de la polimerasa, inserción enzimática de oligonucleótidos o fragmentos de reacción en cadena de la polimerasa en un vector, que puede ser un vector de expresión. Para facilitar la inserción de insertos en el extremo carboxi terminal de la cadena ligera del anticuerpo, la cadena pesada, o ambas, un sitio de clonación múltiple (MCS) se puede modificar por ingeniería en secuencia con las secuencias de anticuerpo.

Como se usa en el presente documento, el término "polipéptido" se refiere a un polímero de aminoácidos y no hace referencia a una longitud específica del producto; por lo tanto, péptidos, oligopéptidos, y proteínas están incluidos dentro de la definición de polipéptido. Este término tampoco hace referencia ni excluye modificaciones después de la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilaciones, acetilaciones, fosforilaciones y similares. Dentro de la definición están incluidos, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), polipéptidos con enlaces sustituidos, así como otras modificaciones conocidas en la técnica, tanto de origen natural como de origen no natural. El término "dominio" o "dominio del polipéptido" se refiere a la secuencia de un polipéptido que se pliega en una única región globular en su conformación nativa, y que pueden presentar propiedades de unión o funcionales separadas.

Un polipéptido o secuencia de aminoácidos "obtenido a partir de" una secuencia de ácidos nucleicos designada se refiere a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a la de un polipéptido codificada en la secuencia, o una parte del mismo en el que la parte consiste en al menos 3-5 aminoácidos, preferentemente al menos 4-7 aminoácidos, más preferentemente al menos 8-10 aminoácidos, e incluso más preferentemente al menos 11-15 aminoácidos, o que se puede identificar de forma inmunológica con un polipéptido no codificado en la secuencia. Esta terminología también incluye un polipéptido expresado a partir de una secuencia de ácidos nucleicos designada.

Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier material que cuando se combina con una proteína de fusión de inmunoglobulina (Ig) de la presente invención permite que la Ig retenga actividad biológica y por lo general no es reactivo con el sistema inmunitario del sujeto. Algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, vehículos farmacéuticos convencionales tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones tales como las que están en forma de emulsión de aceite/agua, y diversos tipos de agentes humectantes. Ciertos diluyentes se pueden usar con la presente invención, por ejemplo, para administración en aerosol o parenteral, que pueden ser solución salina tamponada con fosfato o solución salina normal (0,85 %).

Un anticuerpo para su uso con la presente invención comprende al menos la región variable de anti-CD40\_11B6.1C3 (n.º de Depósito HS440, n.º de Registro en la ATCC \_\_).

La divulgación proporciona una molécula de unión a CD40 que comprende al menos un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1L, CDR2L y CDR3L, la región CDR1L que tiene la secuencia de aminoácidos SASQGISNYLN (SEQ ID NO: 41), la región CDR2L que tiene la secuencia de aminoácidos YTSILHS (SEQ ID NO: 42) y la región CDR3L que tiene la secuencia de aminoácidos QQFNKLPT (SEQ ID NO: 43) cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO. 37; y equivalentes directos de las mismas para los anticuerpos anti-CD40\_11B6.1C3, o los anticuerpos anti-CD40\_12B4.2C10.

Por consiguiente la divulgación proporciona una molécula de unión a CD40 que comprende un sitio de unión a antígeno que comprende al menos un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1H, CDR2H y CDR3H, teniendo la región CDR1H la secuencia de aminoácidos GFTFSDYYMY (SEQ ID NO: 44), teniendo la región CDR2H la secuencia de aminoácidos YINSGGGSTYYPDVTKG (SEQ ID NO: 45), y teniendo la región CDR3H la secuencia de aminoácidos RGLPFHAMDY (SEQ ID NO: 46), cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO. 38; y equivalentes directos de las mismas los anticuerpos anti-CD40\_11B6.1C3, o los anticuerpos anti-CD40\_12B4.2C10.

En un aspecto la divulgación proporciona una molécula de unión a CD40 de un solo dominio que comprende una cadena ligera de inmunoglobulina aislada que comprende un dominio variable de cadena pesada (VL) como se ha definido anteriormente. En otro aspecto la invención proporciona una molécula de unión a CD40 de un solo dominio que comprende una cadena pesada de inmunoglobulina aislada que comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) como se ha definido anteriormente.

En otro aspecto la divulgación también proporciona una molécula de unión a CD40 que comprende dominios variables tanto de cadena pesada (VH) como de cadena ligera (VL) en los que la molécula de unión a CD40 comprende al menos un sitio de unión a antígeno que comprende: a) un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VL) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1L, CDR2L y CDR3L, la región CDR1L que tiene la secuencia de aminoácidos SASQGISNYLN (SEQ ID NO: 41), la región CDR2L que tiene la secuencia de aminoácidos YTSILHS (SEQ ID NO: 42), y la región CDR3L que tiene la secuencia de aminoácidos QQFNKLPPT (SEQ ID NO: 43), cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO. 1, y b) un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VH) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1H, CDR2H y CDR3H, teniendo la región CDR1H la secuencia de aminoácidos GFTFSDYYMY (SEQ ID NO: 44), teniendo la región CDR2H la secuencia de aminoácidos YINSGGGSTYYPTVKG (SEQ ID NO: 45), y teniendo la región CDR3H la secuencia de aminoácidos RGLPFHAMDY (SEQ ID NO: 46), cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO. 38; y equivalentes directos de las mismas los anticuerpos anti-CD40\_11B6.1C3, o los anticuerpos anti-CD40\_12B4.2C10.

A menos que se indique de otro modo, en el presente documento se describe cualquier cadena de polipéptidos que tenga una secuencia de aminoácidos que comience en el extremo N-terminal y que termine en el extremo C-terminal. Cuando el sitio de unión a antígeno comprende los dominios tanto VH como VL, éstos se pueden situar en la misma molécula de polipéptido o, preferentemente, cada dominio puede estar en una cadena diferente, siendo el dominio VH parte de una cadena pesada de inmunoglobulina o fragmento de la misma y siendo el dominio VL parte de una cadena ligera de inmunoglobulina o fragmento de la misma.

Como se usa en el presente documento, la expresión "molécula de unión a CD40" se refiere a cualquier molécula capaz de unirse al antígeno CD40 ya sea sola o asociada con otras moléculas que tengan una o más de las CDR de VL y VH enseñadas en el presente documento, en algunos casos 2, 3, 4, 5, o las 6 CDR. La reacción de unión se puede mostrar mediante métodos convencionales (ensayos cualitativos) que incluyen, por ejemplo, un bioensayo para determinar, mediante bloqueo, la unión de otras moléculas a CD40 o cualquier tipo de ensayo de unión o actividad (por ejemplo, activación, reducción o modulación de una respuesta inmunológica), con referencia a un ensayo de control negativo en el que se usa un anticuerpo de especificidad no relacionada pero del mismo isotipo, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD25 o anti-CD80.

La presente invención también se puede realizar en una cadena de anticuerpo individual que tenga los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras de un anticuerpo unidos de forma covalente mediante un conector peptídico que normalmente incluye de 10 a 30 aminoácidos, preferentemente de 15 a 25 aminoácidos. Por lo tanto, una estructura de este tipo no incluye la parte constante de las cadenas pesadas y ligeras y se cree que el espaciador del péptido pequeño debería ser menos antigénico que una parte constante completa.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el que las regiones constantes de cadenas pesada o ligera o ambas son de origen humano mientras que los dominios variables de ambas cadenas pesada y ligera no son de origen humano (por ejemplo, ratón, hámster o rata) o de origen humano pero obtenidas a partir de un anticuerpo humano diferente.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo injertado con CDR" se refiere a un anticuerpo en el que las regiones determinantes de la complementariedad hipervariables (CDR) se obtienen a partir de un anticuerpo donante, tal como un anticuerpo no humano (por ejemplo, ratón) o un anticuerpo humano diferente, mientras que todas o sustancialmente todas las otras partes de la inmunoglobulina (por ejemplo, las regiones conservadas de los dominios variables, es decir, regiones marco conservadas), se obtienen a partir de un anticuerpo aceptor (en el caso de un anticuerpo humanizado - un anticuerpo de origen humano). Un anticuerpo injertado con CDR puede incluir unos pocos aminoácidos de la secuencia donante en las regiones marco conservadas, por ejemplo en las partes de las regiones marco conservadas adyacentes a las regiones hipervariables.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo en el que las regiones constantes y variables de las cadenas tanto pesadas como ligeras son todas de origen humano, o sustancialmente idénticas a secuencias de origen humano, no necesariamente del mismo anticuerpo e incluye anticuerpos producidos por ratones en los que los genes de parte variable y constante de inmunoglobulina de ratón, hámster o rata se han reemplazado por sus homólogos humanos, por ejemplo como se describe en términos generales en los documentos EP 0546073 B1, Pat. de Estados Unidos n.º 5.545.806, Pat. de Estados Unidos n.º 5.569.825, Pat. de Estados Unidos n.º 5.625.126, Pat. de Estados Unidos n.º 5.633.425, Pat. de Estados Unidos n.º 5.661.016, Pat. de Estados Unidos n.º 5.770.429, EP 0 438474 B1 y EP 0 463151 B1.

La molécula de unión a CD40 de la invención puede ser un anticuerpo humanizado que comprende las CDR obtenidas a partir del anticuerpo anti-CD40\_12B4.2C10. Un ejemplo de un anticuerpo quimérico incluye los dominios variables de las cadenas tanto pesada como ligera que son de origen humano, por ejemplo los dominios variables del anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 que son parte de la SEQ ID NO: 6 y la SEQ ID NO: 7. Los dominios de región constante también comprenden preferentemente dominios de región constante humana adecuados, por ejemplo como se describe en "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Kabat E. A. *et al*, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health. Las secuencias de ácidos nucleicos se

pueden encontrar, por ejemplo, en las SEQ ID NOS.: 8 y 9.

Algunas regiones hipervariables se pueden asociar con cualquier tipo de regiones marco conservadas, por ejemplo, de origen humano. Algunas regiones marco conservadas adecuadas fueron descritas por Kabat E. A. Un armazón de cadena pesada es un armazón de cadena pesada, por ejemplo el de un anticuerpo anti-CD40<sub>12E12.3F3</sub> que forma parte de la SEQ ID NO: 2; anti-CD40<sub>12B4.2C10</sub> - SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, y/o anti-CD40<sub>11B6.1C3</sub> - SEQ ID NO: 7, o combinación de los mismos, por ejemplo, regiones FR1<sub>L</sub>, FR2<sub>L</sub>, FR3<sub>L</sub> y FR4<sub>L</sub>. De una manera similar, la SEQ ID NO. 1 muestra el armazón de cadena pesada anti-CD40<sub>12E12.3F3</sub> (o los equivalentes para anti-CD40<sub>12B4.2C10</sub> y anti-CD40<sub>11B6.1C3</sub>, SEQ ID NOS.: 3 y 6, respectivamente) que incluye la secuencia de las oraciones FR1<sub>H</sub>, FR2<sub>H</sub>, FR3<sub>H</sub> y FR4<sub>H</sub>. Las CDR se pueden añadir a un armazón de anticuerpo humano, tales como las que se describen en el documento 7.456.260, presentado por Rybak, *et al.*, que enseñan nuevas regiones marco conservadas de cadena variable humanas y anticuerpos humanizados que comprenden las regiones marco conservadas, partes relevantes y secuencias de armazón. Para conseguir el injerto a un nivel genético, la presente divulgación también incluye las secuencias de ácidos nucleicos subyacentes para las regiones V<sub>L</sub> Y V<sub>H</sub> así como los anticuerpos completos y las versiones humanizadas de los mismos. Las secuencias de ácidos nucleicos de la presente divulgación incluyen las SEQ ID NOS.: 8 y 9, que son las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo anti-CD40, respectivamente, así como las secuencias de ácidos nucleicos que incluyen uso de codón variable para las mismas secuencias de aminoácidos y variaciones conservativas de las mismas que tienen una identidad de secuencias de un 85, 90, 95 o un 100 % al nivel del ácido nucleico o del aminoácido. De forma análoga, las CDR pueden tener una identidad de secuencias de un 85, 90, 95 o un 100 % al nivel del ácido nucleico o aminoácido, individualmente, en grupos o 2, 3, 4 o 5 o todas en conjunto.

Algunos anticuerpos monoclonales dirigidos frente a una proteína encontrada de forma natural en todos los seres humanos por lo general se desarrollan en un sistema no humano, por ejemplo en ratones, y como tal son por lo general proteínas no humanas. Como una consecuencia directa de esto, un anticuerpo xenogénico tal como se produce con un hibridoma, cuando se administra a seres humanos, provoca una respuesta inmune indeseable que está mediada predominantemente por la parte constante de la inmunoglobulina xenogénica. Algunos anticuerpos xenogénicos tienden a provocar una respuesta inmunológica en el hospedador, limitando de ese modo el uso de anticuerpos de este tipo ya que no se pueden administrar durante un periodo de tiempo prolongado. Por lo tanto, es particularmente útil usar anticuerpos de una sola cadena, de un solo dominio, quiméricos, injertados con CDR, o especialmente humanos que es probable que provoquen una respuesta alogénica sustancial cuando se administran a seres humanos. La presente invención incluye anticuerpos con cambios menores en una secuencia de aminoácidos tal como delección, adición o sustitución de uno, unos pocos o incluso varios aminoácidos que son simplemente formas alélicas de la proteína original que tiene sustancialmente propiedades idénticas.

La inhibición de la unión de CD40 a su receptor se puede someter a ensayo de forma conveniente en diversos ensayos incluyendo ensayos tales como los que se describen en lo sucesivo en el presente documento en el texto. Con la expresión "hasta el mismo punto" se hace referencia las moléculas de referencia y las equivalentes presentan, en una base estadística, curvas de inhibición de unión a CD40 esencialmente idénticas en uno de los ensayos mencionados anteriormente. Por ejemplo, el ensayo usado puede ser un ensayo de inhibición competitiva de unión a CD40 por las moléculas de unión de la invención.

Por lo general, el anticuerpo anti-CD40 humano de la divulgación comprende al menos: (a) una cadena ligera que comprende un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la mostrada en la SEQ ID NO: 1 comenzando con el aminoácido en la posición 1 y terminando con el aminoácido en la posición 107 y la parte constante de una cadena ligera humana; y (b) una cadena pesada que comprende un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la mostrada en la SEQ ID NO. 2 y la parte constante de una cadena pesada humana. La parte constante de una cadena pesada humana puede ser del tipo  $\gamma$ 1,  $\gamma$ 2,  $\gamma$ 3,  $\gamma$ 4,  $\mu$ ,  $\beta$ 2, o  $\delta$  o  $\epsilon$ , preferentemente del tipo  $\gamma$ , mientras que la parte constante de una cadena ligera humana puede ser de tipo  $\kappa$  o  $\lambda$  (que incluye los subtipos  $\lambda$ <sub>1</sub>,  $\lambda$ <sub>2</sub> y  $\lambda$ <sub>3</sub>) pero es preferentemente del tipo  $\kappa$ . En la técnica se conocen bien las secuencias de aminoácidos de las posiciones generales de los dominios variables y constantes y por lo general siguen en la nomenclatura Kabat.

Una molécula de unión a CD40 de la invención se puede producir mediante técnicas de ADN recombinante. A la vista de esto, se deben construir una o más moléculas de ADN que codifican la molécula de unión, colocar en secuencias de control apropiadas y transferir en un organismo hospedador adecuado para expresión.

De una manera muy general, en consecuencia con la divulgación se proporcionan: (i) moléculas de ADN que codifican una molécula de unión a CD40 de un solo dominio de la invención, una molécula de unión a CD40 de una sola cadena, una cadena pesada o ligera o fragmentos de las mismas de una molécula de unión a CD40 de la invención; y (ii) el uso de las moléculas de ADN de la divulgación para la producción de una molécula de unión a CD40 de la invención mediante métodos recombinantes.

El presente estado de la técnica es tal que el trabajador experto en la materia puede sintetizar las moléculas de ADN de la divulgación dada la información proporcionada en el presente documento, es decir, las secuencias de aminoácidos de las regiones hipervariables y las secuencias de ADN que las codifica. Un método para la

construcción de un gen de un dominio variable se describe por ejemplo en el documento EPA 239 400. En resumen, se clona un gen que codifica un dominio variable de un MAb. Los segmentos de ADN que codifican el almacén y regiones hipervariables se determinan y los segmentos de ADN que codifican las regiones hipervariables se retiran de modo que los segmentos de ADN que codifican las regiones marco conservadas se fusionan junto con sitios de restricción adecuados en las uniones. Los sitios de restricción se pueden generar en las posiciones apropiadas mediante mutagénesis de la molécula de ADN mediante procedimientos convencionales. Algunos casetes de CDR sintéticos de doble hebra se preparan mediante síntesis de ADN de acuerdo con las secuencias dadas en la SEQ ID NO: 1 y 3 o 2 y 4 (secuencias de aminoácidos y ácidos nucleicos, respectivamente). Estos casetes a menudo se proporcionan con extremos pegajosos de modo que se pueden ligar en las uniones del almacén.

No es necesario tener acceso al ARNm a partir de una línea de células de hibridoma de producción para obtener una construcción de ADN que codifica las moléculas de unión a CD40 de la invención. Por ejemplo, la solicitud de PCT WO 90/ 07861 da instrucciones completas para la producción de un anticuerpo mediante técnicas de ADN recombinante que solamente dan información con respecto a la secuencia de nucleótidos de un gen. En resumen, el método comprende la síntesis de una serie de oligonucleótidos, su amplificación con el método de PCR, y su corte y empalme para dar la secuencia de ADN deseada.

Algunos vectores de expresión que comprenden un promotor o genes adecuados que codifican partes constantes de cadena pesada y ligera están disponibles al público. Por lo tanto, una vez que se prepara una molécula de ADN de la divulgación, ésta se puede transferir en forma conveniente en un vector de expresión apropiado. Las moléculas de ADN que codifican anticuerpos de una sola cadena también se pueden preparar mediante métodos convencionales, por ejemplo, como se describe en el documento WO 88/1649. A la vista de lo mencionado anteriormente, no es necesario depósito de hibridoma ni de línea celular para cumplir los criterios de suficiencia de descripción.

Por ejemplo, se preparan una primera y segunda construcciones de ADN que se unen de forma específica a CD40. En resumen, una primera construcción de ADN codifica una cadena ligera o fragmento de la misma y comprende a) una primera parte que codifica un dominio variable que comprende regiones marco conservadas e hipervariables de forma alternativa, estando las regiones hipervariables en la secuencia CDR1<sub>L</sub>, CDR2<sub>L</sub> y CDR3<sub>L</sub> cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO: 1; comenzando esta primera parte con un codón que codifica el primer aminoácido del dominio variable y terminando con un codón que codifica el último aminoácido del dominio, y b) una segunda parte que codifica una parte constante de cadena ligera o fragmento de la misma que comienza con un codón que codifica el primer aminoácido de la parte constante de la cadena pesada y termina con un codón que codifica el último aminoácido de la parte constante fragmento de la misma, seguido de un codón de parada.

La primera parte codifica un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7. Una segunda parte codifica la parte constante de una cadena pesada humana, más preferentemente la parte constante de la cadena humana  $\gamma$ 1. Esta segunda parte puede ser un fragmento de ADN de origen genómico (que comprende intrones) o un fragmento de ADNc (sin intrones).

La segunda construcción de ADN codifica una cadena pesada o fragmento de la misma y comprende a) una primera parte que codifica un dominio variable que comprende como alternativa regiones marco conservadas e hipervariables; siendo las regiones hipervariables CDR1<sub>H</sub> y opcionalmente CDR2<sub>H</sub> y CDR3<sub>H</sub>, cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO. 2; comenzando esta primera parte con un codón que codifica el primer aminoácido del dominio variable y terminando con un codón que codifica el último aminoácido del dominio variable, y b) una segunda parte que codifica una parte constante de cadena pesada o fragmento de la misma que comienza con un codón que codifica el primer aminoácido de la parte constante de la cadena ligera y termina con un codón que codifica el último aminoácido de la parte constante o fragmento de la misma seguido de un codón de parada.

La primera parte codifica un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO. 2. La primera parte tiene la secuencia de nucleótidos que se muestra en la SEQ ID NO. 2 comenzando con el nucleótido en la posición 1 y terminando con el nucleótido en la posición 321. Además, la segunda parte codifica preferentemente la parte constante de una cadena ligera humana, más preferentemente la parte constante de la cadena  $\kappa$  humana.

La divulgación también incluye moléculas que se unen a CD40 en las que uno o más restos de CDR1<sub>L</sub>, CDR2<sub>L</sub>, CDR3<sub>L</sub>, CDR1<sub>H</sub>, CDR2<sub>H</sub> o CDR3<sub>H</sub> o los armazones, por lo general solamente unos pocos (por ejemplo, FR1-4<sub>L</sub> o <sub>H</sub>), se cambian a partir de los restos mostrados en las SEQ ID NO. 37 y SEQ ID NO. 38; mediante, por ejemplo, mutagénesis dirigida al sitio de las secuencias de ADN correspondientes. La divulgación incluye las secuencias de ADN que codifican tales moléculas de unión a CD40 cambiadas. En particular la divulgación incluye una molécula de unión a CD40 en la que uno, sus restos de CDR1<sub>L</sub>, CDR2<sub>L</sub> y/o CDR3<sub>L</sub> se han cambiado a partir de los restos mostrados en la SEQ ID NO. 37 y uno o más restos de CDR1<sub>H</sub>, CDR2<sub>H</sub> y/o CDR3<sub>H</sub> se han cambiado a partir de los restos mostrados en la SEQ ID NO. 38, o los equivalentes de las SEQ ID NOS.: 1, 3 y 6.

Cada una de las construcciones de ADN se colocan bajo el control de secuencias de control adecuadas, en particular bajo el control de un promotor adecuado. Se puede usar cualquier tipo de promotor, con la condición de

- que se adapte al organismo hospedador en el que las construcciones de ADN se transferirán para expresión. Sin embargo, si la expresión se va a producir en una célula de mamífero, un promotor de gen de inmunoglobulina se puede usar en linfocitos B cells. La primera y segunda partes se pueden separar por un intrón, y, un potenciador se puede colocar de forma conveniente en el intrón entre la primera y segunda partes. La presencia de un potenciador
- 5 de este tipo que se transcribe, pero que no se traduce, puede ayudar en la transcripción eficaz. En realizaciones en particular de la divulgación, la primera y segunda construcciones de ADN comprenden el potenciador de, por ejemplo, un gen humano de cadena pesada.
- El anticuerpo deseado se puede producir en un cultivo celular o en un animal transgénico. Un animal transgénico
- 10 adecuado se puede obtener de acuerdo con métodos convencionales que incluyen micro inyección en huevos de la primera y segunda construcciones de ADN colocadas en secuencias de control adecuadas que transfieren los huevos preparados de este modo en hembras pseudopreñadas apropiadas y seleccionando una descendencia que expresa el anticuerpo deseado.
- 15 La divulgación también proporciona un vector de expresión capaz de replicarse en una línea de células procariontas o eucariotas, que comprende al menos una de las construcciones de ADN que se han descrito anteriormente. Cada vector de expresión que contiene una construcción de ADN se transfiera a continuación en un organismo hospedador adecuado. Cuando las construcciones de ADN se insertan por separado en dos vectores de expresión, éstas se pueden transferir por separado, es decir un tipo de vector por célula, o se pueden cotransferir, siendo esto
- 20 último posiblemente preferente. Un organismo hospedador adecuado puede ser una línea celular de bacteria, una levadura o de mamífero, siendo esta última preferente. Más preferentemente, la línea de células de mamífero es de origen linfocito, por ejemplo, un linfocito B de mieloma, hibridoma o un linfocito B inmortalizado normal, que de forma conveniente no expresa ninguna cadena pesada o ligera de anticuerpo endógeno.
- 25 Cuando las cadenas de anticuerpo se producen en un cultivo celular, las construcciones de ADN primero se deben insertar en cualquiera de un vector de expresión individual o bien en dos vectores de expresión separados pero compatibles, siendo el último una posibilidad preferente. Para expresión en células de mamífero, es preferente que la secuencia de codificación de la molécula de unión a CD40 se integre en que el ADN de la célula hospedadora dentro de un locus que permita o favorezca un nivel de alta expresión de la molécula de unión a CD40.
- 30 En un aspecto más de la divulgación se proporciona un proceso para el producto de una molécula de unión a CD40 que comprende: (i) cultivar un organismo que se transforma con un vector de expresión como se ha definido anteriormente; y (ii) recuperar la molécula de unión a CD40 del cultivo.
- 35 De acuerdo con la presente invención, se ha encontrado que el anticuerpo anti-CD40\_12E12.3F3, anti-CD40\_12B4.2C10 y/o anti-CD40\_11B6.1C3 parece que tiene especificidad de unión hacia CD40 humano. Por lo tanto, lo más sorprendente es que los anticuerpos para este epítipo, por ejemplo el anticuerpo anti-CD40\_12E12.3F3, anti-CD40\_12B4.2C10 y/o anti-CD40\_11B6.1C3, son capaces de suministrar antígeno de forma eficaz en células dendríticas (DC). Algunos anticuerpos, en particular anticuerpos quiméricos e injertados con CDR y especialmente anticuerpos humanos, que tienen especificidad de unión para el epítipo antigénico de CD40 humano
- 40 maduro; y uso de tales anticuerpos para carga de antígeno de DC son nuevos y están incluidos dentro del alcance de la presente divulgación.
- Para usar el anticuerpo anti-CD40 de la presente invención para indicaciones de tratamiento, la dosificación apropiada variará, por supuesto, dependiendo, por ejemplo, del anticuerpo desvelado en el presente documento a usar, el hospedador, el modo de administración y la naturaleza y la gravedad de la afección que se está tratando. Sin embargo, en uso profiláctico, por lo general algunos resultados satisfactorios se encuentran a dosificaciones de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal, más usualmente de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg por kilogramo de peso corporal. La frecuencia de la dosificación para usos profilácticos normalmente estará en el intervalo de aproximadamente una vez a la semana hasta
- 50 aproximadamente una vez cada 3 meses, más usualmente en el intervalo de aproximadamente una vez cada 2 semanas hasta aproximadamente una vez cada 10 semanas, por ejemplo, una vez cada 4 a 8 semanas. El anticuerpo anti-CD40 de la presente invención se puede administrar por vía parenteral, por vía intravenosa, por ejemplo, en la vena antecubital u otra vena periférica, por vía intramuscular, o por vía subcutánea. Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar de una manera convencional, por ejemplo, en una forma liofilizada. Para administración inmediata, se disuelve en un vehículo acuoso adecuado, por ejemplo agua estéril para inyección o solución salina fisiológica tamponada estéril. Si se considera deseable preparar una solución de un volumen mayor para administración por infusión en lugar de una inyección en bolo, es ventajoso incorporar albúmina de suero humano o la propia sangre heparinizada del paciente en la solución salina en el momento de la formulación. La presencia de un exceso de tal proteína fisiológicamente inerte previene la pérdida de anticuerpos por adsorción en las paredes de los recipientes y tubos usados con la solución de infusión. Si se usa albúmina, una concentración adecuada es de un 0,5 a un 4,5 % en peso de la solución salina.
- 60 Una realización de la presente invención proporciona un inmunocombinado que comprende un anticuerpo humanizado de la invención, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD40 humanizado, unido a una o más moléculas efectoras, antígeno(s) y/o una etiqueta o etiquetas detectables. Preferentemente, la molécula efectora es una
- 65

molécula terapéutica tal como, por ejemplo, uno o más péptidos que comprenden uno o más epítomos de linfocitos T, una toxina, una molécula pequeña, una citoquina o una quimioquina, una enzima, o una radioetiqueta.

Algunas toxinas a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, exotoxina de *Pseudomonas* o toxina de difteria. Algunos ejemplos de moléculas pequeñas incluyen, pero no se limitan a, compuestos quimioterapéuticos tales como taxol, doxorubicina, etopósido, y bleiomicina. Algunas citoquinas a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, e IL-12, IL-17, e IL-25. Algunas enzimas a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, RNAsas, DNAsas, proteasas, quinasas, y caspasas. Algunos radioisótopos a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a,  $^{32}\text{P}$  e  $^{125}\text{I}$ .

Como se usa en el presente documento, el término "epítomo" se refiere a una molécula o sustancia capaz de estimular una respuesta inmunológica. En un ejemplo, algunos epítomos incluyen, pero no se limitan a, un polipéptido y un ácido nucleico que codifica un polipéptido, en los que la expresión del ácido nucleico en un polipéptido es capaz de estimular una respuesta inmunológica cuando el polipéptido se procesa y se presenta en una molécula de Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). Por lo general, algunos epítomos incluyen péptidos presentados en la superficie de células unidas de forma no covalente a la hendidura de unión del MHC de Clase I o Clase II, de modo que pueden interactuar con receptores de linfocitos T y las respectivas moléculas auxiliares de linfocitos T.

Procesamiento Proteolítico de Antígenos. Algunos epítomos que se presentan por MHC en células de presentación de antígenos son péptidos que se pueden escindir o productos de péptidos de mayor tamaño o precursores de antígeno de proteína. Para epítomos de MHC I, algunos antígenos de proteína a menudo se digieren con proteasomas residentes en la célula. La digestión proteasómica intracelular produce fragmentos de péptidos con una longitud de aproximadamente 3 a 23 aminoácidos que a continuación se cargan en la proteína del MHC. Algunas actividades proteolíticas adicionales dentro de la célula, o en el medio extracelular, pueden recortar y procesar estos fragmentos adicionalmente. El procesamiento de epítomos de la Clase II del MHC por lo general se produce a través de proteasas intracelulares del compartimento lisosómico/endosómico. La presente divulgación incluye, en una realización, péptidos procesados previamente que se unen al anticuerpo anti-CD40 (o fragmento del mismo) que dirige los péptidos frente a aquellos de los que se busca un aumento de la respuesta inmunológica directamente a células de presentación de antígeno.

Para identificar epítomos potencialmente eficaces como compuestos inmunogénicos, algunas predicciones de la unión del MHC solo son útiles pero a menudo insuficientes. La presente divulgación incluye métodos para identificar de forma específica los epítomos dentro de antígenos que con mayor probabilidad conducirán a la respuesta inmunológica buscada para las fuentes específicas de células de presentación de antígeno y linfocitos T que responden.

La presente divulgación permite un ensayo rápido y fácil para la identificación de los epítomos que con la mayor probabilidad van a producir la respuesta inmunológica deseada usando las células de presentación de antígenos del propio paciente y repertorio de linfocitos T. Las composiciones y métodos de la presente divulgación se pueden aplicar a cualquier secuencia de proteínas, permitiendo que el usuario identifique los epítomos que son capaces de unirse a MHC se presentan de forma apropiada a linfocitos T que responderán al antígeno. Por consiguiente, la divulgación no se limita a ninguna diana ni afección médica en particular, sino que en su lugar incluye un epítomo o epítomos de MHC de cualquier fuente útil.

Como se usa en el presente documento, el término "revestido" se refiere a un armazón de anticuerpo humanizado en el que los sitios de unión a antígeno o CDR obtenidos a partir de y cuerpos no humanos (por ejemplo, ratón, rata o hámster), se colocan en regiones marco conservadas estructurales de cadena pesada y ligera humanas (FR), por ejemplo, en un polinucleótido de cadena ligera o de cadena pesada para "injetar" la especificidad del anticuerpo no humano en un armazón humano. El vector o vectores de expresión de polinucleótido que expresan los anticuerpos revestidos pueden ser células de mamífero transfectadas para la expresión de anticuerpos humanos recombinantes que presentan la especificidad del antígeno del anticuerpo no humano y se someterán a modificaciones posteriores a la traducción que aumentarán su expresión, estabilidad, su utilidad, o combinaciones de las mismas.

#### Antígenos.

Algunos ejemplos de antígenos virales para su uso con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, VIH, VHC, CMV, adenovirus, retrovirus, picornavirus, etc. Un ejemplo no limitante de antígenos retrovirales como antígenos retrovirales de los antígenos del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) tales como productos genéticos de los genes gag, pol, y env, la proteína Nef, Transcriptasa inversa, y otros componentes de VIH; antígenos virales de la 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 otras hepatitis, por ejemplo, hepatitis A, B, y C, componentes virales tales como ARN viral de la hepatitis C; antígenos virales de la gripe tales como hemaglutinina y neuraminidasa 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 las proteínas E1 y E2 y otros componentes del virus de la rubéola; antígenos de rotavirus, tales como VP7sc y otros componentes de rotavirus; antígenos de citomegalovirus tales como la glicoproteína B de envoltura y otros componentes de antígeno de

citomegalovirus; antígenos del virus sincitial respiratorio tales como la proteína de fusión del RSV, la proteína M2 y otros componentes antigénicos del virus sincitial respiratorio; antígenos virales del herpes simplex, tales como proteínas inmediatas tempranas, glicoproteína D, y otros componentes antigénicos del virus del herpes simplex; antígenos virales de la varicela zóster, tales como gpl de, gpII, y otros componentes antigénicos virales de la varicela zóster; antígenos virales de la encefalitis japonesa, tales como las proteínas E, M-E, M-E-NS1, NS1, NS1-NS2A, E al 80 %, y otros componentes antigénicos virales de la encefalitis japonesa; antígenos virales de la rabia como glicoproteína de la rabia y otros componentes antigénicos del virus de la rabia. Véase *Fundamental Virology*, Segunda Edición, eds. Fields, B. N. y Knipe, D. M. (Raven Press, New York, 1991) para ejemplos adicionales de antígenos virales. El al menos un antígeno viral pueden ser péptidos a partir de un adenovirus, retrovirus, picornavirus, virus del herpes, rotavirus, hantavirus, coronavirus, togavirus, flavivirus, rhabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus, bunivirus, arenavirus, reovirus, virus del papiloma, parvovirus, virus de la viruela, hepadnavirus, o virus espongiforme. En ciertos ejemplos específicos, no limitantes, el al menos un antígeno viral son péptidos obtenidos a partir de al menos uno de virus de VIH, CMV, hepatitis A, B, y C, influenza, sarampión, polio, viruela, rubeola; sincitial respiratorio, herpes simplex, varicela zóster, virus de Epstein-Barr, encefalitis japonesa, rabia, gripe, y/o resfriado.

En un aspecto, el uno o más de los péptidos antigénicos se seleccionan entre al menos uno de: Nef (66-97): VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGG (SEQ ID NO: 148); Nef (116-145): HTQGYPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 149); Gag p17 (17-35): EKILRPGGKKKYKLVKLVH (SEQ ID NO: 150); Gag p17-p24 (253-284): NPIPVGVEIYKRWIILGLNKIVRMYSPSILD (SEQ ID NO: 151); o Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDLY (SEQ ID NO: 152). En un aspecto, los péptidos de proteína de fusión se separan con uno o más conectores seleccionados entre: SSVSPTTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o INGSITVAATAPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14).

Algunas dianas antigénicas que se pueden suministrar usando las vacunas de antígeno anti-CD40 de la presente invención incluyen genes que codifican antígenos tales como antígenos virales, antígenos bacterianos, antígenos fúngicos o antígenos parasitarios. Algunos agentes patógenos incluyen tripanosomas, tenias, lombrices, helmintos, malaria. Algunos marcadores tumorales, tales como antígeno fetal o antígeno específico de prostatica, se pueden dirigir de esta manera. Otros ejemplos incluyen: proteínas env del VIH y antígeno de superficie de la hepatitis B. La administración de un vector de acuerdo con la presente divulgación para fines de vacunación podría requerir que los antígenos asociados con vector sean lo suficientemente no inmunogénicos como para permitir la expresión a largo plazo del transgén, para el que se podría esperar una respuesta inmunológica intensa. En algunos casos, la vacunación de un individuo solamente puede ser necesaria con poca frecuencia, como cada año o cada dos años, y puede proporcionar protección inmunológica a largo plazo frente al agente infeccioso. Algunos ejemplos específicos de organismos, alérgenos y secuencias de ácidos nucleicos y aminoácidos para su uso en vectores y por último, como antígenos con la presente invención se pueden encontrar en el documento de Patente de Estados Unidos n.º 6.541.011, en particular, las tablas que emparejan organismos y secuencias específicas que se pueden usar con la presente invención.

Algunos antígenos bacterianos para su uso con las vacunas de antígeno anti-CD40 descritos en la presente documento incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, antígenos bacterianos, tales como toxina de Pertussis, hemaglutinina filamentosa, pertactina, FIM2, FIM3, adenilato de ciclasa y otros componentes antigénicos de bacterias de Pertussis; antígenos bacterianos de difteria, tales como toxina o toxoide de difteria y otros componentes antigénicos de bacterias de difteria; antígenos bacterianos del tétanos tales como toxina o toxoide del tétanos y otros componentes antigénicos de bacterias del tétanos; antígenos bacterianos de estreptococos, tales como proteínas M y otros componentes antigénicos de bacterias estreptocócicas; antígenos bacterianos de bacilos gram-negativos, tales como lipopolisacáridos y otros componentes antigénicos de bacterias gram-negativas, antígenos bacterianos de *Mycobacterium tuberculosis*, tales como ácido micólico, proteína 65 de choque térmico (HSP65), la proteína secretada principal de 30 kDa, antígeno 85A y otros componentes antigénicos de micobacterias; componentes antigénicos de bacterias de *Helicobacter pylori*; antígenos bacterianos neumocócicos como neumolisina, polisacáridos capsulares neumocócicos y otros componentes antigénicos de bacterias neumocócicas; antígenos bacterianos *Haemophilus influenza* tales como polisacáridos capsulares y otros componentes antigénicos de bacterias de *Haemophilus influenza*; antígenos bacterianos del ántrax tales como antígeno protector del ántrax y otros componentes antigénicos de bacterias del ántrax; antígenos bacterianos de *Rickettsia* tales como rompA y otro componente antigénicos de bacterias de *Rickettsia*. Con los antígenos bacterianos descritos en el presente documento también se incluye cualquier otro antígeno de bacteria, micobacteria, micoplasma, rickettsia, o clamidia. Algunos agentes patógenos parciales o completos también pueden ser: *Haemophilus influenzae*; *Plasmodium falciparum*; *Neisseria meningitidis*; *Streptococcus pneumoniae*; *Neisseria gonorrhoeae*; tífus de serotipo de *Salmonella*; *Shigella*; *Vibrio cholerae*; Fiebre del Dengue; Encefalitis; Encefalitis japonesa; enfermedad de Lyme; *Yersinia pestis*; virus del Nilo occidental; fiebre amarilla; tularemia; hepatitis (viral; bacteriana); RSV (virus sincitial respiratorio); HPIV 1 y HPIV 3; adenovirus; viruela; alergias y cánceres.

Algunos antígenos fúngicos para su uso con las composiciones y métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, componentes antígeno fúngico de *Candida*; antígenos fúngicos de *Histoplasma* tales como la proteína 60 de choque térmico (Hsp60) y otros componentes de antígeno fúngico de *Histoplasma*; antígenos

fúngicos criptocócicos tales como polisacáridos capsulares y otros componentes de antígeno fúngico criptocócico; antígenos fúngicos de Coccidioides tales como antígenos esferulares y otros componentes de antígeno fúngico de Coccidioides; y antígenos fúngicos de tiña tales como tricoftina y otros componentes de antígeno fúngico de Coccidioides.

5 Algunos ejemplos de protozoos y otros antígenos parasitarios incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, antígenos de *Plasmodium falciparum* tales como antígenos de superficie de merozoítos, antígenos de superficie de esporozoítos, antígenos de circumsporozoítos, antígenos de superficie de gametocitos/gametos, antígeno p f 155/RESA de estadio en sangre 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, paramosina, y otros componentes antigénicos de esquistosomas; antígeno principal de Leishmania y otros antígenos de Leishmania tales como gp63, lipofosfoglicano y su proteína asociada y otros componentes antigénicos de Leishmania; antígenos de *Trypanosoma cruzi* tales como el antígeno de 75-77 kDa, el antígeno de 56 kDa y otros componentes antigénicos de tripanosomas.

15 El antígeno que se puede dirigir usando las vacunas de antígeno anti-CD40 de la presente invención por lo general se seleccionará basándose en una serie de factores, que incluyen: probabilidad de internalización, nivel de especificidad de células inmunológicas, tipo de célula inmunológica dirigida, nivel de maduración y/o activación de célula inmunológica y similares. En esta realización, los anticuerpos pueden ser anticuerpos mono- o biespecíficos que incluyen un dominio de unión anti-CD40 y un dominio de unión frente a un segundo antígeno, por ejemplo, marcadores de superficie celular para células dendríticas tales como, MHC de clase I, MHC de Clase II, B7-2, CD18, CD29, CD31, CD43, CD44, CD45, CD54, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR y/o Dectina-1 y similares; aunque en algunos casos también con la ausencia de CD2, CD3, CD4, CD8, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD56, y/o CD57. Algunos ejemplos de marcadores de superficie celular para células presentadoras de antígeno incluyen, pero no se limitan a, MHC de clase I, MHC de clase II, CD45, B7-1, B7-2, receptor de IFN- $\gamma$  y receptor de IL-2, receptor de ICAM-1 y/o Fc $\gamma$ . Algunos ejemplos de marcadores de superficie celular para linfocitos T incluyen, pero no se limitan a, CD3, CD4, CD8, CD14, CD20, CD11b, CD16, CD45 y HLA-DR.

30 Algunos antígenos diana en superficies celulares para suministro incluyen los característicos de antígenos tumorales que por lo general se obtienen a partir de la superficie celular, citoplasma, núcleo, orgánulos y similares de células de tejido tumoral. Algunos ejemplos de dianas tumorales para la parte de anticuerpo de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, 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 de páncreas, tumores genitourinarios tales como cáncer de cuello uterino, útero, cáncer de ovario, cáncer vaginal, cáncer testicular, cáncer de próstata o cáncer de pene, tumores óseos, 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 Hodgkin, mieloma múltiple y leucemia.

40 Algunos ejemplos de antígenos que se pueden suministrar solos o en combinación con células inmunológicas para la presentación de antígenos usando la presente invención incluyen proteínas tumorales, por ejemplo, oncogenes mutados; proteínas virales asociadas con tumores; y mucinas y glicolípidos tumorales. Los antígenos pueden ser proteínas virales asociadas con tumores que podrían ser las de las clases de virus indicados anteriormente. Algunos antígenos pueden ser característicos de algunos tumores (siendo un subconjunto de proteínas normalmente no expresadas por una célula precursora tumoral), o pueden ser una proteína que normalmente se expresa en una célula precursora tumoral, pero que tiene una característica de mutación de un tumor. Otros antígenos incluyen variante o variantes mutantes de la proteína normal que tiene una actividad o distribución subcelular alteradas, por ejemplo, mutaciones de genes que dan lugar a antígenos tumorales.

50 Algunos ejemplos no limitantes específicos de antígenos tumorales para su uso en una vacuna de proteína de fusión anti-CD40 incluyen, por ejemplo, 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.), gangliósidos GM2 y GD2, ras, myc, tirosinasa, MART (antígeno de melanoma), Pmel 17 (gp100), secuencia de GnT-V intrón V (secuencia de N-acetilglucoamiltransferasa V intrón V), Ca psm de Próstata, PRAME (antígeno de melanoma),  $\beta$ -catenina, MUM-1-B (producto genético mutado ubicuo de melanoma), 1 de GAGE (antígeno de melanoma), MAGE, 2-10 de BAGE (antígeno de melanoma), c-ERB2 (Her2/neu), DAGE, 1-6 de EBNA (antígeno nuclear del Virus de Epstein-Barr), gp75, E6 y E7 del virus del papiloma humano (HPV), p53, proteína de resistencia pulmonar (LRP), Bcl-2, Ki-67, Ciclina B1, gp100, Survivina, y NYESO-1.

60 Además, la molécula inmunogénica puede ser un autoantígeno involucrado en el inicio y/o propagación de una enfermedad autoinmunitaria, la patología de la misma se debe en gran parte a la actividad de algunos anticuerpos específicos para una molécula expresada por el órgano, tejido, o células diana pertinente, por ejemplo, SLE o MG. En tales enfermedades, puede ser deseable dirigir una respuesta inmunológica mediada por anticuerpo en curso (es decir, una de tipo Th2) al autoantígeno relevante hacia una respuesta inmunitaria celular (es decir, una de tipo Th1). Como alternativa, puede ser deseable prevenir la aparición de una respuesta de una respuesta de Th2 al autoantígeno en un sujeto que no tiene, pero de que se sospecha que es susceptible a, la enfermedad



autoinmunitaria relevante induciendo de forma profiláctica una respuesta de Th1 al autoantígeno apropiado. Algunos autoantígenos de interés incluyen, pero no se limita: (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. Algunos ejemplos de otros antígenos diversos implicados en uno o más tipos de respuesta autoinmunitaria incluyen, por ejemplo, hormonas endógenas tales como hormona luteinizante, hormona estimulante folicular, testosterona, hormona de crecimiento, prolactina y otras hormonas.

En las composiciones y métodos de la invención se pueden usar algunos antígenos involucrados en enfermedades autoinmunitarias, a alergia y rechazo a injerto. Por ejemplo, en la presente invención se puede usar un antígeno implicado en una cualquiera o más de las siguientes enfermedades o trastornos autoinmunitarios: diabetes, diabetes mellitus, artritis (incluyendo artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis, artritis psoriática), esclerosis múltiple, miastenia gravis, lupus sistémico eritematoso, tiroiditis autoinmune, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica y dermatitis eczematosa), psoriasis, síndrome de Sjogren, incluyendo queratoconjuntivitis seca secundaria al Síndrome de Sjogren, alopecia areata, respuestas alérgicas de bidas a reacciones de picaduras de artrópodos, enfermedad de Crohn, úlcera aftosa, iritis, conjuntivitis, queratoconjuntivitis, colitis ulcerosa, asma, asma alérgica, lupus eritematoso cutáneo, esclerodermia, vaginitis, proctitis, erupciones por fármacos, reacciones de reversión de la lepra, eritema nodoso lproso, uveítis autoinmunitaria, encefalopatía hemorrágica necrotizante aguda, pérdida de audición neurosensorial progresiva bilateral idiopática, anemia aplásica, anemia de glóbulos rojos pura, trombocitopenia idiopática, policondritis, granulomatosis de Wegener, hepatitis activa crónica, síndrome de Stevens-Johnson, es príe idiopático, liquen plano, enfermedad de Crohn, oftalmopatía de Graves, sarcoidosis, cirrosis biliar primaria, uveítis posterior, y fibrosis pulmonar intersticial. Algunos ejemplos de antígenos implicados en la enfermedades autoinmunitarias incluyen ácido glutámico decarboxilasa 65 (GAD 65), ADN nativo, proteína básica de mielina, proteína proteolipídica de mielina, componentes del receptor de acetilcolina, tiroglobulina, y el receptor de la hormona estimulante de tiroides (TSH).

Algunos ejemplos de antígenos implicados en alergia incluyen antígenos de polen, tales como antígenos de polen de cedro japonés, antígenos de polen de ambrosía, antígenos de polen de césped inglés, antígenos obtenidos a partir de animales tales como antígenos de los ácaros del polvo y antígenos de felino, antígenos de histocompatibilidad, y penicilina y otros fármacos terapéuticos. Algunos ejemplos de antígenos implicados en el rechazo a injerto incluyen componentes antigénicos del injerto a trasplantar en el receptor del injerto, tales como corazón, pulmón, hígado, páncreas, riñón, y los componentes de injerto neuronal. El antígeno puede ser un ligando de péptido alterado útil en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria.

Los expertos en la materia observarán que la secuencia de cualquier molécula efectora de proteína puede alterar de una manera tal que no influye sustancialmente en las ventajas funcionales de la proteína efectora. Por ejemplo, por lo general se considera que glicina y alanina se pueden intercambiar al igual que el ácido aspártico y el ácido glutámico y la asparagina y la glutamina. Un experto en la materia reconocerá que muchas variaciones diferentes de secuencias efectoras modificarán efectores con aproximadamente la misma actividad que el efector nativo. La molécula efectora y el anticuerpo se pueden conjugar con medios químicos o con medios recombinantes como se ha descrito anteriormente. Algunas modificaciones químicas incluyen, por ejemplo, derivatización para la finalidad de unir la molécula efectora y el anticuerpo entre sí, ya sea directamente o a través de un compuesto de unión, con métodos que se conocen bien en la técnica de química de proteínas. Con los anticuerpos humanizados de la presente invención se pueden usar medios de unión tanto covalentes como no covalentes.

El procedimiento para unir una molécula efectora a un anticuerpo variará de acuerdo con la estructura química del resto a unir al anticuerpo. Por lo general, algunos polipéptidos contienen una diversidad de grupos funcionales; por ejemplo, grupos ácido carboxílico (COOH), amina libre ( $-NH_2$ ) o sulfhidrilo ( $-SH$ ), que están disponibles para reacción con un grupo funcional adecuado en un anticuerpo para dar como resultado la unión de la molécula efectora. Como alternativa, el anticuerpo se puede privatizar para exponerse o unirse a grupos funcionales reactivos adicionales, por ejemplo, mediante unión de cualquiera de una serie de moléculas conectoras tales como las disponibles en Pierce Chemical Company, Rockford Ill.

El conector es capaz de formar enlaces covalentes tanto con el anticuerpo como con molécula efectora. Los expertos en la materia conocen bien algunos conectores adecuados e incluyen, pero no se limitan a, conectores de carbono de cadena lineal o ramificada, conectores de carbono heterocíclicos, o conectores peptídicos. Cuando el anticuerpo y la molécula efectora son polipéptidos, los conectores se pueden unir a los aminoácidos constituyentes a través de sus grupos laterales (por ejemplo, a través de una unión con puente disulfuro a cisteína). Sin embargo, en una realización preferente, los conectores se unirán a los grupos amino y carboxilo del carbono alfa de los aminoácidos terminales.

En algunas circunstancias, es deseable liberar la molécula efectora del anticuerpo cuando el inmunoconjugado ha alcanzado su sitio diana. Por lo tanto, en estas circunstancias, algunos inmunoconjugados comprenderán uniones que se pueden escindir en la proximidad del sitio diana. La escisión del conector para liberar la molécula efectora del anticuerpo se puede provocar mediante condiciones enzimáticas a las que se somete el inmunoconjugado ya sea dentro de la célula diana o en la proximidad del sitio diana. Cuando el sitio diana es un tumor, se puede usar un conector que se pueda escindir en condiciones presentes en el sitio del tumor (por ejemplo,

cuando se expone a enzimas asociadas con tumor o pH ácido).

Algunas modificaciones químicas a modo de ejemplo de molécula efectora y el anticuerpo de la presente invención también incluyen derivatización con polietilenglicol (PEG) para prolongar el tiempo de permanencia en el sistema circulatorio y reducir la inmunogenicidad, de acuerdo con métodos bien conocidos (véase por ejemplo, Lisi, *et al.*, Applied Biochem. 4:19 (1982); Beauchamp, *et al.*, Anal Biochem. 131:25 (1982); y Goodson, *et al.*, Bio/Technology 8: 343 (1990)).

La presente invención contempla vacunas para su uso en realizaciones de inmunización tanto activa como pasiva. Algunas composiciones inmunogénicas, que se proponen como adecuadas para su uso como una vacuna, se pueden preparar de una manera más fácil directamente a partir de péptidos estimulantes de linfocitos T inmunogénicos preparados de una manera desvelada en el presente documento. El material de vacunación se dializa ampliamente para retirar moléculas de peso molecular pequeño no deseadas y/o liofilizar para una formulación más fácil en un vehículo deseado. En cierta realización de la presente invención, las composiciones y métodos de la presente invención se usan para fabricar una vacuna celular, por ejemplo, la parte de unión a anti-CD40 de suministro de antígeno del anticuerpo se usa para dirigir el antígeno o antígenos a una célula de presentación de antígeno, que a continuación "carga" el antígeno en proteínas de MHC para presentación. Por lo tanto, la vacuna celular es la célula de presentación de antígeno que se ha cargado usando las composiciones de la presente invención para generar células de presentación de antígeno cargadas con antígeno.

Cuando la vacuna es la propia proteína de unión anti-CD40, por ejemplo, un anticuerpo completo o fragmentos del mismo, entonces estos "principios activos" se pueden preparar en vacunas usando los métodos comprendidos en la técnica, por ejemplo, los documentos de Patente de Estados Unidos n.ºs U4.608.251; 4.601.903; 4.599.231; 4.599.230; y 4.578.770. Por lo general, tales vacunas se preparan como agentes inyectables, por ejemplo, como soluciones o suspensiones líquidas o formas sólidas adecuadas para volver a suspender en líquido antes de la inyección. La preparación también se puede emulsionar. El principio inmunogénico activo a menudo se mezcla con excipientes, que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el principio activo. Algunos excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol, o similares y combinaciones de los mismos. Además, si se desea, la vacuna puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes de humectación o emulsión, agentes de tamponamiento del pH, o adyuvantes, que aumentan la eficacia de las vacunas.

Las vacunas se administran de una manera compatible con la formulación de dosificación, y en una cantidad de modo que sea terapéuticamente eficaz e inmunogénica. La cantidad a administrar depende del sujeto a tratar, incluyendo, por ejemplo, la capacidad del sistema inmunitario del individuo para generar una respuesta inmunitaria. Algunas cantidades precisas de células o principio activo requeridas para su administración dependen del criterio del experto. Sin embargo, algunos intervalos de dosificación adecuados son del orden de unos pocos miles de células (hasta millones de células) para vacunas celulares. Para vacunas convencionales de epítipo o suministro de epítipo, entonces la vacuna puede tener varios cientos de microgramos de principio activo por vacunación. Algunos regímenes adecuados para administración inicial y dosis de refuerzo también son variables, pero se simbolizan con una administración inicial seguida de inoculaciones posteriores u otras administraciones.

El modo de aplicación puede variar ampliamente, sin embargo, con mayor probabilidad ciertas realizaciones en el presente documento se administrarán por vía intravenosa o en el sitio de un tumor o infección directamente. En cualquier caso, se puede aplicar cualquiera de los métodos convencionales para administración de una vacuna. La dosificación de la vacuna dependerá de la vía de administración y variará de acuerdo con el tamaño del hospedador.

En muchos casos, será deseable tener múltiples administraciones de la vacuna, por ejemplo, de cuatro a seis vacunaciones proporcionadas de forma semanal o cada dos semanas. Un régimen de vacunación normal a menudo se producirá en intervalos de dos a doce semanas o en intervalos de tres a seis semanas. Pueden ser deseables refuerzos periódicos a intervalos de 1-5 años, normalmente tres años, para mantener niveles protectores de la respuesta inmunitaria o después de una probabilidad de una remisión o nueva infección. El curso de la inmunización puede ir seguido de ensayos para, por ejemplo, activación de linfocitos T, secreción de citoquinas o incluso producción de anticuerpos, realizada lo más habitualmente *in vitro*. Estos ensayos de respuesta inmunitaria se conocen bien y se pueden encontrar en una gran diversidad de patentes y como se enseña en el presente documento. Una vacuna de la presente invención se puede proporcionar 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 determinada previamente de la composición terapéutica calculada para producir las respuestas deseadas en asociación con su administración, es decir, la ruta apropiada y el régimen de tratamiento. La cantidad para administrar, y la ruta y formulación en particular, están dentro de la experiencia de los expertos en las técnicas clínicas. El sujeto a tratar también se puede evaluar, en particular, el estado del sistema inmunitario del sujeto y la protección deseada. La administración de una dosis unitaria como una sola inyección no es necesaria pero puede incluir infusión continua durante un período de tiempo establecido. La dosis unitaria de la presente invención se puede describir de forma conveniente en términos de ADN/kg (o proteína/kg) de peso corporal, con 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 que se administran.

- De forma análoga, la cantidad de vacuna de antígeno anti-CD40 suministrada puede variar de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 8,0 mg/kg de peso corporal. Por lo tanto, en realizaciones en particular, 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 se pueden suministrar a un individuo *in vivo*. La dosificación de la vacuna a administrar dependen una gran medida del peso y la condición física del sujeto que se está tratando así como de la vía de administración y la frecuencia del tratamiento. Una composición farmacéutica que incluye un polinucleótido desnudo unido previamente a un vector de suministro liposomal o viral se puede administrar en cantidades que varían de 1 µg a 1 mg de polinucleótido con respecto a de 1 µg a 100 mg de proteína. Por lo tanto, algunas composiciones en particular pueden incluir entre aproximadamente 1 µg, 5 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg, 40 µg, 50 µg, 60 µg, 70 µg, 80 µg, 100 µg, 150 µg, 200 µg, 250 µg, 500 µg, 600 µg, 700 µg, 800 µg, 900 µg o 1.000 µg de polinucleótido o proteína que se une de forma independiente a 1 µg, 5 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg, 40 µg, 50 µg, 60 µg, 70 µg, 80 µg, 100 µg, 150 µg, 200 µg, 250 µg, 500 µg, 600 µg, 700 µg, 800 µg, 900 µg, 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.
- Algunos anticuerpos de la presente invención se pueden unir opcionalmente preforma covalente o no covalente a una etiqueta detectable. Algunas etiquetas detectables para un uso de este tipo incluyen cualquier composición detectable con métodos espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, eléctricos, ópticos o químicos. Algunas etiquetas útiles en la presente invención incluyen perlas magnéticas (por ejemplo, DYNABEADS), colorantes fluorescentes (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína, rojo Texas, rodamina, proteína fluorescente de color verde, y similares), radioetiquetas (por ejemplo, <sup>3</sup>H, <sup>125</sup>I, <sup>35</sup>S, <sup>14</sup>C, o <sup>32</sup>P), enzimas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina y otras usadas comúnmente en un ELISA), y etiquetas colorimétricas tales como oro coloidal o perlas de vidrio o plástico coloreadas (por ejemplo, poliestireno, polipropileno, látex, etc.).
- Los expertos con experiencia en la materia conocen bien algunos métodos para detectar tales etiquetas. Por lo tanto, por ejemplo, algunas radioetiquetas se pueden detectar usando película fotográfica o contadores de centelleo, algunos marcadores fluorescentes se pueden detectar usando un fotodetector para detectar iluminación emitida. Algunas etiquetas enzimáticas por lo general se detectan proporcionando la enzima con un sustrato y detectando el producto de reacción producido por la acción de la enzima en el sustrato, y algunas etiquetas colorimétricas se detectan simplemente visualizando la etiqueta coloreada.
- Las composiciones de anticuerpo y/o inmunoc conjugado de la presente invención son particularmente útiles para administración parenteral, tal como administración intravenosa o administración en una cavidad corporal. Las composiciones para administración normalmente comprenderán una solución del anticuerpo y/o inmunoc conjugado disuelto en un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente un vehículo acuoso. Se puede usar una diversidad de vehículos acuosos, por ejemplo, solución salina tamponada y similares. Estas soluciones son estériles y por lo general libres de material no deseado. Estas composiciones se pueden esterilizar con técnicas de esterilización bien conocidas, convencionales. Estas composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables si fuera necesario para aproximar las condiciones fisiológicas tales como ajuste del pH y agentes de tamponamiento, agentes para ajuste de la toxicidad y similares, por ejemplo, acetato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, lactato sódico y similares. La concentración de proteína de fusión en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionará principalmente basándose en volúmenes de fluido, viscosidad, peso corporal y similares de acuerdo con el modo de administración en particular seleccionado y las necesidades del paciente.
- Por lo tanto, una composición de inmunoc conjugado farmacéutico habitual de la presente invención para administración intravenosa sería de aproximadamente 0,1 a 10 mg por paciente al día. Se pueden usar dosificaciones de 0,1 hasta aproximadamente 100 mg por paciente al día. Algunos métodos reales para preparar composiciones que se pueden administrar serán conocidos o evidentes para los expertos en la materia y se describen con más detalle en publicaciones tales como REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCE, 19ª ED., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1995).
- Las composiciones de la presente invención se pueden administrar para tratamientos terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un paciente que padece una enfermedad, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente la enfermedad y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para conseguir esto se define como una "dosis terapéuticamente eficaz". Algunas cantidades eficaces para este uso dependerán de la gravedad de la enfermedad que el estado general de la salud del paciente. Una cantidad eficaz del compuesto es la que proporciona un alivio subjetivo de un síntoma(s) o una mejora que se puede identificar de forma objetiva tal como lo indica el médico u otro observador cualificado.
- Las administraciones individuales o múltiples de las composiciones se administran dependiendo de la dosificación y la frecuencia si fuera necesario y son toleradas por el paciente. En cualquier caso, la composición debería proporcionar una cantidad suficiente de las proteínas de la presente invención para tratar de forma eficaz al paciente. Preferentemente, la dosificación se administra una vez pero se puede aplicar de forma periódica hasta que se consigue un resultado terapéutico o hasta que los efectos secundarios garantizan la interrupción de la terapia. Por lo general, la dosis es suficiente para tratar mejorar síntomas o signos de enfermedad sin producir toxicidad inaceptable al paciente.

Algunas formulaciones parenterales de liberación controlada que las composiciones de inmunocombinado de la presente invención se pueden preparar como implantes, inyecciones oleosas, o como sistemas de partículas. Para una amplia visión de conjunto de sistemas de suministro de proteínas véase, Banga, A. J., THERAPEUTIC PEPTIDES AND PROTEINS: FORMULATION, PROCESSING, AND DELIVERY SYSTEMS, Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, Pa., (1995). Algunos sistemas de partículas incluyen microesferas, micropartículas, microcápsulas, nanocápsulas, nanoesferas, y nanopartículas. Algunas microcápsulas contienen la proteína terapéutica como un núcleo central. En las microesferas, el agente terapéutico se dispersa a través de la partícula. Las partículas, microesferas, y microcápsulas con un tamaño inferior a aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  por lo general se denominan nanopartículas, nanoesferas, y nanocápsulas, respectivamente. Algunos capilares tienen un diámetro de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  de modo que solamente las nanopartículas se administran por vía intravenosa. Algunas micropartículas por lo general tienen un diámetro de aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  y se administran por vía subcutánea o por vía intramuscular.

Se pueden usar polímeros para liberación controlada por ión de composiciones de inmunocombinado de la presente invención. En la técnica se conocen diversas matrices poliméricas degradables y no degradables para su uso en administración farmacológica controlada (Langer, R., Accounts Chem. Res. 26: 537-542 (1993)). Por ejemplo, el copolímero en bloque, poloxamer 407® existe como un líquido viscoso aunque móvil a bajas temperaturas pero forma un gel semisólido a temperatura corporal, la hidroxiapatita, que se ha usado como un microvehículo para liberación controlada de proteínas y/o liposomas, se puede usar para liberación controlada así como para dirección del fármaco del fármaco en forma de cápsulas lipídicas. Se conocen numerosos sistemas adicionales para administración controlada de proteínas terapéuticas. Véanse, por ejemplo, los documentos de Patente de Estados Unidos n.ºs 5.055.303, 5.188.837, 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 4.957.735 y 5.019.369, 5.055.303; 5.514.670; 5.413.797; 5.268.164; 5.004.697; 4.902.505; 5.506.206, 5.271.961; 5.254.342 y 5.534.496.

Entre los diversos usos de los anticuerpos de la divulgación se incluyen una diversidad de patologías causadas por células humanas específicas. Por ejemplo, para una versión humanizada del anticuerpo anti-CD40\_12E12.3F3 de ratón (n.º de Registro en la ATCC PTA-9854), anti-CD40\_12B4.2C10 (n.º de Depósito HS446, n.º de Registro en la ATCC \_), and anti-CD40\_11B6.1C3 (n.º de Depósito HS440, n.º de Registro en la ATCC \_), anticuerpos desvelados en el presente documento, una aplicación para anticuerpos es el tratamiento, puesta en contacto, formación de imágenes, activación o desactivación de células que expresan CD40.

En otra realización, la presente invención proporciona kits para el suministro de antígenos, por ejemplo, CD40 o un fragmento inmunorreactivo del mismo, conjugados o en forma de una proteína de fusión con uno o más epítopos de linfocitos T o linfocitos B. Una "muestra biológica", como se usa en el presente documento, es una muestra de tejido o fluido biológico que contiene el antígeno. Las muestras de este tipo incluyen, pero no se limitan a, tejido de biopsia, sangre, y células sanguíneas (por ejemplo, glóbulos blancos). Preferentemente, las células son linfocitos, por ejemplo, células dendríticas. Las muestras biológicas también incluyen secciones de tejidos, tales como secciones congeladas tomadas para fines histológicos. Una muestra biológica por lo general se obtiene de un organismo eucariota pluricelular, preferentemente un mamífero tal como rata, ratón, vaca, perro, cobaya, o conejo, y más preferentemente un primate, tal como un macaco, chimpancé, o ser humano. Más preferentemente, la muestra es de un ser humano. Los anticuerpos de la invención también se pueden usar *in vivo*, por ejemplo, como una herramienta de diagnóstico para formación de imágenes *in vivo*.

Algunos kits por lo general comprenderán una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un anticuerpo de la presente invención (o fragmento del mismo) con una o más partes de armazón o múltiples sitios de clonación en el extremo carboxi-terminal en el que se pueden insertar las secuencias de codificación para uno o más antígenos. En algunas realizaciones de la divulgación, el anticuerpo será un fragmento de Fv anti-CD40 humanizado, tal como un fragmento de scFv o dsFv. Además los kits por lo general incluirán materiales con instrucciones que desvelan métodos para uso de un anticuerpo de la presente invención (por ejemplo, para su carga en células dendríticas antes de inmunización con las células dendríticas, que pueden ser células dendríticas autólogas). Los kits también pueden incluir componentes adicionales para facilitar la aplicación en particular para la que se diseña el kit. Por lo tanto, por ejemplo, el kit además puede contener métodos para detectar la etiqueta (por ejemplo, sustratos enzimáticos para etiquetas enzimáticas, conjuntos de filtros para detectar etiquetas fluorescentes, etiquetas secundarias apropiadas tales como HRP anti-ratón de oveja, o similares). Los kits pueden incluir adicionalmente tampones u otros reactivos usados de forma rutinaria para la práctica de un método en particular. Los kits de este tipo y contenidos apropiados son bien conocidos por los expertos en la materia.

En otro conjunto de usos para la invención, los anticuerpos dirigidos por anticuerpos de la invención se pueden usar para eliminar células diana a partir de una población de células en cultivo. Por ejemplo, si una población específica de linfocitos T es preferente, los anticuerpos de la presente invención se pueden usar para enriquecer una población de linfocitos T que tenga el efecto o puesto de la respuesta inmune en curso. Por lo tanto, por ejemplo, las células cultivadas a partir de un paciente con un cáncer se pueden eliminar de células cancerosas proporcionando al paciente células dendríticas que se cargaron con antígeno usando los anticuerpos de la invención como un resto de dirección para los antígenos que desencadenarán una respuesta inmune frente al cáncer, virus u otro agente patógeno. De forma análoga, los anticuerpos se pueden usar para aumentar la población de linfocitos T reguladores o dirigir la respuesta inmune hacia o alejarla de una respuesta de linfocitos T citotóxicos o incluso dirigir una

respuesta de linfocitos B.

**anti-CD40\_12E12.3F3**

- 5 anti-CD40\_12E12.3F3\_H-V-hlgG4H-C - la región subrayada muestra la secuencia de aminoácidos de la región V de la cadena Pesada:

MNLGLSLIFLVLVKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYMYWVRQTPEKRLE  
WVAYINSGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSRLKSEDTAMYCARRGLPFHAMDYWG  
QGTSVTVSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWSNGALTSVHTFPAVLQ  
 SSGLYSLSSVTVPSSSLGTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCAPEFEGGPSVFLFPPK  
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ  
 DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA  
 VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLS  
 LGKAS (SEQ ID NO.: 1)

- 10 anti-CD40\_12E12.3F3\_K-V-hlgGK-C - la región subrayada muestra la secuencia de aminoácidos de la región V de la cadena Ligera

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPDGTVKLL  
IYYTSILHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIGNLEPEDIATYYCQQFNKLPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFI  
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKA  
 DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- (SEQ ID NO.: 2)

- 15 anti-CD40\_12B4.2C10

**Cadena Pesada de anti-CD40\_12B4.2C10:**

MEWSWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVLHWVKQKPGQGLE  
 WIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGYPAYSGYAMDYW  
 GQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVL  
 QKGEFV (SEQ ID No.: 3)

- 20 Cadena Ligera de anti-CD40\_12B4.2C10:

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLL  
 IYYT SRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCHHGNTLPWTFGGGKLEIKRADAAPT  
 V SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLT  
 KDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID No.: 4)

- 25 Cadena Ligera de anti-CD40\_12B4.2C10 - clon alternativo (17K6)

MDFQVQIFSLISASVIMSRGQIVLTQSPAILSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYRYQQKPGSSPKPWI  
 YGTSNLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHSYPLTFGAGTKLELKRADAAPT  
 V SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLT  
 KDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID No.: 5)

- 30 anti-CD40\_11B6.1C3  
**Cadena Pesada de anti-CD40\_11B6.1C3:**

MGWSWIFLFLLSGTAGVLSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSTGYMHVWVKQSHVKSLE  
 WIGRLNPNYNGATSYNQNFKDKASLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCAREDYVYWGQGTLLT  
 VSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQKGEFV  
 (SEQ ID No.: 6)

**Cadena Ligera de anti-CD40\_11B6.1C3:**

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQ  
SPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSDFALKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPWTFGGGKLEIKRAD  
AAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPYKDKINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSSMS  
TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID No.: 7)

- 5 [anti-CD40\_12E12.3F3\_H-V-hlgG4H-C] - la región subrayada muestra la secuencia de aminoácidos de la región V de la cadena Pesada:

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAGTGAA  
GCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAACC  
TCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCCGACACTCCAGAGAAGAGGCTGG  
AGTGGGTCGCATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCG  
ATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGGCTGAAGTCT  
GAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGGTTACCGTTCATGCTATGGACTATTGGG  
GTC AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGC  
GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC  
CCCGAACC GG TGACGGTGTGCGTGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG  
CTGTCTACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTG  
GGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA  
GTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGGGACCAT  
CAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTAC  
GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGG  
CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGT  
GGT CAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGT  
CTCCAACAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCG  
AGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCCT  
GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA  
GCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTAC  
AGCAGGCTAACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  
CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGCT  
GA (SEQ ID NO.: 8)

- 10 [anti-CD40\_12E12.3F3\_K-V-hlgGK-C] - la región subrayada muestra la secuencia de la región V de cadena Ligera

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCCTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATAT  
CCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTTAGGAGACAGAGTACCATCAGTTGC  
AGTGCAAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTTA  
AACTCCTGATCTATTACACATCAATTTTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGG  
GTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCA TCGGCAACCTGGAACCTGAAGATATTGCCACTTACTATT  
GTCAGCAGTTTAAATAAGCTTCCCTCCGACGTTCCGGTGGAGGGACCAAACCTCGAGATCAAAACGAAC  
TGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCT  
CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAA  
CGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTA  
CAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCCTG  
CGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA  
G (SEQ ID NO.: 9)

- 15 Cadena pesada de anti-CD40\_12B4.2C10\_H-V-hlgG4H-C

ATGGAATGGAGTTGGATATTTCTTTCTTCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCACTCTGAGGTCCA  
GCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTT CAGTGAAGATGTCTGCAAGGCT

TCTGGATACACATTCACTGACTATGTTTTGCACTGGGTGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTG  
AGTGGATTGGATATATTAATCCTTACAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAA  
GGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCT  
GAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGGCTATCCGGCCTACTCTGGGTATGCTATGGACT  
ACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTACCGTCTCCTCAGCCAAAACGAAGGGCCCATCCGTCTTCCC  
CCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCGCCTGACCAGCGCGTGCACACCT  
TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCT  
TCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC  
AGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC  
AAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGG  
GACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA  
GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGT  
GGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTA  
CCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC  
AAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAG  
CCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC  
AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT  
GGGACGCCGGAGAACAACACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC  
TCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCG  
TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAGC  
TAGCTGA (SEQ ID NO.: 10)

**Cadena Ligera de anti-CD40\_12B4.2C10\_K-V-hlgGK-C (variante 1)**

ATGGATTTTCAAGTGCAGATTTTCAGTTCTGCTAATCAGTGCCTCAGTCATAATGTCCAGGG  
GACAAATGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCCTGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCAT  
GACCTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGTACAGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTC  
ACCCAAACCCTGGATTTATGGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGC  
AGTGGATCTGGGACCTCTTATTCTCTACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTT  
ATTACTGCCAGCAATATCATAGTTACCCGCTCAGCTTCGGTGCTGGGACCAAGTCCGAGATCAA  
ACGAACTGTGGTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA  
ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGG  
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACA  
GCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCT  
ATGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAG  
AGTGTTAG (SEQ ID NO.: 11)

5

**Cadena Ligera de anti-CD40\_12B4.2C10\_K-V-hlgGK-C (Variante 2)**

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATAT  
CCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTACCATCAGTTGC  
AGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTT  
AAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTG  
GGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTT  
TTGCCATCATGGTAATACGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCCAAGCTCGAGATCAAACGA  
ACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGC  
CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGAT  
AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC  
TACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCC  
  
TGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT  
TAG (SEQ ID NO.: 12)

10

**Cadena pesada de anti-CD40\_11B6.1C3\_H-V-hlgG4H-C**

**ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTTCTCCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCTCTCTGAGGTCCA  
GCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCT  
TCTGGTTACTCATTCACTGGCTACTACATGCACTGGGTGAAGCAAAGCCATGTAAGAGCCTTG  
AGTGGATTGGACGTATTAATCCTTACAATGGTGTACTAGCTACAACCAGAATTTCAAGGACAA  
GGCCAGCTTGACTGTAGATAAGTCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCACAGCCTGACATCT  
GAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGAGGACTACGTCTACTGGGGCCAAGGCACCTC  
TCACAGTCTCCTCAGCCAAAACGAAGGGCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAG  
CACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTCCCCGAACCGGTGACG  
GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCT  
CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTA  
CACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATA  
TGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTGGAAGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTC  
CCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTG  
ACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATA  
ATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTGCAGCGTCTCA  
CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCC  
TCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGT  
ACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA  
AAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA  
ACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGT  
GGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA  
CAACCACTACACAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGCTGA (SEQ ID NO.: 14)**

**Cadena Ligera de anti-CD40\_11B6.1C3\_K-V-hlgGK-C**

**ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGTGCTGATGTTCTGGATTCTGCTTCCAGCAGTGATGTTGT  
GATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGAT  
CTAGTCAGAGCCTTGACACAGTAATGGAACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGG  
CCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTT  
AGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCCGACTCAAGATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATCTG  
GGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTCG  
AGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAA  
ATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAG  
TGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC  
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC  
AAAGTCTATGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA  
GGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO.:15)**

5

**Ejemplo 1: Anti-CD40 - vacuna de péptidos del VIH**

10 Se seleccionaron cinco secuencias con una longitud de 19 a 32 aminoácidos a partir de una multiplicidad de epítomos de linfocitos T citotóxicos (CTL) identificados en las proteínas HIV-1 Nef, Gag y Env en el contexto de diferentes moléculas de la clase I de MHC. Se ha informado que algunas respuestas de CTL se pueden inducir de forma eficaz mediante vacunas lipopeptídicas en ratones, en primates, y en seres humanos. Los cinco péptidos del VIH se modificaron a continuación en posición C-terminal mediante un grupo (Palm)-NH<sub>2</sub> y las cinco secuencias peptídicas del VIH se han descrito bien en la bibliografía científica [por ejemplo, Characterization of a multi-lipopeptides mixture used as an HIV-1 vaccine candidate (1999) Klingner *et al.*, Vaccine, Volumen 18, 259-267] y en una solicitud de patentes [Cytotoxic T lymphocyte-inducing lipopeptides and use as vaccines. Gras-Masse H. *et al.*, documento de Patente n.º EP0491628 (1992-06-24); documento US 5871746 (16-02-1999)].

20 Una vacuna para el VIH muy deseable debería estar formada por anticuerpo receptor de células anti-dendríticas recombinante fusionado con los péptidos del VIH mencionados anteriormente. La presente divulgación incluye composiciones y métodos para producir de forma eficaz proteínas y vacunas para el VIH.

Las secuencias que se muestran a continuación son las secuencias de aminoácidos de los cinco péptidos del VIH seleccionados y las posiciones de los aminoácidos dentro de cada proteína del VIH están entre paréntesis.

- 25 Nef (66-97) es: VGFPVTPQVPLRPMYKAAVDLSHFLKEKGG (SEQ ID NO: 16)
- Nef (116-145) es: HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 17)
- Gag p17 (17-35) es: EKIRLRPGGKKKYKLVHIV (SEQ ID NO: 18)
- Gag p17-p24 (253-284) es: NPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILD (SEQ ID NO: 19)



Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIYQYMDL (SEQ ID NO: 20).

La presente divulgación incluye composiciones y métodos para ensamblar construcciones que codifican péptidos del VIH y secuencias conectoras Flexibles. Los vectores de expresión de cadena Pesada por lo general tienen un sitio Nhe I [g|ctagc] adjunto al codón del resto C-terminal de la cadena Pesada, o [para vectores flex- v1] al codón C-terminal de la secuencia flex-v1. Las secuencias conectoras flexibles o secuencias de péptidos del VIH tienen un sitio Spe I [a|ctagt] que precede al conector flexible N-terminal o al codón del péptido del VIH, un sitio Nhe I adjunto al conector flexible C-terminal o codón del péptido del VIH, seguido de un codón de parada de TGA, seguido de un sitio Eco RI, seguido de un sitio Not I. Tales fragmentos de conector flexible o péptido del VIH Spe I - Not I se insertan en el vector de la cadena Pesada preparará con la digestión de Nhe I - Not I. Nhe I y Spe I son sitios compatibles, pero cuando se ligan [g|ctagc] ya nunca más en su sitio Nhe I o Spe I. Por lo tanto, algunos fragmentos adicionales de conector flexible Spe I - Not I o de péptido del VIH se pueden insertar en el nuevo intervalo de Nhe I - Not I distal al conector flexible o péptido del VIH inicial. De este modo, las cadenas del péptido del VIH y/o regiones codificantes de l conector flexible se pueden adjuntar a la región que codifica la cadena Pesada del vector de expresión.

La Fig. 1 muestra anticuerpos recombinantes de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversos péptidos del VIH (calles 1 a 5) secretados a partir de células 293F transfectadas, analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie. La Fig. 2 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversos péptidos de VIH (Lanes 1 y 2) secretados a partir de células 293F transfectadas, a continuación analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie. La Fig. 3 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversas cadenas de péptidos de VIH (Calles 1 a 5) secretados a partir de células 293F transfectadas, a continuación analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie. La Fig. 4 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversas cadenas de péptidos de VIH (Calles 1 a 6) secretados a partir de células 293F transfectadas, a continuación analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con Azul Brillante de Coomassie.

#### Ejemplo 2. Vacuna de péptidos del VIH – biología de dirección de antígeno *in vitro*

Ensayos de vacuna de péptidos del VIH anti-CD40.LIPO5 en pacientes con VIH *in vitro*. Para estudiar la capacidad del anticuerpo recombinante de fusión del péptido del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 (rAb de  $\alpha$ CD40.LIPO5) para mediar la presentación del antígeno, el rAb de fusión se añadió a células sanguíneas de individuos infectados por VIH y se midió la producción de citoquinas a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC).

La Fig. 5 describe el protocolo usado *in vitro* para someter a ensayo la potencia del anticuerpo recombinante de fusión del péptido del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 (rAb de  $\alpha$ CD40.LIPO5) para provocar la expansión de linfocitos T específicos de antígeno en el contexto de un cultivo de PBMC. En resumen, las PBMC ( $2 \times 10^6$  células/ml) de aféresis de pacientes con VIH se incuban con un intervalo de dosis de vacuna de Péptido del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5. En el día 2, se añaden 100 U/ml de IL-2 al cultivo y a continuación, el medio se repone cada 2 días con 100 U/ml de IL-2. En el día 10, las células expandidas se estimulan durante 48 h con los péptidos largos individuales correspondiendo a las 5 secuencias de péptidos del VIH incorporadas en el rAb de fusión de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5. A continuación, los sobrenadantes de cultivo se cosechan y se evalúan para producción de citoquinas (con los linfocitos T con especificidades de receptor de linfocitos T [TCR] para secuencias peptídicas) usando ensayo de perlas Multiplex (Luminex). La producción de citoquinas específicas de antígeno detectadas en un ensayo de este tipo, si dependiera de la presencia de la vacuna de Péptido del VIH anti-CD40.LIPO5, refleja la absorción de vacuna por células de presentación de antígeno [APC] en el cultivo, y procesamiento [degradación proteolítica] y presentación de péptidos en MHC. Los complejos de antígeno-MHC son reconocidos por los linfocitos T con TCR que reconocen solamente el complejo de antígeno del VIH-MHC en particular. En un paciente con VIH, es probable que las células de este tipo sean linfocitos T de memoria que se expanden en el paciente como respuesta a la infección por el VIH.

Los epítomos de las 5 regiones de péptidos del VIH de la vacuna se pueden presentar por las APC. El esquema en la Fig. 5 se usó para someter a ensayo la expansión *in vitro* de linfocitos T específicos de péptido del VIH como respuesta a vacuna peptídica anti-CD40.LIPO5. Los resultados de 7 individuos se muestran en la Fig. 6 e indican que el rAb de fusión de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provocaba respuestas del IFN $\gamma$  específicas de péptidos del VIH en todos los pacientes estudiados. Por lo tanto, el rAb de fusión de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 permite que las DC cruzadas presenten al menos 1 o 2 péptidos diferentes con respecto a los 5 péptidos dentro de la vacuna para los linfocitos T de cada individuo. Sin embargo, el conjunto de péptidos del VIH que estimulaba la producción de IFN $\gamma$  era diferente para cada paciente - lo que más probablemente refleja diferentes combinaciones de linfocitos T de memoria a la especificidad del VIH.

La Fig. 6A-C muestra la producción de IFN $\gamma$  específica de péptido del VIH en las PBMC de pacientes con VIH incubados con diversas concentraciones de vacuna de cadena peptídica anti-CD40.LIPO5. C es el grupo de control, que no recibió vacuna, y define la respuesta del valor inicial del cultivo a cada péptido.

La Fig. 7 es un resumen de respuestas de vacuna peptídica  $\alpha$ CD40.LIPO5 frente a las 5 regiones peptídicas de 8 pacientes con VIH. Los datos se basan en la producción de IFN $\gamma$  específica de péptido. La Fig. 7 muestra las respuestas específicas de antígeno observadas en 8 pacientes con VIH. Los datos demuestran que todas las regiones peptídicas del VIH en la vacuna tienen la capacidad de ser procesadas y presentadas a linfocitos T - suponiendo la situación probable que las respuestas a estos péptidos solamente se observarán si están presentes las células portadoras de TCR apropiadas. Por lo tanto, cada paciente tiene un espectro característico de células de este tipo.

La vacuna peptídica  $\alpha$ CD40.LIPO5 puede provocar la proliferación de linfocitos T específicos de antígeno capaces de secretar un amplio espectro de citoquinas.

La Fig. 8A-C muestra que vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provoca expansión de linfocitos T específicos de péptidos del VIH capaces de secretar múltiples citoquinas - una característica deseable en una vacuna. En la Fig. 8A-C, la vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provoca respuestas específicas de péptidos gag253, nef66, nef116 y pol325 caracterizadas por la producción de múltiples citoquinas. Se trata del paciente A5.

Vacunación con péptido del VIH anti-CD40.LIPO5 HIV de las DC *ex vivo*.

La Fig. 9 muestra el protocolo para someter a ensayo una vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 para su capacidad para dirigir la expansión de linfocitos T específicos de antígeno dando como resultado una absorción dirigida por las DC y presentación de epítopos peptídicos en su complejo MHC de superficie. En resumen, los monocitos de paciente con VIH se diferencian en las DC mediante cultivo durante 2 días con IFN $\alpha$  y GM-CSF. A continuación, se añaden diferentes dosis de vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 o una mezcla de los 5 péptidos durante 18 h. Los linfocitos T autólogos se añadieron al cocultivo (a una proporción de 1:20) en el día 3. En el día 5, se añaden 100 U/ml de IL-2 al cultivo y a continuación, el medio se repone cada 2 días con 100 U/ml de IL-2. En el día 10, las células expandidas se vuelven a estimular durante 48 h con los vestidos largos individuales correspondiendo a las 5 secuencias de péptidos del VIH incorporadas en el rAb de fusión de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5. A continuación, los sobrenadantes de cultivo se cosechan y se evalúan para la producción de citoquinas usando Luminex.

La Fig. 10A-B muestra la secreción de citoquinas como respuesta a péptidos del VIH a partir de cocultivos de células DC-linfocitos T tratados con diversas dosis de vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5. Se trata del paciente A10. Los resultados en el paciente A10 mostrados en la Fig. 10A-B demuestran la expansión de linfocitos T específicos de antígeno que corresponden a epítopos dentro de las regiones de péptidos del VIH gag17, gag253, y pol325. En la mayoría de los casos, esto está de acuerdo con respuestas entre vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 y vacuna no LIPO5 [mezcla de 5 péptidos del VIH no lipidados consecuencias corresponden a las de la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5]. Por lo tanto, la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 funciona bien en este entorno *in vitro* cuando las DC cultivadas se procesan de forma eficaz y presentan los antígenos del VIH a linfocitos T. Esto es un ejemplo de uso de la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 para vacunación *ex vivo*, con lo que las 'DC vacunadas' se deberían criopreservar para futura reinyección en el mismo paciente.

Vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 – posible efecto inmunitario de las regiones conectoras flexibles. Es posible que en las secuencias conectoras flexibles que intercalan las secuencias de péptidos del VIH dentro de la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 por sí mismas contengan epítopos de linfocitos T. La Fig. 11A-B muestra que el paciente A4 no parece que tenga una combinación significativa de linfocitos T de memoria con especificidades con respecto a las cinco secuencias conectoras flexibles dentro de la vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5. En la Fig. 11A-B, las PBMC del paciente A4 tratado con la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 provocan la expansión de linfocitos T específicos de antígeno con especificidad hacia la región gag253, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles. Se usó el protocolo de escrito en la Fig. 9, con los péptidos largos del conector flexible correspondientes en secuencia a las zonas en letra negrita, los péptidos del VIH están en - letra negrita-cursiva, mostrado en la secuencia que sigue a continuación.

La secuencia de cadena pesada de la vacuna peptídica del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 muestra las regiones conectoras flexibles en letra negrita, las secuencias de unión subrayadas y regiones del péptido del VIH sombreadas en letra negrita y cursiva.

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTTVSSAKTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKASQTPTNTISVTPTNSTPTNNSNPKPNPASEKIRLRPGGKKKYKLLKHIVASSSVPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSPASNPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILDASPTSTPADSSTITPTATPTATPTIKGASHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLASTVTPATATPSAIVTTITPTATTKPASVGFVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGLASTNGSITVAATAPTPTVNATPSAAASAIQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDDLYAS. (SEQ ID NO.:21).

5 En la Fig. 12A, las PBMC del paciente A3 tratado con la vacuna de péptidos del VIH αCD40.LIPO5 provocan la expansión de linfocitos T específicos de antígeno con especificidades hacia las regiones gag253, nef66, y nef116, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles. Se usó el protocolo descrito en la Fig. 1 se usó, con los péptidos largos del conector flexible correspondientes en secuencia a las zonas en letra negrita mostrados en la Fig. 8.

10 Las Fig. 12B-1 y 12B-2 muestran respuestas de linfocitos T específicas de antígeno de VIH provocadas a partir de las PBMC del paciente A17 con VIH incubadas con 30 nM de tres vacunas diferentes de dirección de DC del péptido HIV5. Las células se cultivaron durante 10 días con IL-2 y a continuación se estimularon con péptidos largos individuales correspondientes a las 5 secuencias de péptidos del VIH incluidas dentro de las vacunas de dirección de DC. Después de 1 h, se añadió brefeldina A y la incubación continuó durante un periodo adicional de 5 horas antes de tinción para análisis de FACS. Las representaciones de FACS muestran tinción de IFNγ y CD8 en linfocitos T CD3<sup>+</sup>. Los círculos indican expansión provocada por vacuna significativa de células IFNγ<sup>+</sup> en comparación con células de las PBMC cultivadas sin vacuna. Las células CD8<sup>+</sup> son linfocitos T CD4<sup>+</sup>. Los datos muestran que esa vacuna anti-CD40.HIV5pep provocaba una expansión fuerte de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicos de nef66 (N66) que no se observa con los otros vehículos de dirección de DC.

20 Se trata de datos basados en la cadena de péptidos del VIH LIPO5. Por ejemplo, la cadena Pesada anti-CD40 es anti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-Pep-gag17-f1-gag253-f2-nef116-f3-nef66-f4-pol 158] con la secuencia:

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPDVTKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGTSTVSSAKTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKASQTPTNTISVTPTNSTPTNNSNPKPNPASEKIRLRPGGKKKYKLLKHIVASSSVPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSPASNPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILDASPTSTPADSSTITPTATPTATPTIKGASHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLASTVTPATATPSAIVTTITPTATTKPASVGFVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGLASTNGSITVAATAPTPTVNATPSAAASAIQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDDLYAS (SEQ ID NO.: 22).

25 La Fig. 12C-1 y 12C-2 es un estudio similar al que se muestra en la Fig. 12B, excepto en que las PBMC son de un paciente con VIH diferente (A2). Los datos muestran respuestas de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> específicos de antígeno provocadas por anti-CD40.HIV5pep pero no por las otras vacunas de dirección de DC, o por una mezcla de los

propios péptidos.

La Fig. 12D muestra que, basándose en el análisis de 15 respuestas de péptidos del VIH diferentes [5 regiones de péptidos de las que se toman muestras en 3 pacientes], la vacuna anti-CD40.HIV5pep es claramente superior a la mezcla de anti-DCIR.HIV5pep, anti-LOX-1.HIV5pep y no LIPO5 para provocar un amplio intervalo de respuestas de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> y CD4<sup>+</sup> específicas de Péptido del VIH.

La inmunogenicidad de las secuencias conectoras flexibles es de preocupación para el diseño de la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5. Los conjuntos de datos limitados mostrados anteriormente, ensayo de recuerdo de linfocitos T con especificidades para epítomos dentro de las secuencias conectoras flexibles, sugiere que el repertorio humano frente a estas secuencias es variable. Además, la capacidad de estas secuencias para prepara respuestas *de novo* ésta sin someter al ensayo. Algunas respuestas hacia la vacuna de péptidos del VIH  $\alpha$ CD40.LIPO5 en monos se pueden someter a ensayo usando la presente divulgación. Si era necesario, ciertos epítomos menos deseables dentro de estas regiones se pueden identificar con una combinación de métodos informáticos predictivos y barridos de estimulación de péptidos, y a continuación se pueden eliminar mediante introducción de cambios mutacionales que anulan la interacción de TCR.

Un anticuerpo humanizado de la divulgación incluye la región variable de cadena pesada ( $V_H$ ) y una región variable de cadena ligera ( $V_L$ ), en el que las regiones marco conservadas de las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera son de un anticuerpo humano donante, y en el que las regiones determinantes de la complementariedad de cadena ligera (CDR) tienen una identidad de al menos un 80 %, 90 %, 95 % o superior con la CDR1<sub>L</sub> que tiene la secuencia de aminoácidos SASQGISNYLN (SEQ ID NO: 41), la región CDR2<sub>L</sub> que tiene la secuencia de aminoácidos YTSILHS (SEQ ID NO: 23) y la región CDR3<sub>L</sub> que tiene la secuencia de aminoácidos QQFNKLPPT (SEQ ID NO: 23); y en el que las regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada comprenden una identidad de al menos un 80 %, 90 %, 95 % o superior con respecto a la CDR1<sub>H</sub>, CDR2<sub>H</sub> y CDR3<sub>H</sub>, teniendo la región CDR1<sub>H</sub> la secuencia de aminoácidos GFTFSDYYMY (SEQ ID NO: 24), teniendo la región CDR2<sub>H</sub> la secuencia de aminoácidos YINSGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 25), y teniendo la región CDR3<sub>H</sub> la secuencia de aminoácidos RGLPFHAMDY (SEQ ID NO: 26). Por ejemplo, un anticuerpo humanizado puede comprender un armazón de VL que tenga una identidad de al menos un 95 % con el armazón de las SEQ ID NOS.: 2, 4, 5 o 7 y un armazón de VH que tenga una identidad de al menos un 95 % con el armazón de la SEQ ID NO: 1, 3 o 6. En otro aspecto, las secuencias de CDR donantes son de anti-CD40\_11B6.1C3 o combinaciones de sus cadenas pesadas o ligeras, y/o sus regiones variables y además, en las que el anticuerpo o fragmento del mismo se une de forma específica a CD40.

**Ejemplo 3.** Identificación sistemática de antígeno específico de próstata (PSA), Ciclina D1, MART-1, nucleoproteína del virus de la gripe (NP) y subunidad HA1 de hemaglutinina del virus de la gripe (H1N1, PR8) y péptido.

Internalización de mAb anti-CD40.  $1 \times 10^6$  DC de IL-4 se incubaron durante 1 h en hielo con 3 mg/ml de gamma globulina humana en PBS que contenía BSA al 3 % para bloquear la unión no específica. Las células se pulsaron durante 30 minutos en hielo con mAb anti-CD40 etiquetado con Alexa 568 (todo a 20 ng/ml de concentración final en bloque no específico). A continuación, las células se lavaron y se permitió la internalización de anticuerpos unidos a superficie durante diferentes periodos de tiempo, entre 0 y 90 minutos, a 37 °C. Después de la internalización, las células se lavaron dos veces con PBS enfriado con hielo que contenía BSA al 1 % y azida sódica al 0,05 % (PBA) y se fijaron en metanol al 1 % enfriado con hielo - sin formaldehído (MFF) en PBS durante una noche a 4 °C. Las células se permeabilizaron en PBS al 3 % BSA que contenía saponina al 0,5 % (PBAS) durante 20 minutos a 4 °C, y se transfirieron a una placa de microtitulación de polipropileno de fondo redondo de 96 pocillos. Después de lavar dos veces con PBAS enfriado con hielo, las células se incubaron durante 1 h en hielo con 3 mg/ml de gamma globulina humana en PBAS. BODIPY-faloaloidina diluido en PBAS y se incubó con células durante 1 hora en hielo. Las células se tiñeron adicionalmente con TOPRO-II, como una contratiñencia nuclear. Se formaron imágenes de los portaobjetos en un microscopio confocal Leica SP1. Células. Los anticuerpos monoclonales para tinción de superficie celular se adquirieron en BD Biosciences (CA). Los monocitos ( $1 \times 10^6$ /ml) de donantes sanos se cultivaron en medio Cellgenics (Francia) que contenía GM-CSF (100 ng/ml) e IL-4 (50 ng/ml) r GM-CSF (100 ng/ml) e IFN $\alpha$  (500 Unidades/ml) (R&D, CA). Para las IFNDC, las células se alimentaron en el día 1 con IFN $\alpha$  y GM-CSF. Para las DC de IL-4, las mismas cantidades de citoquinas se suplementan en el medio en el día uno y en el día tres. Las PBMC se aislaron de capas leucocitarias usando gradientes de Percoll™ (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) mediante centrifugación en gradiente de densidad. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> totales se purificaron usando kits de StemCell (CA).

Péptidos. 15-mers (solapamiento de 11 aminoácidos) para antígeno específico de próstata (PSA), Ciclina D1, MART-1, nucleoproteína del virus de la gripe (NP) y subunidad HA1 de hemaglutinina del virus de la gripe (H1N1, PR8), se sintetizaron (Mimotopes).

Expresiones de cocultivo y citoquinas de las DC y linfocitos T.  $5 \times 10^3$  DC cargadas con proteínas de fusión recombinantes (anti-CD40-HA1, Ig-HA1 de Control, anti-CD40-PSA, anti-CD40-Ciclina D1, anti-CD40-MART-1, anti-MARCO-MART-1, e Ig-MART-1 de control) se cocultivaron con  $2 \times 10^5$  linfocitos T CD4<sup>+</sup> etiquetados con CFSE durante 8 días. La proliferación se sometió ensayo midiendo la dilución de CFSE después de tinción de células con

anticuerpo anti-CD4 etiquetado con APC.

Para medir la expresión de IFN $\gamma$  intracelular, los linfocitos T CD4<sup>+</sup> se volvieron a estimular con 1-5  $\mu$ M de los péptidos indicados durante 5 h en presencia de Brefeldina A. En experimentos separados, los linfocitos T CD4<sup>+</sup> se volvieron a estimular con los péptidos indicados durante 36 h, y a continuación las citoquinas secretadas por los linfocitos T CD4<sup>+</sup> se midieron con el instrumento Luminex. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> se cocultivaron con las DC durante 10 días en presencia de 20 unidades/ml de IL-2 y 20 unidades/ml de IL-7. En el día 10 del cultivo, los linfocitos T CD8<sup>+</sup> se tiñeron con anti-CD8 y los tetrámeros indicados.

Ensayo de CTL. En el día 10 del cultivo, se realizó un ensayo de liberación de <sup>51</sup>Cr de 5 h. Las células T2 se pulsaron en primer lugar con <sup>51</sup>Cr y a continuación se etiquetaron con 10  $\mu$ M de epítipo HLA-A2 de MART-1 o 1 nM de epítipo de M1 del virus de la gripe. Las células T2 sin péptido se usaron como control. La media de muestras por triplicado se calculó, y el porcentaje de lisis específica se determinó usando la siguiente fórmula: porcentaje de lisis específica = 100 x (liberación de <sup>51</sup>Cr experimental - liberación de <sup>51</sup>Cr de control)/(liberación de <sup>51</sup>Cr máxima - liberación de <sup>51</sup>Cr de control). La liberación máxima se refiere a recuentos de dianas en Triton X-100 al 2,5 %.

Preparación de mAb específicos para CD40 humano. Se produjeron proteínas de fusión de ectodominio.hlgG receptor (IgG1Fc humana) y AP (fosfatasa alcalina de placenta humana) para inmunización de ratones e identificación sistemática de los mAb, respectivamente. Un vector de mamífero para proteínas de fusión de IgFc humanas se modificó por ingeniería como se describe en [J. Immunol. 163: 1973-1983 (1999)]. El vector de expresión de mamífero para proteínas de ectodominio.AP receptor se generó usando PCR para amplificar ADNc para los restos 133-1581 de AP (gb|BC0096471) a la vez que se añadía un sitio Xho I en fase proximal y un resto de His 6 C-terminal distal seguido de un codón de parada de TGA y sitio de Not I. Este fragmento de Xho I - Not I reemplazaba la secuencia de codificación de Fc de IgG humana en el vector de ectodominio.IgG mencionado anteriormente. Las proteínas de fusión se produjeron usando el Sistema de Expresión FreeStyle™ 293 (Invitrogen, CA) de acuerdo con el protocolo del fabricante (1 mg de ADN de plásmido total con 1,3 ml de reactivo 293Fectin/l de transfección). El ectodominio.hlgG receptor se purificó con 1 ml de proteína A HiTrap mediante cromatografía por afinidad (GE Healthcare, CA) eluyendo con glicina 0,1 M, pH 2,7. Las fracciones se neutralizaron con Tris 2 M, y a continuación se dializaron frente a PBS.

Los mAb de ratón se generaron mediante tecnología convencional. En resumen, los ratones BALB/c de seis semanas de edad se inmunizaron i.p. con 20  $\mu$ g de proteína de fusión de ectodominio.hlgGFc receptor con adyuvante Ribi, a continuación se reforzaron con 20  $\mu$ g de antígeno diez días y quince días más tarde. Después de tres meses, los ratones se reforzaron de nuevo tres días antes de retirar los bazos. De tres a cuatro días después de un refuerzo final, el drenaje de los ganglios linfáticos (LN) se cosechó. Los linfocitos B del bazo o las células LN se fusionaron con células SP2/O-Ag 14 (ATCC). Los sobrenadantes del hibridoma se identificaron sistemáticamente para analizar los mAb específicos para la proteína de fusión del ectodominio receptor en comparación con el asociado de fusión solo, o al ectodominio receptor fusionado con fosfatasa alcalina [J. Immunol. 163: 1973-1983 (1999)]. Los pozos positivos se identificaron sistemáticamente a continuación en FACS usando células 293F transfectadas de forma transitoria con plásmidos de expresión que codificaban los ADNc de receptor de longitud completa. Los hibridomas seleccionados se clonaron con células individuales y se expandieron en matraces CELLLine (Integra, CA). Los sobrenadantes del hibridoma se mezclaron con un volumen igual de glicina 1,5 M, NaCl 3 M, 1 x PBS, pH 7,8 (tampón de unión) y se mueven con resina MabSelect (GE Healthcare, CA) (800 ml/5 ml de sobrenadante). La resina se lavó con tampón de unión y se eluyó con glicina 0,1 M, pH 2,7. Después de neutralizar con Tris 2 M, los mAb se dializaron frente a PBS.

Expresión y purificación de los mAb recombinantes. El ARN total se preparó a partir de células de hibridoma usando el kit RNeasy (Qiagen, CA) y se usó para síntesis de ADNc y PCR (kit SMART RACE, BD Biosciences) usando los cebadores en la posición 5' y cebadores en la posición 3' específicos de genes suministrados (mlgGK, 5'ggatggtgggaagatggatacagttggtgcagcatc3' (SEQ ID NO: 48); mlgG2a, 5'ccaggcatcctagagtcaccgaggagccagt3') (SEQ ID NO: 49). A continuación, los productos de PCR se clonaron (kit pCR2.1 TA, Invitrogen) y se caracterizaron mediante secuenciación de ADN (MC Lab, CA). Usando las secuencias obtenidas para los ADNc de región variable (V) de cadena pesada (H) y de cadena ligera (L) de ratón, los cebadores específicos se usaron para amplificar por PCR el péptido señal y las regiones V a la vez que se incorporaban sitios de restricción de franqueo para clonación en vectores de expresión que codifican regiones IgGK o IgG4H humanas cadena abajo. El vector para la expresión del mVc-hlgK quimérico se construyó mediante amplificación de los restos 401-731 (gi|631019371) flanqueados por sitios Xho I y Not I e insertando esto en el intervalo de Xho I - Not I de pIRES2-DsRed2 (BD Biosciences). La PCR se usó para amplificar la región V $\kappa$  del mAb a partir del codón iniciador, adjuntando un sitio Nhe I o Spe I y a continuación CACC, a la región de codificación (por ejemplo, el resto 126 de gi|76779294|), adjuntando un sitio Xho I distal. El fragmento de PCR se clonó a continuación en el intervalo de Nhe I - Not I del vector mencionado anteriormente. La secuencia de IgGK humana de control corresponde a los restos 26-85 de gi|49257887| y los restos 67-709 de gi|21669402|. El vector de IgG4H humano de control corresponde a los restos 12-1473 de gi|19684072| con instituciones de S229P y L236E, que estabilizan un enlace disulfuro y anulan la interacción de FcR residual [J. Immunol. 164: 1925-1933 (2000)], insertada entre los sitios Bgl II y Not I de pIRES2-DsRed2 a la vez que se añade la secuencia 5'gctagctgattaattaa 3' en lugar del codón de parada. La PCR se usó para amplificar la región VH del mAb a partir del codón iniciador, adjuntando a continuación CACC un sitio Bgl II, a la región que codifica el resto 473

de gij19684072]. El fragmento de PCR se clonó a continuación en el intervalo de Bgl II - Apa I del vector mencionado anteriormente.

5 Expresión y purificación de proteína de fusión de HA1 de la Gripe. La secuencia de codificación del antígeno HA1 de la Gripe es una proteína CipA [*Clostridium. thermocellum*] gij479126]μ de los restos 147-160 que preceden a la hemaglutinina [virus de la Gripe A (A/Puerto Rico/8/34(H1N1))] de gij126599271] restos 18-331 con un cambio de P321L y con 6 restos de His C-terminal que se insertan entre los sitios Nhe I y Not I del vector de la cadena Pesada sites para codificar anticuerpo recombinante-proteína s de fusión de HA1 (rAb.HA1). De forma análoga, el anticuerpo recombinante-proteínas de fusión de PSA (rAb.PSA) se codificaron por inserción de los restos 101-832 de antígeno específico de pr óstata de gij34784812] con l a s ecuencia pr oximal GCTAGCGATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACACTT CTAGCGC (SEQ ID NO: 27) (sitio Nhe I y espaciador CipA) y un sitio Not I distal en el mismo vector de la cadena Pesada. Las proteínas de anticuerpo r ecombinante s e expresaron y s e purificaron como s e ha d e scrito a nteriormente para proteínas de fusión de hFc. En algunos casos, la región codificante del antígeno rAb y la región codificante de la cadena L correspondiente s e t ransfirieron p ara separar vectores cethS-puro U COE (Millipore, C A). El us o d e vectores UCOE en combinación con una línea celular en suspensión sin suero adaptada previamente permitió una producción rápida de grandes cantidades de proteína [Cytotechnology 38, 43-46 (2002)]. Las células CHO-S se cultivaron en CD-CHO con GlutaMAX suplementos de medio HT (Invitrogen) se sembraron a  $5 \times 10^5$  ml 24 h antes de su transfección en matraces Ehrlenmyer de Corning de 500 ml y se incubaron en CO<sub>2</sub> al 8 % a 125 rpm. En el día de la transfección,  $1,2 \times 10^7$  células con viabilidad de al menos un 95 % se añadieron hasta un volumen final de 30 ml en un matraz de 125 ml en CD-CHO con GlutaMAX. Se añadieron 48 ml de reactivo FreeStyle Max (Invitrogen) en 0,6 ml de OptiPRO SFM (Invitrogen) se mezcla con cuidado hasta 24 mg de vector de cadena ligera linealizado con Sce I y 24 mg de vector de cadena pesada linealizado con Sce I se mezclaron y se esterizaron en 0,6 ml de OptiPRO SFM. Después de 20 min, el complejo de ADN-lípido se añadió lentamente al matraz de cultivo de CHO-S de 125 ml con centrifugación. Las células se incubaron 24 h antes de añadir 30 ml de a una solución de medio combinado de CD-CHO con CHO-M5 (Sigma, componente C0363 del Kit 1 de CHO) que contenía 5 mg/ml de puromicina (A.G. Scientific, CA), 2 x GlutaMAX y 0,25 x Pen/Estrep (Invitrogen). En el día 2, se añadieron otros 5 mg/ml de puromicina directamente al cultivo y se permitió que la selección evolucionara ~10-14 días a la vez que seguía la viabilidad celular de seis días después de la transfección. El recuento de células viables disminuyó cuando la densidad viable es  $\sim 2-3 \times 10^6$ /ml, las células se transfirieron a medio de selección recién preparado (CD CHO-S + CHO M5 con 2X GlutaMAX, 0,25 x Pen/Estrep, 10 mg/ml de Puromicina) a  $1 \times 10^6$ /ml. Se preparaban soluciones de reserva de células congeladas cuando la viabilidad alcanzada > 90 %. Las células se separaban en medio de selección cuando la densidad celular superaba  $2 \times 10^6$ /ml hasta un aumento de 4 x 250 ml en matraces de 500 ml. El sobrenadante se cosechaba cuando la viabilidad celular disminuía por debajo de un 80 % con una densidad celular final máxima  $\sim 7 \times 10^6$ /ml. Los niveles de endotoxina eran inferiores a 0,2 unidades/ml.

Expresión y purificación de proteínas Flu M1 y MART-1 recombinantes. La PCR se usó para amplificar el ORF del gen M1 de Gripe A/Puerto Rico/8/34/Mount Sinai (H1N1) a la vez que se incorporaba un sitio Nhe I distal al codón iniciador y un sitio Not I distal al codón de parada. El fragmento d igerido s e c lonó e n pET-28b(+) (Novagen), colocando el ORF de M1 en fase con una etiqueta de His6, codificando de este modo la proteína de M1 de His.Flu. Un derivado de pET28b (+) que codifica un dominio de cohesina de 169 restos N-terminal de *C. thermocellum* (en publicar) sentado entre los sitios Nco I y Nhe I expresaba Coh.His para expresión de Cohesina-Flex-hMART-1-PéptidoA-His, la secuencia

45 GACACCACCGAGGCCCGCCACCCCCACCCCCCGTGACCACCCCCACCACCACCGACCGGAAG  
GGCACCACCGCCGAGGAGCTGGCCGGCATCGGCATCCTGACCGTGATCCTGGCGGCAAGCGG  
ACCAACAACAGCACCCCCACCAAGGGCGAATTCTGCAGATATCCATCACACTGGCGGCCG (SEQ ID NO: 28)  
(que c odifica DTTEARHPHPVTTPTTDRKGTTAEELAGIGLTVLGGKRTNNSPTKGEFCRYPSHWRP (SEQ I D NO: 29) – los restos en letra cursiva son del péptido limitado por HLA-A2 inmunodominante y los restos subrayados que rodean al Péptido son de MART-1) se insertó entre los sitios Nhe I y Xho I del vector mencionado anteriormente.

50 Las proteínas se expresaron en la cepa BL21 de *E. coli* (DE3) (Novagen) o T7 Express (NEB), se cultivaron en LB a 37 °C con selección para resistencia a kanamicina (40 μg/ml) y se agitó a 200 revoluciones/min hasta crecimiento de fase local indica media cuando se añadieron 120 mg/l de IPTG. Después de tres horas, las células se cosecharon por centrifugación y se almacenaron a -80 °C. Las células de *E. coli* de cada fermentación de 1 l se volvieron a suspender en 30 ml Tris 50 mM enfriado con hielo, EDTA 1 mM a pH 8,0 (tampón B) con 0,1 ml de Cócktel II inhibidores de proteasa (Calbiochem, CA). Las células se sonicaron en hielo 2x 5 min a ajuste 18 (Fisher Sonic Dismembrator 60) con un periodo de descanso de 5 min y a continuación se centrifugaron a 17.000 r.p.m. (Sorvall SA-600) durante 20 min a 4 °C. Para la purificación de His.Flu M1, la fracción de sobrenadante de lisado celular de 50 ml se pasó a través de 5 ml de perlas de Q Sepharose y se añadieron 6,25 ml de Tris 160 mM, imidazol 40 mM, NaCl 4 M a pH 7,9 al flujo continuo de Q Sepharose. Esto se cargó a 4 ml/min en una columna HP de que lación HiTrap a 5 ml cargada con Ni<sup>++</sup>. La proteína unida a la columna se lavó con NaPO<sub>4</sub> 20 mM, NaCl 300 mM a pH 7,6 (tampón D) seguido de otro lavado con H<sub>3</sub>COONa 100 mM a pH 4.0. La proteína unida se eluyó con H<sub>3</sub>COONa 100 mM a pH 4,0. Las fracciones máximas se combinaron y se cargaron a 4 ml/min en una columna HiTrap S de 5 ml equilibrada con H<sub>3</sub>COONa 100 mM a pH 5.5, y se lavó con el tampón de equilibrio seguido de elución con un gradiente de NaCl 0 - 1 M en NaPO<sub>4</sub> 50 mM a pH 5.5. Las fracciones máximas que eluye era aproximadamente

65 NaCl 500 mM se combinaron. Para purificación de Coh.Flu M1.His, las células de 2 l de cultivo se lisaron como se ha mencionado anteriormente. Después de centrifugación, se añadieron 2,5 ml de Triton X114 al sobrenadante con

incubación el hielo durante 5 min. Después de incubación adicional a 25 °C durante 5 min, el sobrenadante se separó del Triton X114 después de centrifugación a 25 °C. La extracción se repitió y el sobrenadante se pasó a través de 5 ml de perlas de Q Sepharose y se añadieron 6,25 ml de Tris 160 mM, imidazol 40 mM, NaCl 4 M a pH 7,9 al flujo continuo de Q Sepharose. A continuación, la proteína se purificó mediante cromatografía con quelación de Ni<sup>++</sup> como se ha descrito anteriormente y eluyendo con imidazol 0-500 mM en tampón D.

La Fig. 13 muestra la internalización de mAb anti-CD40:IL-4DC. Las DC IL-4 se trataron con 500 ng/ml de anti-CD40-Alexa 568. La Fig. 14 muestra proliferación de linfocitos T CD4 y CD8 por las DC dirigidas con anti-CD40-HA1. 5 x 10<sup>3</sup> IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-HA o Ig-HA1 de control se cocultivaron con linfocitos T CD4<sup>+</sup> o CD8<sup>+</sup> autólogos etiquetados con CFSE (2 x 10<sup>5</sup>) durante 7 días. A continuación, las células se tiñeron con anticuerpos anti-CD4 o anti-CD8. La proliferación celular se sometió a ensayo midiendo la dilución de CFSE. La Fig. 15 muestra una valoración de proteína de fusión de HA1 en la proliferación de linfocitos T CD4<sup>+</sup>. Las IFNDC (5 K) cargadas con proteínas de fusión se cocultivaron con linfocitos T CD4<sup>+</sup> etiquetados con CFSE (200 K) durante 7 días. La Fig. 16 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> se volvieron a estimular con las DC cargadas con 5 uM de los péptidos indicados, y a continuación el IFN $\gamma$  intracelular se sometió a tinción. La Fig. 17 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> se volvieron a estimular con las DC cargadas con los péptidos indicados durante 36 h, y a continuación el sobrenadante del cultivo se analizó para la medición de IFN $\gamma$ . La Fig. 18 muestra que el de CD40 dirección da como resultado la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicos de MART-1. Las IFNDC (5 K/pocillo) cargadas con proteínas de fusión se cocultivaron con linfocitos T CD8<sup>+</sup> purificados durante 10 días. Las células se tiñeron con anti-CD8 y tetrámero. Las células son de donantes sanos (HLA-A\*0201+). La Fig. 19 muestra que la dirección de CD40 da como resultado la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicos de MART-1 (Resumen de 8 experimentos repetidos usando células de diferentes donantes sanos). La Fig. 20 muestra que CTL CD8<sup>+</sup> inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-MART-1 son funcionales. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> cocultivados con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión se mezclaron con células T2 cargadas con epítipo de péptido 10 uM. La Fig. 21 muestra que CTL CD8<sup>+</sup> inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-Flu M1 son funcionales. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> cocultivados con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión se mezclaron con células T2 cargadas con epítipo de péptido 1,0 nM. La Fig. 22 muestra un esbozo del protocolo para someter a ensayo la capacidad de una vacuna formada por anti-CD4012E12 unido a PSA (antígeno específico de próstata) para provocar la expansión de una población de linfocitos T sin tratamiento previo. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> específicos de PSA corresponden a una matriz amplia de epítopos de PSA. En resumen, las DC obtenidas mediante cultivo con IFN $\alpha$  y GM-CSF de monocitos de un donante sano se incuban con la vacuna. Al día siguiente, las células se colocan en medio recién preparado y se añaden linfocitos T CD4<sup>+</sup> puros del mismo donante. Varios días más tarde, se añaden péptidos de PSA y, después de cuatro horas, se determinan los niveles de gamma-IFN secretado en los sobrenadantes del cultivo.

La Fig. 23 muestra que muchos péptidos de PSA provocan potentes respuestas de producción de gamma-IFN lo que indica que anti-CD4012E12 y algunos agentes anti-CD40 similares pueden suministrar antígeno a las DC de forma eficaz, dando como resultado la sensibilización de respuestas inmunes frente a múltiples epítopos del antígeno. La formación de mapas de péptidos de antígeno PSA. 5 x 10<sup>3</sup> IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-PSA se cocultivaron con linfocitos T CD4<sup>+</sup> autólogos purificados (2 x 10<sup>5</sup>) durante 8 días. A continuación, las células se volvieron a estimular con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de PSA durante 36 h. La cantidad de IFN $\gamma$  se midió con Luminex. Las células son de donantes sanos.

La Fig. 24 muestra que las DC dirigidas con anti-CD40-PSA inducen respuestas de linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicas de PSA. Las IFNDC se dirigieron con 1 ug de proteína de fusión de mAb con PSA. Los linfocitos T CD8<sup>+</sup> autólogos purificados se cocultivaron durante 10 días. Las células se tiñeron con anti-CD8 y tetrámero de PSA (KLQCVDLHV). Las células son de un donante sano positivo para HLA-A\*0201. Los resultados demuestran que anti-CD40 suministra PSA de forma eficaz a las DC, que a su vez provocan la expansión de específicos linfocitos T CD8<sup>+</sup> de PSA. En resumen, 5 x 10<sup>3</sup> IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-PSA se cocultivaron con linfocitos T CD8<sup>+</sup> autólogos purificados (2 x 10<sup>5</sup>) durante 10 días. A continuación, las células se tiñeron con tetrámero. Las células son de donante sano positivo para HLA-A\*0201.

La Fig. 25 es un esquema (parte izquierda) y la producción de IFN $\gamma$  por linfocitos T de las combinaciones de péptidos y control para el Donante 2. 5 x 10<sup>3</sup> IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 se cocultivaron con linfocitos T CD4<sup>+</sup> autólogos purificados (2 x 10<sup>5</sup>) durante 8 días. A continuación, las células se volvieron a estimular con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Las células se tiñeron para la medición de la expresión de IFN $\gamma$  intracelular.

La Fig. 26 muestra una exploración del péptido y producción de IFN $\gamma$  por linfocitos T obtenida a partir de las combinaciones de péptidos mostradas en la Fig. 25 y control para el Donante 2. 5 x 10<sup>3</sup> IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 se cocultivaron con linfocitos T CD4<sup>+</sup> autólogos purificados (2 x 10<sup>5</sup>) durante 8 días. A continuación, las células se volvieron a estimular con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Las células se sometieron a tinción para medición de la expresión de IFN $\gamma$  intracelular.

En conclusión, el suministro de antígenos a las DC, las células de presentación de antígenos más potentes, a través de CD40 es una manera eficaz para inducir y activar antígeno específico para inmunidad mediada por linfocitos T tanto CD4<sup>+</sup> como CD8<sup>+</sup>. Por lo tanto, las vacunas preparadas con anti-CD40 mAb inducirán una inmunidad potente frente a cáncer e infecciones.

5 Información del péptido:

Secuencias de HA1:

10 MKANLLVLLCALAAADADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKLCR (SEQ I D NO: 30)  
 LKGIAPLQLGKCNIA GWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELRE (SEQ I D NO: 31)  
 QLSSVSSFERFEIFPKESSWP NHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKLNKNS (SEQ I D NO: 32)  
 YVNKKGKEVLVLWGIHPPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERP KVRDQA (SEQ I D NO: 33)  
 15 GRMNYWTLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKQC TPLG (SEQ I D NO: 34)  
 AINSSLPYQNIHPVTIGEC PKYVRSALRMTGLRNIPSI (SEQ I D NO: 35)

Secuencias de péptidos en la Fig. 17

20 Péptido 22: SSFERFEIFPKESSWP N (SEQ ID NO: 36)  
 Péptido 45: GNLIAPWYAFALSRGFG (SEQ ID NO: 37)  
 Péptido 46: WYAFALSRGFGSGIITS (SEQ ID NO: 38)

Secuencias de NP:

25 MASQGTKRSYEQMETDGERQNATEIRASV GKMIGGIGRFYIQMCTELKLSDYEGRLIQNS (SEQ I D NO: 39)  
 LTIERMVLSAFDERRNKYLEEHPSAGKDPKKTGGPIYRRVNGKWMRELILYDKEEIRRIW (SEQ I D NO: 30)  
 RQANNGD DATAGLTHMMIWHSNLNDATYQRTRALVRTGMDPRMCSLMQGSTLPRRSGAAG (SEQ I D NO: 41)  
 AAVKGVGTMVME LVRMIKRGINDRNFWRGENGRKTR IAYERM CNILKGKFQTA AQKAMMD (SEQ I D NO: 42)  
 30 QVRESRNP GNAEFEDLTF LARSALILRGSVAHKSCLPACVYGP AVASGYDFEREGYSLVG (SEQ I D NO: 43)  
 IDPFRLQNSQVYSLIRPNENPAHKSQ LVMACHSAAFEDLRVLSFIKGT KVLPRGKLST (SEQ I D NO: 44)  
 RGVQIASNENMETMESSTLELRSRYWAIRTRSGGNTNQQRASAGQISIQPTFSVQRNLPF (SEQ I D NO: 45)  
 DRTTIMAAFNGNTEGRTSDMRTEIIRMMESARPEDVSFQGRGVFELSDEKAASPIVPSFD (SEQ I D NO: 46)  
 35 MSNEGSYFFGDNAEEYDN (SEQ I D NO: 48)

Secuencias de péptidos en la Fig. 23

40 Péptido 22: GKWVRELVL YDKEEIRR (SEQ ID NO: 49)  
 Péptido 33: RTGMDPRMCSLMQGSTL (SEQ ID NO: 50)  
 Péptido 46: MCNILKGKFQTA AQKAM (SEQ ID NO: 51)

Secuencia de antígeno específico de próstata (PSA)

45 MWVPVFLTLSVTWIGAAPLILSRIVGGWECEKHSQPWQVLVASRGRAVCGGVLVHPQWV (SEQ ID NO: 52)  
 LTAAH CIRNKSVILLGRHSLFHPEDTGQVFQVSHSFP HPLYDMSLLKNRFLRPGDDSSH D (SEQ ID NO: 53)  
 LMLLRLSEPAELTDAVKVMDLPTQEPALGTT CYASGWGSIEPEEFLTPKKLQCVDLHVIS (SEQ ID NO: 54)  
 NDVCAQVHPQKVTKFMLCAGRWTGGKSTCSGDSGGPLVCNGVLQGITSW GSEPCALPERP (SEQ ID NO: 55)  
 50 SLYTKWHYRKWIKDTIVANP (SEQ ID NO: 56)

Secuencias de péptidos en la Fig. 23

55 Péptido 1: APLILSRIVGGWECE (SEQ ID NO: 57)  
 Péptido 4: ECEKHSQPWQVLVAS (SEQ ID NO: 58)  
 Péptido 25: GDDSSHDLMLLRLSE (SEQ ID NO: 59)  
 Péptido 26: SHDLMLLRLSEPAEL (SEQ ID NO: 60)  
 Péptido 49: SGDSGGPLVCNGVLQ (SEQ ID NO: 61)  
 Péptido 54: GSEPCALPERPSLYT (SEQ ID NO: 62)  
 60 Péptido 56 : ERPSLYTKVVHYRKW (SEQ ID NO: 63)  
 Péptido 58 : VVHYRKWIKDTIVAN (SEQ ID NO: 64)

Secuencia de ciclina D1

65 MRSYRFS DYLHMSVSFSNDMDLFCGEDSGVFSGESTVDFSSSEVDSWPGDSIACFIEDER (SEQ ID NO: 65)  
 HFVPGHDYLSRFQTRSLDASAREDSVAWILKVQAYNFQPLTAYLAVNYMDRFLYARRLP (SEQ ID NO: 66)



ETSGWPMQLLAVACLSLAAKMEEILVPSLFDQVAGVKYLFEAKTIKRMELLVLSVLDWR ( SEQ ID NO: 67)  
 LRSVTPFDIFISFFAYKIDPSGTFGLGFFISHATEIILSNIKEASFLEYWPSSIAAAAILCV (SEQ ID NO: 68)  
 ANELPSLSSVNPHEPETWCDGLSKEKIVRCYRLMKAMAIENRNLNTPKVIKLRVSVR (SEQ ID NO: 69)  
 ASSTLTRPSDESSFSSSSPCKRRKLSGYSWVGDETSN (SEQ ID NO: 70)

5 Secuencias de péptidos en la Fig. 26.

Péptido 7: DRVLRAMLKAEETCA (SEQ ID NO: 71)  
 Péptido 8: RAMLKAEETCAPSVS (SEQ ID NO: 72)  
 10 Péptido 10: TCAPSVSYFKCVQKE (SEQ ID NO: 73)

15 Antígeno MART-1. MART-1 es un antígeno de diferenciación melanocítica asociada con tumor. La vacunación con antígeno MART-1 puede estimular una respuesta de los linfocitos T citotóxicos para el hospedador frente a células tumorales que expresan el antígeno de diferenciación melanocítica, dando como resultado la lisis de células tumorales.

20 La Fig. 27 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos peptídicos anti-CD40-MART-1. La Fig. 28 es un resumen de los epítomos inmuno dominantes de CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> para MART-1. Las Figs. 27 y 28 muestran el uso de la tecnología de conector flexible para permitir la expresión satisfactoria del receptor anti-DC recombinante que dirige anticuerpos fusionados a partes significativas (~2/3) del MART-1 humano. El anticuerpo recombinante fusionado en el extremo C-terminal de la cadena Pesada con toda la región de glicosilación de MART-1 no se secreta en absoluto a partir de producción de células de mamífero [no se muestra]. El aducto Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1 está particularmente bien expresado y es una realización preferente de una vacuna de dirección a MART-1, ya que el aducto Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1-f3-Pep-2 es el que porta una carga máxima de epítomos de MART-1. La diapositiva 2 de la presentación de MART-1 en Powerpoint muestra que estos aductos se pueden añadir de forma satisfactoria a múltiples vehículos de receptor anti-DC.

25 La secuencia que sigue a continuación es una secuencia de péptidos de hMART-1 - cadena Pesada de la proteína de fusión de pep3-pep1-pep2 en la que cada secuencia de péptidos de hMART1 [en letra negrita y cursiva] está separada por un espaciador inter-péptido f [que se muestra en letra negrita]. En este caso, un conector largo de 27 aminoácidos, flex-v1(v1) [en letra cursiva], obtenido a partir del precursor B de formación de armazones de anclaje celulosómico [*Bacteroides cellulosolvens* – descrito en la divulgación de la invención de vacuna de gag-nef] se insertó entre el extremo C-terminal de la cadena Pesada y en la secuencia de espacios flexibles de péptidos de hMART1. Los restos de AS subrayados son secuencias de unión. [manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1] C981 es:

**EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSKATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPDTVK**  
**GRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYVCARRGLPFHAMDYWGQTSVTVSSAKTKGPSVFPL**  
**APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGK**  
**TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS**  
**QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI**  
**EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD**  
**SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKASQTPTNTISVTPTNNSTPT**  
**NNSNPKPNPASGFDHRDSKVSLSLQEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQSPPPVSPASTNGSITVAATAPT**  
**VTPTVNATPSAAASMPREDAHFYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGAS** (SEQ ID NO.:74)

40 [manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1-f3-Pep-2] C978 es:

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPDTVK  
 GRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQTSVTVSSAKTKGPSVFP  
 APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG  
 TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTEVTCVVVDV  
 QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD  
 SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGGKASQTPTNTISVTPTNNSTPT  
 NNSNPKPNPASGFDHRDSKVSSLQEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQSPPPYSPASTNGSITVAATAPT  
VTPTVNATPSAAASMPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGASTVTPTATATPSAI  
VTTITPTATTKPASVLLIGCWYCRRRNGYRALMDKSLHVGTQCALTRRCPQEGAS (SEQ ID  
 NO.:75)

[mAnti-DCIR\_9E8\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1] C1012 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSR  
 LTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAKTKGPSV  
 PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG  
 TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTEVTCVVV  
 DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL  
 PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP  
 VLSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGGKASQTPTNTISVTPTNNS  
 TPTNNSNPKPNPASGFDHRDSKVSSLQEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQSPPPYSPASTNGSITVAATA  
PTVTPTVNATPSAAASMPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGAS (SEQ ID NO.:76)

5

[mAnti-DCIR\_9E8\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1-f3-Pep-2] C1013 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSR  
 LTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAKTKGPSV  
 PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG  
 TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTEVTCVVV  
 DVSQPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS  
 SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL  
 DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGGKASQTPTNTISVTPTNNSP  
 TNNSNPKPNPASGFDHRDSKVSSLQEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQSPPPYSPASTNGSITVAATAP  
TVTPTVNATPSAAASMPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGASTVTPTATATPSA  
IVTTITPTATTKPASVLLIGCWYCRRRNGYRALMDKSLHVGTQCALTRRCPQEGAS (SEQ ID  
 NO.:77)

10

Secuencia de ADN de MART-1:

Construcciones de MART-1 con 3 péptidos, Los sitios de inicio/parada están subrayados, el péptido 1 está en letra negra, el péptido 2 está en letra negra-cursiva y el péptido 3 está subrayado en letra negra y subrayado:

AACACCGACAACAACAGATGATCTGGATGCAGCTAGTGGGTTTGATCATCGGGACAGCAAAG  
 TGTCTCTTCAAGAGAAAACTGTGAACCTGTGGTTCCCAATGCTCCACCTGCTTATGAGAA  
 ACTCTCTGCAGAACAGTCACCACCACCTTATTCACCTGCTAGTACCAACGGCAGCATCACCG  
 TGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCCACCCTGAACGCCACCCAGCGCCGCCGCTAGTAT  
 GCCAAGAGAAGATGCTCACTTCATCTATGGTTACCCCAAGAAGGGGCACGGCCACTCTTACACCA  
 CGGCTGAAGAGGCCGCTGGGATCGGCATCCTGACAGTGATCCTGGGAGCTAGTACCGTGACCCC  
 CACCGCCACCGCCACCCAGCGCCATCGTGACCACCATCACCCACCAGCCACCACCAAGCCC  
 GCTAGTGTCTTACTGCTCATCGGCTGTTGGTATTGTAGAAGACGAAATGGATACAGAGCCT  
TGATGGATAAAAGTCTTCATGTTGGCACTCAATGTGCCTTAAACAAGAAGATGCCACAAG  
AAGGG<sup>iga</sup>GCGGCCGCATCGAAGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGGCA  
 TGC (SEQ ID NO.:78)

5 MART1 - Péptido 3, la parte en letra cursiva es el epítipo inmunodominante de CD4<sup>+</sup>.  
 GFDHRDSKVSLOEK***NCEP***VVP***NAPPAYEKLSAEQ***SPPPYSP (SEQ ID NO: 79) Flex-4  
ASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAAS (SEQ ID NO: 80)

10 MART1 - Péptido 1, la parte en letra cursiva es el epítipo inmunodominante de CD4<sup>+</sup> y la parte subrayada-con letra  
 cursiva es el epítipo inmunodominante de CD8<sup>+</sup>.  
 MPREDAHF***FIYGYPKKGHGH***SYTT***AEEAAGIGILTVILG*** (SEQ ID NO: 81)  
 Flex-3: ASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPAS (SEQ ID NO: 82)

15 MART1 - Péptido 2, la parte en letra cursiva es el epítipo inmunodominante de CD4<sup>+</sup>.  
 VLLIGCWY***CRRRNGYRALMDKSLHVG***TQ***CALTRRC***PQEG (SEQ ID NO: 83)

Construcciones de MART1 con dos péptidos:

El Péptido 3 está en letra negrita-cursiva-subrayada, flex-4 está en letra negrita y el Péptido 1 está en letra negrita-  
 cursiva-subrayada:

20 ***GFDHRDSKVSLOEK******NCEP***VVP***NAPPAYEKLSAEQ***SPPPYSP***ASTNGSITVAATAPT***VTPTVNATPSA  
***AASMPREDAHF******FIYGYPKKGHGH***SYTT***AEEAAGIGILTVILG***AS (SEQ ID NO.:84)

25 Secuencia de Proteínas: C978. rAB-cetHS-puro[manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3  
 (letra negrita-cursiva-subrayada)-f4 (letra negrita)-Pep-1 (letra negrita-cursiva)-f3 (letra cursiva)-Pep-2 (letra negrita-  
 subrayada)]

MNLGLSLIFLVVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSYYMYWVRQTPEKRLE  
 WVAYINSGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWG  
 QGTSVTVSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQ  
 SSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFEGGSPVFLFPPK  
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ  
 DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA  
 VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLSL  
 LGKASQTPNTISVTPTNNSPTNNSNPKPNPAS***GFDHRDSKVSLOEK******NCEP***VVP***NAPPAYEKLSAEQ***  
***SPPPYSP******ASTNGSITVAATAPT***VTPTVNATPSAA***ASMPREDAHF******FIYGYPKKGHGH***SYTT***AEEAAGI***  
***GILTVILG******ASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPAS******VLLIGCWY******CRRRNGYRALMDKSLHVG******TQCAL***  
***TRRC******PQEGAS*** (SEQ ID NO.:85)

Secuencia de Proteínas: C981. rAB-cetHS-puro[manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3 (letra negrita-cursiva-subrayada)-f4-(letra negrita)-Pep-1](letra negrita-subrayada)

MNLGLSLIFLVLVKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDDYYMYWVRQTPEKRLE  
 WVAYINSGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWG  
 QGTSVTVSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ  
 SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGSPVFLFPPK  
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ  
 DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA  
 VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSL  
 LGKASQTPNTISVTPTNNSPTNNSNPKPNPASGFDHRDSKVSLOEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQ  
SPPPYSPASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAASMPREDAHFYGYPKKGHGHSYTTAEAA  
GIGILTIVILGAS (SEQ ID NO.:86)

5 Antígeno GP100. El antígeno GP100 es un antígeno asociado con el melanoma. Cuando se administra en una formulación de vacuna, el antígeno gp100 puede estimular una respuesta del sistema inmunitario limitada por HLA-A2.1 de linfocitos T citotóxicos frente a tumores que expresan este antígeno, que puede dar como resultado una reducción del tamaño del tumor.

10 La región codificante del ectodominio de GP100 fusionada con la región codificante de la cadena Pesada del anticuerpo recombinante no está secreta en absoluto por la producción de células de mamífero [no se muestra]. La secuencia total se muestra a continuación – los restos en letra cursiva son la secuencia líder y el dominio transmembrana, los péptidos están en letra negrita-cursiva y el dominio transmembrana está en letra cursiva-subrayada.

*MDLVLKRCLLHLAVIGALLAVGATKVPNRQDWLGVSRQLRTKAWNRQLYPEWTEAQRLLDCWRGGQ*  
*VSLKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPQSQKVLDPDQVIVVNNIINGSQVWGGQPVYPQETDDACIFP*  
*DGGPCPSGWSQKRSFYVVKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTTMEVTVYHRRGSRSY*  
*VPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLRALDGGNKHFRLRNQPLTFALQLHDPGYLAEADLSYTWDFGD*  
*SSGTLISRALVVTHTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTSCGSSVPGTTDGHRTAEAPNTTAGQVPTTEV*  
*VGTTPGQAPTAEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATG*  
*MTPAEVSIVVLSGTTAAQVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVK*  
*RQVPLDCVLYRYGSFVTLDIVQGIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGPKPEACMEISSPGCQPP*  
*AQRLCQPVLPSPACQLVLHQILKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIMPGQEAGLGQVPLIVGILL*  
*VLMVVLASLIYRRRLMKQDFSVPLPHSSSHWLRLPRIFCSCPIGENSPLLSGQQV* (SEQ ID NO.:87)

20 Algunas secuencias peptídicas conocidas limitadas por HLA-A0201 son: GP100 M: 209-217 (2M): IMDQVPFSV (SEQ ID NO: 88); 209-217 WT: ITDQVPFSV (SEQ ID NO: 89) GP100 M: 280-288 (9V): YLEPGPVTV (SEQ ID NO: 90) 280-288 WT: YLEPGPVTA (SEQ ID NO: 91) GP100 WT: 154-162: KTWGQYWQV (SEQ ID NO: 92).

25 La Fig. 29-33 muestra los aductos de gp100 que se expresaban de forma satisfactoria cuando secretaban vacunas de dirección a receptor anti-DC. Estos empleaban el uso de las secuencias conectoras flexibles y fragmentación y barajado de la región codificante del ectodominio de gp100. Se describen algunas realizaciones preferentes de aductos de vacuna de gp100.

30 La Fig. 29 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100. La Fig. 30 muestra el diseño para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicional. La Fig. 31 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicional. La Fig. 32 es un resumen de los epítomos inmunodominantes de CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> para gp100. La Fig. 33 muestra la expresión y diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicional.

rAB-cetHS-puro[manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-hgp100-Pep-1-f4-Pep-3-f3-Pep-4-f4-Pep-5-f3-Pep-2] C1285, los péptidos están en letra negrita-cursiva, los conectores flexibles están en letra negrita y los restos de AS subrayados son secuencias de unión:

5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSYYMYWVRQTPEKRLEWVA YINSGGGSTYYPDTVK  
 GRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGSVTVSSAKTKGPSVFPL  
 APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK  
 TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS  
 QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD  
 SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKASDTTEPATPTTPVTTPTT  
 TKVPRNQDWLGVSRQLRTKAWNRQLYPEWTEAQRDLCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIAL  
 NFPGSQKVLDPDQVWVNNIINGSQVWGGQPVYPQETDDACIFPDGGPCPSGWSQKRSFVYVWK  
 TWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTMEVTVYHRRGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVS  
 QLRALDGGNKHFLRNQASTNGSITVAATAPTPTVNATPSAAASGTTDGHRPTTEAPNTTAGQV  
 PTTEVVGTTPGQAPTAEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMST  
 PEATGMTPAEVSIVVLSGTTAAASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPASQVTTTEWVETTARELPI  
 PEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQASTNGSITVA  
 ATAPTPTPTVNATPSAAASGIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQR  
 LCQPVLPSACQLVLHQILKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGOASTVTPT  
 ATATPSAIVTTITPTATTKPASPLTFALQLHDPSGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRALVVTHTYLE  
 PGPVTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPAS (SEQ ID NO.:93)

rAB-cetHS-puro[hlgG4H-C-Flex-hgp100-Pep-1-f4-Pep-3-f3-Pep-4-f4-Pep-5-f3-Pep-2] C1286:

RLQLQESGPGLLKPSVTLSLTCTVSGDSVASSSYWGWVRQPPGKLEWIGTINFSGNMYYSPSLRS  
 RVTMSADMSSENSFYKLDSVTAADTAVYYCAAGHLVMGFGAHWGQKLVSVSPASTKGPSVFPL  
 APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK  
 TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFEGGPPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS  
 QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD  
 SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKASDTTEPATPTTPVTTPTT  
*TKVPRNQDWLGVSRLRKAWNRLYPEWTEAQRLDCLRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIAL*  
*NFPGSQKVLDPGQVIWVNNIINGSQVWGGQPVYPQETDDACIFPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVWK*  
*TWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTMEVTVYHRRGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVS*  
QLRALDGGNKHFLRNQASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAASGTTDGHPTTEAPNTTAGQV  
*PTTEVVGTTPGQAPTAEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMST*  
*PEATGMTPAEVSIVVLSGTTAAASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPASQVTTTEWVETTARELPI*  
*PEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQASTNGSITVA*  
 ATAPTVTPTVNATPSAAASGIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQR  
*LCQPVLPSPACQLVLHQILKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGOASTVTPT*  
 ATATPSAIVTTITPTATTKPASPLTFALQLHDPSGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRALVVTHTYLE  
 PGPVTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPAS (SEQ ID NO.:94)

gp100: - Secuencia de Ácidos Nucleicos. Péptido 1 - subrayado, Péptido 2 - letra cursiva, Péptido 3 - letra negrita, Péptido 4 - letra negrita-subrayada, Péptido 5 - letra negrita-cursiva.

5

GATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACAAAAGTACCC  
AGAAACCAGGACTGGCTTGGTGTCTCAAGGCAACTCAGAACCAAAGCCTGGAACAGGCAGCTG

TATCCAGAGTGGACAGAAGCCCAGAGACTTGACTGCTGGAGAGGTGGTCAAGTGTCCCTCAAG  
GTCAGTAATGATGGGCCTACACTGATTGGTGCAAATGCCTCCTTCTCTATTGCCTTGAACCTCCC  
TGGAAGCCAAAAGGTATTGCCAGATGGGCAGGTTATCTGGGTCAACAATACCATCATCAATGG  
GAGCCAGGTGTGGGGAGGACAGCCAGTGTATCCCCAGGAACTGACGATGCCTGCATCTTCCCT  
GATGGTGGACCTTGCCCATCTGGCTCTTGGTCTCAGAAGAGAAGCTTTGTTTATGTCTGGAAGA  
CCTGGGGCCAATACTGGCAAGTTCTAGGGGGCCAGTGTCTGGGCTGAGCATTGGGACAGGCA  
GGGCAATGCTGGGCACACACACCATGGAAGTGACTGTCTACCATCGCCGGGGATCCCAGAGCT  
ATGTGCCTCTTGCTCATTCCAGCTCAGCCTTCACCATTACTGACCAGGTGCCTTCTCCGTGAGC  
GTGTCCCAGTTGCGGGCCTTGATGGAGGGAACAAGCACTTCTGAGAAATCAGGCTAGTACC  
AACGGCAGCATCACCGTGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTGAACGCCACCCCCA  
GCGCCGCGCTAGTGGCACCACAGATGGGCACAGGCCAACTGCAGAGGCCCTAACACCACAGCTG  
GCCAAGTGCCTACTACAGAAGTTGTGGGTACTACACCTGGTCAGGCGCCAACCTGCAGAGCCCTTGG  
AACCACATCTGTGCAGGTGCCAACCCTGAAGTCATAAGCACTGCACCTGTGCAGATGCCAAGTGCAG  
AGAGCACAGGTATGACACCTGAGAAGGTGCCAGTTTCAGAGGTCATGGGTACCACACTGGCAGAGAT  
GTCAACTCCAGAGGCTACAGGTATGACACCTGCAGAGGTATCAATTGTGGTGCTTTCTGGAACCACAG  
CTGCAGCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCGCCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATCAC  
CCCCACCGCCACCACCAAGCCCGCTAGTCAGGTAACAACCTACAGAGTGGGTGGAGACCACA  
GCTAGAGAGCTACCTATCCCTGAGCCTGAAGGTCCAGATGCCAGCTCAATCATGTCTACG  
GAAAGTATTACAGGTTCCCTGGGCCCCCTGCTGGATGGTACAGCCACCTTAAGGCTGGTG  
AAGAGACAAGTCCCCCTGGATTGTGTTCTGTATCGATATGGTTCCTTTTCCGTCACCCTGG  
ACATTGTCCAGGCTAGTACCAACGGCAGCATCACCGTGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCC  
CCACCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCGCGCTAGTGGTATTGAAAGTGCCGAGATCCTGCAG  
GCTGTGCCGTCCGGTGAGGGGGATGCATTTGAGCTGACTGTGTCCTGCCAAGGCGGGCT  
GCCCAAGGAAGCCTGCATGGAGATCTCATCGCCAGGGTGCCAGCCCCCTGCCAGCGGCT  
GTGCCAGCCTGTGCTACCCAGCCAGCCTGCCAGCTGGTTCTGCACCAGATACTGAAGGG  
TGGCTCGGGGACATACTGCCTCAATGTGTCTCTGGCTGATACCAACAGCCTGGCAGTGGT  
CAGCACCCAGCTTATCGTGCCCTGGGATTCTTCTCACAGGTCAAGAAGCAGGCCTTGGGCA  
GTAAGCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCGCCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATCACC  
CCCACCGCCACCACCAAGCCCGCTAGTCTCTGACCTTTGCCCTCCAGCTCCATGACCCTAGTGG  
CTATCTGGCTGAAGCTGACCTCTCCTACACCTGGGACTTTGGAGACAGTAGTGAACCCCTGATCT  
CTCGGGCACYTGTGGTCACTCATACTTACCTGGAGCCTGGCCCAGTCACTGCCAGGTGGTCTGT  
CAGGCTGCCATTCTCTACCTCCTGTGGCTCCTCCCCAGTTCCA GCTAGC TGA (SEQ ID  
 NO.:95)

GP100-Péptido 1 - Secuencia de Ácidos Nucleicos.

GATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACAAAAGTACCC  
AGAAACCAGGACTGGCTTGGTGTCTCAAGGCAACTCAGAACCAAAGCCTGGAACAGGCAGCTG  
TATCCAGAGTGGACAGAAGCCCAGAGACTTGACTGCTGGAGAGGTGGTCAAGTGTCCCTCAAG  
GTCAGTAATGATGGGCCTACACTGATTGGTGCAAATGCCTCCTTCTCTATTGCCTTGAACCTCCC  
TGGAAGCCAAAAGGTATTGCCAGATGGGCAGGTTATCTGGGTCAACAATACCATCATCAATGG  
GAGCCAGGTGTGGGGAGGACAGCCAGTGTATCCCCAGGAAACTGACGATGCCTGCATCTTCCCT  
GATGGTGGACCTTGCCCATCTGGCTCTTGGTCTCAGAAGAGAAGCTTTGTTTATGTCTGGAAGA  
CCTGGGGCCAATACTGGCAAGTTCTAGGGGGGCCAGTGTCTGGGCTGAGCATTGGGACAGGCA  
GGGCAATGCTGGGCACACACACCATGGAAGTGACTGTCTACCATCGCCGGGGATCCCAGAGCT  
ATGTGCCTCTTGCTCATTCCAGCTCAGCCTTACCATTACTGACCAGGTGCCTTTCTCCGTGAGC  
GTGTCCCAGTTGCGGGCCTTGGATGGAGGGAACAAGCACTTCTGAGAAATCAG (SEQ ID  
NO.:96)

Secuencia de Proteínas:

DTTEPATPTTPVTTPPTTKVPRNQDWLGVSRQLRTKAWNRQLYPEWTEAQRDCWRGGQVSLKVS  
NDGPTLIGANASFSIALNFPQSQKVLDPDQVIWVNNTHINGSQVWGGQPVPYQETDDACIFPDGGPCP  
SGSWSQKRSEFVYVWKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTMEVTVYHRRGSQSYVPLAHS  
SSAFTITDQVPFSVSVSLRALDGGNKHFLRNQ (SEQ ID NO.:97)

5

GP100-Péptido 3

GGCACACAGATGGGCACAGGCCAACTGCAGAGGCCCTAACACCACAGCTGGCCAAGTGCCT  
ACTACAGAAGTTGTGGTACTACACCTGGTCAGGCGCCAACCTGCAGAGCCCTCTGGAACCACAT  
CTGTGCAGGTGCCAACCCTGAAGTCATAAGCACTGCACCTGTGCAGATGCCAACTGCAGAGA  
GCACAGGTATGACACCTGAGAAGGTGCCAGTTTCAGAGGTATGGGTACCACACTGGCAGAGA  
TGTCAACTCCAGAGGCTACAGGTATGACACCTGCAGAGGTATCAATTGTGGTGCTTTCTGGAAC  
CACAGCTGCA (SEQ ID NO.:98)

10

Secuencia de Proteínas:

GTTDGHRTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTGQAPTAEPSTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAESTGM  
TPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPEVSVVLSGTTAA (SEQ ID NO.:99)

GP100-Péptido 4:

CAGGTAACAACACTACAGAGTGGGTGGAGACCACAGCTAGAGAGCTACCTATCCCTGAGCCTGAA  
GGTCCAGATGCCAGCTCAATCATGTCTACGGAAAGTATTACAGGTTCCCTGGGCCCCCTGCTGG  
ATGGTACAGCCACCTTAAGGCTGGTGAAGAGACAAGTCCCCCTGGATTGTGTTCTGTATCGATA  
TGGTTCCTTTTCCGTCACCCTGGACATTGTCCAG (SEQ ID NO.:100)

15

Secuencia de Proteínas:



**QVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSV  
TLDIVQ (SEQ ID NO.:101)**

GP100-Péptido 5

**GGTATTGAAAGTGCCGAGATCCTGCAGGCTGTGCCGTCCGGTGAGGGGGATGCATTTGAGCTGA  
CTGTGTCTCTGCCAAGGCGGGCTGCCCAAGGAAGCCTGCATGGAGATCTCATCGCCAGGGTGCCA  
GCCCCCTGCCAGCGGCTGTGCCAGCCTGTGCTACCCAGCCCAGCCTGCCAGCTGGTTCTGCAC  
CAGATACTGAAGGGTGGCTCGGGGACATACTGCCTCAATGTGTCTCTGGCTGATACCAACAGCC  
TGGCAGTGGTCAGCACCCAGCTTATCGTGCCTGGGATTCTTCTCACAGGTCAAGAAGCAGGCCT  
TGGGCAG (SEQ ID NO.:102)**

5

Secuencia de Proteínas:

**GIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQRLCQPVLPSACQLVLHQILK  
GGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGQ (SEQ ID NO.:103)**

10

GP100-Péptido 2

**CCTCTGACCTTTGCCCTCCAGCTCCATGACCCTAGTGGCTATCTGGCTGAAGCTGACCTCTCCTA  
CACCTGGGACTTTGGAGACAGTAGTGGAACCCTGATCTCTCGGGCACYTGTGGTCACTCATACT  
TACCTGGAGCCTGGCCCAGTCACTGCCAGGTGGTCTGCAGGCTGCCATTCTCTCACCTCCTG  
TGGCTCTCCCCAGTTCAGCTAGC (SEQ ID NO.:104)**

15 Secuencia de Proteínas:

**PLTFALQLHDPSGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRAXVVTHTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTSCGS  
SPVPAS (SEQ ID NO.:105)**

20 Antígeno de Ciclina B 1. La Ciclina B 1, también conocida como CCNB 1, es un gen humano que codifica una proteína reguladora implicada en la mitosis. Complejos de Ciclina B 1 con p34(cdc2) para formar el factor de promotor de la maduración (MPF). Se conocen dos transcripciones alternativas que son el resultado de sitios alternativos de inicio de la transcripción. Una primera transcripción codifica una transcripción expresada de forma constitutiva. La segunda transcripción es una transcripción regulada por el ciclo celular expresada predominantemente durante la fase G2/M.

25 La siguiente secuencia de aminoácidos es de ciclina B1 humana. Dos regiones de péptidos conocidas porque contienen epítipo de linfocitos T están resaltadas en letra negra-subrayada y en letra cursiva-subrayada.

**MALRVTRNSKINAENKAKINMAGAKRVPTAPAATSKPGLRPTALGDIGNKVSEQLQAKMPMKKE  
AKPSATGKVIDKKLPKPLEKVPMLVPVPVSEPVPEPEPEPEPEPVKEEKLSPILVDTASPSMETSG  
CAPAEEDLCQAFSDVILAVNDVDAEDGADPNLCSEYVKDIYAYLRQLEEEQAVRPKYLLGREVTGN  
MRAIL**IDLWLQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPKKMLQLVGVTAMFIASKYEEMYP**  
PEIGDFAFVTDNTYTKHQIRQ**MEMKILRALNFGLGRPLPLHFLRRASKIGEVDVEOHTLAKYLMET**  
**MLDY**DMVHFPPSQIAAGAFCLALKILDNGEWTPTLQHYLSYTEESLLPVMQHLAKNVVMVNQGLT  
KHMTVKNKYATSKHAKISTLPQLNSALVQDLAKAVAKVHHHHHH (SEQ ID NO.:106)**

30 Péptido-1 MEMKILRALNFGLGRPLPLHFLRRASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTMDY (SEQ ID NO: 107)

Péptido-2

DWLVQVQMKFRLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPKK (SEQ ID NO: 108).

5 La Fig. 35 muestra un resumen de niveles de expresión relativa de prototipo de vacunas de Ciclina B1 secretadas a partir de células 293F de mamífero transfectadas. Las secuencias conectoras flexibles facilitan la secreción.

C1189 rAB-cetHS-puro[manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hIgG4H-C-Flex-v1 (letra **negrita**)-hCiclinaB1-Péptido-2(letra *cursiva*)-Péptido-1 (letra **negrita-cursiva**)-f4 (letra **negrita**)] [conectores de AS - subrayados]

**EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPDTVK**  
**GRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQTSVTVSSAKTKGPSVFPPL**  
**APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK**  
**TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS**  
**QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI**  
**EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD**  
**SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKA**AS**QTPNTISVTPTNNST**  
**PTNNSNPKNP**AS**DWLVQVQMKFRLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPKK**AS**MEMKILRALNFGLGRPL**  
**PLHFLRR**AS**KIGEVDVEQHTLAKYLMELTMLDY**AS**TNDSITVAATAPTPTVNATPSAAAS** (SEQ  
 10 ID NO.:109)

15 Arriba se encuentra la secuencia de la cadena P esada secretada madura para una forma de la vacuna anti-CD4012E12-ciclina B1. Los restos de AS son de sitios de restricción de unión. La secuencia de codificación de ADN se muestra a continuación, y ésta incluye el péptido señal.

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTGTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAGTGAA  
 GCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCCCGAGGGTCCCTGAAACTCTCTGTGCAACC  
 TCTGGATTCACTTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCCGCCAGACTCCAGAGAAGAGGCTGG  
 AGTGGGTGCGATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCG  
 ATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGGCTGAAGTCT  
 GAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGGTTACCGTTCATGCTATGGACTATTGGG  
 GTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGC  
 GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC  
 CCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGG  
 CTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTG  
 GGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA  
 GTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGGGACCAT  
 CAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC  
 GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGG  
 CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGT  
 GGTGAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGT  
 CTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCG  
 AGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT  
 GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA  
 GCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGGTACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTAC  
 AGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  
 CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGTC  
 AGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACAGCACCCCCACCAACAACAGCA  
 ACCCAAGCCCAACCCCGCTAGTACTGGCTAGTACAGGTTCAAATGAAATTCAGGTTGTTGCA  
 GGAGACCATGTACATGACTGTCTCCATTATTGATCGGTTTCATGCAGAATAATTGTGTGCCCAAG  
 AAGGCTAGTATGGAATGAAGATTCTAAGAGCTTTAAACTTTGGTCTGGGTCCGGCCTCTACCTT  
 TGCATTCCTTCGGAGAGCATCTAAGATTGGAGAGGTTGATGTCGAGCAACATACTTTGGCCAA  
 ATACCTGATGGAACACTAATGTTGGACTATGCTAGTACCAACGACAGCATCACCGTGGCCGCC  
 ACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCCGCTAGCTGA (SEQ ID  
 NO.:110)

C1143 rAB-cetHS-puro[manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (letra **negrita**)-hCiclinaB1-Péptido-2(letra *cursiva*)-f3 (letra **negrita**)] [conectores de AS - subrayados].

**EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPDVTK  
GRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMY YCARRGLPFHAMDYWGQGTSVTVSSAKTKGPSVFPL  
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTK  
TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVS  
QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD  
SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKASQTPTNTISVTPTNNST  
PTNNSNPKNPASDWLVQVQMKFRLQETMYMTYSIIDRFMQNNCVPKKASTVTPATATPSAIVTTI  
TPTATTKPAS (SEQ ID NO.:111)**

5 Arriba se encuentra la secuencia de la cadena pesada secretada madura para una forma de la vacuna anti-CD4012E12-ciclina B1. Los restos de AS son de sitios de restricción de unión. La secuencia de codificación de ADN se muestra a continuación, y ésta incluye el péptido señal.

**ATGAACTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAGTGAA  
GCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCCGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAACC  
TCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCAGACTCCAGAGAAGAGGCTGG**

AGTGGGTCGCATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCG  
 ATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCTGTACCTGCAAATGAGCCGGCTGAAGTCT  
 GAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGTTACCGTTCATGCTATGGACTATTGGG  
 GTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGAAGGGCCATCCGTCTTCCCCCTGGC  
 GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC  
 CCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG  
 CTGTCCTACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG  
 GGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA  
 GTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTTGAAGGGGGACCAT  
 CAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC  
 GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGG  
 CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGT  
 GGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT  
 CTCCAACAAAGGCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCG  
 AGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCT  
 GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA  
 GCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTAC  
 AGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  
 CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGTC  
 AGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACAGCACCCCCACCAACAACAGCA  
 ACCCAAGCCCAACCCCGTAGTGACTGGCTAGTACAGGTTCAAATGAAATTCAGGTTGTTGCA  
 GGAGACCATGTACATGACTGTCTCCATTATTGATCGGTTTCATGCAGAATAATTGTGTGCCAAG  
 AAGGCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCGCCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATCACCC  
 CCACCGCCACCACCAAGCCCGTAGCTGA (SEQ ID NO.:112)

C911 r AB-cetHS-puro[manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (letra negra) hCiclinaB1-Péptido-1 (letra cursiva)-f4 (letra negra)]

5

**EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYMYWVRQTPEKRLEWVAYTNSGGGSTYYPDTVK**  
**GRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYCARRGLPFHAMDYWGQTSVTVSSAKTKGPSVFPL**  
**APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK**  
**TYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS**  
**QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI**  
**EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLD**  
**SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLKASQTPTNTISVTPITNST**

**PTNNSNPKPNPASMENKILRALNFGLRPLPLHFLRRASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTMLDYASTNGS**  
**ITVAATAPTPTVNATPSAAAS (SEQ ID NO.:114)**

Secuencia de ácidos nucleicos de C911 r AB-cetHS-puro[manti-CD40\_12E12.3F3\_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (letra negra) hCiclinaB1-Péptido-1 (letra cursiva)-f4 (letra negra)].

10

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCCCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAGTGAA  
 GCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCCGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAACC  
 TCTGGATTCACTTTCAGTGA CTATTACATGTATTGGGTTTCGCCAGACTCCAGAGAAGAGGCTGG  
 AGTGGGTGCGATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCG  
 ATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGGCTGAAGTCT  
 GAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGGTTACCGTTCCATGCTATGGACTATTGGG  
 GTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGC  
 GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTC  
 CCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG  
 CTGTCCTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG  
 GGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA  
 GTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTTCAAGGGGGACCAT  
 CAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC  
 GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGG  
 CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGT  
 GGTACGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT  
 CTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCG  
 AGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT  
 GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA  
 GCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTAC  
 AGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  
 CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGTC  
 AGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACAGCACCCCCACCAACAACAGCA  
 ACCCCAAGCCCAACCCCGCTAGTATGGAAATGAAGATTCTAAGAGCTTTAAACTTTGGTCTGGG  
 TCGGCCTCTACCTTTGCACTTCTTTCGGAGAGCATCTAAGATTGGAGAGGTTGATGTGCGAGCAA  
 CATACTTTGGCCAAATACCTGATGGAACCTAACTATGTTGGACTATGCTAGTACCAACGGCAGCA  
 TCACCGTGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCGCCG  
 TAGCTGA (SEQ ID NO.:115)

Antígeno de Ciclina de tipo D. Las ciclinas de tipo D se expresan de forma predominante en la fase G1 del ciclo celular. El patrón de supresión de ciclina D1 se ha estudiado ampliamente en ciertos tipos de cáncer incluyendo linfoma y cáncer de pulmón de células no microcíticas. Aproximadamente un 30 por ciento de carcinomas de mama son positivos para Ciclina D1. La sobreexpresión de la Ciclina D1 es ahora un criterio bien establecido para el diagnóstico de Linfoma de Células del Manto, un Linfoma no Hodgkin, maligno, que se caracteriza por una translocación cromosómica única, t(11;14).

5 Ciclina D1 - Péptido 1 - letra negrita, Péptido 2 - letra negrita-subrayada, Péptido - 3 letra cursiva, Péptido 4 -  
 10 subrayado.

MEHQLLCCEVETIRRAYPDANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCVQKEVLPMSMRKIVAT  
WMLEVCEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVASKMKETIPLTAEKL  
CIYTDNSIRPEELLQMELLLVNKLKWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENKQIIRKHAQTFVALCATDV  
KFISNPPSMVAAGSVVAAVQGLNLRSPNNFLSYYRLTRFLSRVIKCDPDCLRACQEIQEALLESSLRQ  
AQQNMDPKAAEEEEEEEEEEVDLACTPTDVRDVDI (SEQ ID NO.:116)

Pep-1  
 MEHQLLCCEVETIRRAYPDANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCV (SEQ ID NO: 117)  
 5 Pep-2

QKEVLPMSMRKJVATWMLEVCEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVASKM  
 KETIPLTAEKLCIYTDNSIRPEELLQMELL (SEQ ID NO: 118)

10 Pep-3  
 LVNKLKWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENKQIIRKHAQTFVALCATDVKFISNPPSMV (SEQ ID NO: 119)  
 Pep-4

AAGSVVAAVQGLNLRSPNNFLSYYRLTRFLSRVIKCDPDCLRACQEIQEALLESSLRQAQQNMDPK  
AAEEEEEEEEEEVDLACTPTDVRDVDI (SEQ ID NO.:120)

15

Tabla 1. Correlación de Clon-Anticuerpo

Nombre	Clon	Isotipo
PAB176 PAB176	AB13_22.11B6.2C6 AB13.22.11B6.1C3 (HS440) - subclon	IgG1k
PAB177	AB13_22.11C7.1D6	IgG2b k
PAB180	AB13_22.11H12.1G1	IgG1k
PAB188 PAB1574	AB13_22.12B4.2C10	IgG1k
PAB187 PAB366 PAB525 PAB530 PAB594 PAB1400 PAB1700	AB13_22.12E12.3F3	IgG1k
PAB184	AB13_22.15C11.3G12	IgG1k
PAB 181	AB13_22.19B5.4C11	IgG2a k
PAB183	AB13_22.24A33F1	IgG2b k
PAB178	AB13_22.24C9.2A6	IgG2b k
PAB 189	AB13_22.2G2.1A5	IgG2b k
PAB194	AB13_22.3C7.1G5	IgG2a k
PAB1573		
PAB193	AB13_22.7G10.2D5	IgG2a k
PAB1572		
PAB 182 PAB1435	AB13_22.8A4.3G10	IgG1k
PAB 179	AB13_22.8F6.2C7	IgG2b k
PAB190	AB13_22.9A11.2A11	IgG1 lam

La Fig. 34 muestra los resultados obtenidos con los diversos anticuerpos usando un ensayo que detecta la señalización a través de ligación de CD40 – lectura como muerte celular. El propio CD40 puede enviar señales de este tipo, pero el dominio intracelular de FAS se usa para comparación cuando se expresan células CHO (Fas CHO con respecto a CHO). En resumen, las células CHS-S se transfirieron con vectores de expresión para cualquier hCD40ectodominioTM fusionado con el dominio intracelular de FAS, o hCD40. Estas células proliferan de forma normal, pero con señalización a través de señales apoptóticas activadas por ligación de CD40.

Después de 48 horas, MTT se añade al cultivo y se mide la reducción en colorante, que es directamente proporcional al contenido de mitocondrias activas (es decir, células vivas).

ELISA. Las placas se revistieron con cualquiera de CD40 ecto (humano o NHP coh) y a continuación con los mAb. anti-mIgG HRP o CBD doc/a continuación CD40 ecto (coh = cohesina, NHP = primate no humano, HRP = peroxidasa de rábano picante) a continuación los mAb y a continuación HRP anti-mIgG o Captura es anti-mIgG a continuación CD40 ecto biotinilado con los Mab (humano o NHP coh). La producción de citoquinas se midió como se ha descrito en los ejemplos mencionados anteriormente.

La Fig. 35 muestra la unión de diversas construcciones cuando el anticuerpo se ha preparado en una proteína de fusión con doc y a continuación capturas. Las Figs. 36 y 37 comparan la producción de citoquinas con o sin la adición de GM-CSF e IFN $\alpha$  (Fig. 36 A-D), y anticuerpos solubles son los (Fig. 37A-D) incubados con las DC durante 24 horas. La Figura 38A-B demuestra el efecto de diversas concentraciones de anticuerpos anti-CD40 de la presente invención en la proliferación directa de linfocitos B.

Proliferación de linfocitos B. Los linfocitos B de PBMC de donantes sanos se enriquecieron con el kit de enriquecimiento de linfocitos B (de BD).  $5 \times 10^4$  linfocitos B etiquetados con CFSE se cultivaron en medio RPMI que contenía FCS al 10 % en presencia de 50 unidades/ml de IL-2 durante 6 días. La proliferación de linfocitos B se sometió a ensayo midiendo la dilución de CFSE usando citometría de flujo. De forma sorprendente, se encontró que algunos anticuerpos eran capaces de causar la proliferación de los linfocitos B a diversas diluciones, mientras que un control de inmunoglobulina y un anticuerpo anti-CD40 (los datos no se muestran) no lo hacían.

Las diversas construcciones mostradas en el presente documento demuestran que los anticuerpos CD40 (por ejemplo, 12E12) son capaces de una activación fuerte como dominios variables cuando: (1) el anticuerpo se vuelve a configurar como una quimera de región V de ratón recombinante y región C de IgG4 humana, y (2) la actividad se puede retener en el contexto de (1) con cadena H - antígeno C-terminal añadido. Estas proteínas de fusión de región variable-peptido y/o complejos aumenta en gran medida la eficacia de la vacuna.

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

Se entenderá que las realizaciones en particular descritas en el presente documento se muestran a modo de ilustración y no como limitaciones de la invención. Las principales características de la presente invención se pueden usar en diversas realizaciones sin apartarse del alcance de la invención. Los expertos en la materia reconocerán, o serán capaces de discernir el uso o de no más que experimentación de rutina, números equivalentes a los procedimientos específicos descritos en el presente documento. Tales equivalentes se consideran dentro del alcance de la presente invención y están cubiertos con las reivindicaciones.

Todas las publicaciones y solicitudes de patentes mencionadas en la memoria descriptiva son indicativas del nivel de experiencia de los expertos en la materia a la que pertenece la presente invención.

El uso de el término "un" o "uno" cuando se usa en conjunto con la expresión "que comprende" en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva pueden hacer referencia a "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 hacer referencia a "y/o" a menos que se indique de forma explícita que hace referencia solamente a alternativas o las alternativas son mutuamente exclusivas, aunque la divulgación apoye una definición que se refiere solamente a alternativas e "y/o". A través de la presente solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la variación de error inherente para el dispositivo, siendo usado el método para determinar el valor, o la variación que existe entre los objetos de estudio.

Como se usa en la presente memoria descriptiva y en la reivindicación(s), las expresiones "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 inclusivas e indefinidas y por lo tanto no excluyen elementos o etapas del método sin mencionar, adicionales.

La expresión "o combinaciones de los mismos", como se usa en el presente documento, se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los elementos enumerados que preceden a la expresión. Por ejemplo, "A, B, C, o



combinaciones de los mismos" pretende incluir al menos uno de: A, B, C, AB, AC, BC, o ABC, si el orden es importante en un contexto en particular, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC, o CAB. Continuando con este ejemplo, están incluidas de forma expresa combinaciones que contienen repeticiones de uno o más elementos o términos, tales como BB, AAA, MB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, y así sucesivamente. El experto en la materia entenderá que por lo general no hay límite en el número de elementos o términos en cualquier combinación, a menos que sea evidente de otro modo a partir del contexto.

Todas las composiciones y/o métodos desvelados y reivindicados en el presente documento se pueden preparar y ejecutar sin experimentación excesiva a la vista de la presente divulgación.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Baylor Research Institute

<120> ANTICUERPOS ANTI-CD40 Y USOS DE LOS MISMOS

<130> R 60170

<140> EP 10751218.8

<141> 05-03-2010

<150> 61/159,055

<151> 10-03-2009

<150> 61/159,059

<151> 10-03-2009

<150> 61/159,062

<151> 10-03-2009

<150> 12/718,365

<151> 05-03-2010

<160> 124

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 467

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

<400> 1

ES 2 584 956 T3

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

ES 2 584 956 T3

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr Trp  
 115 120 125  
 Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Lys Gly Pro  
 130 135 140  
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr  
 145 150 155 160  
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
 165 170 175  
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 180 185 190  
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 195 200 205  
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp  
 210 215 220  
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr  
 225 230 235 240  
 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro  
 245 250 255  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 260 265 270  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp  
 275 280 285  
 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 290 295 300  
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 305 310 315 320  
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 325 330 335

**Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys**  
 340 345 350

**Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr**  
 355 360 365

**Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr**  
 370 375 380

**Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu**  
 385 390 395 400

**Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu**  
 405 410 415

**Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys**  
 420 425 430

**Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu**  
 435 440 445

**Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly**  
 450 455 460

**Lys Ala Ser**  
 465

<210> 2  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 2

**Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln**  
 1 5 10 15

**Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser**  
 20 25 30

**Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly**  
 35 40 45

5

10

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val  
 50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ile Leu His Ser Gly Val Pro Ser  
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Gly  
 85 90 95

Asn Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn  
 100 105 110

Lys Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 3  
 <211> 203  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 3

5

10

ES 2 584 956 T3

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

Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys  
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35 40 45

Thr Asp Tyr Val Leu His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn  
 65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser  
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val  
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Pro Ala Tyr Ser Gly Tyr Ala Met Asp  
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr  
 130 135 140

Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn  
 145 150 155 160

Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro  
 165 170 175

Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr  
 180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Lys Gly Glu Phe Val  
 195 200

<210> 4  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético.

10

<400> 4

ES 2 584 956 T3

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



<210> 5  
<211> 235  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Péptido sintético.

10

<400> 5

ES 2 584 956 T3

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

Val Ile Met Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile  
20 25 30

Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser  
35 40 45

Ser Ser Val Ser Tyr Met Tyr Arg Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser  
50 55 60

Pro Lys Pro Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro  
65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile  
85 90 95

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr  
100 105 110

His Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
115 120 125

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu  
130 135 140

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe  
145 150 155 160

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg  
165 170 175

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
180 185 190

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu  
195 200 205

ES 2 584 956 T3

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser  
210 215 220

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
225 230 235

<210> 6

<211> 196

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

10

<400> 6

ES 2 584 956 T3

**Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly**  
**1 5 10 15**

**Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys**  
**20 25 30**

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

**Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Val Lys Ser Leu**  
**50 55 60**

**Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Ala Thr Ser Tyr Asn**  
**65 70 75 80**

**Gln Asn Phe Lys Asp Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser**  
**85 90 95**

**Thr Ala Tyr Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val**  
**100 105 110**

**Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Asp Tyr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr**  
**115 120 125**

**Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu**  
**130 135 140**

**Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys**  
**145 150 155 160**

**Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser**  
**165 170 175**

**Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Lys**  
**180 185 190**

**Gly Glu Phe Val**  
**195**

<210> 7  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

5

10

ES 2 584 956 T3

<400> 7

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala  
 1 5 10 15

Ser Ser Ser Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val  
 20 25 30

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu  
 35 40 45

Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro  
 50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser  
 65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala  
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys  
 100 105 110

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu  
 115 120 125

Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro  
 130 135 140

Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu  
 145 150 155 160

ES 2 584 956 T3

**Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly**  
165 170 175

**Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser**  
180 185 190

**Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp**  
195 200 205

**Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr**  
210 215 220

**Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys**  
225 230 235

<210> 8

<211> 1404

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 8

ES 2 584 956 T3

atgaacttgg	ggctcagctt	gattttcctt	gtccttgttt	taaaaggtgt	ccagtgtgaa	60
gtgaagctgg	tggagtctgg	gggaggctta	gtgcagcctg	gagggtccct	gaaactctcc	120
tgtgcaacct	ctggattcac	tttcagtgac	tattacatgt	attgggttcg	ccagactcca	180
gagaagaggc	tggagtgggt	cgcatacatt	aattctgggt	gtggtagcac	ctattatcca	240
gacctgtaa	agggccgatt	caccatctcc	agagacaatg	ccaagaacac	cctgtacctg	300
caaatgagcc	ggctgaagtc	tgaggacaca	gccatgtatt	actgtgcaag	acgggggtta	360
ccgttccatg	ctatggacta	ttggggctca	ggaacctcag	tcaccgtctc	ctcagccaaa	420
acgaagggcc	catccgtctt	ccccctggcg	ccctgctcca	ggagcacctc	cgagagcaca	480
gccgccctgg	gctgctgggt	caaggactac	ttccccgaac	cggtgacggt	gtcgtggaac	540
tcaggcggcc	tgaccagcgg	cgtgcacacc	ttcccggctg	tcctacagtc	ctcaggactc	600
tactccctca	gcagcgtggg	gaccgtgccc	tccagcagct	tgggcacgaa	gacctacacc	660
tgcaacgtag	atcacaagcc	cagcaacacc	aaggtggaca	agagagttga	gtccaaatat	720
ggtcccccat	gcccacctg	cccagcacct	gagttcgaag	ggggaccatc	agtcttctctg	780
ttccccccaa	aaccaagga	cactctcatg	atctcccgga	cccctgaggt	cacgtgcgtg	840
gtggtggacg	tgagccagga	agaccccag	gtccagttca	actggtacgt	ggatggcgtg	900
gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	gaggagcagt	tcaacagcac	gtaccgtgtg	960
gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	tggctgaacg	gcaaggagta	caagtgcaag	1020
gtctccaaca	aaggcctccc	gtcctccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	1080
ccccgagagc	cacaggtgta	caccctgccc	ccatcccagg	aggagatgac	caagaaccag	1140
gtcagcctga	cctgctgggt	caaaggcttc	taccccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1200
agcaatgggc	agccggagaa	caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	1260
tccttcttcc	tctacagcag	gctaaccgtg	gacaagagca	ggtggcagga	ggggaatgtc	1320
ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggctctg	cacaaccact	acacacagaa	gagcctctcc	1380
ctgtctctgg	gtaaagctag	ctga				1404

<210> 9  
 <211> 705  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 9

5

10

ES 2 584 956 T3

atgatgtcct ctgctcagtt ccttgggtctc ctggtgctct gttttcaagg taccagatgt 60  
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctaggaga cagagtcacc 120  
atcagttgca gtgcaagtca gggcattagc aattatthaa actggtatca gcagaaacca 180  
gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaatth tacactcagg agtcccatca 240  
aggttcagtg gcagtggttc tgggacagat tattctctca ccatcggcaa cctggaacct 300  
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag ttttaataagc ttctccgac gttcgggtgga 360  
ggcaccaaaac tcgagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 420  
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctggtgtgt gctgctgaa taacttctat 480  
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540  
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gctcagcag caccctgacg 600  
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctatgcct gcgaagtac ccatcagggc 660  
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

<210> 10  
<211> 705  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido sintético

<400> 10

atgatgtcct ctgctcagtt ccttgggtctc ctggtgctct gttttcaagg taccagatgt 60  
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctaggaga cagagtcacc 120  
atcagttgca gtgcaagtca gggcattagc aattatthaa actggtatca gcagaaacca 180  
gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaatth tacactcagg agtcccatca 240  
aggttcagtg gcagtggttc tgggacagat tattctctca ccatcggcaa cctggaacct 300  
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag ttttaataagc ttctccgac gttcgggtgga 360  
ggcaccaaaac tcgagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 420  
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctggtgtgt gctgctgaa taacttctat 480  
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540  
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gctcagcag caccctgacg 600  
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctatgcct gcgaagtac ccatcagggc 660  
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

<210> 11  
<211> 708  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido sintético



<400> 11

**atggattttc aagtgcagat ttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt cataatgtcc 60**  
**aggggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcctgt ctgcatctcc aggggagaag 120**  
**gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgtacaggta ccagcagaag 180**  
**ccaggatcct cacccaaacc ctggatttat ggcacatcca acctggcttc tggagtcctc 240**  
**gctcgcttca gtggcagtgg atctgggacc tcttattctc tcacaatcag cagcatggag 300**  
**gctgaagatg ctgccactta ttactgccag caatatcata gttaccoget cacgttcggt 360**  
**gctgggacca agctcgagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420**  
**ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480**  
**tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc 540**  
**caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600**  
**acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctatg cctgcgaagt caccatcag 660**  
**ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 708**

5

<210> 12  
 <211> 705  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

15

<400> 12

**atgatgtcct ctgctcagtt ccttggcttc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt 60**  
**gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgctt ctctgggaga cagagtcacc 120**  
**atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 180**  
**gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca 240**  
**aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 300**  
**gaagatattg ccacttactt ttgccatcat ggtaatacgc ttccgtggac gttcggtgga 360**  
**ggcaccaagc tcgagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 420**  
**tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480**  
**cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540**  
**gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600**  
**ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctatgctt gcgaagtcac ccatcagggc 660**  
**ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gtttag 705**

20

<210> 13  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético.

<400> 13

5

Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr  
1 5 10 15

Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys Pro  
20 25

<210> 14  
<211> 1389  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10

<220>  
<223> Oligonucleótido sintético

15

<400> 14

ES 2 584 956 T3

atgggatgga gctggatctt tctctttctc ctgtcaggaa ctgcaggtgt cctctctgag	60
gtccagctgc aacagtctgg acctgagctg gtgaagcctg gggcttcagt gaagatatcc	120
tgcaaggctt ctggttactc attcactggc tactacatgc actgggtgaa gcaaagccat	180
gtaaagagcc ttgagtggat tggacgtatt aatccttaca atggtgctac tagctacaac	240
cagaatttca aggacaaggc cagcttgact gtagataagt cctccagcac agcctacatg	300
gagctccaca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt actgtgcaag agaggactac	360
gtctactggg gccaaaggcac cactctcaca gtctcctcag ccaaaacgaa gggcccatcc	420
gtcttcccc tggcgccctg ctccaggagc acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc	480
ctgggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acgggtgctg ggaactcagg cgccctgacc	540
agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtcctcag gactctactc cctcagcagc	600
gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac	660
aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagtcca aatatggtcc cccatgcca	720
cctgcccag cacctgagtt cgaaggggga ccatcagtet tctgttccc cccaaaacce	780
aaggacactc tcatgatctc cgggaccct gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc	840
caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg tacgtggatg gcgtggaggt gcataatgcc	900
aagacaaagc cgcgggagga gcagttcaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc	960
gtcctgcacc aggactggct gaacggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc	1020
ctcccgtcct ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agagccacag	1080
gtgtacacc tgcctccatc ccaggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc	1140
ctgggtcaaag gcttctacc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg	1200
gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggtcctt ctctctctac	1260
agcaggctaa ccgtggacaa gagcaggtgg caggagggga atgtcttctc atgctccgtg	1320
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca cagaagagcc tctccctgtc tctgggtaaa	1380
gctagctga	1389

<210> 15  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 15

5

10

ES 2 584 956 T3

atgaagttgc ctgtaggct gttggtgctg atgttctgga ttctgcttc cagcagtgat 60  
 gttgtgatga cccaaactcc actetccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120  
 tcttgcagat ctagtcagag ccttgtacac agtaatggaa acacctatctt acattggtac 180  
 ctgcagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240  
 ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcgcact caagatcagt 300  
 agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgctctc aaagtacaca tgttccgtgg 360  
 acgttcggtg gaggcaccaa gctcgagatc aaacgaactg tggetgcacc atctgtcttc 420  
 atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 480  
 aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggagg tggataacgc cctccaatcg 540  
 ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600  
 agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctatgc ctgcgaagtc 660  
 acccatcagg gcctgagctc gccctgcaca aagagcttca acaggggaga gtgtag 717

5 <210> 16  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 16

Val Gly Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr  
 1 5 10 15

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

15 <210> 17  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 17

His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro  
 1 5 10 15

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

25 <210> 18  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético.

5 <400> 18

**Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys**  
**1 5 10 15**

**His Ile Val**

10 <210> 19  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético.

<400> 19

**Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu**  
**1 5 10 15**

**Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp**  
**20 25 30**

**Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ala Ser**  
**35 40**

20 <210> 20  
<211> 56  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético.

<400> 20

30 **Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys**  
**1 5 10 15**

**Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Lys**  
**20 25 30**

**Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln**  
**35 40 45**

**Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Ala Ser**  
**50 55**

35 <210> 21  
<211> 745  
<212> PRT

ES 2 584 956 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

5

<400> 21

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser  
 20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60

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

Phe Leu Lys Ile Thr Ile Val Asp Thr Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr  
 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser His Tyr Tyr Gly Tyr Gly Tyr Gly Gly Tyr Phe  
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr  
 115 120 125

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

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

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

ES 2 584 956 T3

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

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

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 435 440 445

Ser Leu Gly Lys Ala Ser Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr  
 450 455 460

Pro Thr Asn Asn Ser Thr Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn  
 465 470 475 480

Pro Ala Ser Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr  
 485 490 495

Lys Leu Lys His Ile Val Ala Ser Ser Ser Val Ser Pro Thr Thr Ser  
 500 505 510

Val His Pro Thr Pro Thr Ser Val Pro Pro Thr Pro Thr Lys Ser Ser  
 515 520 525

Pro Ala Ser Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp  
 530 535 540

Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser  
 545 550 555 560

Ile Leu Asp Ala Ser Pro Thr Ser Thr Pro Ala Asp Ser Ser Thr Ile  
 565 570 575

Thr Pro Thr Ala Thr Pro Thr Ala Thr Pro Thr Ile Lys Gly Ala Ser  
 580 585 590

His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro  
 595 600 605

Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Leu Tyr Lys Leu Ala Ser  
 610 615 620

Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr  
 625 630 635 640

Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys Pro Ala Ser Val Gly Phe Pro Val  
 645 650 655



ES 2 584 956 T3

Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala Ala Val Asp  
660 665 670

Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Ala Ser Thr Asn Gly  
675 680 685

Ser Ile Thr Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn  
690 695 700

Ala Thr Pro Ser Ala Ala Ala Ser Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr  
705 710 715 720

Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr  
725 730 735

Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Ala Ser  
740 745

<210> 22  
<211> 739  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético.

<400> 22

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

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

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Ser Val Thr Val 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  
 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

Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr  
 450 455 460

Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn Pro Ala Ser Glu Lys Ile  
 465 470 475 480

Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val  
 485 490 495

Ala Ser Ser Ser Val Ser Pro Thr Thr Ser Val His Pro Thr Pro Thr  
 500 505 510

Ser Val Pro Pro Thr Pro Thr Lys Ser Ser Pro Ala Ser Asn Pro Pro  
 515 520 525

Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn  
 530 535 540

Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ala Ser Pro  
 545 550 555 560

Thr Ser Thr Pro Ala Asp Ser Ser Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Pro  
 565 570 575

Thr Ala Thr Pro Thr Ile Lys Gly Ala Ser His Thr Gln Gly Tyr Phe  
580 585 590

Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu  
595 600 605

Thr Phe Gly Trp Leu Tyr Lys Leu Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala  
610 615 620

Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr  
625 630 635 640

Thr Lys Pro Ala Ser Val Gly Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu  
645 650 655

Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys  
660 665 670

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

Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr Pro Ser Ala Ala  
690 695 700

Ala Ser Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe  
705 710 715 720

Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Leu  
725 730 735

Tyr Ala Ser

5 <210> 23  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético.  
<400> 23

Tyr Thr Ser Ile Leu His Ser  
1 5

15 <210> 24  
<211> 10  
<212> PRT

ES 2 584 956 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

5

<400> 24

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Tyr  
1 5 10

10

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Péptido sintético.

<400> 25

Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys  
1 5 10 15

20

Gly

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

30

<400> 26

Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr  
1 5 10

35

<210> 27

<211> 70

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Oligonucleótido sintético

<400> 27

**gctagcgata caacagaacc tgcaacaacct acaacacctg taacaacacc gacaacaaca 60**

**cttctagcgc 70**

45

<210> 28

<211> 186

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Oligonucleótido sintético

ES 2 584 956 T3

<400> 28

```

gacaccaccg aggcccgccca cccccacccc cccgtgacca cccccaccac caccgaccgg      60
aagggcacca ccgccgagga gctggccggc atcgcatcc tgaccgtgat cctgggcccgc      120
aagcggacca acaacagcac cccaaccaag ggogaattct gcagatatcc atcacactgg      180
cggccg                                     186
    
```

5 <210> 29  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 29

```

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

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

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

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

15 <210> 30  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

25 <400> 30

```

Met Lys Ala Asn Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Ala Asp
1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg
50 55 60
    
```

<210> 31

ES 2 584 956 T3

<211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 31

**Leu Lys Gly Ile Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly**  
**1 5 10 15**

**Trp Leu Leu Gly Asn Pro Glu Cys Asp Pro Leu Leu Pro Val Arg Ser**  
**20 25 30**

**Trp Ser Tyr Ile Val Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Ile Cys Tyr**  
**35 40 45**

10 **Pro Gly Asp Phe Ile Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu**  
**50 55 60**

15 <210> 32  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.  
 20 <400> 32

**Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys**  
**1 5 10 15**

**Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Asn Thr Asn Gly Val Thr Ala Ala Cys**  
**20 25 30**

**Ser His Glu Gly Lys Ser Ser Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr**  
**35 40 45**

**Glu Lys Glu Gly Ser Tyr Pro Lys Leu Lys Asn Ser**  
**50 55 60**

25 <210> 33  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 33

ES 2 584 956 T3

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

His Pro Pro Asn Ser Lys Glu Gln Gln Asn Leu Tyr Gln Asn Glu Asn  
 20 25 30

Ala Tyr Val Ser Val Val Thr Ser Asn Tyr Asn Arg Arg Phe Thr Pro  
 35 40 45

Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Ala  
 50 55 60

<210> 34  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético.

10

<400> 34

Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Lys Pro Gly Asp Thr Ile  
 1 5 10 15

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Met Tyr Ala Phe Ala  
 20 25 30

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser Met  
 35 40 45

His Glu Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly  
 50 55 60

15 <210> 35  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 35



ES 2 584 956 T3

**Ala Ile Asn Ser Ser Leu Pro Tyr Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile**  
**1 5 10 15**

**Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr**  
**20 25 30**

**Gly Leu Arg Asn Ile Pro Ser Ile**  
**35 40**

5 <210> 36  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético  
<400> 36

**Ser Ser Phe Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro**  
**1 5 10 15**

**Asn**

15 <210> 37  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Péptido sintético.  
<400> 37

**Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala Leu Ser Arg Gly Phe**  
**1 5 10 15**

**Gly**

25 <210> 38  
<211> 17  
<212> PRT  
30 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético.  
35 <400> 38

**Trp Tyr Ala Phe Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr**  
**1 5 10 15**

**Ser**

<210> 39

ES 2 584 956 T3

<211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 39

**Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp**  
**1 5 10 15**

**Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Lys Met**  
**20 25 30**

**Ile Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Ile Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys**  
**35 40 45**

**Leu Ser Asp Tyr Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser**  
**50 55 60**

10 <210> 40  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

20 <400> 40

**Leu Thr Ile Glu Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn**  
**1 5 10 15**

**Lys Tyr Leu Glu Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr**  
**20 25 30**

**Gly Gly Pro Ile Tyr Arg Arg Val Asn Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu**  
**35 40 45**

**Ile Leu Tyr Asp Lys Glu Glu Ile Arg Arg Ile Trp**  
**50 55 60**

25 <210> 41  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 41

**Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Asn**  
**1 5 10**

5 <210> 42  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Región de dominio variable de cadena pesada del sitio de unión al antígeno de una molécula de unión CD 40 sintética

<400> 42

**Tyr Thr Ser Ile Leu His Ser**  
**1 5**

15 <210> 43  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 43

**Gln Gln Phe Asn Lys Leu Pro Pro Thr**  
**1 5**

25 <210> 44  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <400> 44

**Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Tyr**  
**1 5 10**

40 <210> 45  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 45

**Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys**  
**1 5 10 15**

**Gly**

50 <210> 46  
 <211> 10

ES 2 584 956 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Péptido sintético.

<400> 46

**Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr**  
**1 5 10**

10 <210> 47  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético.

20 <400> 47

**Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr**  
**1 5 10**

25 <210> 48  
<211> 36  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Oligonucleótido sintético

<400> 48  
ggatggtggg aagatggata cagttggtgc agcatc 36

35 <210> 49  
<211> 31  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Oligonucleótido sintético

<400> 49  
ccaggcatcc tagagtcacc gaggagccag t 31

45 <210> 50  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético.

<400> 50

**Arg Thr Gly Met Asp Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr**  
**1 5 10 15**

55 **Leu**

ES 2 584 956 T3

<210> 51  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 51  
 10  
**Met Cys Asn Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Lys Ala**  
**1 5 10 15**  
  
**Met**  
 <210> 52  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20  
 <400> 52  
  
**Met Trp Val Pro Val Val Phe Leu Thr Leu Ser Val Thr Trp Ile Gly**  
**1 5 10 15**  
  
**Ala Ala Pro Leu Ile Leu Ser Arg Ile Val Gly Gly Trp Glu Cys Glu**  
**20 25 30**  
  
**Lys His Ser Gln Pro Trp Gln Val Leu Val Ala Ser Arg Gly Arg Ala**  
**35 40 45**  
  
**Val Cys Gly Gly Val Leu Val His Pro Gln Trp Val**  
**50 55 60**  
 25  
 <210> 53  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30  
 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 53

ES 2 584 956 T3

Leu Thr Ala Ala His Cys Ile Arg Asn Lys Ser Val Ile Leu Leu Gly  
 1 5 10 15

Arg His Ser Leu Phe His Pro Glu Asp Thr Gly Gln Val Phe Gln Val  
 20 25 30

Ser His Ser Phe Pro His Pro Leu Tyr Asp Met Ser Leu Leu Lys Asn  
 35 40 45

Arg Phe Leu Arg Pro Gly Asp Asp Ser Ser His Asp  
 50 55 60

<210> 54  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 54

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

Lys Val Met Asp Leu Pro Thr Gln Glu Pro Ala Leu Gly Thr Thr Cys  
 20 25 30

Tyr Ala Ser Gly Trp Gly Ser Ile Glu Pro Glu Glu Phe Leu Thr Pro  
 35 40 45

Lys Lys Leu Gln Cys Val Asp Leu His Val Ile Ser  
 50 55 60

<210> 55  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 55

ES 2 584 956 T3

**Asn Asp Val Cys Ala Gln Val His Pro Gln Lys Val Thr Lys Phe Met**  
**1 5 10 15**

**Leu Cys Ala Gly Arg Trp Thr Gly Gly Lys Ser Thr Cys Ser Gly Asp**  
**20 25 30**

**Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Gly Val Leu Gln Gly Ile Thr Ser**  
**35 40 45**

**Trp Gly Ser Glu Pro Cys Ala Leu Pro Glu Arg Pro**  
**50 55 60**

<210> 56  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 56

**Ser Leu Tyr Thr Lys Val Val His Tyr Arg Lys Trp Ile Lys Asp Thr**  
**1 5 10 15**

**Ile Val Ala Asn Pro**  
**20**

<210> 57  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 57

**Ala Pro Leu Ile Leu Ser Arg Ile Val Gly Gly Trp Glu Cys Glu**  
**1 5 10 15**

<210> 58  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 58

**Glu Cys Glu Lys His Ser Gln Pro Trp Gln Val Leu Val Ala Ser**  
**1 5 10 15**

<210> 59

<211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 59

**Gly Asp Asp Ser Ser His Asp Leu Met Leu Leu Arg Leu Ser Glu**  
**1 5 10 15**

10 <210> 60  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 60

**Ser His Asp Leu Met Leu Leu Arg Leu Ser Glu Pro Ala Glu Leu**  
**1 5 10 15**

20 <210> 61  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 61

**Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Gly Val Leu Gln**  
**1 5 10 15**

30 <210> 62  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 62

**Gly Ser Glu Pro Cys Ala Leu Pro Glu Arg Pro Ser Leu Tyr Thr**  
**1 5 10 15**

40 <210> 63  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 63



**Glu Arg Pro Ser Leu Tyr Thr Lys Val Val His Tyr Arg Lys Trp**  
**1 5 10 15**

5 <210> 64  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 64

**Val Val His Tyr Arg Lys Trp Ile Lys Asp Thr Ile Val Ala Asn**  
**1 5 10 15**

15 <210> 65  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.

25 <400> 65

**Met Arg Ser Tyr Arg Phe Ser Asp Tyr Leu His Met Ser Val Ser Phe**  
**1 5 10 15**

**Ser Asn Asp Met Asp Leu Phe Cys Gly Glu Asp Ser Gly Val Phe Ser**  
**20 25 30**

**Gly Glu Ser Thr Val Asp Phe Ser Ser Ser Glu Val Asp Ser Trp Pro**  
**35 40 45**

**Gly Asp Ser Ile Ala Cys Phe Ile Glu Asp Glu Arg**  
**50 55 60**

30 <210> 66  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 66

ES 2 584 956 T3

His Phe Val Pro Gly His Asp Tyr Leu Ser Arg Phe Gln Thr Arg Ser  
 1 5 10 15

Leu Asp Ala Ser Ala Arg Glu Asp Ser Val Ala Trp Ile Leu Lys Val  
 20 25 30

Gln Ala Tyr Tyr Asn Phe Gln Pro Leu Thr Ala Tyr Leu Ala Val Asn  
 35 40 45

Tyr Met Asp Arg Phe Leu Tyr Ala Arg Arg Leu Pro  
 50 55 60

<210> 67  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético.

10

<400> 67

Glu Thr Ser Gly Trp Pro Met Gln Leu Leu Ala Val Ala Cys Leu Ser  
 1 5 10 15

Leu Ala Ala Lys Met Glu Glu Ile Leu Val Pro Ser Leu Phe Asp Phe  
 20 25 30

Gln Val Ala Gly Val Lys Tyr Leu Phe Glu Ala Lys Thr Ile Lys Arg  
 35 40 45

Met Glu Leu Leu Val Leu Ser Val Leu Asp Trp Arg  
 50 55 60

<210> 68  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético.

20

<400> 68

ES 2 584 956 T3

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

Ile Asp Pro Ser Gly Thr Phe Leu Gly Phe Phe Ile Ser His Ala Thr  
 20 25 30

Glu Ile Ile Leu Ser Asn Ile Lys Glu Ala Ser Phe Leu Glu Tyr Trp  
 35 40 45

Pro Ser Ser Ile Ala Ala Ala Ala Ile Leu Cys Val  
 50 55 60

<210> 69  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético.

10

<400> 69

Ala Asn Glu Leu Pro Ser Leu Ser Ser Val Val Asn Pro His Glu Ser  
 1 5 10 15

Pro Glu Thr Trp Cys Asp Gly Leu Ser Lys Glu Lys Ile Val Arg Cys  
 20 25 30

Tyr Arg Leu Met Lys Ala Met Ala Ile Glu Asn Asn Arg Leu Asn Thr  
 35 40 45

Pro Lys Val Ile Ala Lys Leu Arg Val Ser Val Arg  
 50 55 60

<210> 70  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético.

20

<400> 70

**Ala Ser Ser Thr Leu Thr Arg Pro Ser Asp Glu Ser Ser Phe Ser Ser**  
**1 5 10 15**

**Ser Ser Pro Cys Lys Arg Arg Lys Leu Ser Gly Tyr Ser Trp Val Gly**  
**20 25 30**

**Asp Glu Thr Ser Thr Ser Asn**  
**35**

5 <210> 71  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 71

**Asp Arg Val Leu Arg Ala Met Leu Lys Ala Glu Glu Thr Cys Ala**  
**1 5 10 15**

15 <210> 72  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 72

**Arg Ala Met Leu Lys Ala Glu Glu Thr Cys Ala Pro Ser Val Ser**  
**1 5 10 15**

25 <210> 73  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 73

**Thr Cys Ala Pro Ser Val Ser Tyr Phe Lys Cys Val Gln Lys Glu**  
**1 5 10 15**

40 <210> 74  
 <211> 587  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 74

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Ser Val Thr Val 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  
 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  
 Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr  
 450 455 460  
 Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn Pro Ala Ser Gly Phe Asp  
 465 470 475 480

ES 2 584 956 T3

His Arg Asp Ser Lys Val Ser Leu Gln Glu Lys Asn Cys Glu Pro Val  
 485 490 495

Val Pro Asn Ala Pro Pro Ala Tyr Glu Lys Leu Ser Ala Glu Gln Ser  
 500 505 510

Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile Thr Val Ala  
 515 520 525

Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr Pro Ser Ala  
 530 535 540

Ala Ala Ser Met Pro Arg Glu Asp Ala His Phe Ile Tyr Gly Tyr Pro  
 545 550 555 560

Lys Lys Gly His Gly His Ser Tyr Thr Thr Ala Glu Glu Ala Ala Gly  
 565 570 575

Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly Ala Ser  
 580 585

<210> 75  
 <211> 656  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético.

10

<400> 75

ES 2 584 956 T3

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

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

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys



													<b>85</b>														<b>90</b>														<b>95</b>
Ala	Arg	Arg	Gly	Leu	Pro	Phe	His	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly																										
			100					105					110																												
Thr	Ser	Val	Thr	Val	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	
		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				
Gln	Thr	Pro	Thr	Asn	Thr	Ile	Ser	Val	Thr	Pro	Thr	Asn	Asn	Ser	Thr	
	450					455					460					
Pro	Thr	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Lys	Pro	Asn	Pro	Ala	Ser	Gly	Phe	Asp	
465					470					475					480	
His	Arg	Asp	Ser	Lys	Val	Ser	Leu	Gln	Glu	Lys	Asn	Cys	Glu	Pro	Val	
				485					490					495		
Val	Pro	Asn	Ala	Pro	Pro	Ala	Tyr	Glu	Lys	Leu	Ser	Ala	Glu	Gln	Ser	
			500					505					510			
Pro	Pro	Pro	Tyr	Ser	Pro	Ala	Ser	Thr	Asn	Gly	Ser	Ile	Thr	Val	Ala	
		515					520					525				
Ala	Thr	Ala	Pro	Thr	Val	Thr	Pro	Thr	Val	Asn	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala	
	530					535					540					
Ala	Ala	Ser	Met	Pro	Arg	Glu	Asp	Ala	His	Phe	Ile	Tyr	Gly	Tyr	Pro	
545					550					555					560	
Lys	Lys	Gly	His	Gly	His	Ser	Tyr	Thr	Thr	Ala	Glu	Glu	Ala	Ala	Gly	

					565					570					575
Ile	Gly	Ile	Leu	Thr	Val	Ile	Leu	Gly	Ala	Ser	Thr	Val	Thr	Pro	Thr
			580					585					590		
Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala	Ile	Val	Thr	Thr	Ile	Thr	Pro	Thr	Ala
		595					600					605			
Thr	Thr	Lys	Pro	Ala	Ser	Val	Leu	Leu	Leu	Ile	Gly	Cys	Trp	Tyr	Cys
	610					615					620				
Arg	Arg	Arg	Asn	Gly	Tyr	Arg	Ala	Leu	Met	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Val
625					630					635					640
Gly	Thr	Gln	Cys	Ala	Leu	Thr	Arg	Arg	Cys	Pro	Gln	Glu	Gly	Ala	Ser
				645					650					655	

<210> 76  
 <211> 593  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Péptido sintético.

10

<400> 76

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

ES 2 584 956 T3

Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr  
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 305 310 315 320

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

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

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
385 390 395 400

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

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

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
435 440 445

Ser Leu Gly Lys Ala Ser Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr  
450 455 460

Pro Thr Asn Asn Ser Thr Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn  
465 470 475 480

Pro Ala Ser Gly Phe Asp His Arg Asp Ser Lys Val Ser Leu Gln Glu  
485 490 495

Lys Asn Cys Glu Pro Val Val Pro Asn Ala Pro Pro Ala Tyr Glu Lys  
500 505 510

Leu Ser Ala Glu Gln Ser Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Ala Ser Thr Asn  
515 520 525

Gly Ser Ile Thr Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val  
530 535 540

Asn Ala Thr Pro Ser Ala Ala Ala Ser Met Pro Arg Glu Asp Ala His  
545 550 555 560

Phe Ile Tyr Gly Tyr Pro Lys Lys Gly His Gly His Ser Tyr Thr Thr  
565 570 575

Ala Glu Glu Ala Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly Ala  
580 585 590

Ser

ES 2 584 956 T3

<210> 77  
 <211> 660  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
  
 10 <400> 77

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

ES 2 584 956 T3

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

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



5  
 <210> 78  
 <211> 630  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

10  
 <400> 78

```

aacaccgaca acaacagatg atctggatgc agctagtggg ttgatcatc gggacagcaa      60
agtgtctctt caagagaaaa actgtgaacc tgtggttccc aatggtccac ctgcttatga      120
gaaactctct gcagaacagt caccaccacc ttattcacct gctagtacca acggcagcat      180
caccgtggcc gccaccgccc ccaccgtgac ccccaccgtg aacgccaccc ccagcgcgcg      240
cgctagtatg ccaagagaag atgctcactt catctatggt taccccaaga aggggcacgg      300
ccactcttac accacggctg aagaggccgc tgggatcggc atcctgacag tgatcctggg      360
agctagtacc gtgaccccca ccgccaccgc cacccccagc gccatcgtga ccaccatcac      420
ccccaccgcc accaccaagc ccgctagtgt cttactgctc atcggctggt ggtattgtag      480
aagacgaaat ggatacagag ccttgatgga taaaagtctt catggtggca ctcaatgtgc      540
cttaacaaga agatgcccac aagaagggtg agcggccgca tcgaagagct cggtagcccg      600
ggatcctcta gagtcgacct gcaggcattg      630
    
```

15  
 <210> 79  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

20  
 <400> 79

```

Gly Phe Asp His Arg Asp Ser Lys Val Ser Leu Gln Glu Lys Asn Cys
1                5                10                15
  

Glu Pro Val Val Pro Asn Ala Pro Pro Ala Tyr Glu Lys Leu Ser Ala
                20                25                30
  

Glu Gln Ser Pro Pro Pro Tyr Ser Pro
35                40
    
```

25  
 <210> 80  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30  
 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 80

ES 2 584 956 T3

**Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile Thr Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val**  
**1 5 10 15**

**Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr Pro Ser Ala Ala Ala Ser**  
**20 25**

5 <210> 81  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 81

**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**  
**35**

15 <210> 82  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 82

**Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile Val**  
**1 5 10 15**

**Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys Pro Ala Ser**  
**20 25**

25 <210> 83  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 35 <400> 83

ES 2 584 956 T3

Val Leu Leu Leu Ile Gly Cys Trp Tyr Cys Arg Arg Arg Asn Gly Tyr  
 1 5 10 15

Arg Ala Leu Met Asp Lys Ser Leu His Val Gly Thr Gln Cys Ala Leu  
 20 25 30

Thr Arg Arg Cys Pro Gln Glu Gly  
 35 40

<210> 84  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 84

Gly Phe Asp His Arg Asp Ser Lys Val Ser Leu Gln Glu Lys Asn Cys  
 1 5 10 15

Glu Pro Val Val Pro Asn Ala Pro Pro Ala Tyr Glu Lys Leu Ser Ala  
 20 25 30

Glu Gln Ser Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile  
 35 40 45

Thr Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr  
 50 55 60

Pro Ser Ala Ala Ala Ser Met Pro Arg Glu Asp Ala His Phe Ile Tyr  
 65 70 75 80

Gly Tyr Pro Lys Lys Gly His Gly His Ser Tyr Thr Thr Ala Glu Glu  
 85 90 95

Ala Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly Ala Ser  
 100 105 110

<210> 85  
 <211> 675  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 85

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr  
 225 230 235 240

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro  
 245 250 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 260 265 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp  
 275 280 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 290 295 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 305 310 315 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 325 330 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys  
 340 345 350

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 355 360 365

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys  
 420 425 430

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 450 455 460

ES 2 584 956 T3

Lys Ala Ser Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn  
 465 470 475 480

Asn Ser Thr Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn Pro Ala Ser  
 485 490 495

Gly Phe Asp His Arg Asp Ser Lys Val Ser Leu Gln Glu Lys Asn Cys  
 500 505 510

Glu Pro Val Val Pro Asn Ala Pro Pro Ala Tyr Glu Lys Leu Ser Ala  
 515 520 525

Glu Gln Ser Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile  
 530 535 540

Thr Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr  
 545 550 555 560

Pro Ser Ala Ala Ala Ser Met Pro Arg Glu Asp Ala His Phe Ile Tyr  
 565 570 575

Gly Tyr Pro Lys Lys Gly His Gly His Ser Tyr Thr Thr Ala Glu Glu  
 580 585 590

Ala Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly Ala Ser Thr Val  
 595 600 605

Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr Ile Thr  
 610 615 620

Pro Thr Ala Thr Thr Lys Pro Ala Ser Val Leu Leu Leu Ile Gly Cys  
 625 630 635 640

Trp Tyr Cys Arg Arg Arg Asn Gly Tyr Arg Ala Leu Met Asp Lys Ser  
 645 650 655

Leu His Val Gly Thr Gln Cys Ala Leu Thr Arg Arg Cys Pro Gln Glu  
 660 665 670

Gly Ala Ser  
 675

<210> 86  
 <211> 606  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

5

<400> 86

ES 2 584 956 T3

Met Asn Leu Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe  
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu  
50 55 60

Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro  
65 70 75 80

Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn  
85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr Trp  
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Lys Gly Pro  
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr  
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
195 200 205

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp



ES 2 584 956 T3

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

450		455		460											
Lys	Ala	Ser	Gln	Thr	Pro	Thr	Asn	Thr	Ile	Ser	Val	Thr	Pro	Thr	Asn
465					470					475					480
Asn	Ser	Thr	Pro	Thr	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Lys	Pro	Asn	Pro	Ala	Ser
				485					490					495	
Gly	Phe	Asp	His	Arg	Asp	Ser	Lys	Val	Ser	Leu	Gln	Glu	Lys	Asn	Cys
			500					505					510		
Glu	Pro	Val	Val	Pro	Asn	Ala	Pro	Pro	Ala	Tyr	Glu	Lys	Leu	Ser	Ala
		515					520					525			
Glu	Gln	Ser	Pro	Pro	Pro	Tyr	Ser	Pro	Ala	Ser	Thr	Asn	Gly	Ser	Ile
	530					535					540				
Thr	Val	Ala	Ala	Thr	Ala	Pro	Thr	Val	Thr	Pro	Thr	Val	Asn	Ala	Thr
545					550					555					560
Pro	Ser	Ala	Ala	Ala	Ser	Met	Pro	Arg	Glu	Asp	Ala	His	Phe	Ile	Tyr
				565					570					575	
Gly	Tyr	Pro	Lys	Lys	Gly	His	Gly	His	Ser	Tyr	Thr	Thr	Ala	Glu	Glu
			580					585					590		
Ala	Ala	Gly	Ile	Gly	Ile	Leu	Thr	Val	Ile	Leu	Gly	Ala	Ser		
		595					600					605			

<210> 87  
 <211> 661  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 87

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

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  
 340 345 350

Val Pro Thr Thr Glu Val Ile Ser Thr Ala Pro Val Gln Met Pro Thr  
 355 360 365

Ala Glu Ser Thr Gly Met Thr Pro Glu Lys Val Pro Val Ser Glu Val  
 370 375 380

Met Gly Thr Thr Leu Ala Glu Met Ser Thr Pro Glu Ala Thr Gly Met  
 385 390 395 400

Thr Pro Ala Glu Val Ser Ile Val Val Leu Ser Gly Thr Thr Ala Ala  
 405 410 415

Gln Val Thr Thr Thr Glu Trp Val Glu Thr Thr Ala Arg Glu Leu Pro  
 420 425 430

Ile Pro Glu Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu  
 435 440 445

Ser Ile Thr Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu  
 450 455 460

Arg Leu Val Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr  
 465 470 475 480

Gly Ser Phe Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu Ser Ala  
 485 490 495

Glu Ile Leu Gln Ala Val Pro Ser Gly Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu  
 500 505 510

Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Glu Ile  
 515 520 525

Ser Ser Pro Gly Cys Gln Pro Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val  
 530 535 540

Leu Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Ile Leu Lys Gly  
 545 550 555 560

Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Thr Asn Ser  
 565 570 575

Leu Ala Val Val Ser Thr Gln Leu Ile Met Pro Gly Gln Glu Ala Gly  
 580 585 590

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> 88  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 88

**Ile Met Asp Gln Val Pro Phe Ser Val**  
**1 5**

15 <210> 89  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 89

Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val  
 1 5

5 <210> 90  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 90

Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Val  
 1 5

15 <210> 91  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 91

Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala  
 1 5

25 <210> 92  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 92

Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp Gln Val  
 1 5

35 <210> 93  
 <211> 1160  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 93

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

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

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Ser Val Thr Val 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  
 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

Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val Thr Thr Pro Thr  
 450 455 460

Thr Thr Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp Leu Gly Val Ser Arg Gln  
 465 470 475 480

Leu Arg Thr Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu Trp Thr Glu  
 485 490 495



Ala Gln Arg Leu Asp Cys Trp Arg Gly Gly Gln Val Ser Leu Lys Val  
500 505 510

Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala Asn Ala Ser Phe Ser Ile  
515 520 525

Ala Leu Asn Phe Pro Gly Ser Gln Lys Val Leu Pro Asp Gly Gln Val  
530 535 540

Ile Trp Val Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly Ser Gln Val Trp Gly Gly  
545 550 555 560

Gln Pro Val Tyr Pro Gln Glu Thr Asp Asp Ala Cys Ile Phe Pro Asp  
565 570 575

Gly Gly Pro Cys Pro Ser Gly Ser Trp Ser Gln Lys Arg Ser Phe Val  
580 585 590

Tyr Val Trp Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp Gln Val Leu Gly Gly Pro  
595 600 605

Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu Gly Thr His  
610 615 620

Thr Met Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg Gly Ser Gln Ser Tyr Val  
625 630 635 640

Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr Ile Thr Asp Gln Val Pro  
645 650 655

Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Arg Ala Leu Asp Gly Gly Asn Lys  
660 665 670

His Phe Leu Arg Asn Gln Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile Thr Val Ala  
675 680 685

Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr Pro Ser Ala  
690 695 700

Ala Ala Ser Gly Thr Thr Asp Gly His Arg Pro Thr Thr Glu Ala Pro  
705 710 715 720

Asn Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Val Gly Thr Thr  
725 730 735

Pro Gly Gln Ala Pro Thr Ala Glu Pro Ser Gly Thr Thr Ser Val Gln  
 740 745 750  
 Val Pro Thr Thr Glu Val Ile Ser Thr Ala Pro Val Gln Met Pro Thr  
 755 760 765  
 Ala Glu Ser Thr Gly Met Thr Pro Glu Lys Val Pro Val Ser Glu Val  
 770 775 780  
 Met Gly Thr Thr Leu Ala Glu Met Ser Thr Pro Glu Ala Thr Gly Met  
 785 790 795 800  
 Thr Pro Ala Glu Val Ser Ile Val Val Leu Ser Gly Thr Thr Ala Ala  
 805 810 815  
 Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile Val  
 820 825 830  
 Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys Pro Ala Ser Gln Val Thr  
 835 840 845  
 Thr Thr Glu Trp Val Glu Thr Thr Ala Arg Glu Leu Pro Ile Pro Glu  
 850 855 860  
 Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu Ser Ile Thr  
 865 870 875 880  
 Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu Arg Leu Val  
 885 890 895  
 Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr Gly Ser Phe  
 900 905 910  
 Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile Thr  
 915 920 925  
 Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr Pro  
 930 935 940  
 Ser Ala Ala Ala Ser Gly Ile Glu Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val  
 945 950 955 960  
 Pro Ser Gly Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly  
 965 970 975

ES 2 584 956 T3

Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Glu Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln  
 980 985 990

Pro Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val Leu Pro Ser Pro Ala Cys  
 995 1000 1005

Gln Leu Val Leu His Gln Ile Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr  
 1010 1015 1020

Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Thr Asn Ser Leu Ala Val Val  
 1025 1030 1035

Ser Thr Gln Leu Ile Val Pro Gly Ile Leu Leu Thr Gly Gln Glu  
 1040 1045 1050

Ala Gly Leu Gly Gln Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala  
 1055 1060 1065

Thr Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr  
 1070 1075 1080

Lys Pro Ala Ser Pro Leu Thr Phe Ala Leu Gln Leu His Asp Pro  
 1085 1090 1095

Ser Gly Tyr Leu Ala Glu Ala Asp Leu Ser Tyr Thr Trp Asp Phe  
 1100 1105 1110

Gly Asp Ser Ser Gly Thr Leu Ile Ser Arg Ala Leu Val Val Thr  
 1115 1120 1125

His Thr Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala Gln Val Val Leu  
 1130 1135 1140

Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Pro Val Pro  
 1145 1150 1155

Ala Ser  
 1160

<210> 94  
 <211> 1161  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 94

5

10

ES 2 584 956 T3

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  
 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



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



ES 2 584 956 T3

945                        950                        955                        960

Val Pro Ser Gly Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln  
                                965                                970                                975

Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Glu Ile Ser Ser Pro Gly Cys  
                                980                                985                                990

Gln Pro Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val Leu Pro Ser Pro Ala  
                                995                                1000                                1005

Cys Gln Leu Val Leu His Gln Ile Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr  
                                1010                                1015                                1020

Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Thr Asn Ser Leu Ala Val  
                                1025                                1030                                1035

Val Ser Thr Gln Leu Ile Val Pro Gly Ile Leu Leu Thr Gly Gln  
                                1040                                1045                                1050

Glu Ala Gly Leu Gly Gln Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr  
                                1055                                1060                                1065

Ala Thr Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr  
                                1070                                1075                                1080

Thr Lys Pro Ala Ser Pro Leu Thr Phe Ala Leu Gln Leu His Asp  
                                1085                                1090                                1095

Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Glu Ala Asp Leu Ser Tyr Thr Trp Asp  
                                1100                                1105                                1110

Phe Gly Asp Ser Ser Gly Thr Leu Ile Ser Arg Ala Leu Val Val  
                                1115                                1120                                1125

Thr His Thr Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala Gln Val Val  
                                1130                                1135                                1140

Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Pro Val  
                                1145                                1150                                1155

Pro Ala Ser  
                                1160

<210> 95  
<211> 2142  
<212> ADN



ES 2 584 956 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido sintético

5

<400> 95

<b>gatacaacag aacctgcaac acctacaaca cctgtaacaa caccgacaac aacaaaagta</b>	<b>60</b>
<b>cccagaaacc aggactggct tgggtgtctca aggcaactca gaaccaaaagc ctggaacagg</b>	<b>120</b>
<b>cagctgtatc cagagtggac agaagcccag agacttgact gctggagagg tgggtcaagtg</b>	<b>180</b>
<b>tcctcaagg tcagtaatga tgggcctaca ctgattgggtg caaatgcctc ettctctatt</b>	<b>240</b>
<b>gccttgaact tccttgggaag ccaaaaaggta ttgccagatg ggcaggttat ctgggtcaac</b>	<b>300</b>
<b>aataccatca tcaatgggag ccaggtgtgg ggaggacagc cagtgtatcc ccaggaaact</b>	<b>360</b>
<b>gacgatgcct gcatcttccc tgatgggtgga cettgcccac ctggctcttg gtctcagaag</b>	<b>420</b>
<b>agaagctttg tttatgtctg gaagacctgg ggccaatact ggcaagttct agggggccca</b>	<b>480</b>
<b>gtgtctgggc tgagcattgg gacaggcagg gcaatgctgg gcacacacac catggaagtg</b>	<b>540</b>
<b>actgtctacc atcgccgggg atcccagagc tatgtgcctc ttgctcattc cagctcagcc</b>	<b>600</b>
<b>ttcaccatta ctgaccaggt gcctttctcc gtgagcgtgt cccagttgcg ggccttggat</b>	<b>660</b>
<b>ggagggaaca agcacttccet gagaaatcag gctagtacca acggcagcat caccgtggcc</b>	<b>720</b>
<b>gccaccgccc ccaccgtgac ccccaccgtg aacgccaccc ccagcgccgc cgctagtggc</b>	<b>780</b>
<b>accacagatg ggcacaggcc aactgcagag gccctaaca ccacagctgg ccaagtgcct</b>	<b>840</b>
<b>actacagaag ttgtgggtac tacacctggc caggcgccaa ctgcagagcc ctctggaacc</b>	<b>900</b>
<b>acatctgtgc aggtgccaac cactgaagtc ataagcactg cacctgtgca gatgccaaact</b>	<b>960</b>
<b>gcagagagca caggtatgac acctgagaag gtgccagttt cagaggtcat gggtagcaca</b>	<b>1020</b>
<b>ctggcagaga tgtcaactcc agaggctaca ggtatgacac ctgcagaggt atcaattgtg</b>	<b>1080</b>
<b>gtgctttctg gaaccacagc tgcagctagt accgtgaccc ccaccgccac cgccaccccc</b>	<b>1140</b>
<b>agcgccatcg tgaccacat cccccccacc gccaccacca agcccgctag tcaggtaaca</b>	<b>1200</b>
<b>actacagagt ggggtggagac cacagctaga gagctaccta tcctgagcc tgaaggtcca</b>	<b>1260</b>
<b>gatgccagct caatcatgtc tacggaaagt attacaggtt ccctgggccc cctgctggat</b>	<b>1320</b>
<b>ggtacagcca ccttaaggct ggtgaagaga caagtcccc tggattgtgt tctgtatcga</b>	<b>1380</b>
<b>tatggttccct tttccgtcac cctggacatt gtccaggeta gtaccaacgg cagcatcacc</b>	<b>1440</b>
<b>gtggccgcca ccgccccac cgtgaccccc accgtgaacg ccacccccag cgccgccgt</b>	<b>1500</b>
<b>agtggatttg aaagtgccga gatcctgcag gctgtgccgt ccggtgaggg ggatgcattt</b>	<b>1560</b>

ES 2 584 956 T3

gagctgactg tgtcctgcca aggcgggctg cccaaggaag cctgcatgga gatctcatcg 1620  
 ccaggggtgcc agccccctgc ccagcggctg tgccagcctg tgctaccag cccagcctgc 1680  
 cagctgggttc tgcaccagat actgaagggt ggctcgggga catactgcct caatgtgtct 1740  
 ctggctgata ccaacagcct ggcagtggtc agcaccacgc ttatcgtgcc tgggattctt 1800  
 ctcacaggtc aagaagcagg ccttgggcag taagctagta ccgtgacccc caccgccacc 1860  
 gccacccccca gcgccatcgt gaccaccatc acccccaccg ccaccaccaa gcccgctagt 1920  
 cctctgacct ttgccctcca gctccatgac cctagtggct atctggctga agctgacctc 1980  
 tctacacct gggactttgg agacagtagt ggaacctga tctctgggg acytgtggtc 2040  
 actcatactt acctggagcc tggcccagtc actgcccagc tggctcctgca ggctgccatt 2100  
 cctctcacct cctgtggctc ctccccagtt ccagctagct ga 2142

5 <210> 96  
 <211> 690  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 96

**gatacaacag aacctgcaac acctacaaca cctgtaacaa caccgacaac aacaaaagta 60**  
**cccagaaacc aggactggct tgggtgtctca aggcaactca gaaccaaagc ctggaacagg 120**  
**cagctgtatc cagagtggac agaagcccag agacttgact gctggagagg tggteaagtg 180**  
**tcctcaagg tcagtaatga tgggcctaca ctgattgggt caaatgcctc cttctctatt 240**  
**gccttgaact tcctggaag ccaaaaggta ttgccagatg ggcaggttat ctgggtcaac 300**  
**aataccatca tcaatgggag ccagggtgtg ggaggacagc cagtgtatcc ccaggaaact 360**  
**gacgatgcct gcatcttccc tgatgggtgga ccttgcccat ctggctcttg gtctcagaag 420**  
**agaagctttg tttatgtctg gaagacctgg ggccaatact ggcaagttct agggggccca 480**  
**gtgtctgggc tgagcattgg gacaggcagg gcaatgctgg gcacacacac catggaagtg 540**  
**actgtctacc atcgccgggg atcccagagc tatgtgectc ttgetcattc cagctcagcc 600**  
**ttcaccatta ctgaccaggt gcctttctcc gtgagcgtgt cccagttgcg ggccttgat 660**  
**ggaggggaaca agcacttccct gagaaatcag 690**

15 <210> 97  
 <211> 230  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 97

ES 2 584 956 T3

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

ES 2 584 956 T3

5 <210> 98  
 <211> 327  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético  
 10 <400> 98

ggcaccacag atgggcacag gccaaactgca gaggccccta acaccacagc tggccaagtg 60  
 cctactacag aagttgtggg tactacacct ggtcagggcg caactgcaga gccctctgga 120  
 accacatctg tgcaggtgcc aaccactgaa gtcataagca ctgcacctgt gcagatgcca 180  
 actgcagaga gcacaggtat gacacctgag aaggtgccag tttcagaggt catgggtacc 240  
 aactggcag agatgtcaac tccagaggct acaggtatga cacctgcaga ggtatcaatt 300  
 gtggtgcttt ctggaaccac agctgca 327

15 <210> 99  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 99

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

25

ES 2 584 956 T3

<210> 100  
 <211> 225  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

10

**caggtaacaa ctacagagtg ggtggagacc acagctagag agctacctat ccctgagcct 60**  
**gaaggtccag atgccagctc aatcatgtct acggaaagta ttacagggtc cctgggcccc 120**  
**ctgctggatg gtacagccac ctttaaggctg gtgaagagac aagtccccct ggattgtggt 180**  
**ctgtatcgat atggttcctt ttccgtcacc ctggacattg tccag 225**

<210> 101  
 <211> 75  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético.

20

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

**Ile Pro Glu Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu**  
**20 25 30**

**Ser Ile Thr Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu**  
**35 40 45**

**Arg Leu Val Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr**  
**50 55 60**

**Gly Ser Phe Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln**  
**65 70 75**

25

<210> 102  
 <211> 327  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 102

ES 2 584 956 T3

**ggattgaaa gtgccgagat cctgcaggct gtgccgtccg gtgaggggga tgcatttgag 60**  
**ctgactgtgt cctgcccaagg cgggctgccc aaggaagcct gcatggagat ctcatcgcca 120**  
**gggtgccagc ccctgcca gcggctgtgc cagcctgtgc taccagccc agcctgccag 180**  
**ctggttctgc accagatact gaagggtggc tcggggacat actgcctcaa tgtgtctctg 240**  
**gctgatacca acagcctggc agtggtcagc acccagetta tcgtgcctgg gattcttctc 300**  
**acaggtcaag aagcaggcct tgggcag 327**

5 <210> 103  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Oligonucleótido sintético  
 <400> 103

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

**Asp Ala Phe Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu**  
**20 25 30**

**Ala Cys Met Glu Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Pro Pro Ala Gln Arg**  
**35 40 45**

**Leu Cys Gln Pro Val Leu Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His**  
**50 55 60**

**Gln Ile Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu**  
**65 70 75 80**

**Ala Asp Thr Asn Ser Leu Ala Val Val Ser Thr Gln Leu Ile Val Pro**  
**85 90 95**

**Gly Ile Leu Leu Thr Gly Gln Glu Ala Gly Leu Gly Gln**  
**100 105**

15 <210> 104  
 <211> 219  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Oligonucleótido sintético  
 <400> 104

ES 2 584 956 T3

cctctgacct ttgccctcca gctccatgac cctagtggct atctggctga agctgacctc **60**  
 tcctacacct gggactttgg agacagtagt ggaacctga tctctcgggc acytgtggtc **120**  
 actcatactt acctggagcc tggcccagtc actgcccagg tggctctgca ggctgccatt **180**  
 cctctcacct cctgtggctc ctccccagtt ccagctagc **219**

5 <210> 105  
 <211> 73  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 <400> 105

**Pro Leu Thr Phe Ala Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala**  
**1 5 10 15**

**Glu Ala Asp Leu Ser Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Ser Gly Thr**  
**20 25 30**

**Leu Ile Ser Arg Ala Xaa Val Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Pro Gly**  
**35 40 45**

**Pro Val Thr Ala Gln Val Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser**  
**50 55 60**

**Cys Gly Ser Ser Pro Val Pro Ala Ser**  
**65 70**

20 <210> 106  
 <211> 438  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 106

**Met Ala Leu Arg Val Thr Arg Asn Ser Lys Ile Asn Ala Glu Asn Lys**  
**1 5 10 15**

**Ala Lys Ile Asn Met Ala Gly Ala Lys Arg Val Pro Thr Ala Pro Ala**  
**20 25 30**

ES 2 584 956 T3

Ala Thr Ser Lys Pro Gly Leu Arg Pro Arg Thr Ala Leu Gly Asp Ile  
35 40 45

Gly Asn Lys Val Ser Glu Gln Leu Gln Ala Lys Met Pro Met Lys Lys  
50 55 60

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

Lys Pro Leu Glu Lys Val Pro Met Leu Val Pro Val Pro Val Ser Glu  
85 90 95

Pro Val Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Val Lys Glu  
100 105 110

Glu Lys Leu Ser Pro Glu Pro Ile Leu Val Asp Thr Ala Ser Pro Ser  
115 120 125

Pro Met Glu Thr Ser Gly Cys Ala Pro Ala Glu Glu Asp Leu Cys Gln  
130 135 140

Ala Phe Ser Asp Val Ile Leu Ala Val Asn Asp Val Asp Ala Glu Asp  
145 150 155 160

Gly Ala Asp Pro Asn Leu Cys Ser Glu Tyr Val Lys Asp Ile Tyr Ala  
165 170 175

Tyr Leu Arg Gln Leu Glu Glu Glu Gln Ala Val Arg Pro Lys Tyr Leu  
180 185 190

Leu Gly Arg Glu Val Thr Gly Asn Met Arg Ala Ile Leu Ile Asp Trp  
195 200 205

Leu Val Gln Val Gln Met Lys Phe Arg Leu Leu Gln Glu Thr Met Tyr  
210 215 220

Met Thr Val Ser Ile Ile Asp Arg Phe Met Gln Asn Asn Cys Val Pro  
225 230 235 240

Lys Lys Met Leu Gln Leu Val Gly Val Thr Ala Met Phe Ile Ala Ser  
245 250 255

Lys Tyr Glu Glu Met Tyr Pro Pro Glu Ile Gly Asp Phe Ala Phe Val  
260 265 270



**Thr Asp Asn Thr Tyr Thr Lys His Gln Ile Arg Gln Met Glu Met Lys**  
 275 280 285

**Ile Leu Arg Ala Leu Asn Phe Gly Leu Gly Arg Pro Leu Pro Leu His**  
 290 295 300

**Phe Leu Arg Arg Ala Ser Lys Ile Gly Glu Val Asp Val Glu Gln His**  
 305 310 315 320

**Thr Leu Ala Lys Tyr Leu Met Glu Thr Met Leu Asp Tyr Asp Met Val**  
 325 330 335

**His Phe Pro Pro Ser Gln Ile Ala Ala Gly Ala Phe Cys Leu Ala Leu**  
 340 345 350

**Lys Ile Leu Asp Asn Gly Glu Trp Thr Pro Thr Leu Gln His Tyr Leu**  
 355 360 365

**Ser Tyr Thr Glu Glu Ser Leu Leu Pro Val Met Gln His Leu Ala Lys**  
 370 375 380

**Asn Val Val Met Val Asn Gln Gly Leu Thr Lys His Met Thr Val Lys**  
 385 390 395 400

**Asn Lys Tyr Ala Thr Ser Lys His Ala Lys Ile Ser Thr Leu Pro Gln**  
 405 410 415

**Leu Asn Ser Ala Leu Val Gln Asp Leu Ala Lys Ala Val Ala Lys Val**  
 420 425 430

**His His His His His His**  
 435

<210> 107  
 <211> 50  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 107

5

10

**Met Glu Met Lys Ile Leu Arg Ala Leu Asn Phe Gly Leu Gly Arg Pro**  
**1 5 10 15**

**Leu Pro Leu His Phe Leu Arg Arg Ala Ser Lys Ile Gly Glu Val Asp**  
**20 25 30**

**Val Glu Gln His Thr Leu Ala Lys Tyr Leu Met Glu Leu Thr Met Leu**  
**35 40 45**

**Asp Tyr**  
**50**

5 <210> 108  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 108

**Asp Trp Leu Val Gln Val Gln Met Lys Phe Arg Leu Leu Gln Glu Thr**  
**1 5 10 15**

**Met Tyr Met Thr Val Ser Ile Ile Asp Arg Phe Met Gln Asn Asn Cys**  
**20 25 30**

**Val Pro Lys Lys**  
**35**

15 <210> 109  
 <211> 594  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 <400> 109

ES 2 584 956 T3

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

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

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val  
50 55 60

ES 2 584 956 T3

**Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr**  
**65 70 75 80**

**Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys**  
**85 90 95**

**Ala Arg Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly**  
**100 105 110**

**Thr Ser Val Thr Val 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  
 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

Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr  
 450 455 460

Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn Pro Ala Ser Asp Trp Leu  
 465 470 475 480

Val Gln Val Gln Met Lys Phe Arg Leu Leu Gln Glu Thr Met Tyr Met  
 485 490 495

Thr Val Ser Ile Ile Asp Arg Phe Met Gln Asn Asn Cys Val Pro Lys  
 500 505 510

Lys Ala Ser Met Glu Met Lys Ile Leu Arg Ala Leu Asn Phe Gly Leu  
 515 520 525

Gly Arg Pro Leu Pro Leu His Phe Leu Arg Arg Ala Ser Lys Ile Gly  
 530 535 540

ES 2 584 956 T3

**Glu Val Asp Val Glu Gln His Thr Leu Ala Lys Tyr Leu Met Glu Leu**  
**545 550 555 560**

**Thr Met Leu Asp Tyr Ala Ser Thr Asn Asp Ser Ile Thr Val Ala Ala**  
**565 570 575**

**Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr Pro Ser Ala Ala**  
**580 585 590**

**Ala Ser**

<210> 110  
 <211> 1842  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

<400> 110

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaagggtg ccagtggtgaa 60  
 gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcccg gagggtcctt gaaactctcc 120  
 tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca 180  
 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt aattctgggt gtggttagcac ctattatcca 240  
 gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300  
 caaatgagcc ggctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acggggggtta 360  
 ccgttccatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctacgccaaa 420  
 acgaagggcc cctcctgctt ccccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca 480  
 gccgccctgg gctgcttggg caaggactac ttccccgaac cggtgacggg gtcgtggaac 540  
 tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 600  
 tactccctca gcagcgtggg gaccgtgcc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc 660  
 tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat 720  
 ggtcccccat gccaccctg cccagcacct gagttcgaag ggggaccatc agtcttctctg 780  
 ttccccccaa aacccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 840  
 gtggtggacg tgagccagga agaccccagag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg 900  
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg 960  
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 1020  
 gtctccaaca aaggcctccc gtctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1080

ES 2 584 956 T3

```

ccccgagagc cacaggtgta caccctgccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag      1140
gtcagcctga cctgcctggg caaaggettc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag      1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc      1260
tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg gacaagagca ggtggcagga ggggaatgtc      1320
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacacagaa gaggcctctcc      1380
ctgtctctgg gtaaagctag tcagaccccc accaacacca tcagcgtgac ccccaccaac      1440
aacagcaccc ccaccaacaa cagcaacccc aagcccaacc ccgctagtga ctggctagta      1500
caggttcaaa tgaattcag gttgttgcaq gagaccatgt acatgactgt ctccattatt      1560
gatcggttca tgcagaataa ttgtgtgccc aagaaggcta gtatggaat gaagattcta      1620
agagetttaa actttggtct gggteggeet ctaccttgc acttccttcg gagagcatct      1680
aagattggag aggttgatgt cgagcaacat actttggcca aatacctgat ggaactaact      1740
atgttggaat atgctagtac caacgacagc atcaccgtgg ccgccaccgc ccccaccgtg      1800
accccaccg tgaacgccac ccccagcgc gccgctagct ga      1842

```

<210> 111  
 <211> 542  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 111

```

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

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

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35           40           45

Ala Tyr Ile Asn Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50           55           60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65           70           75

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

```

ES 2 584 956 T3

Ala Arg Arg Gly Leu Pro Phe His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Ser Val Thr Val 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  
 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  
 Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr  
 450 455 460  
 Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn Pro Ala Ser Asp Trp Leu  
 465 470 475 480  
 Val Gln Val Gln Met Lys Phe Arg Leu Leu Gln Glu Thr Met Tyr Met  
 485 490 495  
 Thr Val Ser Ile Ile Asp Arg Phe Met Gln Asn Asn Cys Val Pro Lys  
 500 505 510  
 Lys Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile  
 515 520 525  
 Val Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys Pro Ala Ser  
 530 535 540

<210> 112  
 <211> 1686  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

5

ES 2 584 956 T3

<223> Oligonucleótido sintético

<400> 112

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaagggtg ccagtggtgaa	60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcccg gaggtccct gaaactctcc	120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca	180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt aattctgggt gtggtagcac ctattatcca	240
gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg	300
caaatgagcc ggctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acgggggtta	360
ccgttccatg ctatggacta ttggggtaa ggaacctcag tcaccgtctc ctcagccaaa	420
acgaagggcc catccgtctt ccccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca	480
gccgccctgg gctgcctggg caaggactac ttccccgaac cggtgacggg gtcgtggaac	540
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccgctg tcctacagtc ctcaggactc	600
tactccctca gcagcgtggg gaccgtgcc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc	660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat	720
ggtccccat gccaccctg cccagcacct gagttcgaag ggggaccatc agtcttctg	780
ttcccccaa aaccaagga cactctcatg atctcccga cccctgaggt cacgtgcgtg	840
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg	900
gaggtgcata atgccaagac aaagcccggg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg	960
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag	1020
gtctccaaca aaggcctccc gtctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag	1080
ccccgagagc cacaggtgta caccctgccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag	1140
gtcagcctga cctgcctggg caaaggcttc taccocagcg acatcgccgt ggagtgggag	1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc	1260
tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg gacaagagca ggtggcagga ggggaatgtc	1320
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggetctg cacaaccact acacacagaa gagcctctcc	1380
ctgtctctgg gtaaagctag tcagaccccc accaacacca tcagcgtgac ccccaccaac	1440
aacagcacc ccaccaacaa cagcaacccc aagcccaacc ccgctagtga ctggctagta	1500
caggttcaaa tgaaattcag gttgttgca gaggaccatgt acatgactgt ctccattatt	1560
gatcggttca tgcagaataa ttgtgtgccc aagaaggcta gtaccgtgac ccccaccgcc	1620
accgccacc ccagcgccat cgtgaccacc atcaccceca ccgccaccac caagcccgt	1680
agctga	1686

5

<210> 113  
 <211> 556  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

5

<400> 113

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

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  
 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

ES 2 584 956 T3

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

Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr  
 450 455 460

Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn Pro Ala Ser Met Glu Met  
 465 470 475 480

Lys Ile Leu Arg Ala Leu Asn Phe Gly Leu Gly Arg Pro Leu Pro Leu  
 485 490 495

His Phe Leu Arg Arg Ala Ser Lys Ile Gly Glu Val Asp Val Glu Gln  
 500 505 510

His Thr Leu Ala Lys Tyr Leu Met Glu Leu Thr Met Leu Asp Tyr Ala  
 515 520 525

Ser Thr Asn Gly Ser Ile Thr Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr  
 530 535 540

Pro Thr Val Asn Ala Thr Pro Ser Ala Ala Ala Ser  
 545 550 555

<210> 114  
 <211> 1728  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Oligonucleótido sintético

10

<400> 114

ES 2 584 956 T3

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaaggtgt ccagtgtgaa 60  
 gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcccc gaggggccct gaaactctcc 120  
 tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca 180  
 gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt aattctgggt gtggtagcac ctattatcca 240  
 gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300  
 caaatgagcc ggctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acggggggtta 360  
 ccgttccatg ctatggacta ttggggctca ggaacctcag tcaccgtctc ctacgcaaaa 420  
 acgaagggcc catccgtctt ccccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca 480  
 gccgccctgg gctgcoctgg caaggactac ttccccgaac cggtgacggg gtcgtggaac 540  
 tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccccgctg tectacagtc ctacggactc 600  
 tactccctca gcagcgtggg gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc 660  
 tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat 720  
 ggtcccccat gcccaacctg cccagcaact gagttcgaag ggggaccatc agtcttctctg 780  
 ttccccccaa aaccaagga cactctcatg atctcccga cccctgaggt cacgtgcgtg 840  
 gtggtggacg tgagccagga agaccccag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg 900  
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg 960  
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 1020  
 gtctccaaca aaggcctccc gtcctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1080  
 ccccagagac cacaggtgta caccctgccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag 1140  
 gtcagcctga cctgcctggg caaaggcttc taccocagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200  
 agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1260  
 tccttcttcc tctacagcag gctaaccgtg gacaagagca ggtggcagga ggggaatgtc 1320  
 ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacacagaa gagcctctcc 1380  
 ctgtctctgg gtaaagctag tcagaccccc accaacacca tcagcgtgac ccccaccaac 1440  
 aacagcacc ccaccaacaa cagcaacccc aagcccaacc ccgctagtat ggaaatgaag 1500  
 attctaagag ctttaaactt tggctctggg eggcctctac ctttgactt ccttcggaga 1560  
 gcatctaaga ttggagaggt tgatgtcgag caacatactt tggccaaata cctgatggaa 1620  
 ctaactatgt tggactatgc tagtaccaac ggcagcatca ccgtggccgc caccgcccc 1680  
 accgtgaccc ccaccgtgaa cgccaccccc agcgcgcggc ctagctga 1728

<210> 115  
 <211> 295  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético.

5

<400> 115

Met Glu His Gln Leu Leu Cys Cys Glu Val Glu Thr Ile Arg Arg Ala  
1                                   5                                   10                                   15

Tyr Pro Asp Ala Asn Leu Leu Asn Asp Arg Val Leu Arg Ala Met Leu  
                                  20                                   25                                   30

Lys Ala Glu Glu Thr Cys Ala Pro Ser Val Ser Tyr Phe Lys Cys Val  
                  35                                   40                                   45

ES 2 584 956 T3

Gln Lys Glu Val Leu Pro Ser Met Arg Lys Ile Val Ala Thr Trp Met  
50 55 60

Leu Glu Val Cys Glu Glu Gln Lys Cys Glu Glu Glu Val Phe Pro Leu  
65 70 75 80

Ala Met Asn Tyr Leu Asp Arg Phe Leu Ser Leu Glu Pro Val Lys Lys  
85 90 95

Ser Arg Leu Gln Leu Leu Gly Ala Thr Cys Met Phe Val Ala Ser Lys  
100 105 110

Met Lys Glu Thr Ile Pro Leu Thr Ala Glu Lys Leu Cys Ile Tyr Thr  
115 120 125

Asp Asn Ser Ile Arg Pro Glu Glu Leu Leu Gln Met Glu Leu Leu Leu  
130 135 140

Val Asn Lys Leu Lys Trp Asn Leu Ala Ala Met Thr Pro His Asp Phe  
145 150 155 160

Ile Glu His Phe Leu Ser Lys Met Pro Glu Ala Glu Glu Asn Lys Gln  
165 170 175

Ile Ile Arg Lys His Ala Gln Thr Phe Val Ala Leu Cys Ala Thr Asp  
180 185 190

Val Lys Phe Ile Ser Asn Pro Pro Ser Met Val Ala Ala Gly Ser Val  
195 200 205

Val Ala Ala Val Gln Gly Leu Asn Leu Arg Ser Pro Asn Asn Phe Leu  
210 215 220

Ser Tyr Tyr Arg Leu Thr Arg Phe Leu Ser Arg Val Ile Lys Cys Asp  
225 230 235 240

Pro Asp Cys Leu Arg Ala Cys Gln Glu Gln Ile Glu Ala Leu Leu Glu  
245 250 255

Ser Ser Leu Arg Gln Ala Gln Gln Asn Met Asp Pro Lys Ala Ala Glu  
260 265 270

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Val Asp Leu Ala Cys Thr Pro Thr  
275 280 285



Asp Val Arg Asp Val Asp Ile  
 290 295

5 <210> 116  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 116

Met Glu His Gln Leu Leu Cys Cys Glu Val Glu Thr Ile Arg Arg Ala  
 1 5 10 15

Tyr Pro Asp Ala Asn Leu Leu Asn Asp Arg Val Leu Arg Ala Met Leu  
 20 25 30

Lys Ala Glu Glu Thr Cys Ala Pro Ser Val Ser Tyr Phe Lys Cys Val  
 35 40 45

15 <210> 117  
 <211> 95  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 117

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

Leu Glu Val Cys Glu Glu Gln Lys Cys Glu Glu Glu Val Phe Pro Leu  
 20 25 30

Ala Met Asn Tyr Leu Asp Arg Phe Leu Ser Leu Glu Pro Val Lys Lys  
 35 40 45

Ser Arg Leu Gln Leu Leu Gly Ala Thr Cys Met Phe Val Ala Ser Lys  
 50 55 60

Met Lys Glu Thr Ile Pro Leu Thr Ala Glu Lys Leu Cys Ile Tyr Thr  
 65 70 75 80

Asp Asn Ser Ile Arg Pro Glu Glu Leu Leu Gln Met Glu Leu Leu  
 85 90 95

25

5 <210> 118  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético.  
 10 <400> 118

**Leu Val Asn Lys Leu Lys Trp Asn Leu Ala Ala Met Thr Pro His Asp**  
**1 5 10 15**

**Phe Ile Glu His Phe Leu Ser Lys Met Pro Glu Ala Glu Glu Asn Lys**  
**20 25 30**

**Gln Ile Ile Arg Lys His Ala Gln Thr Phe Val Ala Leu Cys Ala Thr**  
**35 40 45**

**Asp Val Lys Phe Ile Ser Asn Pro Pro Ser Met Val**  
**50 55 60**

15 <210> 119  
 <211> 92  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 20 <223> Péptido sintético.  
 <400> 119

**Ala Ala Gly Ser Val Val Ala Ala Val Gln Gly Leu Asn Leu Arg Ser**  
**1 5 10 15**

**Pro Asn Asn Phe Leu Ser Tyr Tyr Arg Leu Thr Arg Phe Leu Ser Arg**  
**20 25 30**

**Val Ile Lys Cys Asp Pro Asp Cys Leu Arg Ala Cys Gln Glu Gln Ile**  
**35 40 45**

**Glu Ala Leu Leu Glu Ser Ser Leu Arg Gln Ala Gln Gln Asn Met Asp**  
**50 55 60**

**Pro Lys Ala Ala Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Val Asp Leu**  
**65 70 75 80**

**Ala Cys Thr Pro Thr Asp Val Arg Asp Val Asp Ile**  
**85 90**

25 <210> 120

<211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 120

**Val Gly Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr**  
**1 5 10 15**

10 **Lys Ala Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu**  
**20 25 30**

<210> 121  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 121

**His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro**  
**1 5 10 15**

**Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Leu Tyr Lys Leu**  
**20 25 30**

<210> 122  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 122

**Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys**  
**1 5 10 15**

**His Ile Val**

35 <210> 123  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético.

<400> 123

45

ES 2 584 956 T3

Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu  
1 5 10 15

Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp  
20 25 30

<210> 124

<211> 31

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido sintético.

<400> 124

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

Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr  
20 25 30

## REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo recombinante humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD40, que comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7; y al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 90 % con una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6 y en el que el anticuerpo tiene las CDR obtenidas a partir del anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 7.
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente:
- una región constante de cadena pesada, en el que la región constante de cadena pesada comprende una región constante de cadena pesada humana gamma-1, gamma-2, gamma-3, o gamma-4 o una variante de la región constante de cadena pesada humana; y
- una región constante de cadena ligera, en el que la región constante de cadena ligera comprende una región constante de cadena ligera humana lambda o kappa.
3. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que el fragmento de unión se selecciona entre el grupo que consiste en Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')<sub>2</sub>, y un diacuerpo.
4. El anticuerpo de la reivindicación 1, en la que el anticuerpo es humanizado y comprende la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 6 y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 7.
5. Una composición que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en la que el anticuerpo es el anticuerpo de la reivindicación 1.
6. Un método para preparar un anticuerpo que comprende: expresar, en una célula hospedadora, un anticuerpo recombinante humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, ambos de los cuales se unen a CD40, que comprende al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7 y al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6, en el que la célula hospedadora es una célula bacteriana, fúngica, de insecto, o de mamífero, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado y el anticuerpo tiene las CDR obtenidas a partir del anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 7.
7. El método de la reivindicación 6, en el que el anticuerpo solo es capaz de hacer que las células dendríticas secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IL-12p40 o TNFalfa sin activación previa de las células dendríticas.
8. El método de la reivindicación 6, en el que el anticuerpo es capaz de hacer que las células dendríticas activadas con GM-CSF e Interferón alfa secreten al menos uno de IL-6, MIP-1a, IP-10, IL-10 o IL-12p40.
9. Un anticuerpo recombinante humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD40, en el que el anticuerpo solo es capaz de causar la proliferación de linfocitos B de al menos un 10 % de los linfocitos B, en el que el anticuerpo comprende al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo de SEQ ID NO: 7 y al menos un dominio variable que tiene una identidad de secuencias de un 95 %, 99 % o un 100 % con una región variable de cadena pesada de anticuerpo de SEQ ID NO: 6 y en el que el anticuerpo tiene las CDR obtenidas a partir del anticuerpo anti-CD40\_11B6.1C3 que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 7.
10. El anticuerpo de la reivindicación 9, en el que el porcentaje de linfocitos B que proliferan es al menos un 15 %, 20 %, 25 %, 28 %, 30 % o un 35 %.

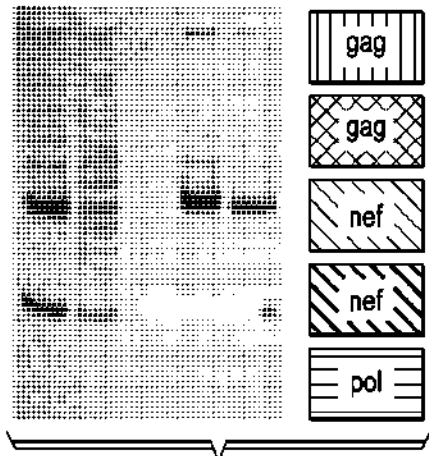


FIG. 1

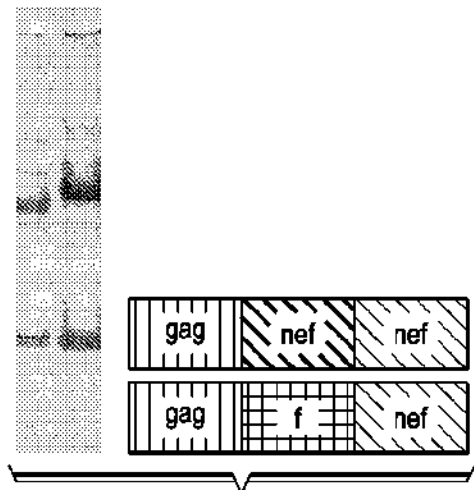


FIG. 2

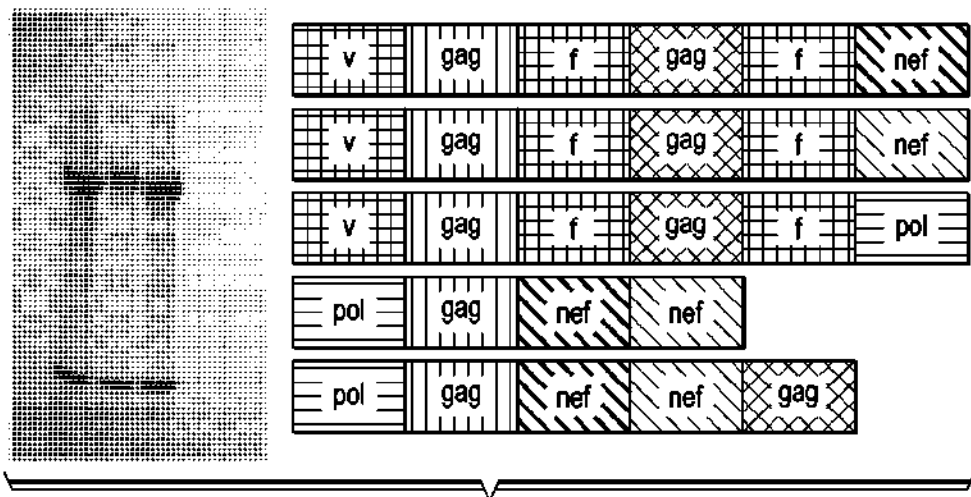


FIG. 3

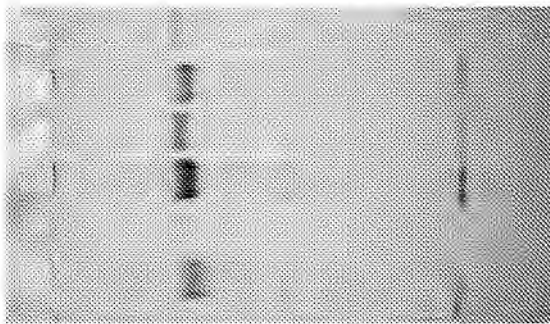
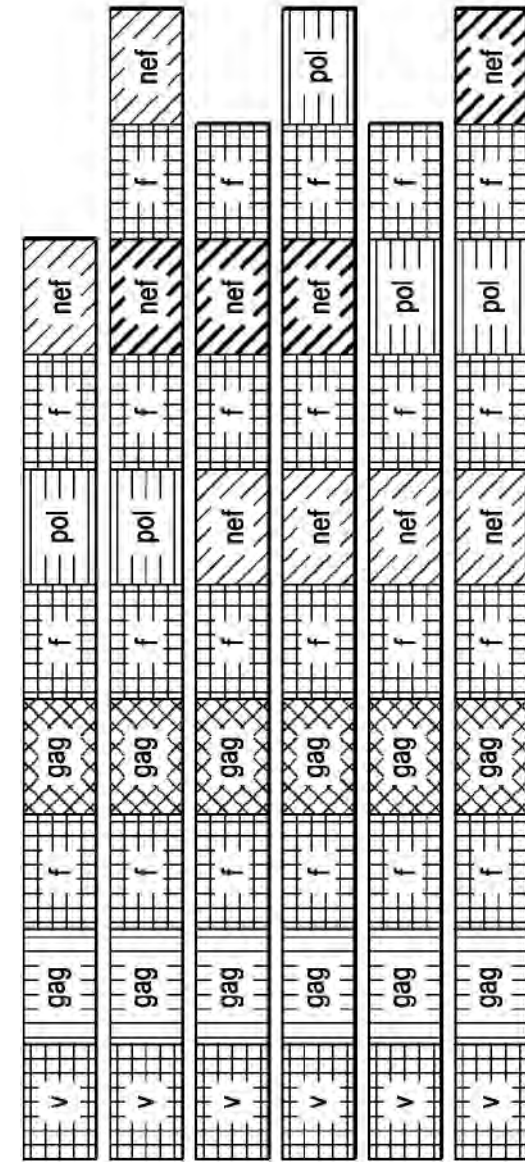


FIG. 4

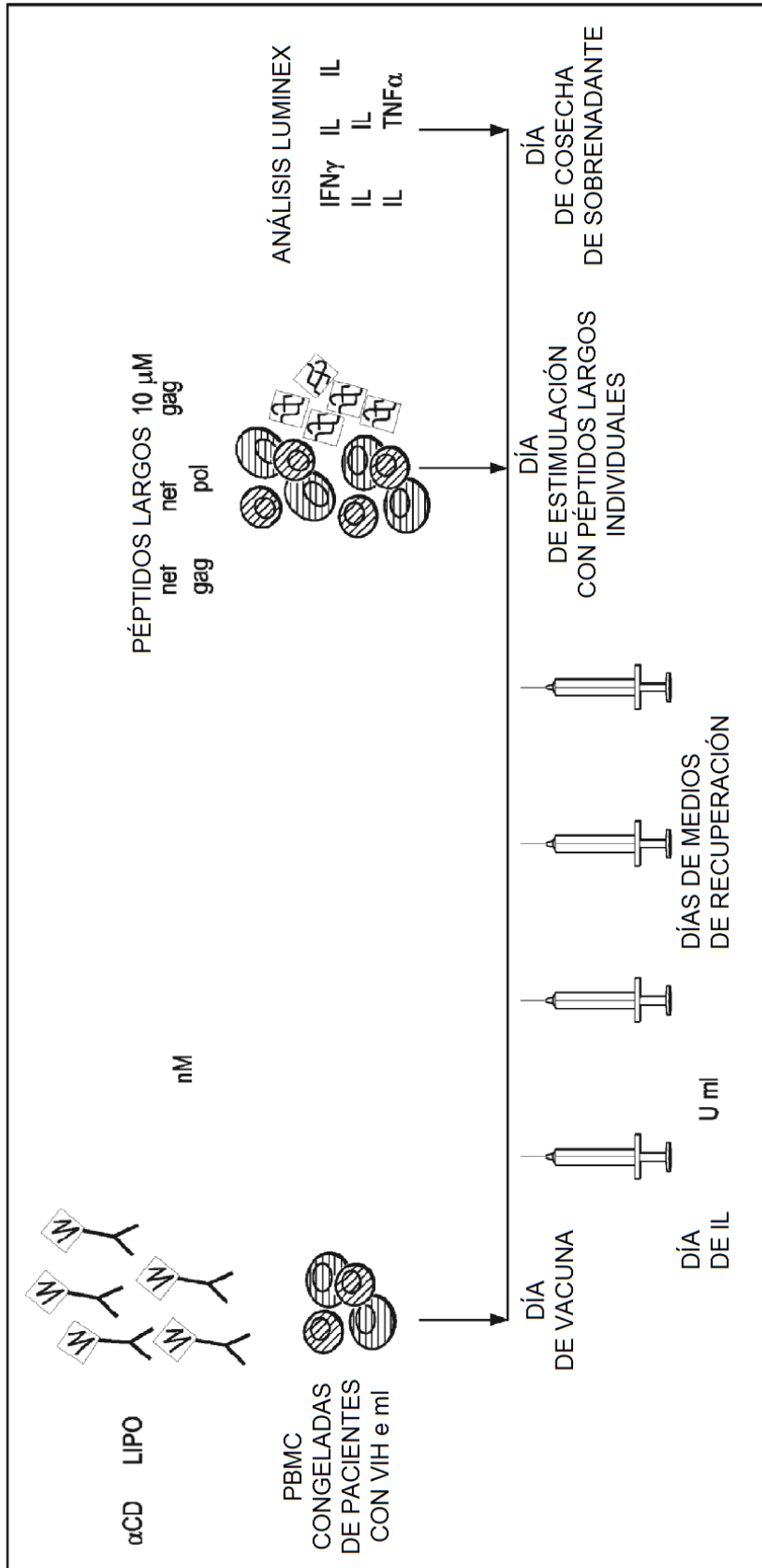


FIG. 5



FIG. 6A

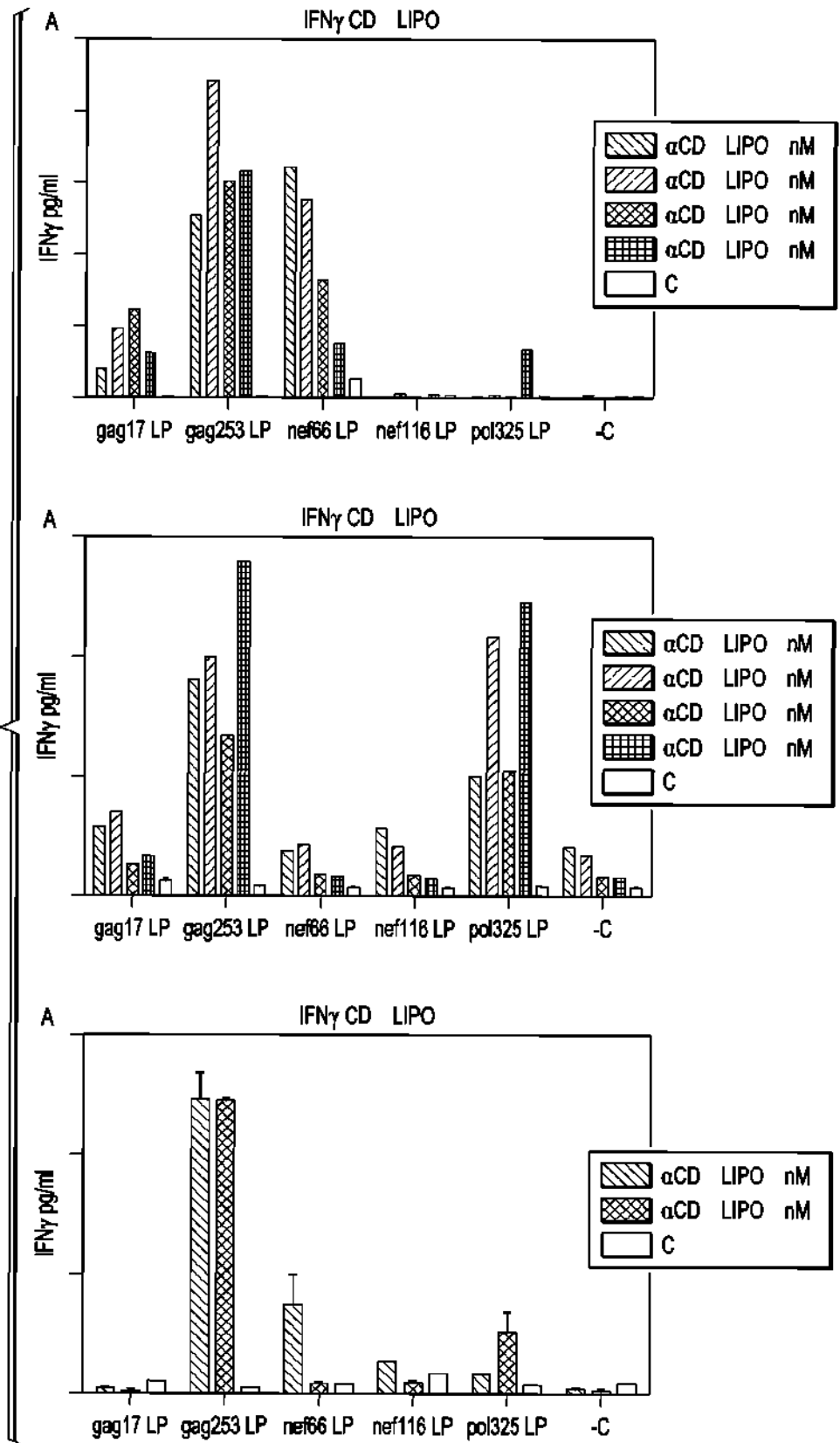
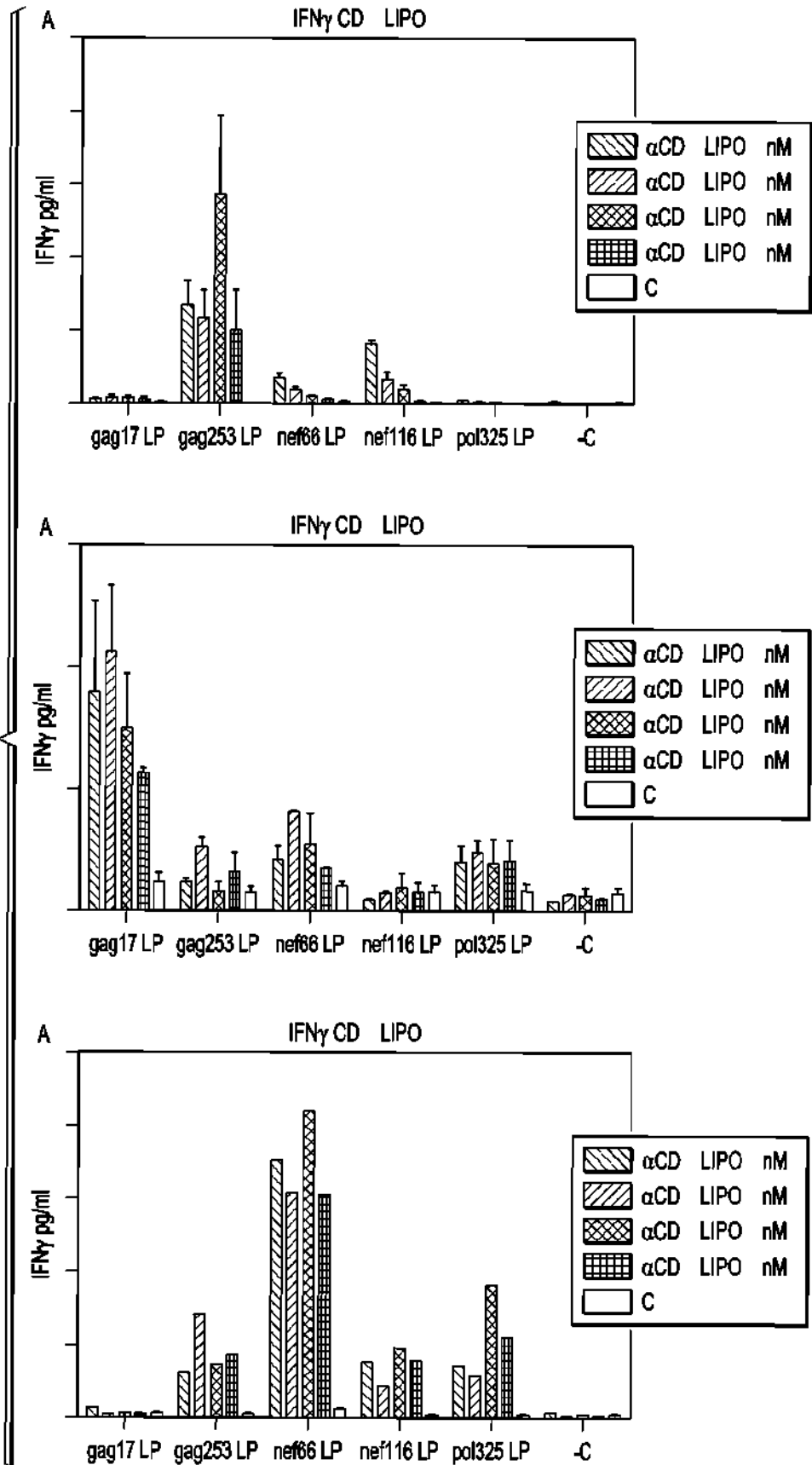
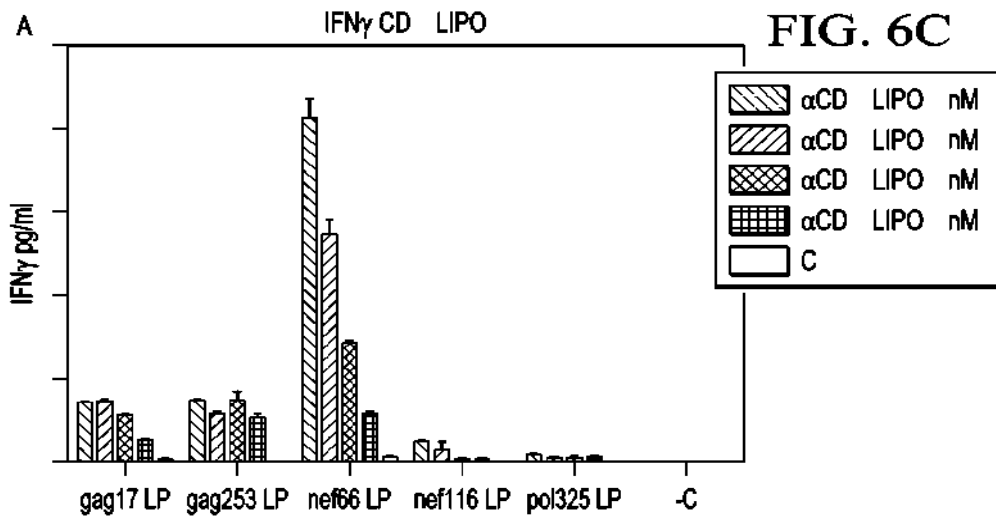


FIG. 6B





	Gag	Gag	Nef	Nef	Pol
A	RESPUESTA DÉBIL	RESPUESTA FUERTE	RESPUESTA FUERTE	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA
A	SIN RESPUESTA	RESPUESTA FUERTE	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA	RESPUESTA FUERTE
A	SIN RESPUESTA	RESPUESTA FUERTE	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA	RESPUESTA DÉBIL
A	SIN RESPUESTA	RESPUESTA FUERTE	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA
A	RESPUESTA FUERTE	SIN RESPUESTA	RESPUESTA DÉBIL	SIN RESPUESTA	RESPUESTA DÉBIL
A	SIN RESPUESTA	RESPUESTA DÉBIL	RESPUESTA FUERTE	RESPUESTA DÉBIL	RESPUESTA DÉBIL
A	SIN RESPUESTA	RESPUESTA FUERTE	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA
A	RESPUESTA FUERTE	RESPUESTA DÉBIL	RESPUESTA FUERTE	SIN RESPUESTA	SIN RESPUESTA





 RESPUESTA FUERTE  
 RESPUESTA MEDIA  
 RESPUESTA DÉBIL  
 SIN RESPUESTA

FIG. 7

FIG. 8A

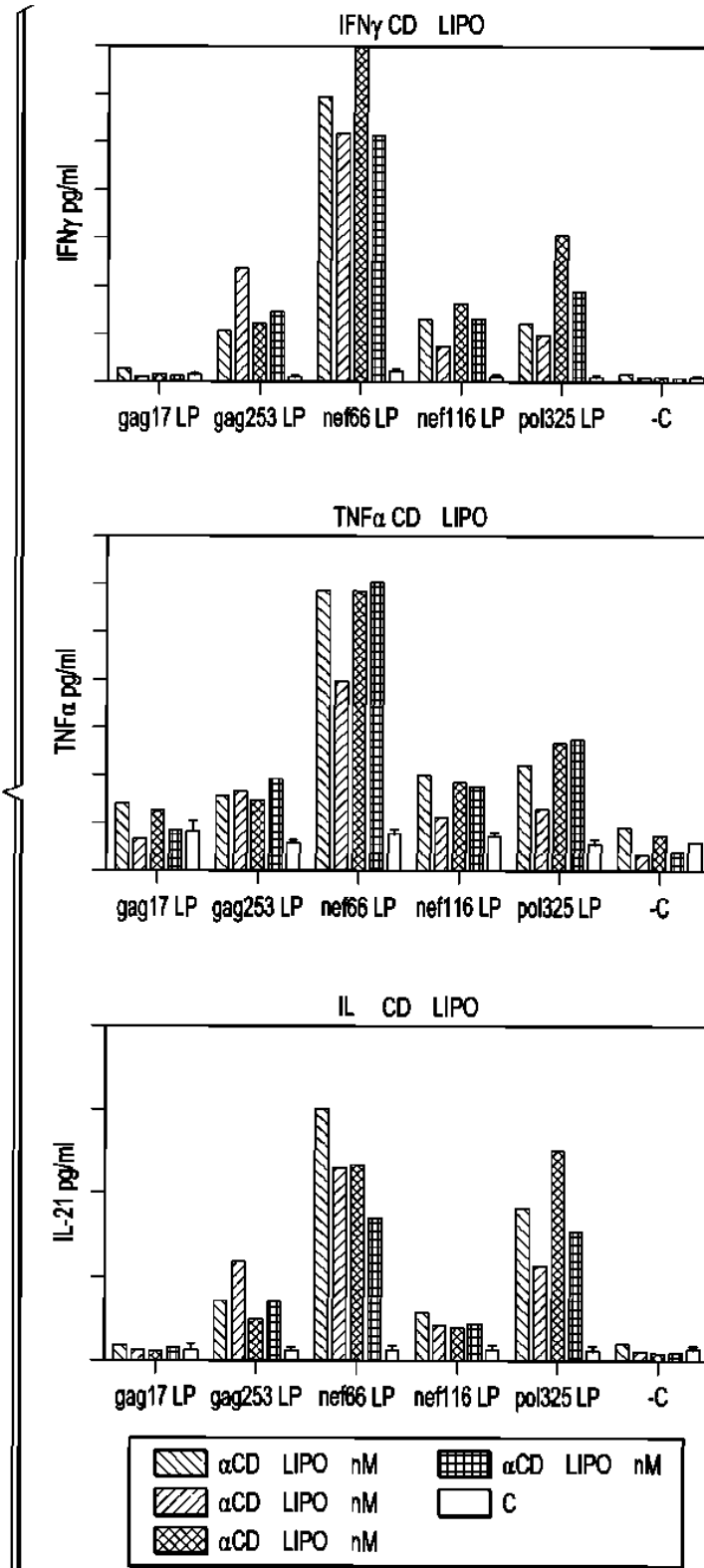
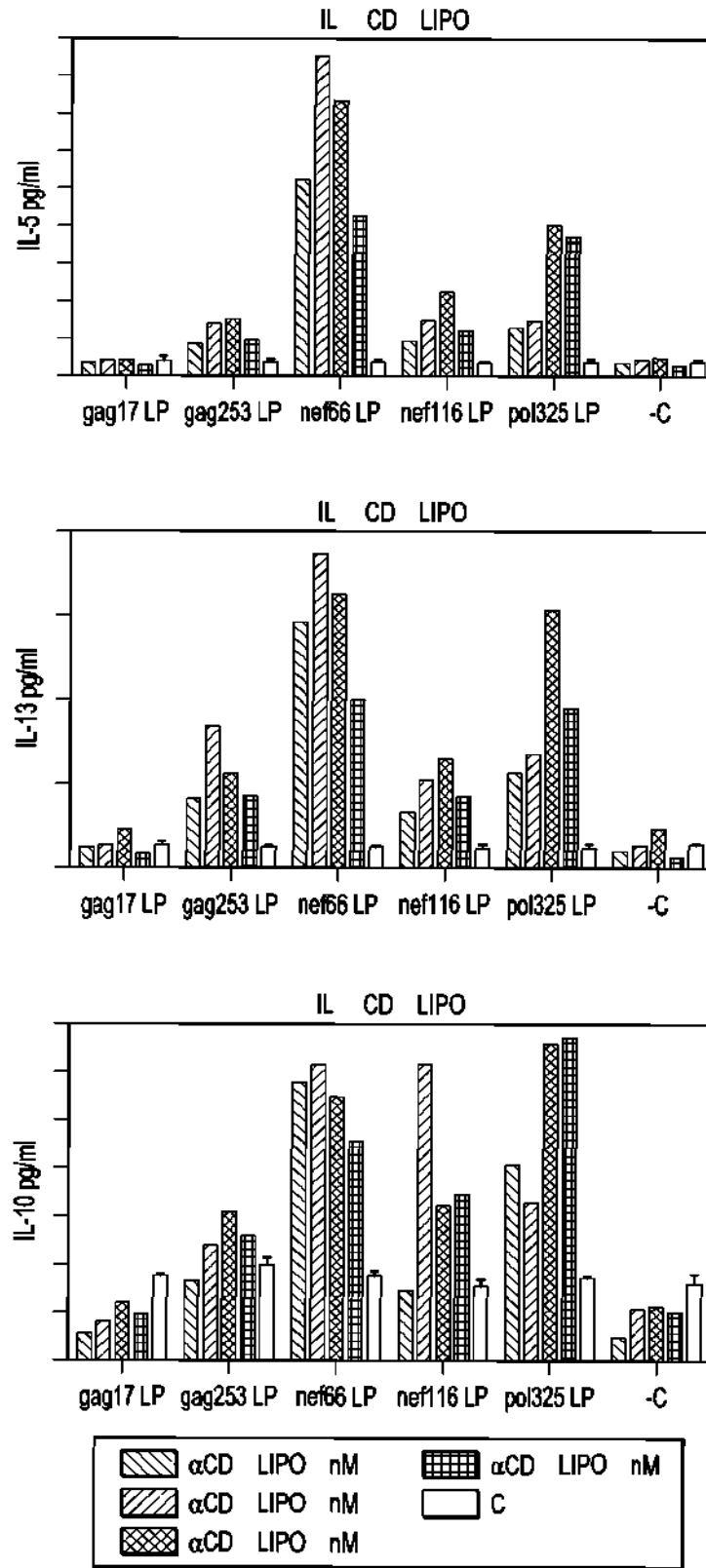


FIG. 8B



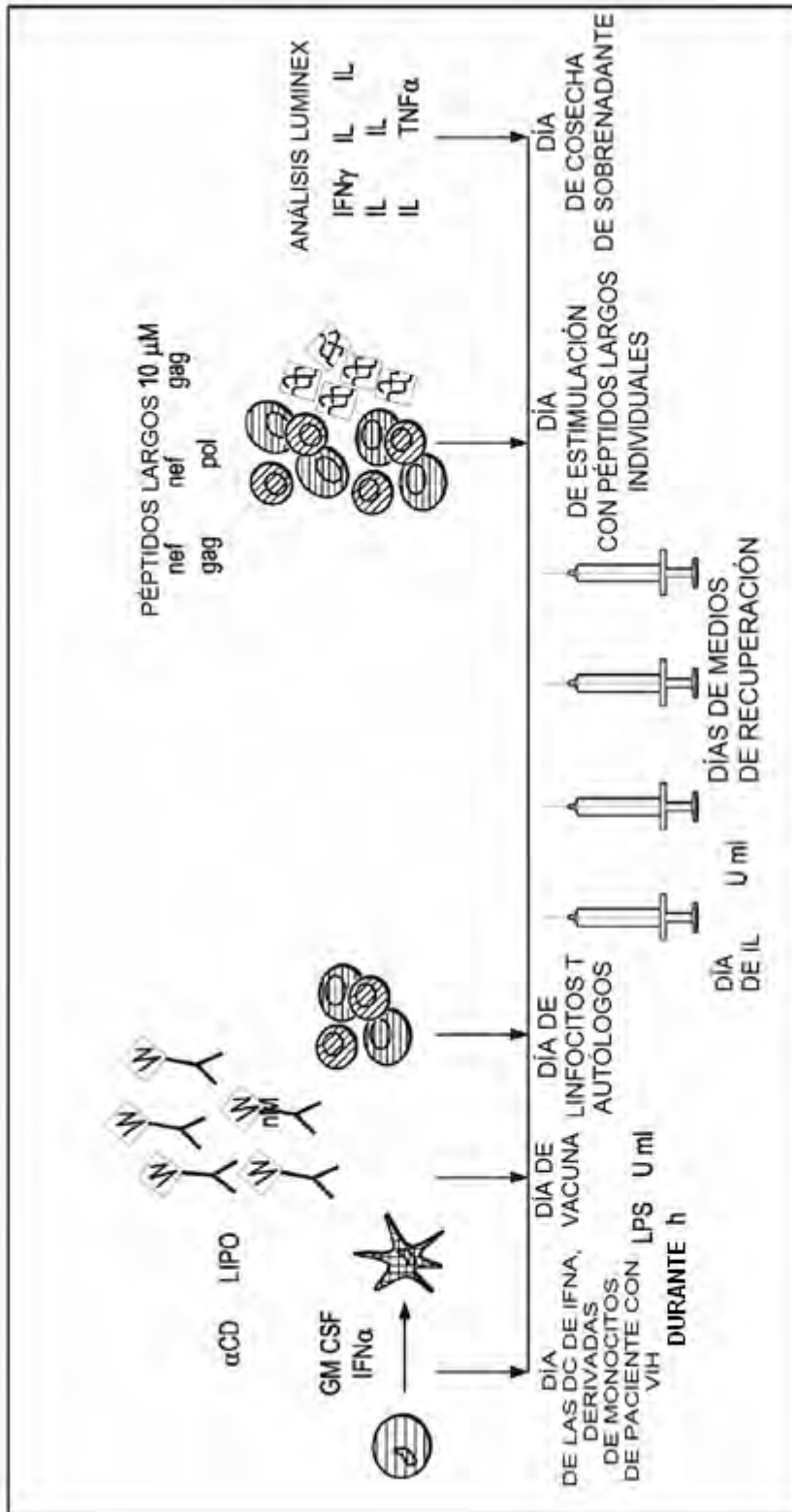


FIG. 9

FIG. 10A

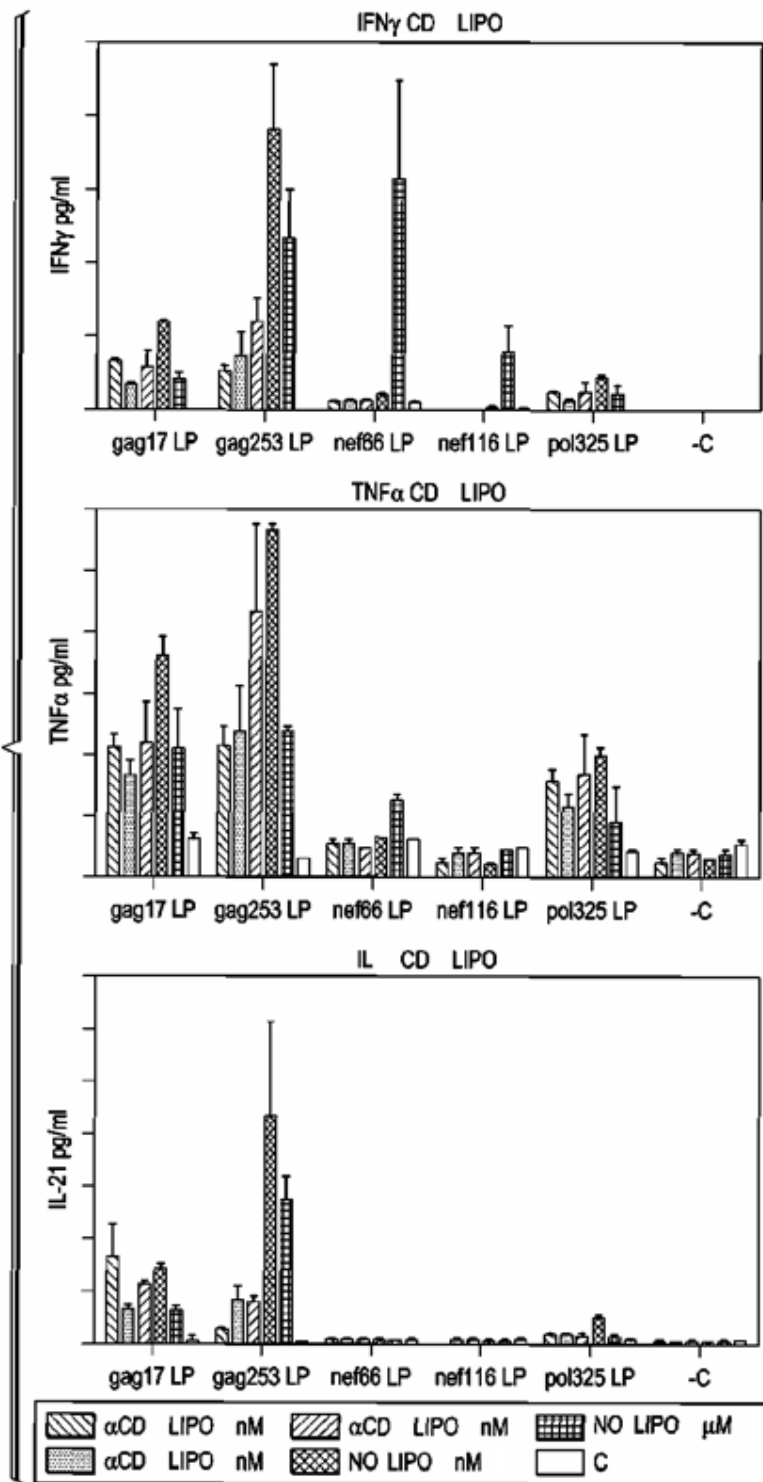




FIG. 10B

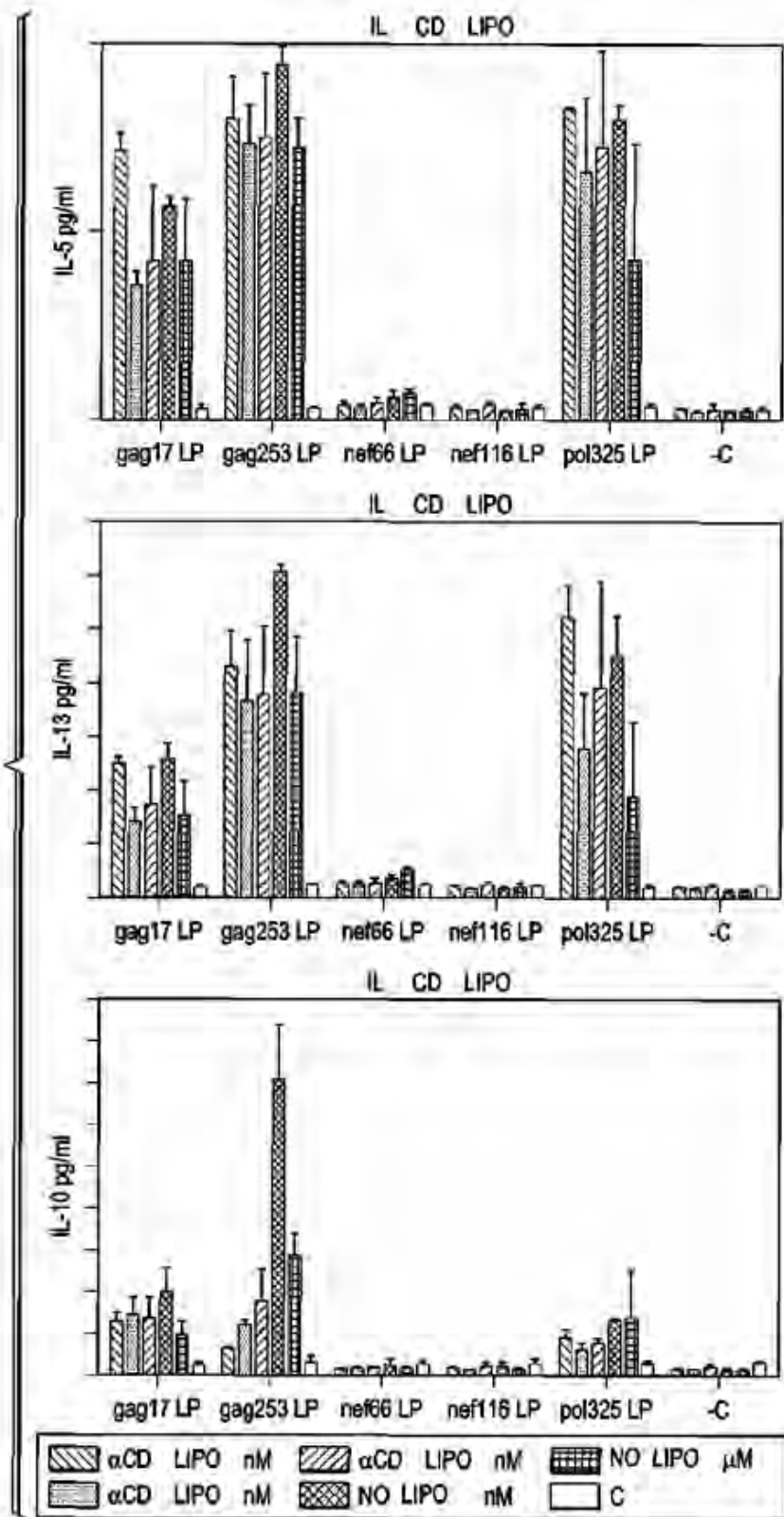


FIG. 11A

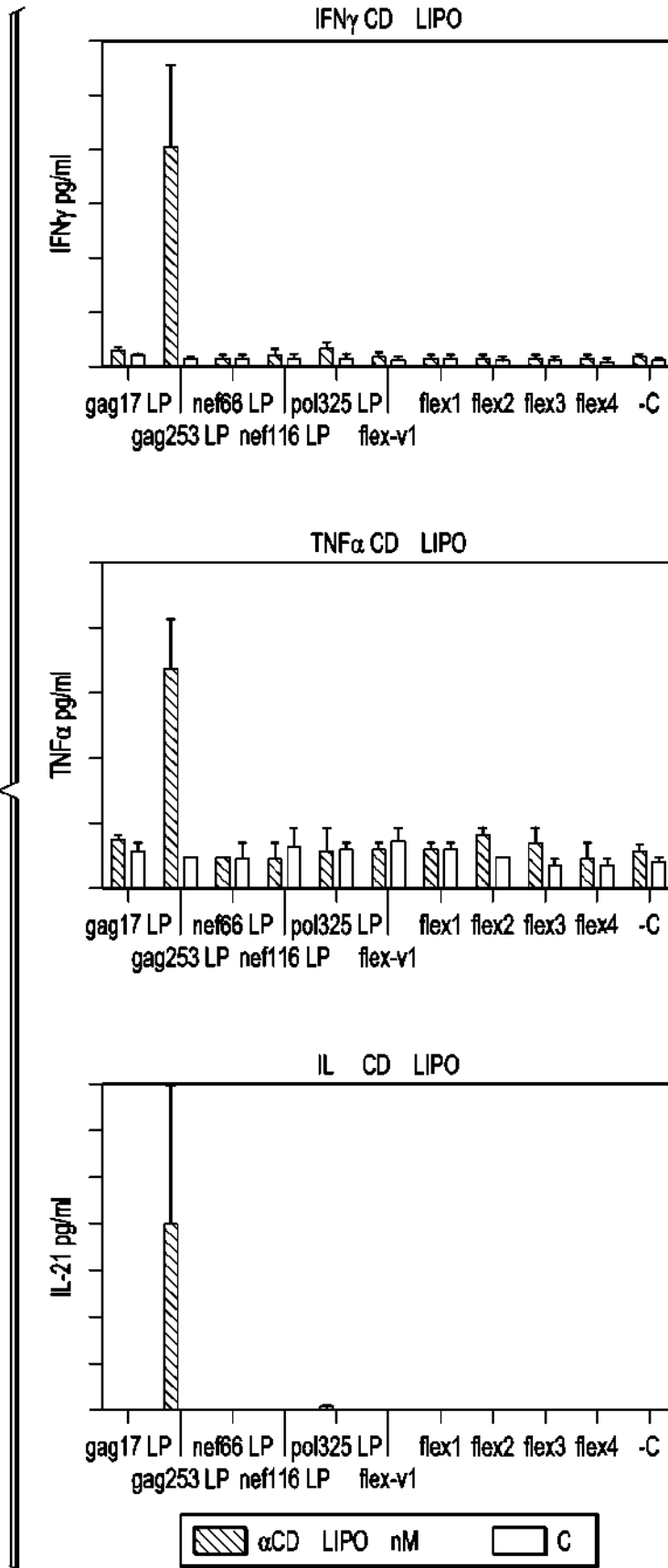
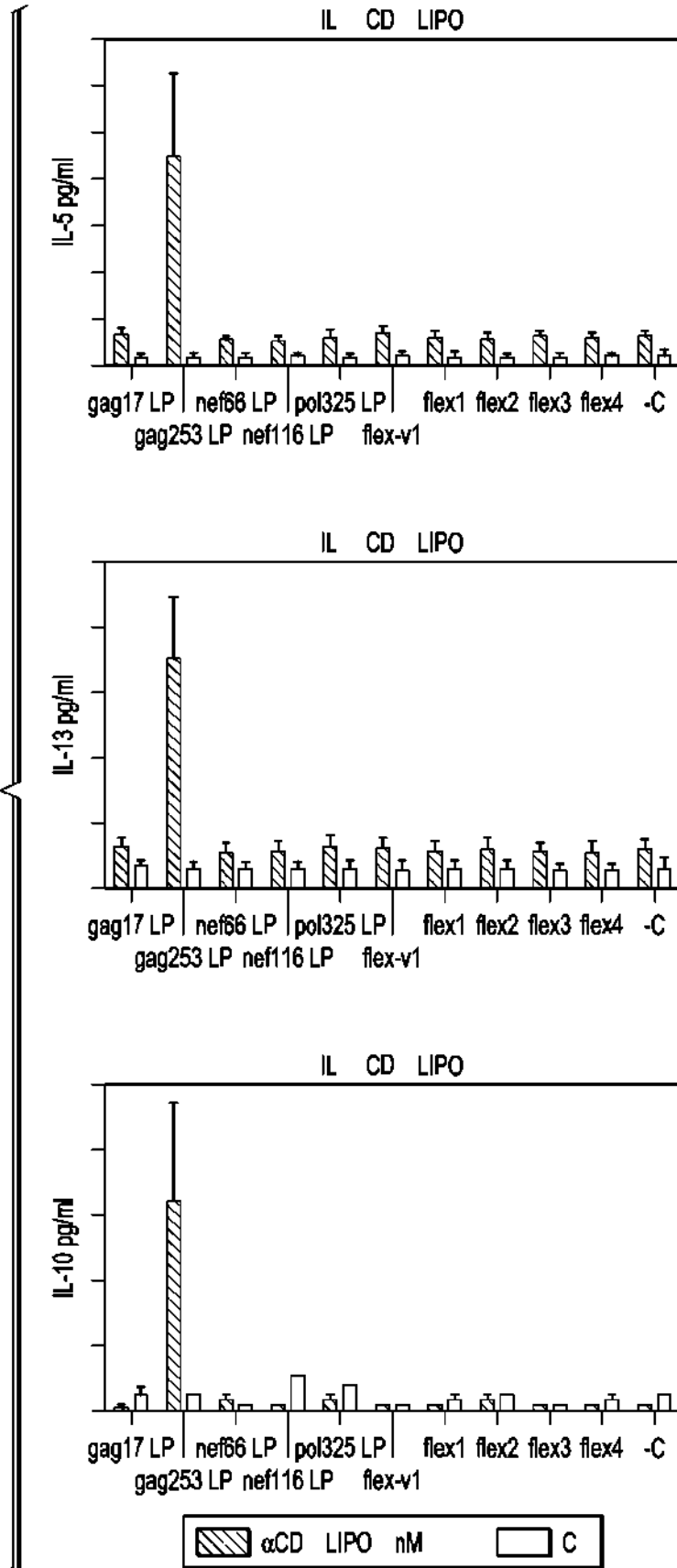
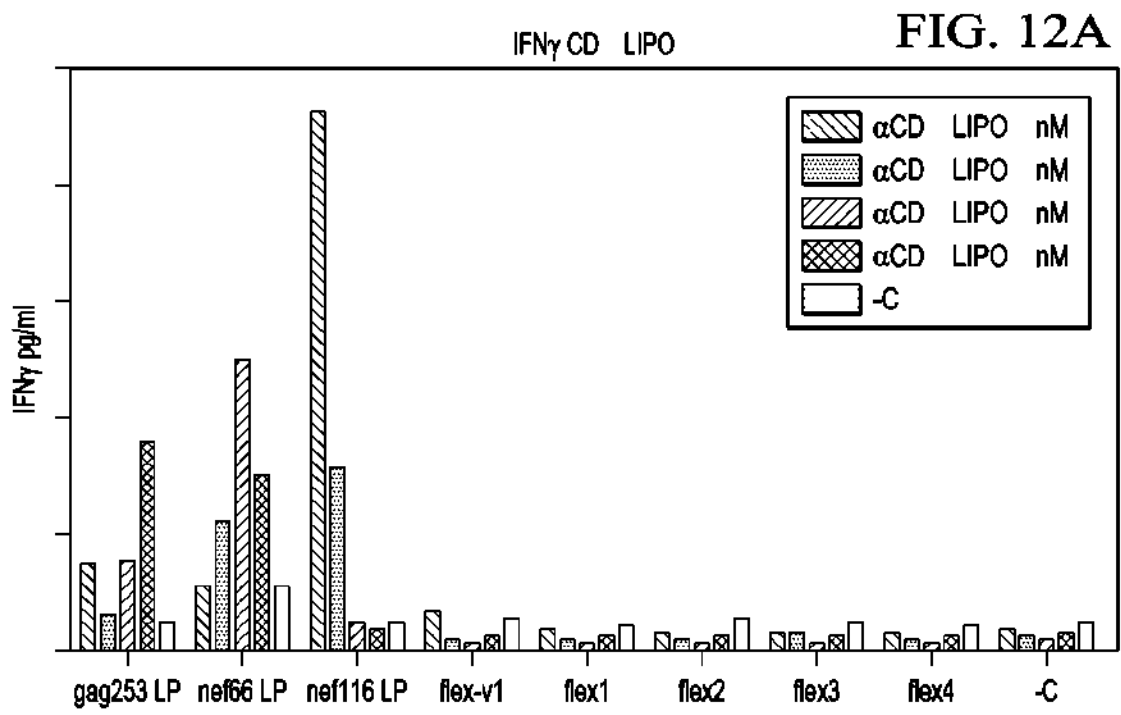


FIG. 11B





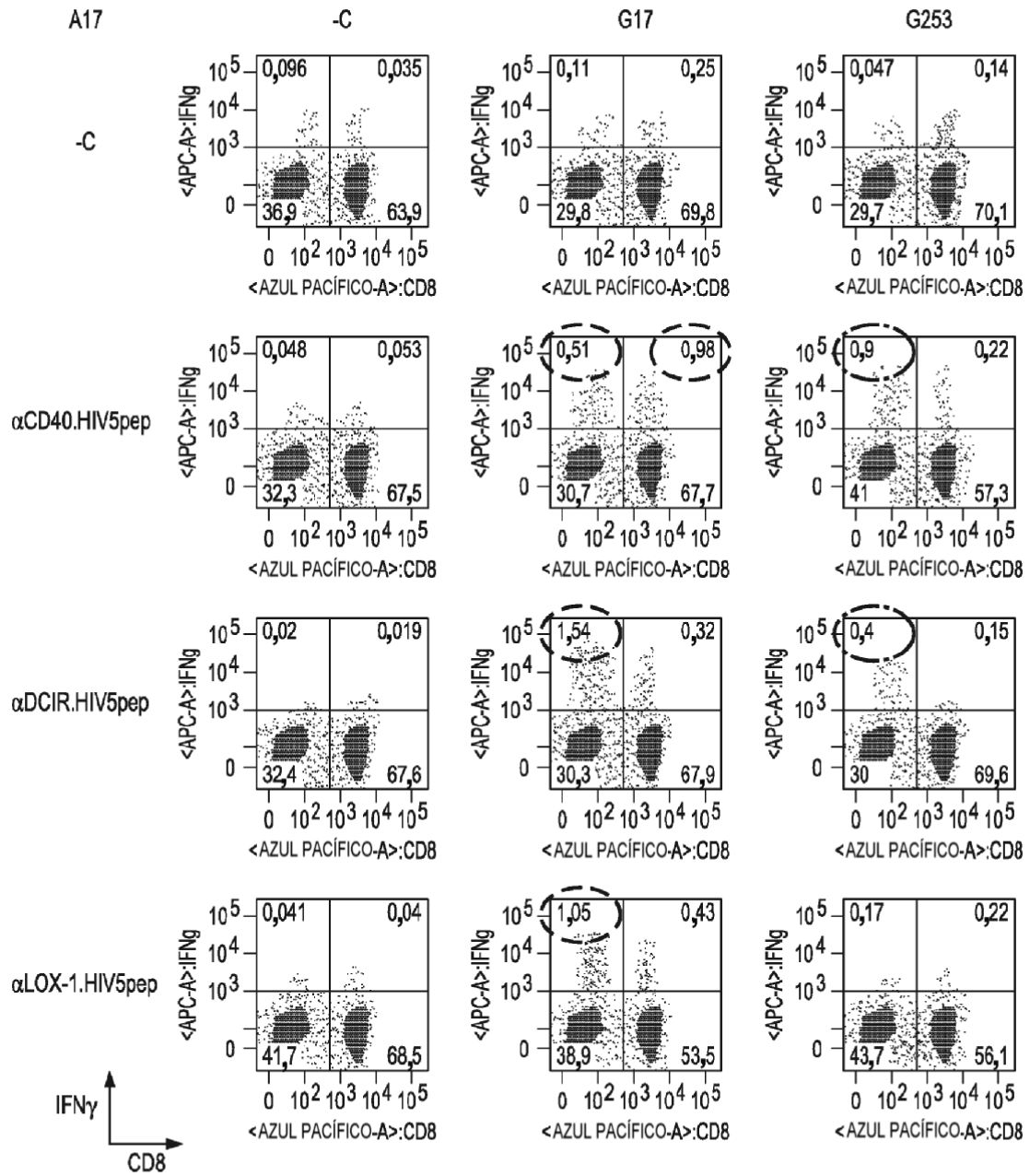


FIG. 12B-1

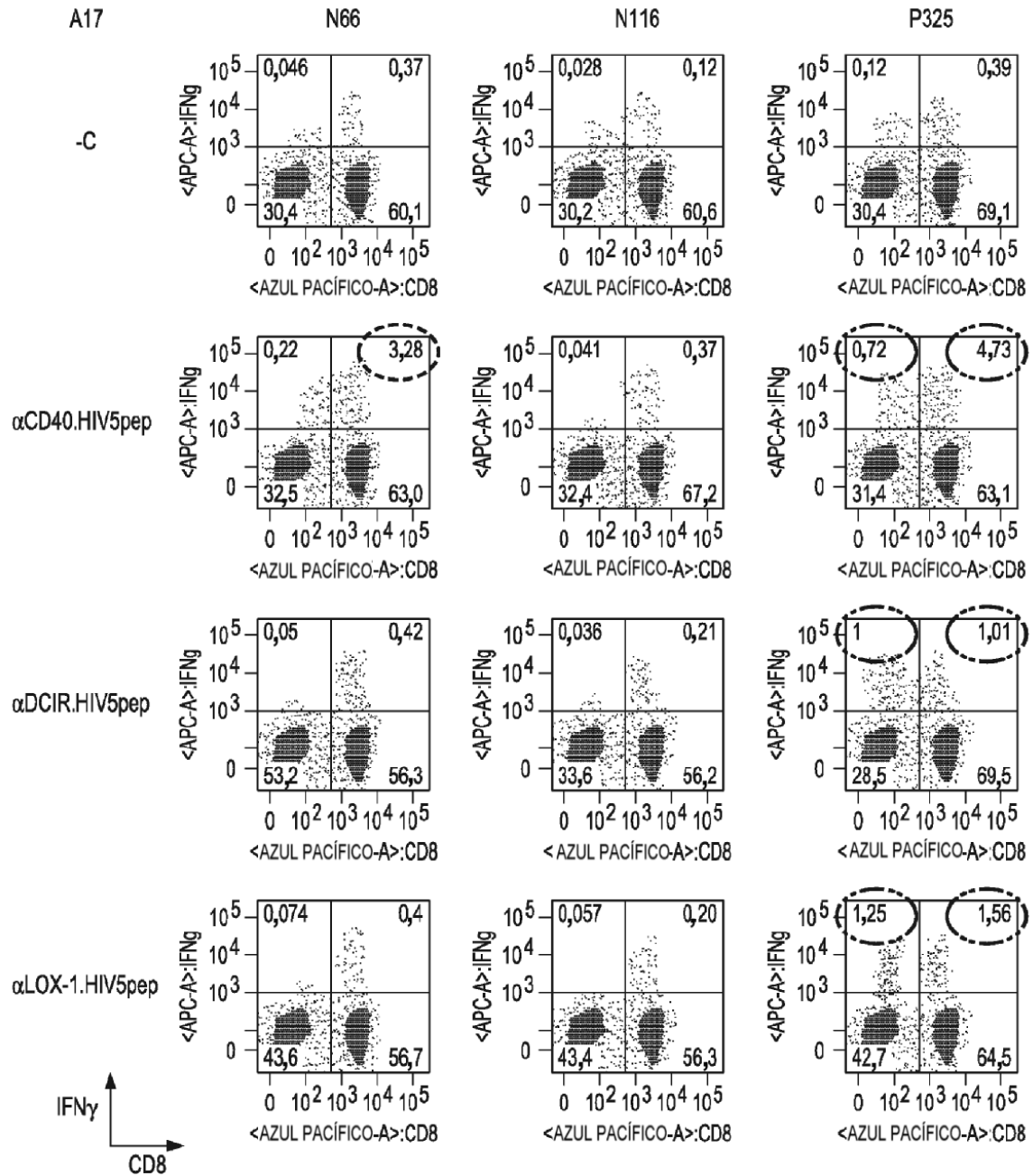


FIG. 12B-2

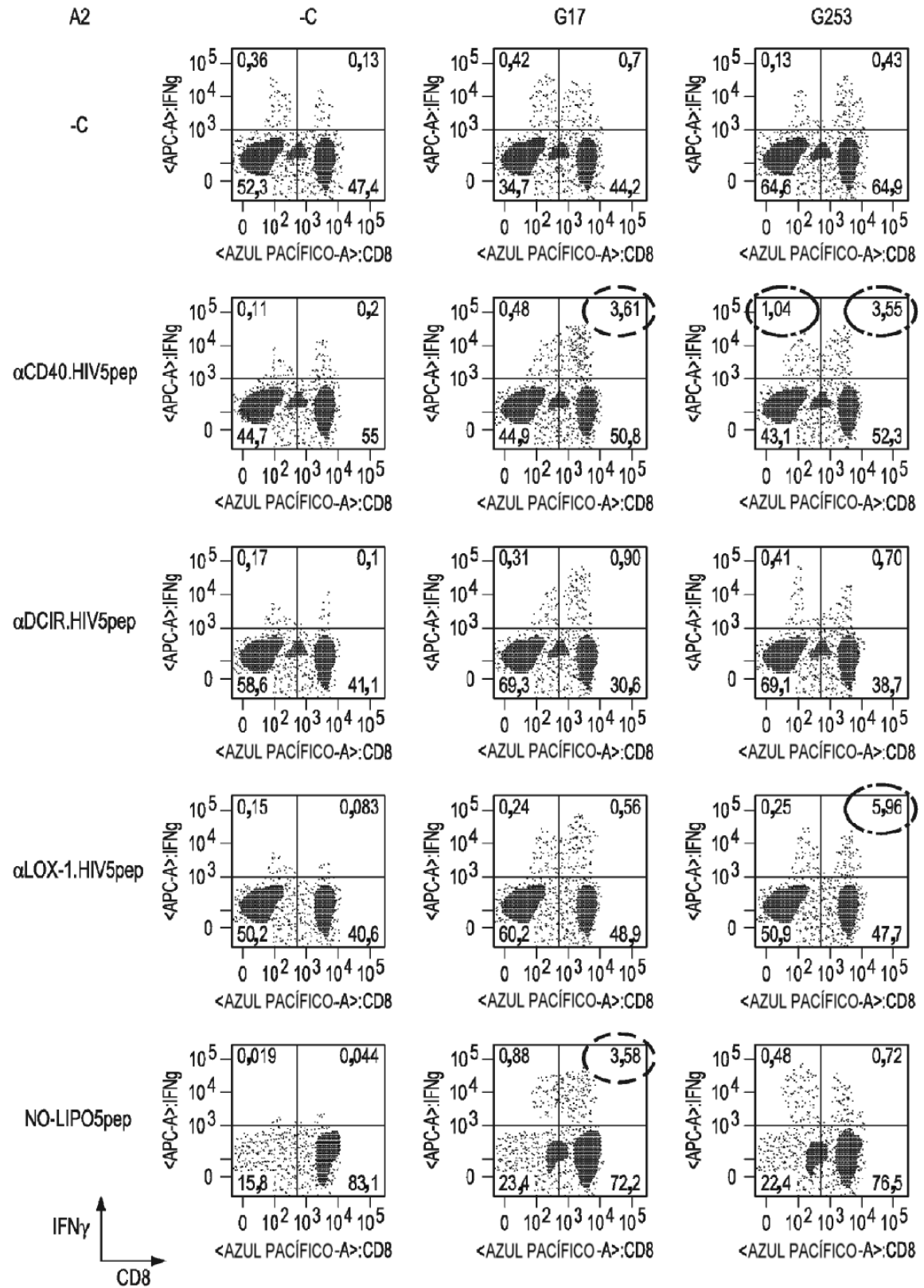
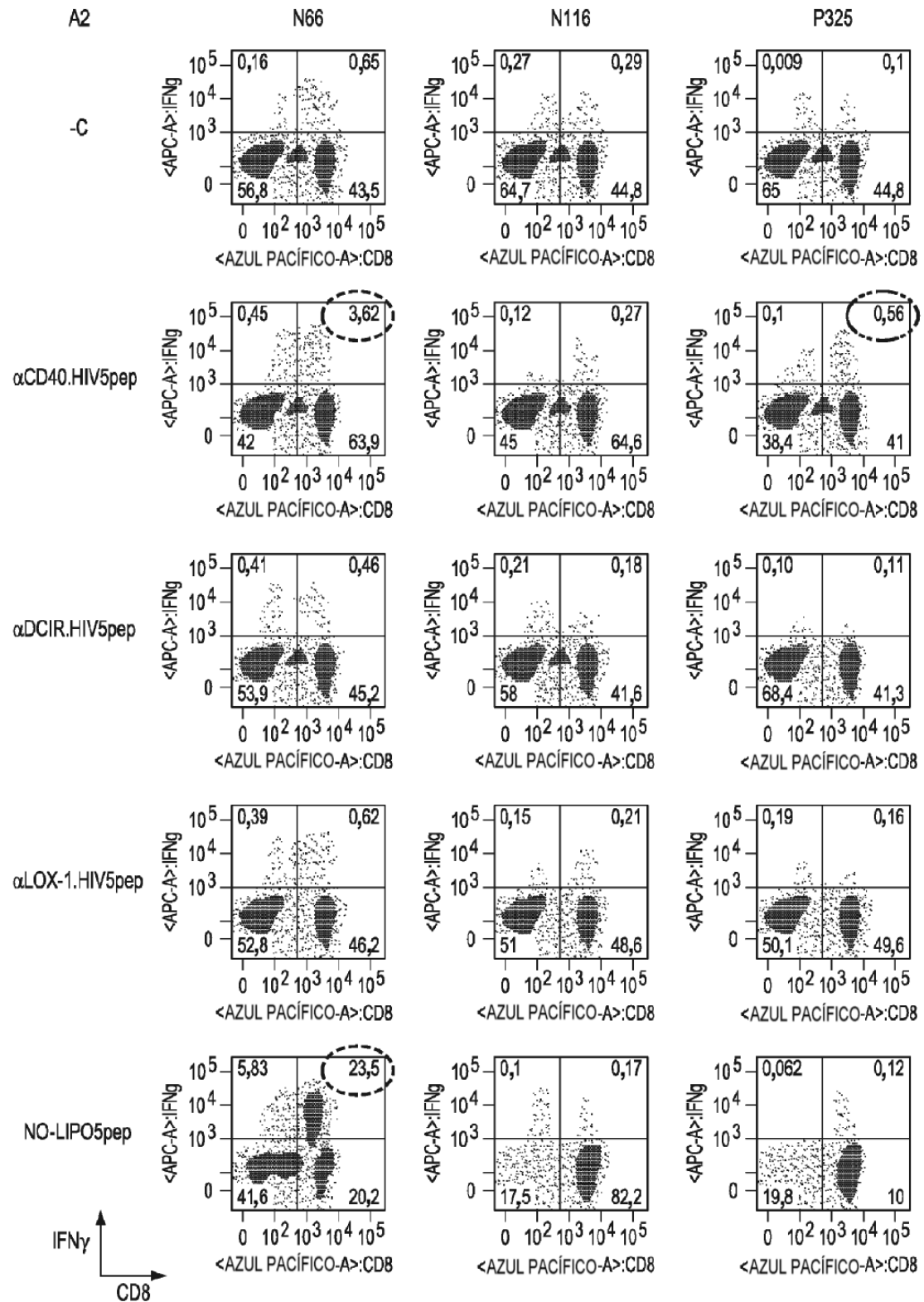


FIG. 12C-1





RESPUESTA DE LINFOCITOS CD4<sup>+</sup> Y CD8<sup>+</sup> DESPUÉS DE DIRECCIÓN DE ANTÍGENOS DE PÉPTIDOS DE VIH A TRAVÉS DE DIFERENTES RECEPTORES ENDOCÍTICOS

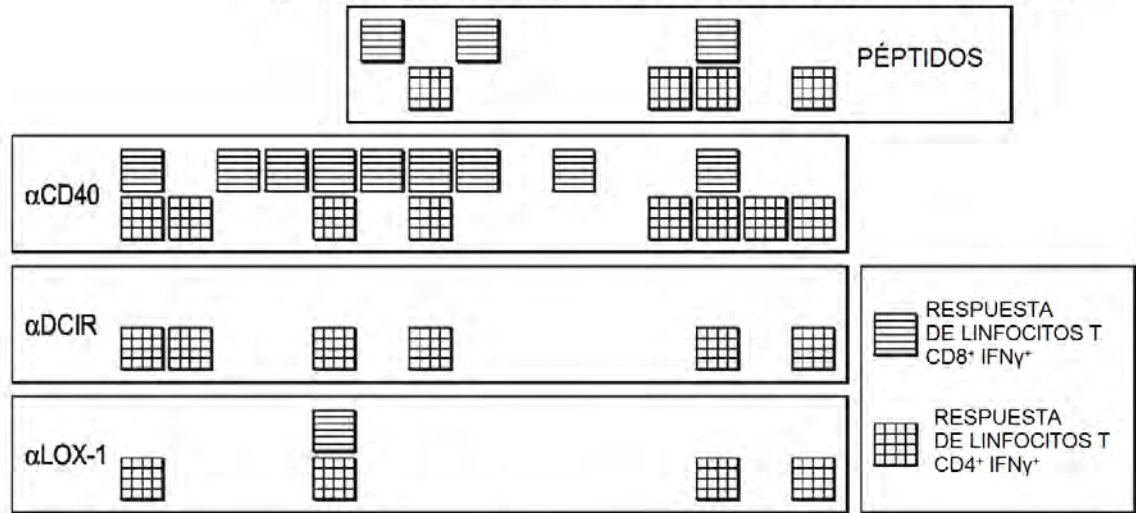


FIG. 12D

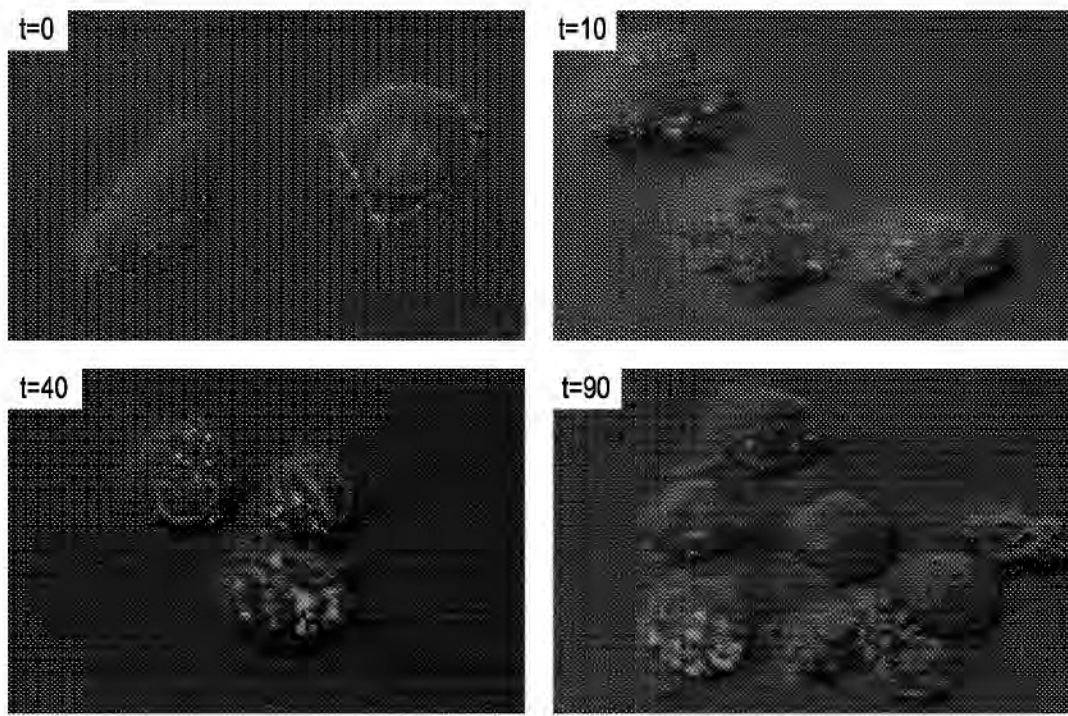
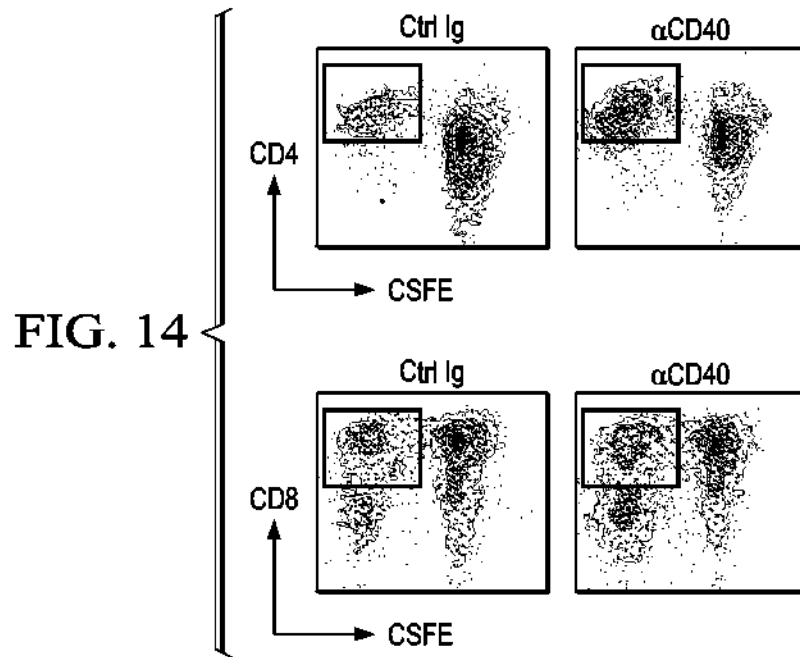
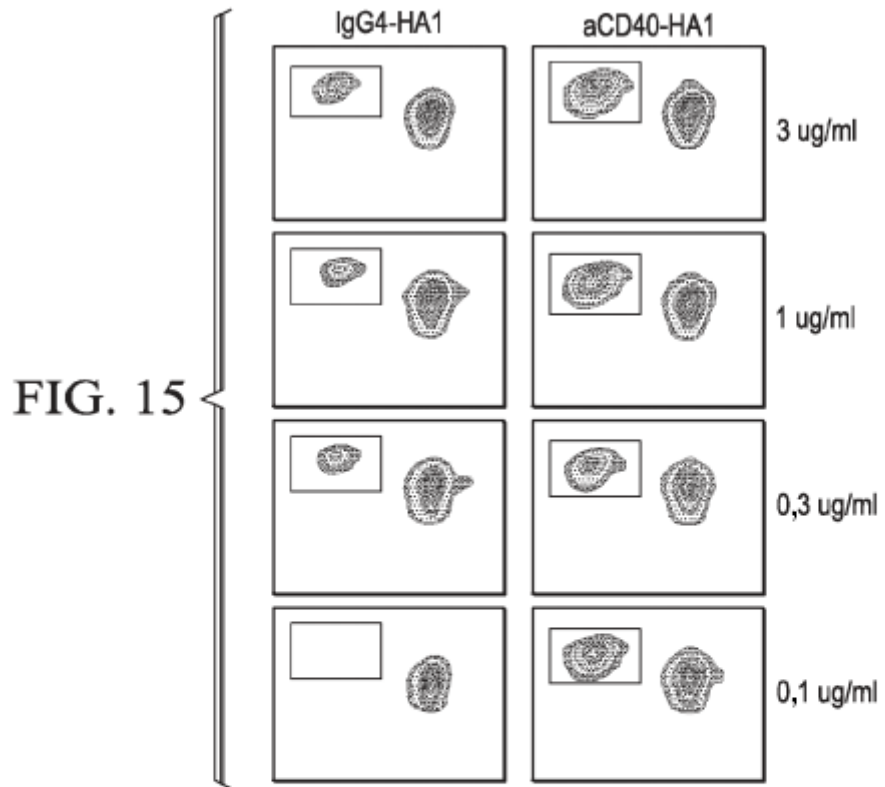


FIG. 13





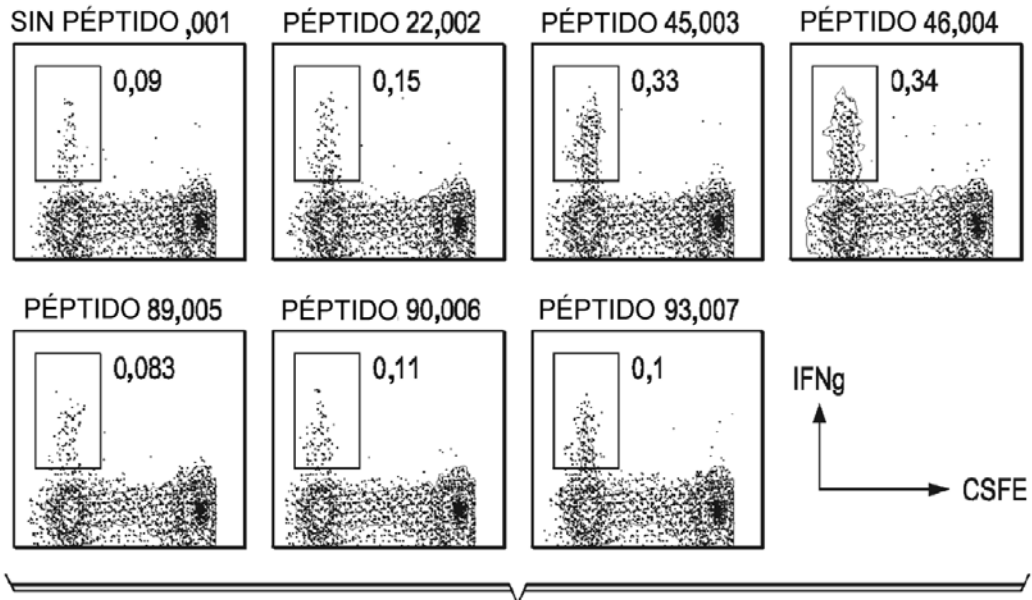
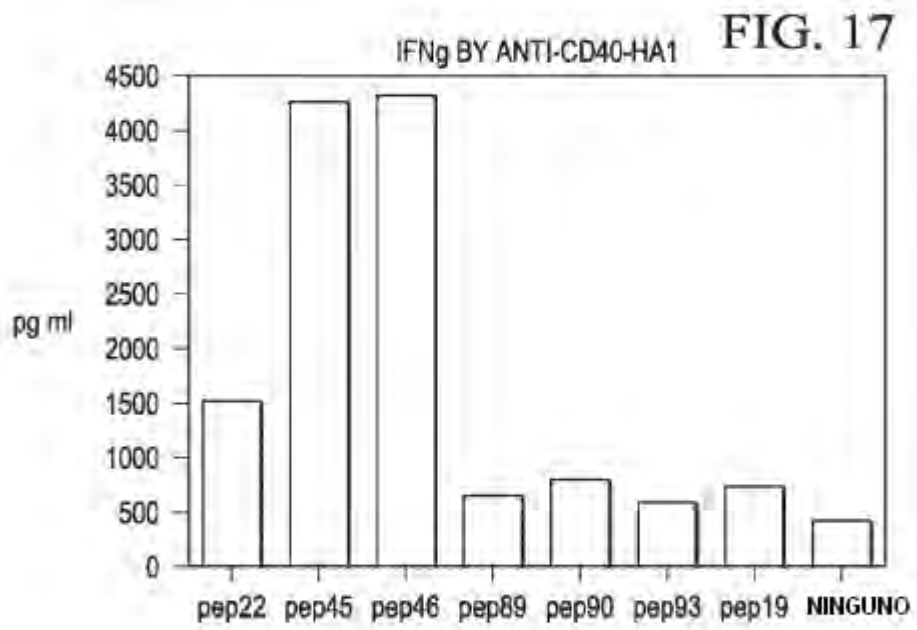


FIG. 16



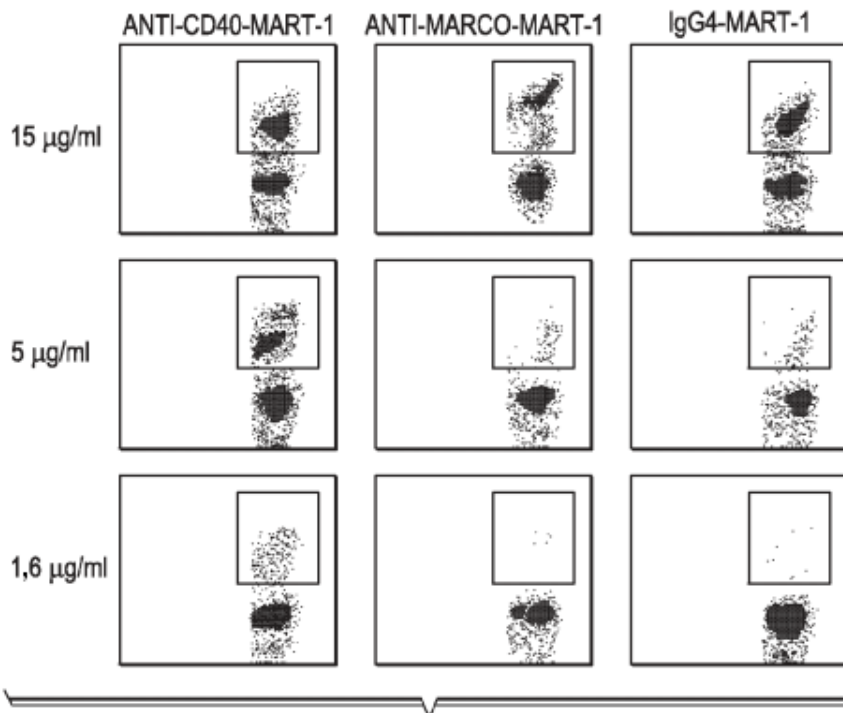


FIG. 18

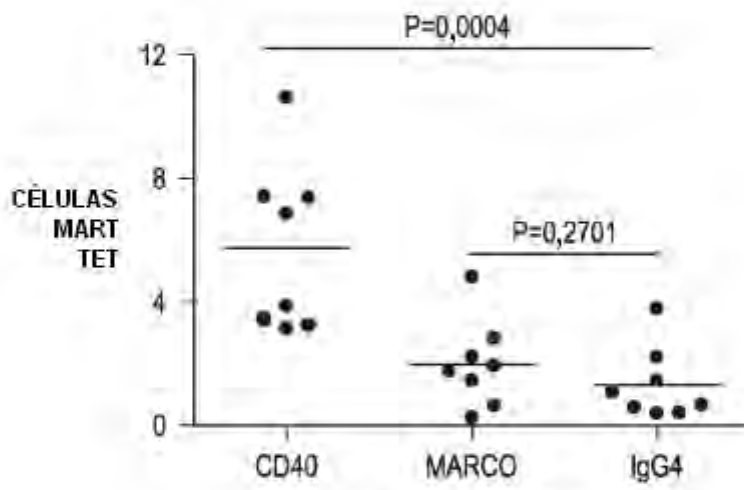


FIG. 19



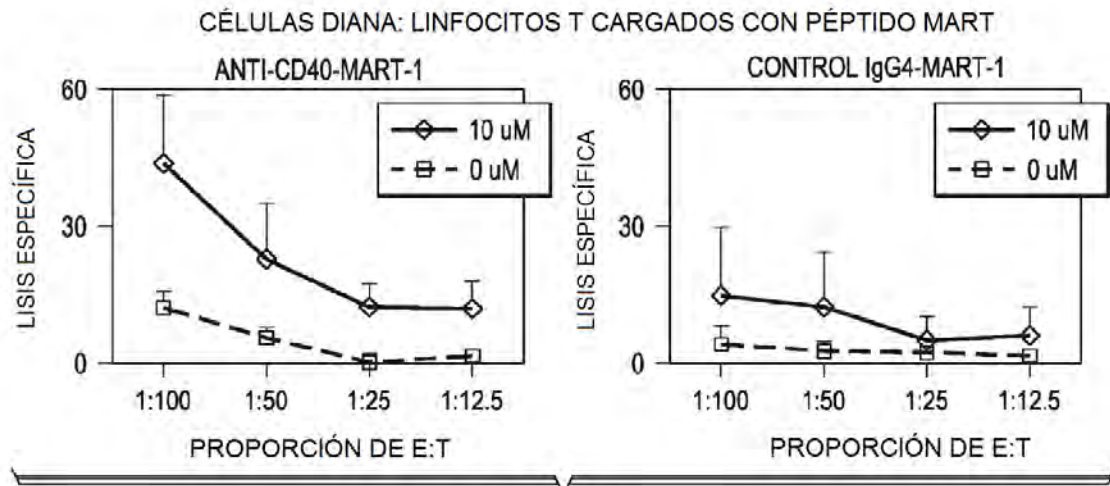


FIG. 20

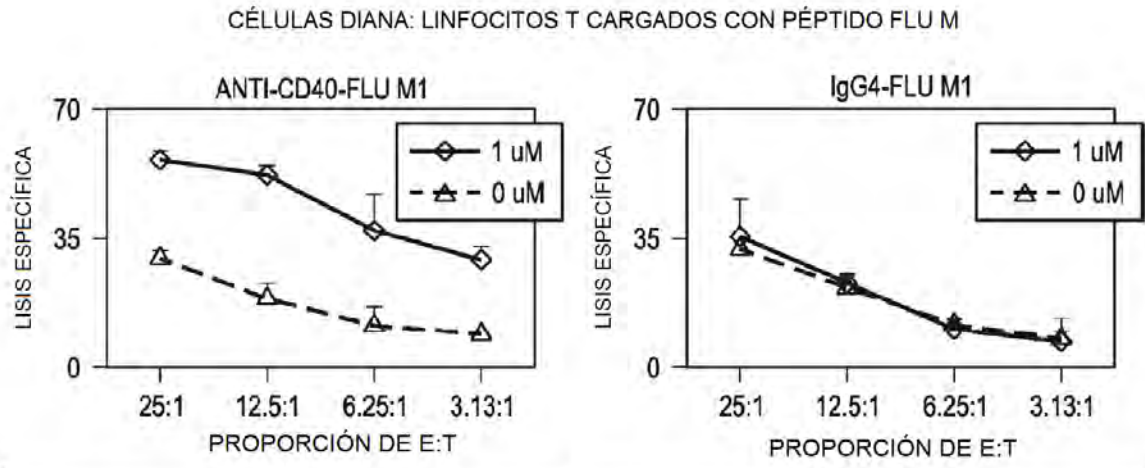


FIG. 21

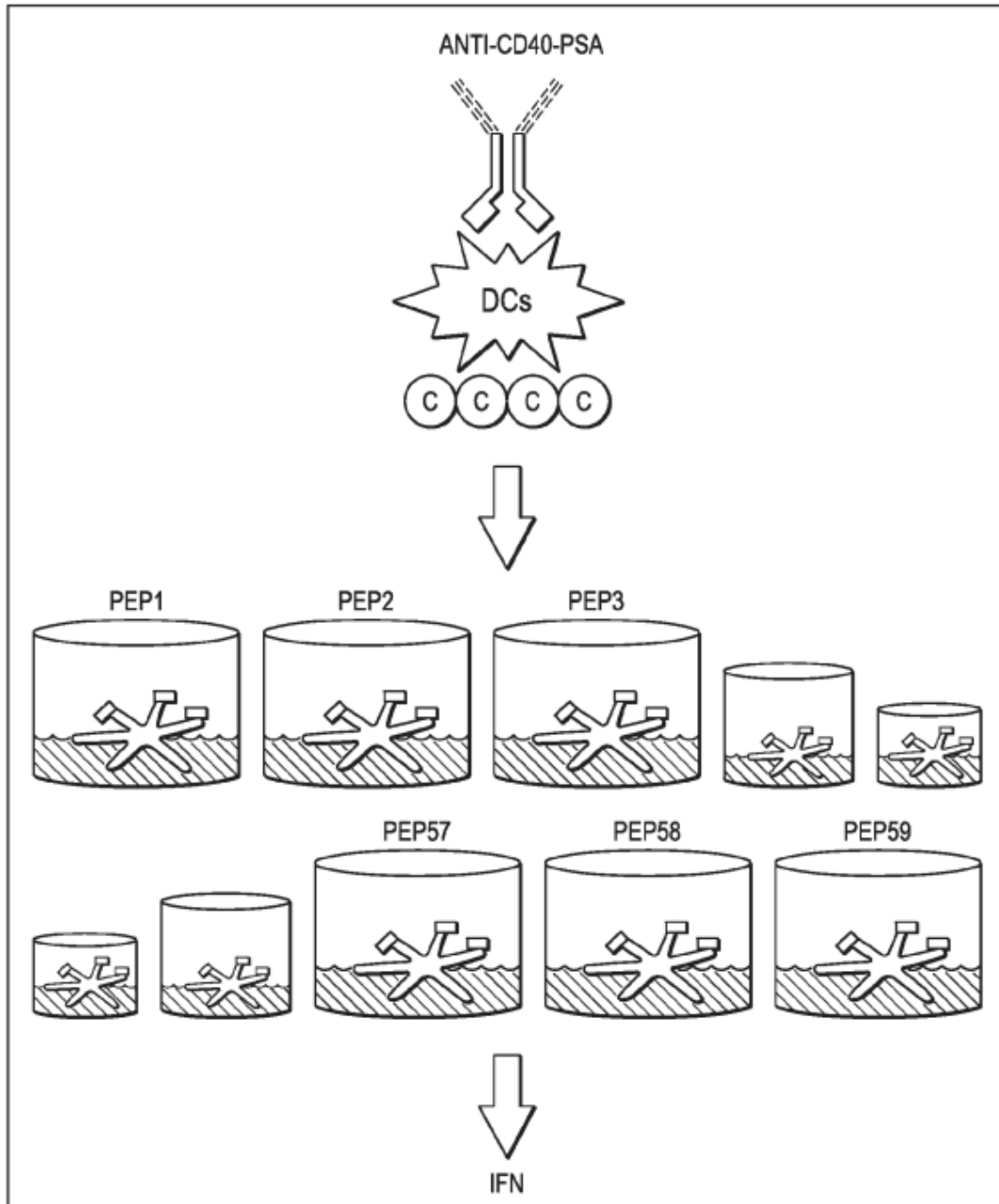
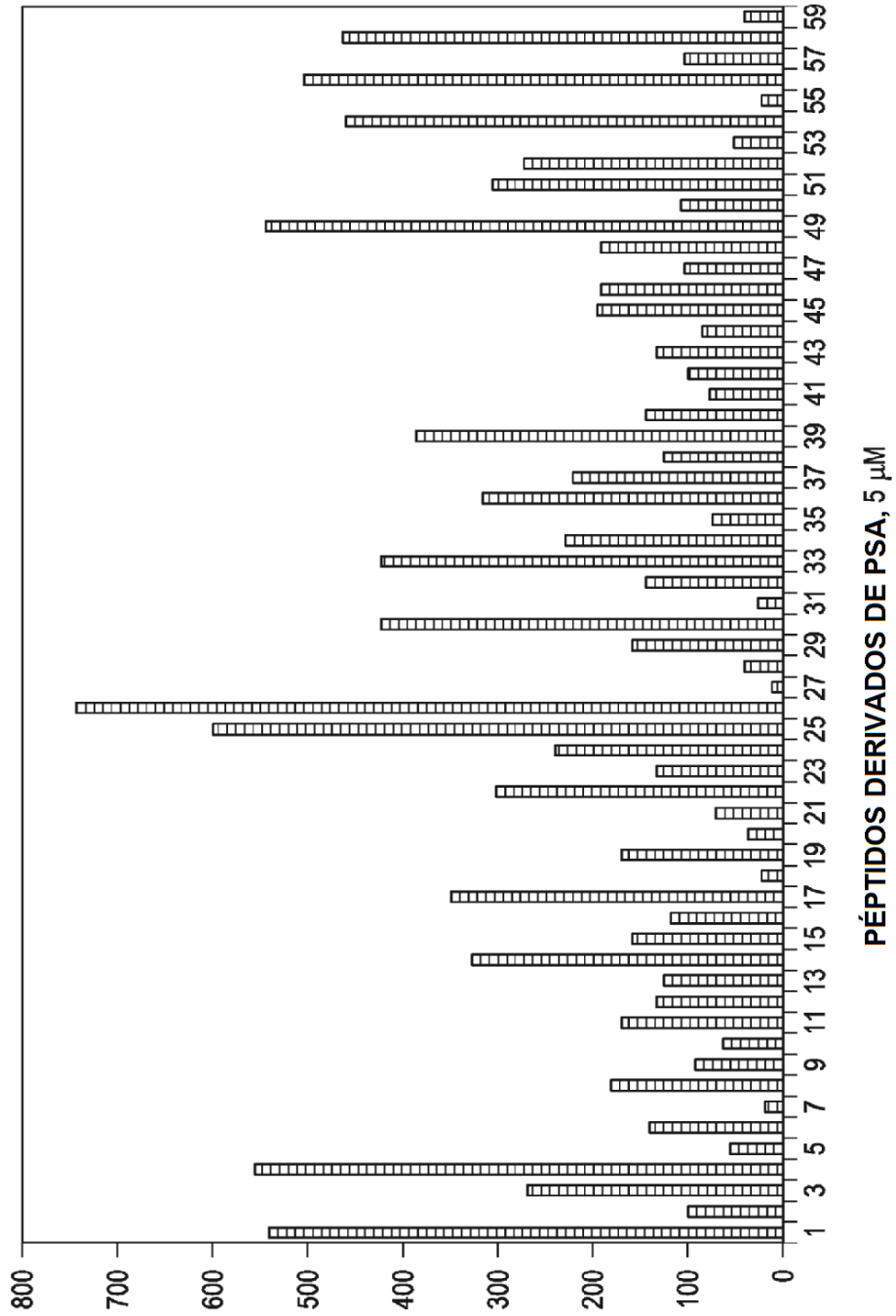


FIG. 22

FIG. 23



PÉPTIDOS DERIVADOS DE PSA, 5  $\mu\text{M}$

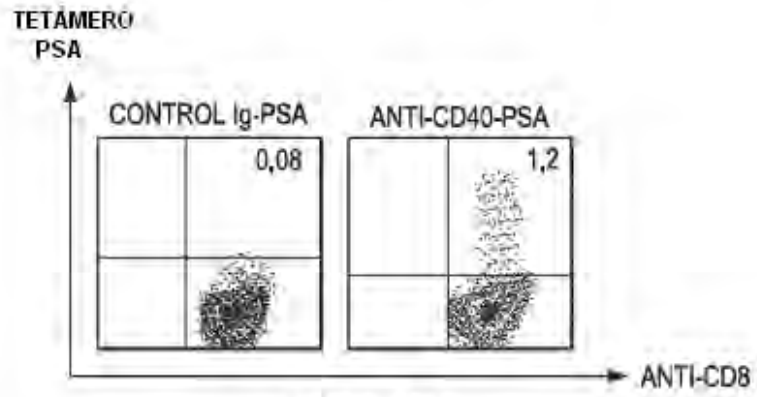
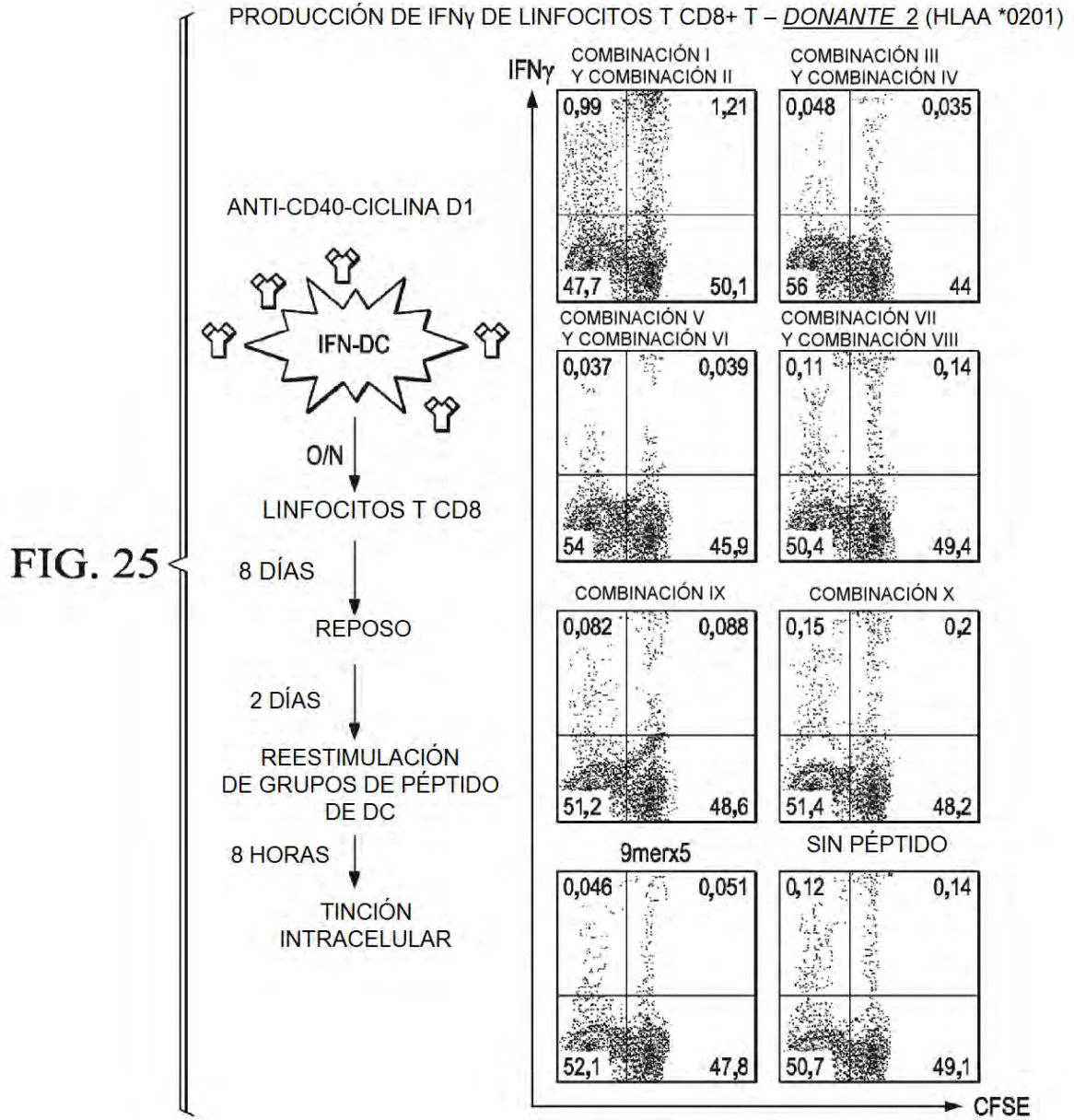


FIG. 24



PRODUCCIÓN DE IFN $\gamma$  DE LINFOCITOS T CD8+ T - DONANTE 2 (HLAA \*0201)

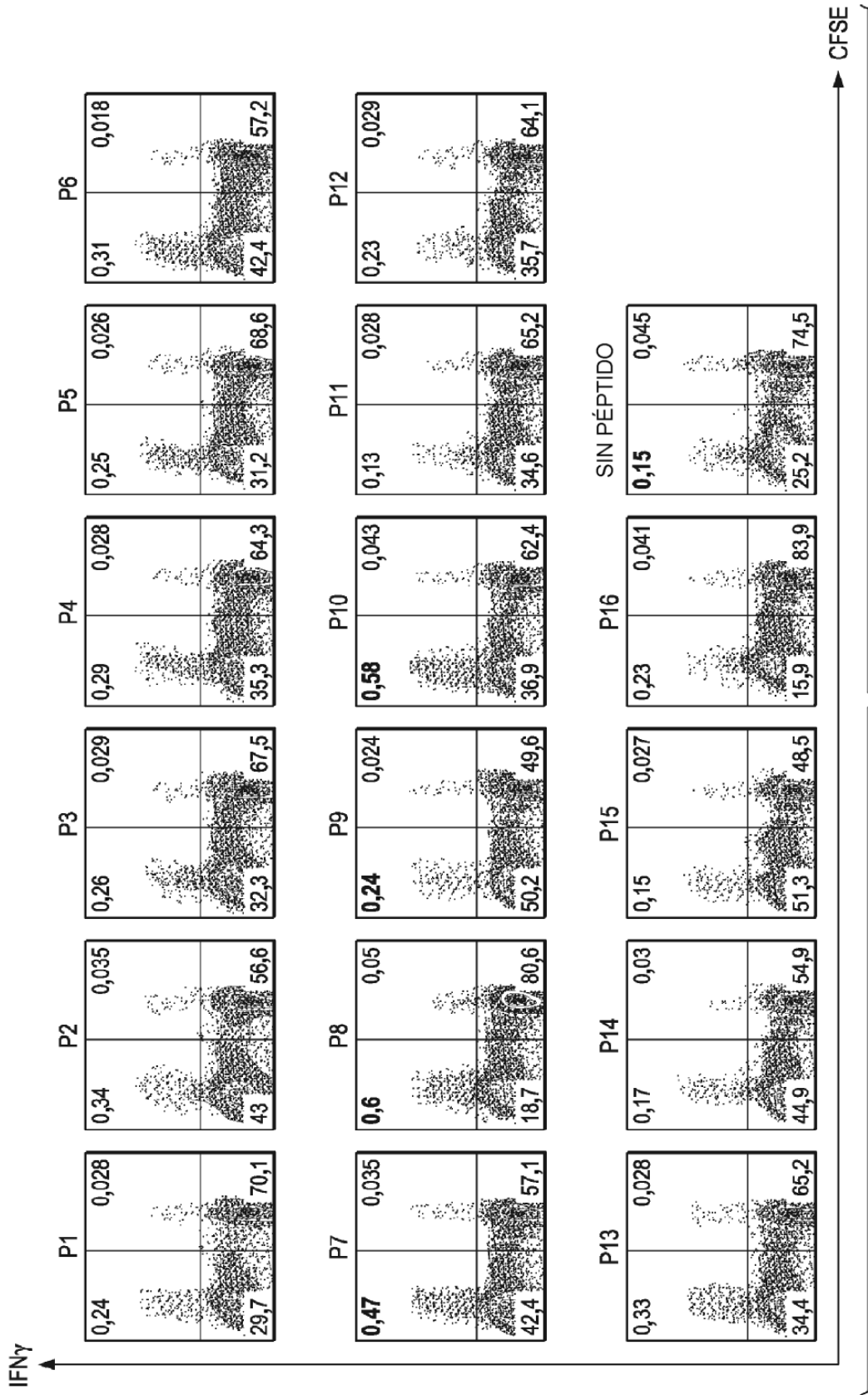


FIG. 26

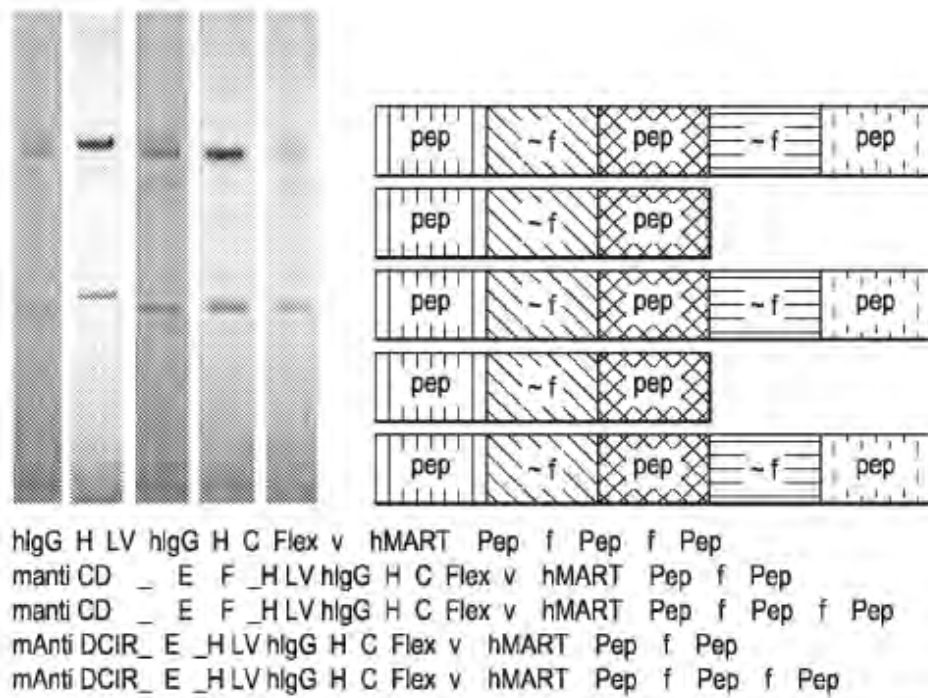


FIG. 27

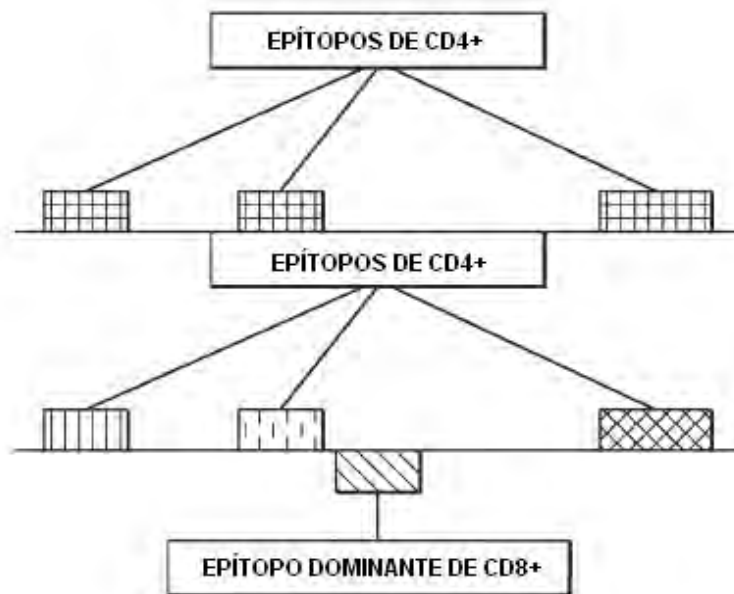


FIG. 28



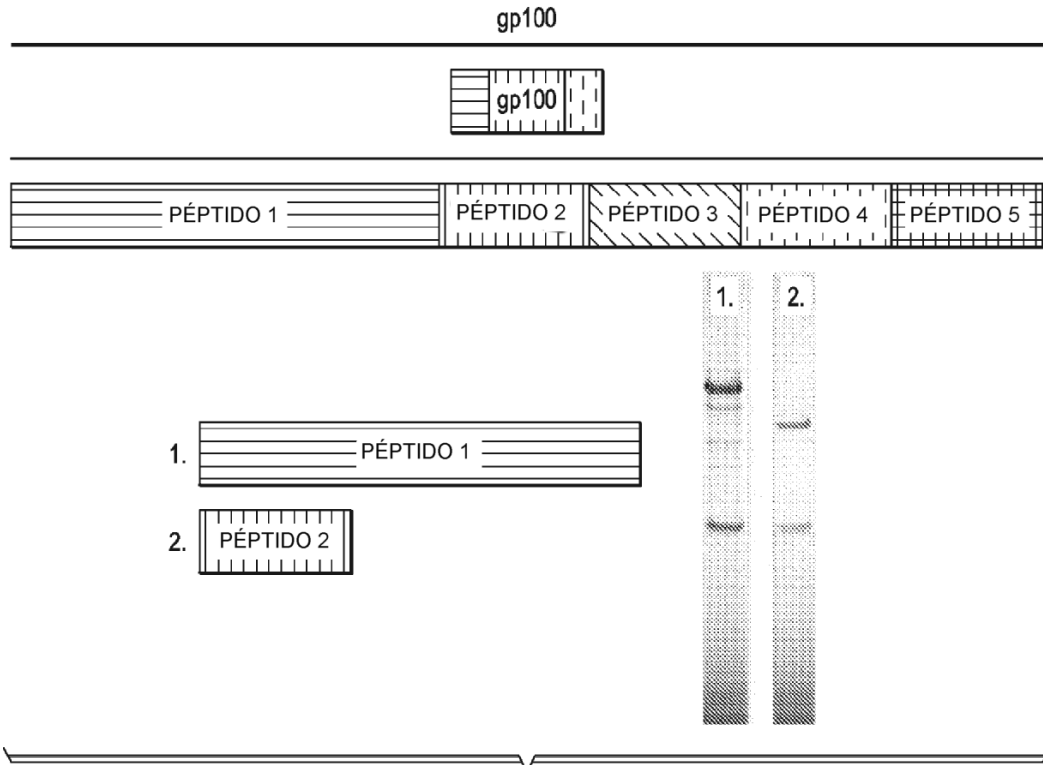


FIG. 29

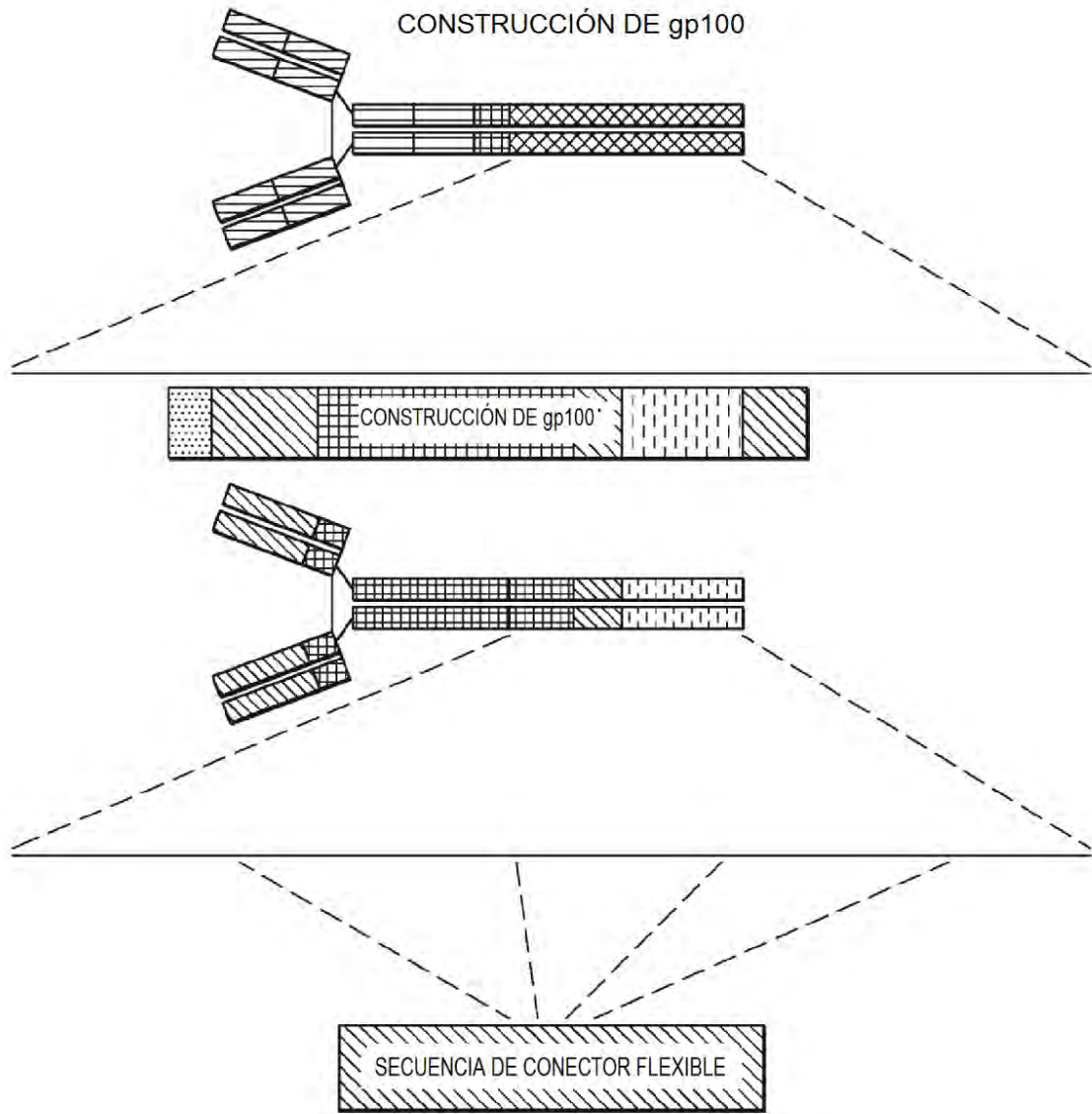


FIG. 30

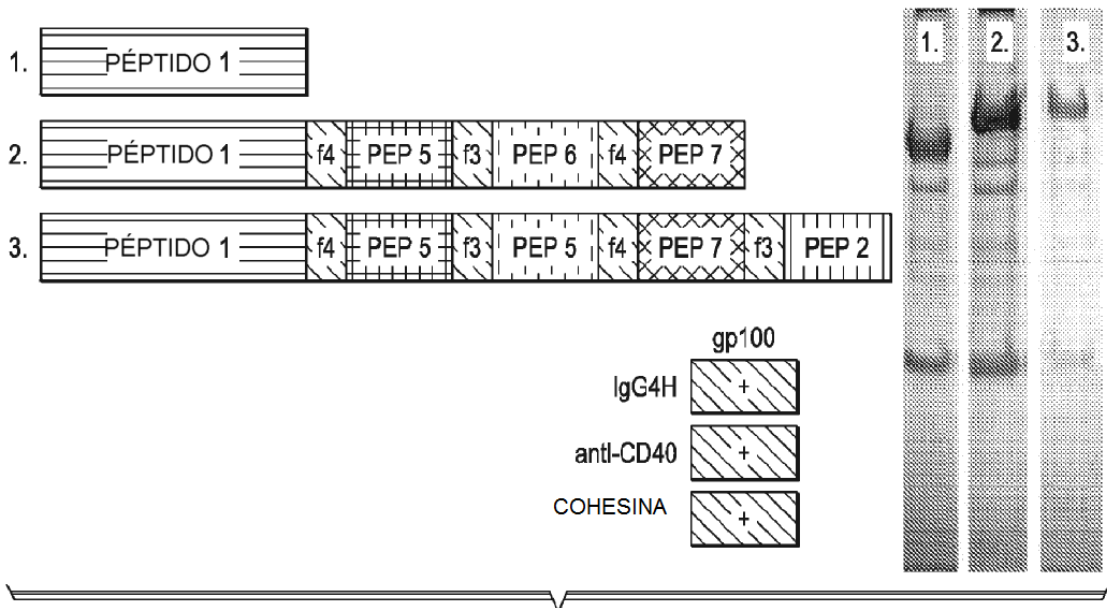


FIG. 31

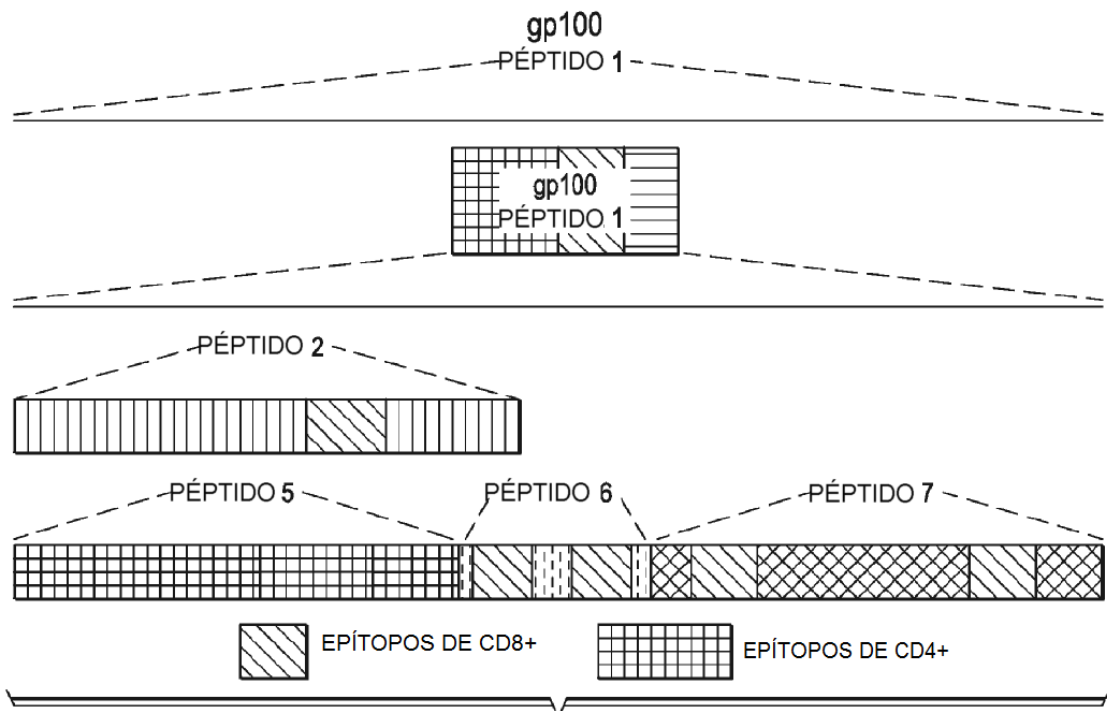


FIG. 32

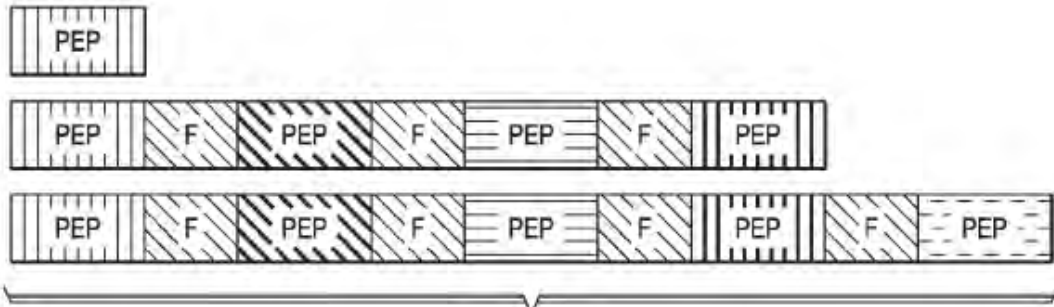
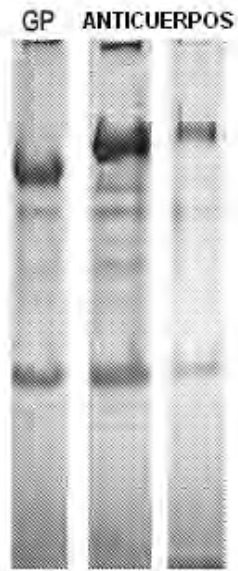


FIG. 33

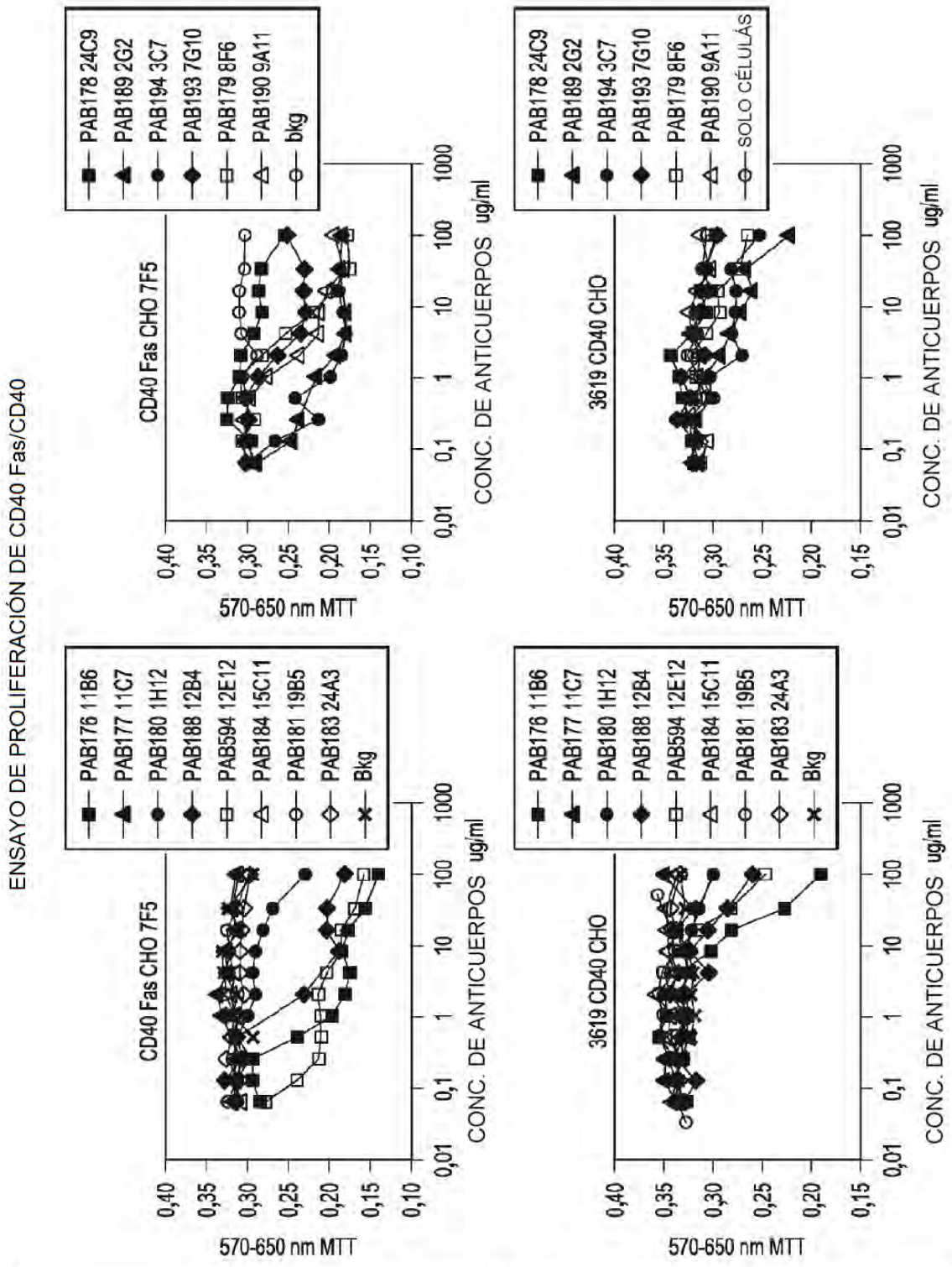


FIG. 34

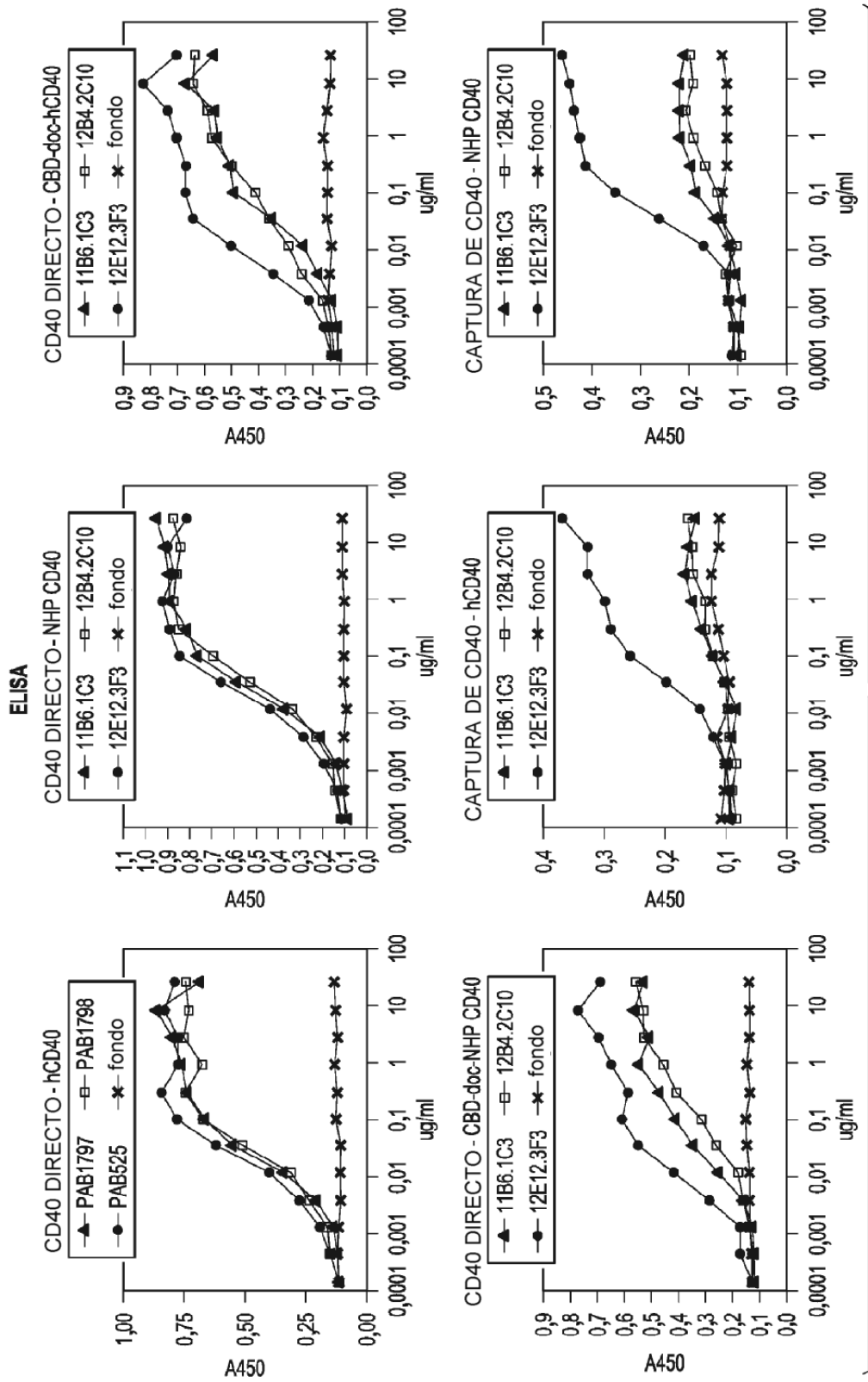


FIG. 35

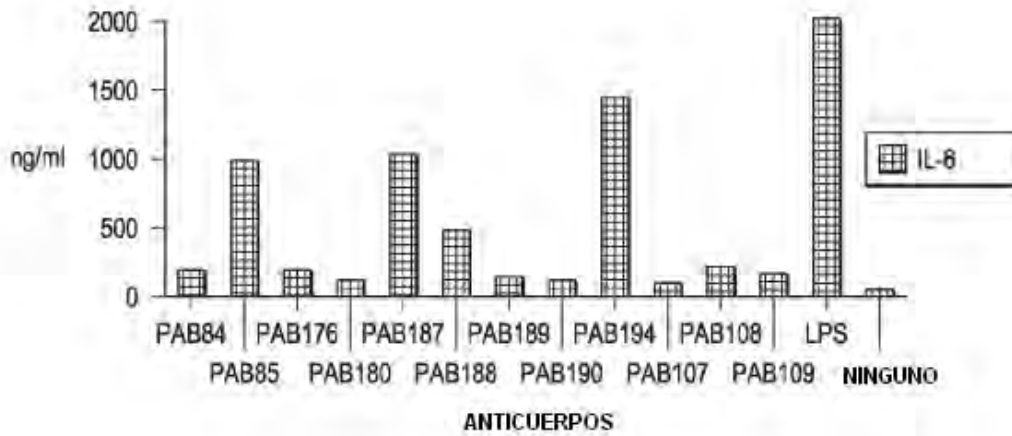


FIG. 36A

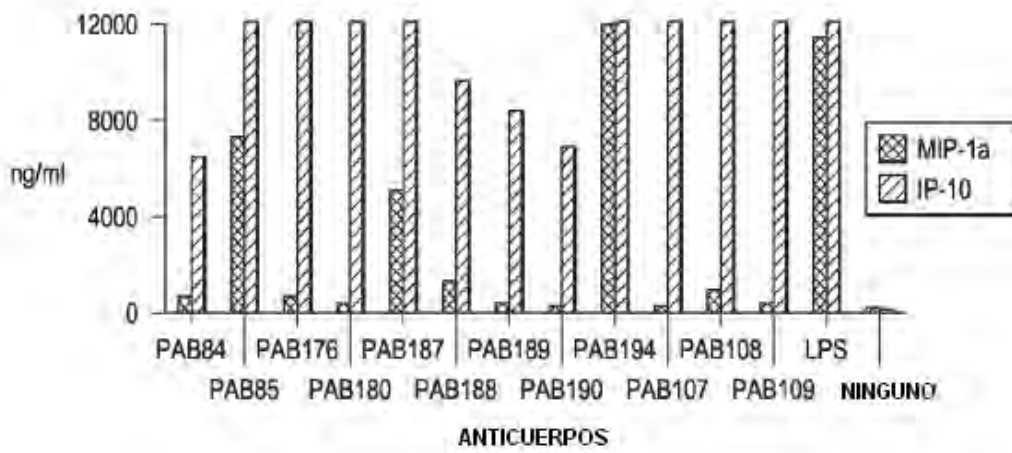


FIG. 36B

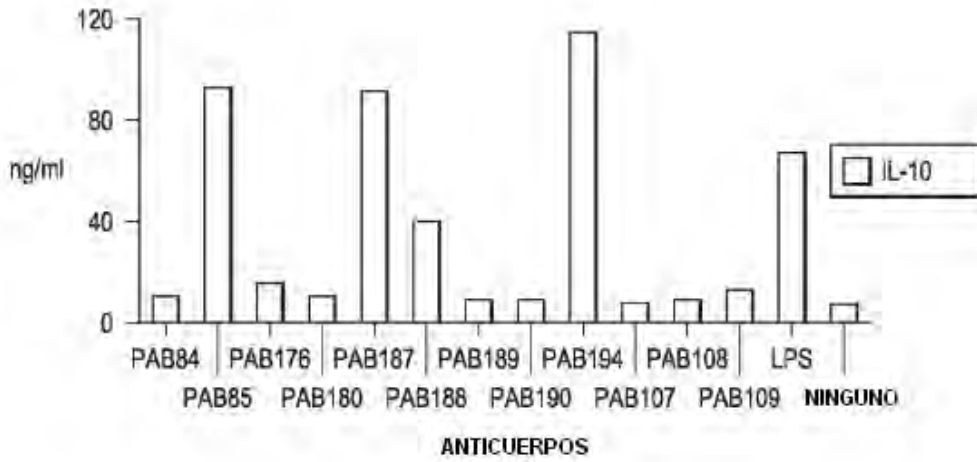


FIG. 36C

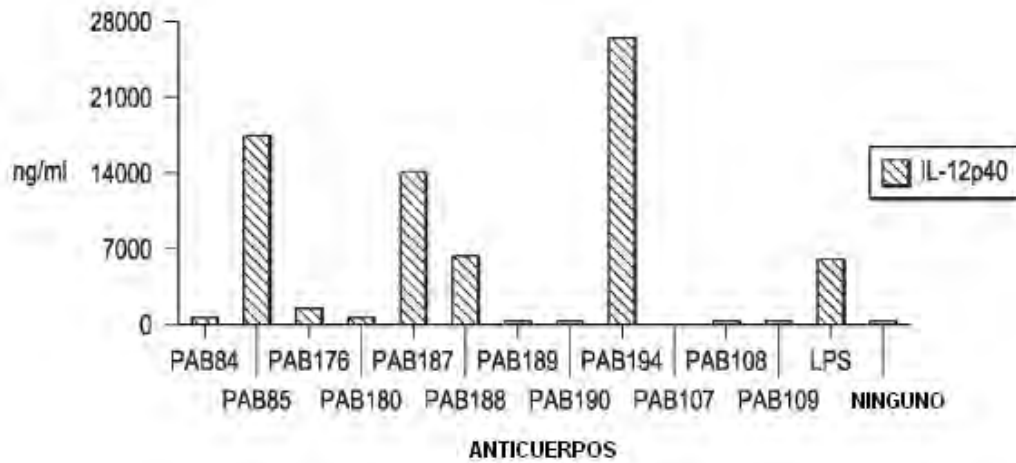


FIG. 36D



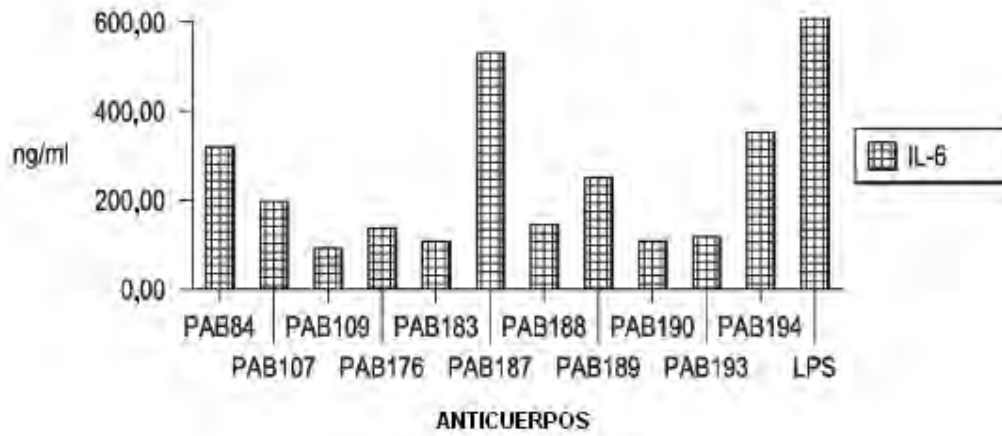


FIG. 37A

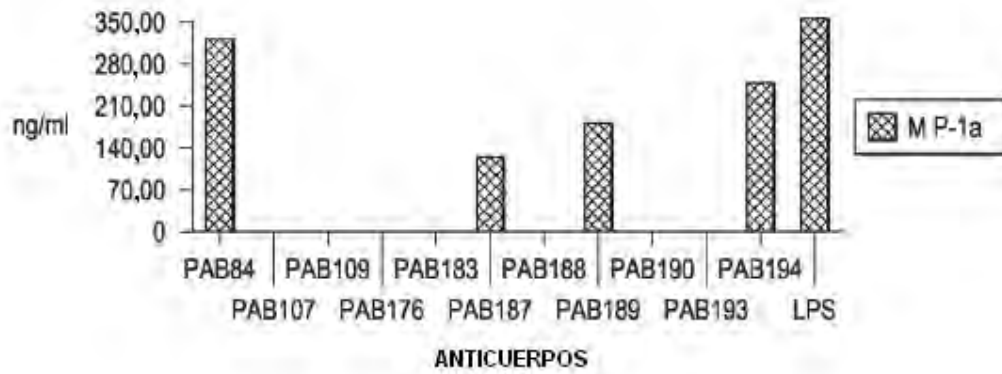


FIG. 37B

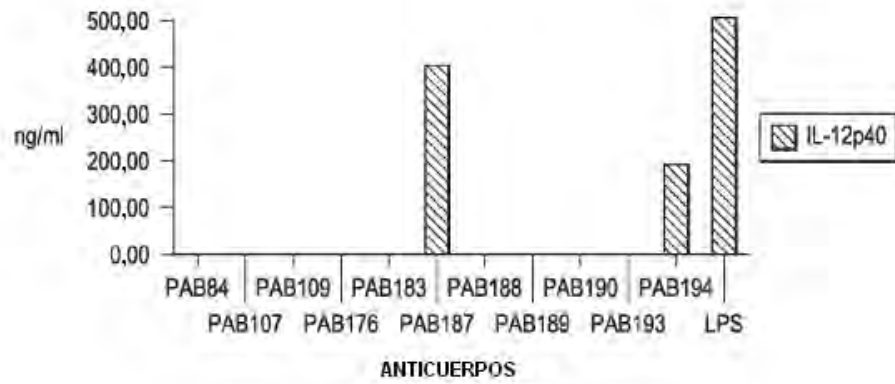


FIG. 37C

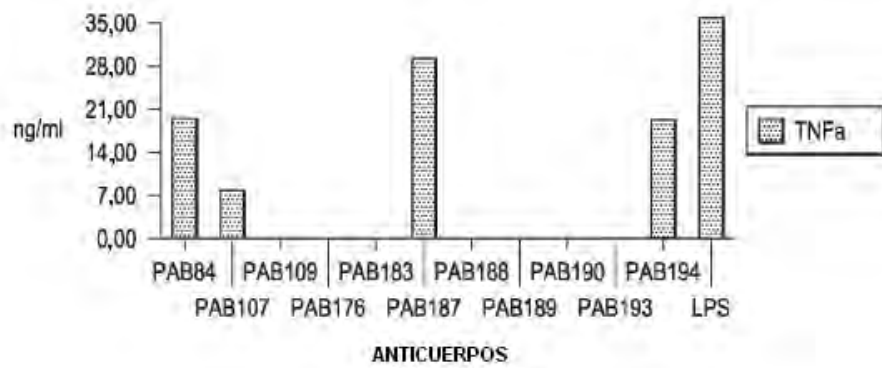


FIG. 37D

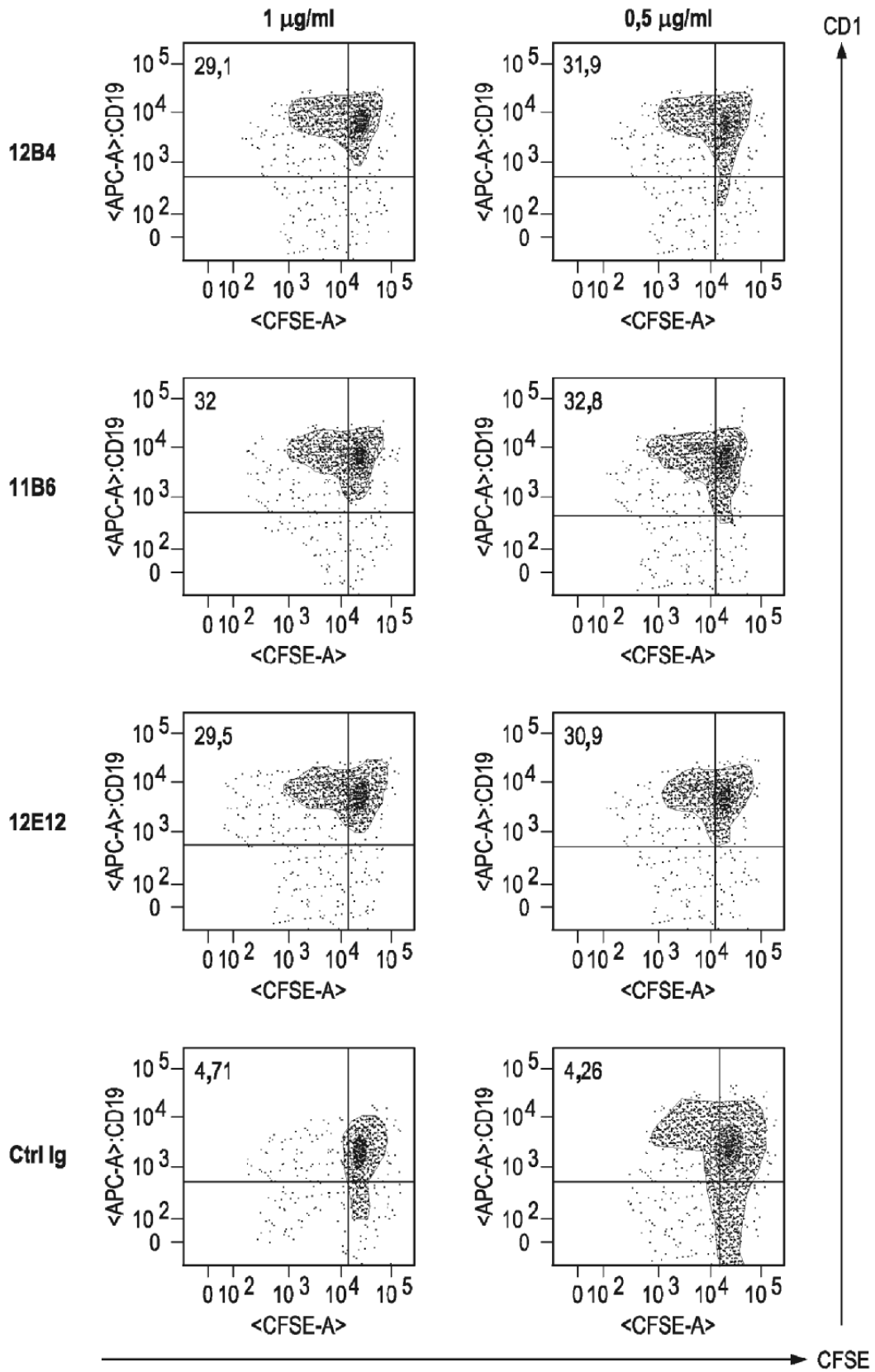


FIG. 38A

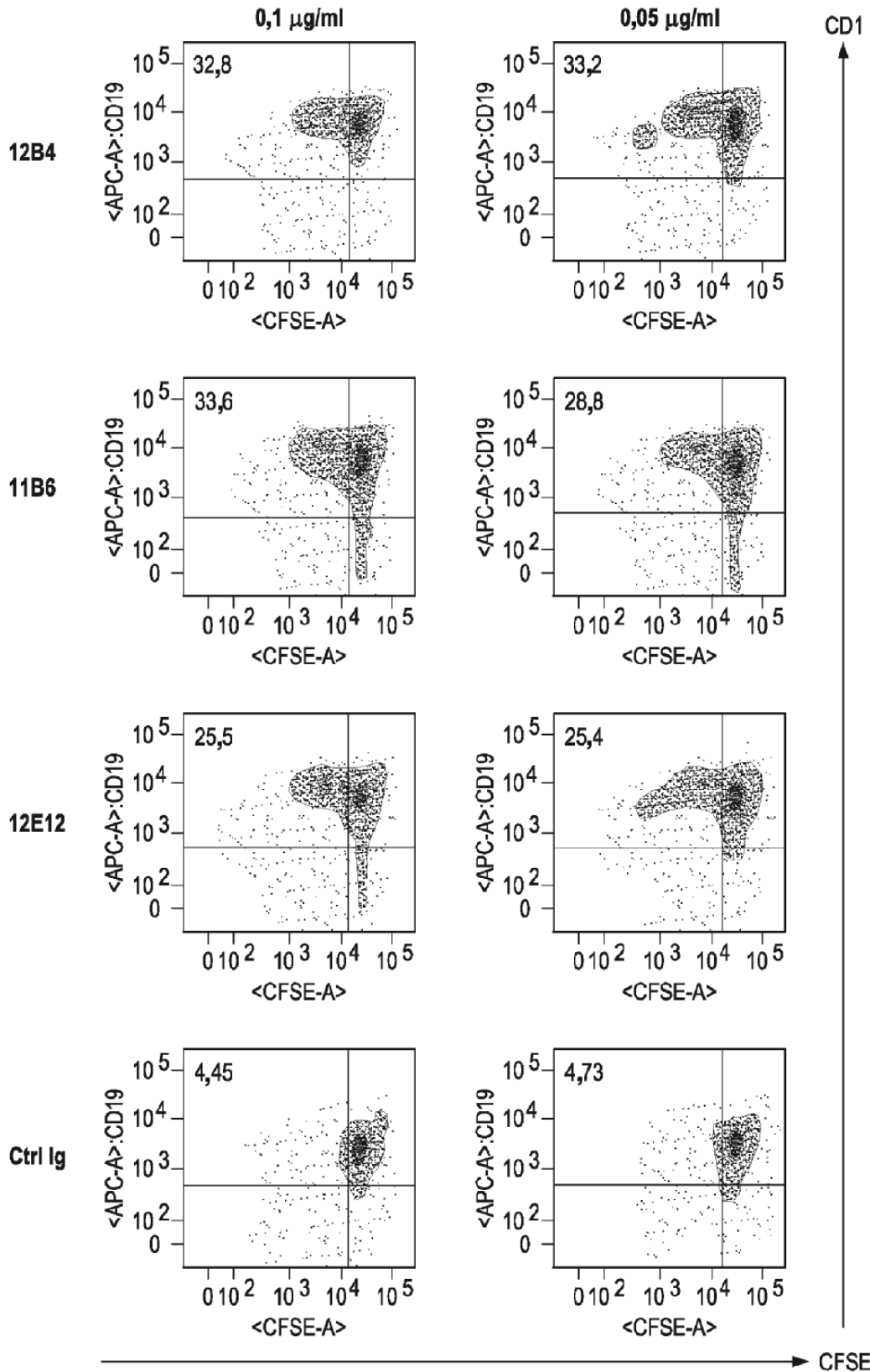


FIG. 38B

ULTIMA HOJA AÑADIDA  
TOTAL DE HOJAS - 48