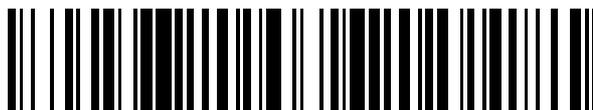


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 596 682**

51 Int. Cl.:

C07K 14/005 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
A61K 39/21 (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61K 31/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2005 E 11157974 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2374477**

54 Título: **Vectores y construcciones de administración de antígenos**

30 Prioridad:

13.04.2004 GB 0408164

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

11.01.2017

73 Titular/es:

**ALTIMMUNE UK LIMITED (100.0%)
London Bioscience Innovation Centre, 2 Royal
College Street
London NW1 0NH, GB**

72 Inventor/es:

**BONNET, DOMINIQUE;
BROWN, CARLTON, B.;
GEORGES, BERTRAND y
SIZER, PHILIP, J.**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 596 682 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

Vectores y construcciones de administración de antígenos

- 5 La presente invención se refiere a novedosas construcciones de administración de antígenos y a su uso en métodos de inmunización. En particular, la invención se refiere a construcciones útiles en la inmunización contra el virus de la inmunodeficiencia humana.

10 **Antecedentes de la invención**

- 10 Los recientes avances en nuestra comprensión de las respuestas inmunológicas de mamíferos han conducido a la prevención de ciertas enfermedades en el hombre a través de la vacunación profiláctica y al control y el tratamiento de enfermedades mediante el uso de inmunoterapéuticos. Los tipos de enfermedades que pueden ser tratadas por intervención inmunológica incluyen aquellas causadas por agentes infecciosos, cánceres, alergias y enfermedades autoinmunitarias. En estos casos, lo más comúnmente, la premisa del tratamiento médico es la administración eficiente de antígenos a células de reconocimiento inmunitario apropiadas. Por ejemplo, la vacunación profiláctica ha erradicado con éxito la viruela en el mundo mediante la administración de una cepa atenuada viva del virus que lleva todos los antígenos del virus no mutante. Similarmente, infecciones debidas a la bacteria *Haemophilus influenzae* serotipo b se han visto significativamente reducidas en los países occidentales después del desarrollo de una vacuna basada en el antígeno polisacárido de la pared celular bacteriana. Además, algunos cánceres, tales como el melanoma humano, responden a inmunoterapia usando células dendríticas (CD) autólogas como adyuvante celular y péptidos definidos derivados de la proteína melanosómica gp100 como fuente de antígeno específico de tumor para generar una respuesta inmunitaria mediada por células.

- 25 Puede restaurarse la auto-tolerancia a autoantígenos en el tratamiento de la encefalomiелitis autoinmune experimental por inyección de un neuroantígeno específico que es la diana de la respuesta inmunitaria destructiva. De aquí que pueda obtenerse especificidad mediante tal tratamiento sin necesidad de inmunosupresión a largo plazo.

- 30 Para enfermedades infecciosas, se ha producido el progreso más rápido en el control de la enfermedad cuando el anticuerpo producido para el antígeno administrado es capaz de neutralizar el agente infeccioso o la toxina segregada por el mismo, ya esté esto mediado por IgM, IgG o IgA. Asimismo, las enfermedades autoinmunitarias han sido tratadas con antígenos que pueden mejorar la acción de los autoanticuerpos. Sin embargo, para la erradicación de células infectadas con virus, células cancerosas y células que albergan bacterias intracelulares, también se requieren respuestas inmunitarias celulares. Por ejemplo, los virus intracelulares (por ejemplo, retrovirus, oncornavirus, ortomixovirus, paramixovirus, togavirus, rabdovirus, arenavirus, adenovirus, herpesvirus, poxvirus, papovavirus y virus de la rubeola) son capaces de replicarse y propagarse a las células adyacentes sin llegar a exponerse a anticuerpos. La importancia de la inmunidad mediada por células queda enfatizada por la incapacidad de los niños con deficiencia primaria de linfocitos T para eliminar estos virus, mientras que los pacientes con deficiencia de inmunoglobulinas, pero inmunidad mediada por células intacta, no sufren esta discapacidad. Un número pequeño, aunque importante, de bacterias, hongos, protozoos y parásitos sobreviven y se replican en el interior de células huésped. Estos organismos incluyen *Mycobacteria* (tuberculosis y lepra), *Legionella* (enfermedad del legionario), *Rickettsiae* (fiebre maculosa de las Montañas Rocosas), *Chlamydiae*, *Listeria monocytogenes*, *Brucella*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Candida albicans*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* y *Pneumocystis*. Al vivir en el interior de células, estos organismos son inaccesibles para los anticuerpos circulantes. Las respuestas inmunitarias innatas también son ineficaces. La principal defensa inmunitaria contra estos organismos es la inmunidad mediada por células, que implica tanto a los linfocitos T citolíticos CD8+ como a los linfocitos T colaboradores CD4.

- 50 El desarrollo de vacunas e inmunoterapéuticos capaces de provocar una respuesta inmunitaria mediada por células eficaz y sostenida constituye uno de los mayores retos en la vacunología. En particular, el desarrollo de una vacuna segura y eficaz para la prevención y el tratamiento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), se ha visto obstaculizado por la incapacidad de los candidatos a vacunas para estimular una inmunidad celular potente, duradera y relevante para la enfermedad.

- 55 La respuesta inmunitaria mediada por células del huésped responsable de la erradicación de patógenos intracelulares o células cancerosas se denomina respuesta Th1. Ésta se caracteriza por la inducción de linfocitos T citotóxicos (CTL) y linfocitos T colaboradores (HTL), que conduce a la activación de los mecanismos efectores inmunitarios, así como de citocinas inmunoestimulantes, tales como el IFN-gamma e IL-2. La importancia de las respuestas Th1 en el control de la infección vírica ha sido recientemente mostrada por Lu et al. (*Nature Medicine* (2004)). Este estudio clínico con individuos crónicamente infectados por el VIH-1 demostró una correlación positiva entre la supresión de la carga vírica y las respuestas tanto de los linfocitos T CD4+ que expresan IL-2 o IFN-gamma específicas del VIH-1 como de las células efectoras CD8+ específicas del VIH-1. Las estrategias inmunológicas actuales para mejorar la inmunidad celular inducida por vacunas e inmunoterapéuticos incluyen el desarrollo de versiones atenuadas vivas del patógeno y el uso de vectores vivos para administrar antígenos apropiados o ADN que codifica tales antígenos. Tales enfoques están limitados por consideraciones de seguridad en un ambiente

regulador cada vez más estricto. Además, los problemas que surgen de la escalabilidad de los procesos de fabricación y el coste frecuentemente limitan la viabilidad comercial de productos de origen biológico.

5 En este contexto, vacunas sintéticas racionalmente definidas basadas en el uso de péptidos han recibido una considerable atención como posibles candidatos para el desarrollo de novedosas vacunas profilácticas e inmunoterapéuticas. Los epítopes de linfocitos T y de linfocitos B representan las únicas partes activas de un inmunógeno que son reconocidas por el sistema inmunitario adaptativo. Pueden usarse pequeños péptidos que cubran regiones epitópicas de los linfocitos T o B como inmunógenos para inducir una respuesta inmunitaria, que en último lugar presenta una reacción cruzada con el antígeno nativo del que derivó la secuencia. Los péptidos son
10 antígenos muy atractivos, ya que están químicamente bien definidos, son altamente estables y pueden ser diseñados para contener epítopes de linfocitos T y B. Pueden seleccionarse epítopes de linfocitos T, incluyendo epítopes de CTL y T colaborador, basándose en su capacidad para unirse a moléculas del MHC, de tal forma que pueda conseguirse un amplio cubrimiento de población (The HLA Factsbook, Marsh, S., Academic Press. 2000). Además, la capacidad para seleccionar epítopes de linfocitos T y B apropiados permite dirigir la respuesta
15 inmunitaria a múltiples epítopes conservados de patógenos que se caracterizan por una elevada variabilidad de secuencia (tal como VIH, virus de la hepatitis C (VHC) y malaria).

Con el fin de estimular las respuestas de linfocitos T, los péptidos sintéticos contenidos en una vacuna o un producto inmunoterapéutico deben ser preferentemente interiorizados por las células presentadoras de antígeno, y especialmente las células dendríticas. Las células dendríticas (CD) desempeñan una función crucial en la iniciación de las respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T primarias. Estas células existen en dos estadios principales de la maduración asociados a diferentes funciones. Las células dendríticas inmaduras (CDi) se localizan en la mayoría de los tejidos o en la circulación y son reclutadas hacia los sitios inflamados. Son células captadoras de antígenos altamente especializadas, que expresan grandes cantidades de receptores implicados en la captación de
20 antígenos y la fagocitosis. Tras la captura y el procesamiento de antígenos, las CDi se trasladan a localizaciones locales de linfocitos T en los ganglios linfáticos o el bazo. Durante este proceso, las CD pierden su capacidad captadora de antígenos convirtiéndose en CD maduras (CDm) inmunoestimulantes.

Las células dendríticas son células presentadoras eficaces que inician la respuesta inmunitaria del huésped a un antígeno peptídico asociado a moléculas del MHC de clase I y de clase II. Son capaces de sensibilizar linfocitos T CD4 y CD8 sin tratamiento previo. Según los modelos actuales de rutas de procesamiento y de presentación de antígenos, los antígenos exógenos se interiorizan en los compartimentos endocíticos de las células presentadoras de antígeno, donde se degradan en péptidos, algunos de los cuales se unen a moléculas del MHC de clase II. Los complejos MHC de clase II/péptido maduros son entonces transportados a la superficie celular para su presentación a linfocitos T CD4. Por el contrario, el antígeno endógeno se degrada en el citoplasma por la acción del proteosoma antes de ser transportado al citoplasma, donde se une a moléculas del MHC de clase I nacientes. Las moléculas del MHC de clase I estables complejadas con péptidos son entonces transportadas a la superficie celular para estimular los CTL CD8. El antígeno exógeno puede también ser presentado sobre moléculas del MHC de clase I por APC profesionales en un proceso llamado presentación cruzada. Los fagosomas que contienen antígeno extracelular pueden fusionarse con el retículo endoplásmico y el antígeno puede conseguir la maquinaria necesaria para cargar péptido en las moléculas del MHC de clase I. Es bien reconocido, sin embargo, que los péptidos libres son frecuentemente inmunógenos pobres por sí solos (Fields Virology, Volumen 1, Tercera Edición, 1996).

Para optimizar la eficacia de las vacunas o agentes terapéuticos peptídicos, se han desarrollado diversas estrategias de vacunas para dirigir los antígenos a la célula presentadora de antígeno con el fin de elegir como diana la ruta del MHC de clase I y provocar respuestas de linfocitos T citotóxicos (CTL). Como ejemplo de un sistema de administración sintético, se han unido covalentemente cadenas acílicas grasas a péptidos como medio de administración de un epítope al compartimento intracelular del MHC de clase I con el fin de inducir actividad de CTL. Tales lipopéptidos, por ejemplo con una cadena de monopalmitoilo unida a un péptido que representa un epítope de la proteína Env del VIH, se describen en la patente EE.UU. 5.871.746. Se han suministrado otras tecnologías que tienen como objetivo administrar epítopes al compartimento intracelular y así inducir CTL. Éstas incluyen vectores tales como Penetratin, TAT y sus derivados, ADN, vectores víricos, virosomas y liposomas. Sin embargo, estos sistemas o bien provocan respuestas de CTL muy débiles, tienen problemas de toxicidad asociados, o bien son complicados y caros de fabricar a escala comercial.

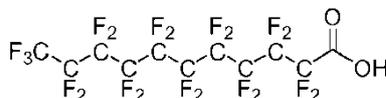
55 Existe, por lo tanto, una necesidad reconocida de vectores mejorados para dirigir la administración intracelular de antígenos en el desarrollo de vacunas y fármacos destinados a provocar una respuesta inmunitaria celular. Un vector en el contexto de inmunoterapéuticos o vacunas es cualquier agente capaz de transportar o dirigir un antígeno hacia las células de respuesta inmunitaria en un huésped. Se ha mostrado que los tensioactivos fluorados tienen concentraciones micelares críticas más bajas que sus homólogos hidrogenados y, por lo tanto, se auto-organizan en estructuras micelares a una concentración más baja que la molécula hidrocarbonada equivalente. Esta propiedad fisicoquímica está relacionada con las fuertes interacciones hidrófobas y las bajas interacciones de van der Waals asociadas a las cadenas fluoradas que aumentan espectacularmente la tendencia de los anfífilos fluorados a auto-ensamblarse en agua y a acumularse en las interfases. La formación de tales estructuras macromoleculares facilita su captación endocítica por las células, por ejemplo, las células presentadoras de antígeno (Reichel F. et al., J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 7989-7997). Además, la actividad hemolítica se reduce fuertemente

y frecuentemente se suprime cuando se introducen cadenas fluoradas en un tensioactivo (Riess, J.G., Pace, S., Zarif, L., Adv. Mater. 1991, 3, 249- 251), conduciendo así lugar a una reducción en la toxicidad celular. El documento EP 0 327 070 desvela el uso de brazos de enlace que contienen cadenas fluorocarbonadas para conjugar haptenos con vehículos de proteína tales como BSA, HSA o anticuerpos.

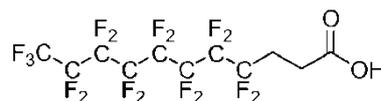
La presente invención busca vencer el problema de la administración de antígenos a células de respuesta inmunitaria usando un novedoso vector fluorocarbonado con el fin de mejorar la inmunogenicidad de los antígenos administrados. El vector fluorocarbonado puede comprender una o más cadenas derivadas de radicales perfluorocarburo o fluorocarburo/hidrocarburo mixtos y puede ser saturado o insaturado, teniendo cada cadena de 3 a 30 átomos de carbono. Con el fin de unir el vector al antígeno mediante un enlace covalente, se incorpora un grupo reactivo, o ligando, como componente del vector; por ejemplo, se incluye -CO-, -NH-, S, O o cualquier otro grupo adecuado; el uso de tales ligandos para conseguir enlaces covalentes es bien conocido en la técnica. El grupo reactivo puede localizarse en cualquier posición de la molécula fluorocarbonada. El acoplamiento del vector fluorocarbonado al antígeno puede conseguirse mediante grupos funcionales, tales como, -OH, -SH, -COOH y -NH₂ presentes de forma natural o introducidos sobre cualquier sitio del antígeno. Como ejemplos de tales enlaces se incluyen, enlaces amida, hidrazona, disulfuro, tioéter y oxima. Como alternativa, pueden usarse enlaces no covalentes, por ejemplo, puede formarse una interacción iónica mediante un catión que une juntos un resto de histidina de un antígeno peptídico y un ácido carboxílico en el vector fluorocarbonado. Opcionalmente, puede incorporarse un elemento espaciador (peptídico o no peptídico) para permitir la escisión del antígeno del elemento fluorocarbonado para el procesamiento en la célula presentadora de antígeno y para optimizar la presentación estérica del antígeno. El espaciador también puede incorporarse para ayudar en la síntesis de la molécula y para mejorar su estabilidad y/o solubilidad. Si está presente un resto de espaciador, dicho resto de espaciador está seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol (PEG), lisina o arginina, que pueden escindirse por enzimas proteolíticas, e hidrocarburos.

Así, en el presente documento se desvela un vector fluorocarbonado que tiene una estructura química C_mF_n-C_yH_x-L, en la que m = 3 a 30, n <= 2m + 1, y = 0 a 15, x <= 2y, (m + y) = 3 - 30 y L es un ligando para facilitar la unión covalente a un antígeno.

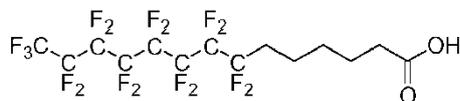
En una realización particular de la fórmula anterior, el vector puede ser ácido perfluoroundecanoico de la siguiente fórmula (I):



o como alternativa ácido 2H,2H,3H,3H-perfluoroundecanoico de la siguiente fórmula (II):



o ácido heptadecafluoro-pentadecanoico de la siguiente fórmula (III):



La invención proporciona una construcción de vector fluorocarbonado-antígeno de estructura C_mF_n-C_yH_x-(Sp)-R, en la que m = 3 a 30, n <= 2m + 1, y = 0 a 15, x <= 2y, (m + y) = 3 - 30 y Sp es un resto de espaciador químico opcional y R es un péptido inmunogénico derivado de un agente infeccioso, proteína autóloga o antígeno del cáncer, en el que dicho péptido consiste en entre 7 y 70 aminoácidos y comprende al menos un epítipo de clase I o II del MHC, o de linfocito B, y dicho resto de espaciador está seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol, lisina o arginina.

El antígeno asociado al vector puede ser cualquier antígeno capaz de inducir una respuesta inmunitaria en un animal, que incluye seres humanos. Preferentemente, la respuesta inmunitaria tendrá un efecto beneficioso en el huésped. Los antígenos pueden derivarse de un virus, de una bacteria o micobacteria, parásito, hongo o cualquier agente infeccioso o un antígeno autólogo o alérgeno.

Ejemplos de virus incluyen, pero no se limitan a, virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1 o VIH-2), virus de la gripe, virus del herpes (VHS-1 y VHS-2), virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis B (VHB) o virus de la hepatitis C (VHC).

Ejemplos de bacterias y micobacterias incluyen, pero no se limitan a, *Mycobacterium tuberculosis*, Legionella, Rickettsiae, Chlamydiae y *Listeria monocytogenes*.

5 Ejemplos de parásitos incluyen, pero no se limitan a, *Plasmodium falciparum* y otras especies de la familia de los plasmodios.

Ejemplos de hongos incluyen, pero no se limitan a, *Candida albicans*, Cryptococcus, Rhodotorula y Pneumocystis.

10 Antígenos autólogos o auto-antígenos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes antígenos asociados a cánceres: HER-2/neu, expresado en cáncer de mama, gp100 o MAGE-3 expresado en melanoma, P53 expresado en cáncer colorrectal, y NY-ESO-1 o LAGE-1 expresado por muchos cánceres humanos.

15 Los alérgenos incluyen, pero no se limitan a, fosfolipasa A₂ (API m1) asociada a reacciones graves a las abejas, Derp-2, Der p 2, Der f, Der p 5 y Der p 7 asociados a reacción contra el ácaro del polvo doméstico *Dermatophagoides pteronyssinus*, el alérgeno de la cucaracha Bla g 2 y el alérgeno mayor del polen del abedul Bet v1.

20 Así, en una realización, la presente invención proporciona una construcción de vector-antígeno en la que el antígeno es, o representa, un antígeno de un virus, bacteria, micobacteria, parásito, hongo, proteína autóloga o alérgeno.

25 Los antígenos pueden ser proteínas, subunidades de proteína, péptidos, hidratos de carbono, lípido o combinaciones de los mismos, siempre que presenten un epítipo inmunológicamente reconocible. Tales antígenos pueden derivarse por purificación de la proteína nativa o producirse por tecnología recombinante o por síntesis química. Los métodos para la preparación de antígenos son bien conocidos en la técnica. Además, los antígenos también incluyen ADN u oligonucleótido que codifica un péptido antigénico o proteína.

30 Así, en todavía otra realización, la presente invención proporciona una construcción de vector-antígeno en la que el antígeno es una proteína, una subunidad de proteína, un péptido, un hidrato de carbono o un lípido o combinaciones de los mismos.

35 Para que la construcción sea inmunológicamente activa, el antígeno debe comprender uno o más epítopes. Los péptidos o proteínas usados en la presente invención contienen preferentemente una secuencia de al menos siete, más preferentemente entre 9 y 100, aminoácidos, y lo más preferentemente entre aproximadamente 15 y 35 aminoácidos. Preferentemente, la secuencia de aminoácidos del péptido portador de epítipo(s) está seleccionada para aumentar la solubilidad de la molécula en disolventes acuosos. Además, el extremo del péptido que no se conjuga con el vector puede ser alterado para promover la solubilidad de la construcción mediante la formación de estructuras multimoleculares, tales como micelas, láminas, túbulos o liposomas. Por ejemplo, podría añadirse un aminoácido de carga positiva al péptido con el fin de promover el ensamblaje espontáneo de micelas. Pueden acoplarse tanto el extremo N como el extremo C del péptido al vector para crear la construcción. Para facilitar la síntesis a gran escala de la construcción, pueden modificarse restos de aminoácidos del extremo N o C del péptido. Cuando el péptido deseado es particularmente sensible a la escisión por peptidasas, el enlace peptídico normal puede reemplazarse por un mimético peptídico no escindible; tales enlaces y métodos de síntesis son bien conocidos en la técnica.

45 Como un ejemplo específico, el péptido **NNTRKRIRIQRGPGRAFVTIGK-NH₂** representa un epítipo de la proteína Env (301-322) del VIH-1, que ha mostrado ser inmunológicamente activo. Esto representa aún otra realización de la presente invención. (Referencia <http://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/index.html>).

50 Pueden enlazarse más de un antígeno entre sí antes de la unión al ligando. Un ejemplo tal es el uso de péptidos de fusión, en los que un epítipo T colaborador promiscuo puede enlazarse covalentemente a uno o múltiples epítopes de CTL o a uno o múltiples epítopes de linfocitos B, que pueden ser un péptido, un hidrato de carbono o un ácido nucleico. Como ejemplo, el epítipo T colaborador promiscuo podría ser el péptido PADRE, el péptido del toxoide tetánico (830-843) o la hemaglutinina de la gripe, HA(307-319).

55 En otra realización, por lo tanto, la construcción de vector-antígeno es una en la que R es más de un epítipo o antígeno unidos entre sí. Los epítopes también pueden ser solapantes lineales, creando así una agrupación de epítopes multiespecíficos densamente empaquetados.

60 Debido a las fuertes interacciones moleculares no covalentes características a los fluorocarbonos, el antígeno también puede estar asociados no covalentemente al vector y todavía alcanzar el objetivo de ser favorablemente captado por células presentadoras de antígeno.

65 La presente invención también proporciona vacunas e inmunoterapéuticos que comprenden una o más construcciones vector fluorocarbonado-antígeno. Los productos de múltiples componentes de este tipo son deseables, ya que es probable que sean más eficaces en provocar respuestas inmunitarias apropiadas. Por ejemplo, la formulación óptima de un inmunoterapéutico para el VIH puede comprender varios epítopes de diferentes proteínas del VIH. En este caso, cada epítipo puede enlazarse a un vector fluorocarbonado común, o cada epítipo

podría unirse a un vector dedicado. Como alternativa, pueden incorporarse múltiples epítopes en una formulación con el fin de conferir inmunidad contra una variedad de patógenos. Un producto de múltiples componentes puede contener una o más construcciones de tipo vector-antígeno, más preferentemente de 2 a aproximadamente 20 y más preferentemente de 3 a aproximadamente 8 de tales construcciones.

Las composiciones de la invención comprenden vectores fluorocarbonados asociados a antígenos opcionalmente junto con uno o más vehículos y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables. Tales adyuvantes, capaces de potenciar aún más la respuesta inmunitaria, pueden incluir, pero no se limitan a, derivados de muramil dipéptido (MDP), CpG, monofosforil lípido A, adyuvantes de aceite en agua, adyuvantes de agua en aceite, sales de aluminio, citocinas, complejo inmunoestimulante (ISCOM), liposomas, micropartículas, saponinas, citocinas o toxinas y toxoides bacterianos. Otros adyuvantes útiles serán bien conocidos para un experto en la técnica. La elección del vehículo, si se requiere, es frecuentemente una función de la vía de administración de la composición. En la presente invención, las composiciones pueden formularse para cualquier vía y medio de administración adecuados. Vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen aquellos usados en formulaciones adecuadas para administración oral, ocular, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica).

La formulación puede administrarse en cualquier forma adecuada, por ejemplo, como un líquido, sólido, aerosol o gas. Por ejemplo, las formulaciones orales pueden adoptar la forma de emulsiones, jarabes o soluciones o comprimidos o cápsulas, que pueden estar estéricamente recubiertas para proteger el principio activo de la degradación en el estómago. Las formulaciones nasales pueden ser sprays o soluciones. Las formulaciones transdérmicas pueden ser adaptadas para su sistema de administración particular y pueden comprender parches. Las formulaciones para inyección pueden ser soluciones o suspensiones en agua destilada u otro disolvente o agente de suspensión farmacéuticamente aceptable.

Así, en otro aspecto, la presente invención proporciona una formulación profiláctica o terapéutica que comprende la construcción de vector-antígeno con o sin un vehículo y/o adyuvante adecuado.

La dosificación apropiada de la vacuna o inmunoterapéutico que va a administrarse a un paciente será determinada en la clínica. Sin embargo, como guía, una dosis humana adecuada, que puede depender de la vía preferida de administración, puede ser de 1 a 1000 µg. Pueden requerirse múltiples dosis para alcanzar un efecto inmunológico, que, si se requiere, serán normalmente administradas separadas entre 2 y 12 semanas. Si se requiere un refuerzo de la respuesta inmunitaria a lo largo de periodos más prolongados, pueden aplicarse dosis repetidas separadas 3 meses a 5 años.

La formulación puede combinar la construcción de vector-antígeno con otro principio activo para efectuar la administración de más de una vacuna o fármaco. También puede observarse un efecto sinérgico mediante la co-administración de los dos o más principios activos. En el tratamiento de infección por el VIH, un ejemplo de uno de tales fármacos es la terapia antirretrovírica altamente activa (TARAA).

En otros aspectos, la invención proporciona:

- i) El uso de la construcción inmunogénica como se describe en el presente documento en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o síntomas de la misma.
- ii) Un método de tratamiento mediante la inducción de una respuesta inmunitaria tras la administración de las construcciones o formulaciones descritas en el presente documento;
- iii) El uso de los vectores fluorocarbonados y construcciones de vector fluorocarbonado-antígeno en medicina.

Los ejemplos se refieren a las figuras, en las que:

- Figura 1: muestra los cromatogramas de HPLC de diversos péptidos y construcciones a T=0;
- Figura 2: muestra los cromatogramas de HPLC de diversos péptidos y construcciones almacenadas a 40 °C durante 27 días;
- Figura 3: muestra la evaluación de la concentración micelar crítica para dos péptidos, FAVS-3-ENV y FAVS-1-ENV;
- Figura 4: muestra el análisis del tamaño de partícula por espectrometría de cuasi dispersión de la luz después de 20 horas de reposo para diversas construcciones peptídicas;
- Figura 5: muestra la respuesta inmunitaria celular evaluada por el ensayo ELISPOT de IFN-gamma *ex vivo* en ratones después de una sola inmunización (A, B), primer refuerzo (C, D) y segundo refuerzo (E, F);
- Figura 6 muestra la naturaleza de los linfocitos T sensibilizados *in vivo* mediante diversas construcciones fluorocarburo-péptido;
- Figura 7: muestra la respuesta inmunitaria celular evaluada por el ensayo ELISPOT de IFN-g *ex vivo* en ratones después de tres inmunizaciones con FAVS-1-ENV solo o en combinación con murabutida;
- Figura 8: medición de citocinas después de tres inyecciones con FAVS-1-ENV solo o en combinación con murabutida; y
- Figura 9: muestra la respuesta inmunitaria celular evaluada por el ensayo ELISPOT de IFN-g *ex vivo* en

ratones después de dos administraciones intranasales con FAVS-1-ENV solo o en combinación con murabutida.

Ejemplo 1

5

Síntesis de péptidos vectorizados con fluorocarburos

Se sintetizaron los siguientes péptidos vectorizados con fluorocarburos:

10 FAVS-1-ENV: NNTRKRIRIQRGPGRAFVTIGK- C₈F₁₇(CH₂)₂CO - K-NH₂ FAVS-2-ENV:
NNTRKRIRIQRGPGRAFVTIGK- C₈F₁₇(CH₂)₆CO - K-NH₂ FAVS-3-ENV: IRIQRGPGRAFVTIGKK- CO(CH₂)₂-
(PEG)₄ - C₈F₁₇(CH₂)₆CO - K-NH₂, donde se utiliza el código de una letra para aminoácidos estándar y PEG es
CH₂-CH₂-O. NNTRKRIRIQRGPGRAFVTIGK es el péptido ENV(301-322) del virus de la inmunodeficiencia
humana.

15

Se llevó a cabo la síntesis de péptidos en un sintetizador de péptidos automático ABI 430 o ABI 433, sobre resina de amida Rink (0,38 mmol/g de carga), usando Nsc (2-(4-nitrofenilsulfonyl)etoxycarbonil)- o Fmoc ((9-fluorenilmetilcarbonil)-aminoácidos. Se promovió el acoplamiento con HOCT (6-cloro-1-oxibenzotriazol) y DIC (1,3-diisopropilcarbodiimida) y se llevó a cabo la desprotección de Fmoc/Nsc usando piperidina al 20 % en DMF (dimetilformamida). Se terminaron los extremos N no acoplados con anhídrido acético como parte de cada ciclo. Se lograron la escisión del péptido de la resina y la desprotección concomitante de las cadenas laterales usando TFA, agua y TIS (diisopropilsilano) (95:3:2), con aislamiento bruto del producto por precipitación en éter dietílico frío. La purificación se realizó por HPLC preparativa usando columnas Júpiter C5 o Luna C18 (2) (250 x 22 mm) y se verificó la masa peptídica por espectrometría de masas.

20

25 La pureza del péptido se verificó antes de realizar los experimentos por HPLC (HP 1050) usando una columna de Supelco (C5, 250 x 4,6 mm, 300 Å, 5 µm) bajo elución en gradiente. Disolvente A (90 % de agua, 10 % de acetonitrilo, 0,1 % de TFA), disolvente B (10 % de agua, 90 % de acetonitrilo, 0,1 % de TFA). Se usó un gradiente del 0 al 100 % de B en 30 minutos y la temperatura de la columna fue de 40 °C. Se estableció la longitud de onda del detector UV a 215 nm. La pureza de los péptidos vectorizados con fluorocarburos en cada caso fue mayor del 90 %.

30

Se evaluó la estabilidad química de muestras herméticamente selladas que contenían péptidos vectorizados liofilizados a 4 °C, 20 °C y 40 °C junto con el péptido no vectorizado como comparador (NNTRKRIRIQRGPGRAFVTIGK-NH₂). Se monitorizó la estabilidad a lo largo del tiempo por HPLC usando las condiciones descritas anteriormente. Los datos se muestran en las Figuras 1 y 2.

35

Para cada conjugado peptídico, no se observó signo alguno de degradación después de 27 días de incubación a 40 °C, eluyendo un solo pico al mismo tiempo de retención que el encontrado a T=0.

40 Ejemplo 2

Análisis fisicoquímico de los péptidos vectorizados con fluorocarburos

(i) Solubilidad

45

Se confirmó la solubilidad de los péptidos vectorizados con fluorocarburos en solución acuosa a concentraciones útiles para una formulación farmacéutica. Se prepararon soluciones de péptidos a 20 °C disolviendo el polvo de péptido liofilizado con PBS (0,01 M, pH 7,2) a través de un intervalo de concentraciones. Se agitaron entonces las preparaciones en vórtex durante un minuto. Se recogió una alícuota y se centrifugó el resto de la solución durante 10 minutos a 12.000 rpm. A una placa de fondo plano de 96 pocillos que contenía alícuotas de 25 µl de diluciones sucesivas de cada péptido se añadieron 200 µl del reactivo de trabajo BCA (Pierce, RU), que contenía la solución A (ácido bicarbonínico, carbonato de sodio, tartrato de sodio en una solución 0,1 M de hidróxido de sodio, 50 vol.) y B (solución al 4 % de sulfato cúprico, 1 vol.). Después de incubar durante 45 minutos a 37 °C y enfriar durante 10 minutos, se midió la absorbancia a 570 nm. Se analizaron las placas con un contador multietiqueta Wallac Victor (Perkin Elmer). Para cada péptido se representó una curva de calibración y se usó para determinar la concentración de péptido en la fracción soluble, expresada en nmol/ml. Los datos se presentan en la Tabla 1. Se encontró que todos los péptidos eran totalmente solubles a la concentración de antígeno usada para los estudios de inmunización murinos.

60

Tabla 1: Resumen del ensayo de solubilidad realizado por el método de ensayo de proteínas

Péptido	Solubilidad
Péptido libre	>3300 nmol/ml
FAVS-1-ENV	>4000 nmol/ml
FAVS-2-ENV	> 500 nmol/ml
FAVS-3-ENV	>3000 nmol/ml

(ii) Concentración micelar crítica [CMC]

Se determinó la concentración micelar crítica de los péptidos vectorizados con fluorocarburos en solución salina fisiológica tamponada con fosfatos por unión de colorante con ácido 8-anilino-1-naftalenosulfónico (ANS). A partir de soluciones de 300 µg de péptido/ml, se prepararon diluciones dobles sucesivas de las soluciones de péptido y de péptido-vector en PBS (0,01 M, pH 7,2) a 20 °C, de las cuales se añadieron 200 µl a los pocillos de una microplaca. Entonces se añadieron 40 µl de ANS recién disuelto en PBS a cada pocillo. Después de dos minutos, la placa se excitó a 355 nm y se hizo un barrido a 460 nm en un fluorímetro de microplacas Victor. Se representó la relación (intensidad de fluorescencia de la muestra/intensidad de fluorescencia del blanco) en una escala lineal frente a la concentración en una escala logarítmica. Los datos se presentan en la Figura 3.

(iii) Análisis del tamaño de partícula

Se realizó el análisis del tamaño de partícula en un espectrómetro de cuasi dispersión de la luz Malvern 4700C (Malvern Ltd., RU) equipado con un láser de argón (Uniphase Corp., San Jose, CA) ajustado a 488 nm. Las muestras se mantuvieron a una temperatura de 25 °C. El láser tiene una geometría variable del detector para la medición de la dependencia angular. Se realizaron mediciones a ángulos de 90° y 60°. Se prepararon soluciones disolviendo el péptido en solución salina tamponada con fosfatos 0,01 M filtrada a una concentración de 500 nmol/ml y agitando en vórtex durante 1 minuto. Se dispensaron entonces las soluciones en cubetas (volumen de trabajo de 1 ml). Se tomaron mediciones después de 15 minutos a un ángulo de 90° (Figura 4). El resultado del valor Krecuento es proporcional al número de partículas detectadas; en todos los casos, Krecuento era >10 con el fin de asegurar que se obtuvieran mediciones de distribución de tamaño fiables.

Tabla 2: Tamaño de partícula de la solución micelar en PBS.

Referencia ITS	Tiempo de reposo (h)	Krecuento	tamaño (nm)		Tamaño promedio (nm)	Polidispersidad
			Población 1	Población 2		
FAVS-1-ENV	0,25	177	28	-	28,3	0,151
	20	230	32	-	32,7	0,180
FAVS-2-ENV	0,25	190	15	120	28,5	0,450
	20	245	20	300	68,4	0,539
FAVS-3-ENV	0,25	201	70	400	209	0,659
	20	225	105	800	207	0,647

Ejemplo 3**(i) Inmunogenicidad de los péptidos vectorizados con fluorocarburos**

Se compraron ratones libres de patógenos específicos (hembras Balb/c de 6-8 semanas) de Harlan (RU). Se disolvieron los péptidos ENV, FAVS-1-ENV, FAVS-2-ENV o FAVS-3-ENV en PBS (0,01 M, pH 7,2). Se normalizó cada dosis a 50 nmol de péptido por ml basándose en el contenido neto en péptido obtenido del análisis de aminoácidos. Se inmunizaron ratones (3 por grupo) por vía subcutánea bajo la piel del área interescapular con 50 nmol de péptido en un volumen de 100 µl de PBS, pH 7,2. Se administraron tres dosis a intervalos de diez días. Un grupo de ratones que recibió una dosis de sensibilización de péptido libre mezclado con adyuvante completo de Freund (50 nmol de péptido en PBS emulsionado en un volumen igual de adyuvante) y dosis de refuerzo de adyuvante incompleto de Freund sirvieron de control positivo. Diez días después de la inmunización final, los ratones fueron sacrificados y se extirparon los bazos para evaluar la respuesta inmunitaria celular al péptido. Para determinar el progreso del desarrollo de la respuesta inmunitaria, también se establecieron grupos de ratones que recibieron una sola y dos dosis de péptido.

Se monitorizó la respuesta celular *in vivo* sensibilizada por los péptidos vectorizados por ELISPOT de IFN-gamma sobre células del bazo frescas con el fin de enumerar la frecuencia *ex vivo* de células que producen IFN-gamma específicas de péptidos, y más específicamente de linfocitos T CD8+ específicos de péptidos, sensibilizadas tras la inmunización. Se volvieron a estimular las células del bazo *in vitro* con el péptido ENV(301-322) NNTRKRIRIQRGPGRAFVTIGK, que contenía un epítipo colaborador T bien conocido, y ENV (311-320) RGPGRFVVTI, un péptido más corto correspondiente al epítipo CD8 (MHC de clase I restringido en H-2Dd, conocido como P18-I10), con el fin de cubrir ambos componentes de la respuesta inmunitaria celular (actividad de linfocitos colaboradores T y T CD8).

Se reunieron los bazos de cada grupo de ratones y se aislaron las células del bazo. Se lavaron las células tres veces en RPMI-1640 antes del recuento. Se realizaron ensayos murinos Elispot de IFN-g usando el kit Diaclone (Diaclone, Francia) según las instrucciones del fabricante con las siguientes modificaciones. Se distribuyeron cultivos por duplicado de células del bazo a una densidad celular de 5×10^5 /pocillo en pocillos con fondo de PVDF recubiertos con anticuerpo anti-IFN-gamma (microplaca Multiscreen™-IP de 96 pocillos - Millipore) con la concentración apropiada de péptido (10, 1, 0 mg/ml de epítipo T colaborador ENV(301-322) o CTL P18-I10) en medio de cultivo (RPMI-1640), β-mercaptoetanol 5 µM y glutamina 5 mM suplementado con 10 % de suero de ternera fetal durante 18 horas a 37 °C bajo una atmósfera con 5 % de CO₂. Se contaron las manchas usando una unidad lectora ELISPOT

de Carl Zeiss Vision. Los resultados se corresponden con los valores medios obtenidos con cada una de las condiciones después de restar el fondo. Los resultados se expresan como unidades formadoras de manchas (SFC) por millón de células del bazo de entrada (Figura 5).

5 **(ii) Naturaleza de los linfocitos T sensibilizado *in vivo* por los fluorocarburo-péptidos (separación de linfocitos T CD4 y CD8)**

10 Se distribuyeron células del bazo de ratones inmunizados en microplacas de 48 pocillos a una densidad celular de $2,5 \times 10^6$ /pocillo con $1 \mu\text{g/ml}$ de péptidos T colaboradores ENV(301-322) o CTL P18-I10. El día 3 se añadieron 5 ng/ml de IL-2 murina recombinante a cada pocillo. El día 7 se recogieron las células del bazo pre-estimuladas, se lavaron tres veces en RPMI 1640, se contaron y se separaron por clasificación celular magnética usando perlas magnéticas conjugadas con anticuerpos monoclonales de rata anti-CD8a y CD4 de ratón (MACS, Microbeads Miltenyi Biotec, RU) según las instrucciones del fabricante. Se distribuyeron los linfocitos T CD4 y CD8+ a una densidad celular de $2,5 \times 10^5$ /pocillo por duplicado en pocillos con fondo de PVDF recubiertos de anticuerpo (microplaca Multiscreen™- IP de 96 pocillos, Millipore) con 1 mg/ml de péptido en medio de cultivo (RPMI-1640), β -mercaptoetanol $5 \mu\text{M}$, glutamina, aminoácidos no esenciales y piruvato de sodio suplementado con 10 % de suero de ternera fetal durante 12 horas a 37°C bajo una atmósfera con 5 % de CO_2 . Se contaron las manchas usando una unidad lectura ELISpot de Carl Zeiss Vision. Los resultados se corresponden con los valores medios obtenidos con cada una de las condiciones después de restar el fondo (<10 manchas). Los resultados se expresan como unidades formadoras de manchas (SFC) por millón de células del bazo de entrada.

25 Según los ensayos ELISPOT de IFN- γ *ex vivo*, las construcciones FAVS-péptido fueron capaces de sensibilizar a una fuerte respuesta inmunitaria celular contra tanto los péptidos ENV largos (ENV301-322) como cortos (epítipo CTL P18-I10) después de una sola exposición *in vivo* al antígeno (Figura 5A y B). La Figura 6 demuestra que tanto los linfocitos T específicos de ENV CD4+ como CD8+ fueron eficazmente sensibilizados *in vivo*.

30 La intensidad de la respuesta después de la sensibilización con los FAVS-péptidos estaba en el mismo intervalo que las respuestas obtenidas de ratones inmunizados con el péptido nativo emulsionado en adyuvante de Freund. Las respuestas de linfocitos T específicos de ENV están claramente amplificadas después de un primer y un segundo refuerzo con la formulación FAVS-1-ENV (Figura 5C, D, E, F), como se resume en la Figura 6.

35 Esto demuestra claramente la capacidad de los FAVS-péptidos para ser captados por las células presentadoras de antígeno *in vivo* con el fin de alcanzar las rutas del MHC de clase I y del MHC de clase II y así sensibilizar a fuertes respuestas inmunitarias celulares.

Ejemplo 4

Inmunogenicidad de los péptidos vectorizados con fluorocarburos co-administrados con adyuvante sintético

40 Con el fin de evaluar el posible impacto de un inmunoestimulante sintético sobre la inmunogenicidad cuantitativa y cualitativa de los FAVS-péptidos, se inyectó FAVS-1-ENV solo y en combinación con murabutida. La murabutida (éster N-acetilmuramil-L-alanil-D-glutamina-O-n-butílico; un derivado sintético de muramil dipéptido y agonista NOD-2) es un inmunopotenciador sintético que activa los mecanismos inmunitarios innatos y que se sabe que mejora tanto las respuestas celulares como humorales cuando se combina con inmunógenos ("Immune and antiviral effects of the synthetic immunomodulator murabutide: Molecular basis and clinical potential", G. Bahr, en: "Vaccine adjuvants: Immunological and Clinical Principles", eds. Hackett and Harn (2004), Humana Press).

50 Se compraron ratones libres de patógenos específicos (hembras Balb/c de 6-8 semanas) de Harlan (RU). Se usó la construcción FAVS-1-ENV a dos niveles de dosis diferentes, recibiendo un grupo de ratones 50 nmoles y un segundo grupo recibió 5 nmoles de construcción. Se inmunizaron ratones (3 por grupo) por vía subcutánea bajo la piel del área interescapular con FAVS-1-ENV tanto solo como en combinación con $100 \mu\text{g}$ de murabutida en un volumen total de $100 \mu\text{l}$ de PBS, pH 7,2. Se administraron tres dosis a intervalos de diez días. También se estableció un grupo de control que recibió murabutida sola.

55 Diez días después de la inmunización final, los ratones fueron sacrificados y se extirparon los bazos para evaluar la respuesta inmunitaria celular a los péptidos de los epítopos T colaborador ENV(301-322) o CTL P18-I10. Se realizaron mediciones de Elispot de interferón-gamma y de las citocinas Th-1 y Th-2 sobre los bazos aislados como se describe en el Ejemplo 3. Brevemente, se cultivaron las células del bazo con la concentración apropiada de péptido (10 o $0 \mu\text{g/ml}$ de epítipo T colaborador ENV (301-322) o CTL P18-I10) en medio de cultivo durante 18 horas a 37°C bajo una atmósfera con 5 % de CO_2 . Entonces se realizó el ensayo Elispot de IFN-g. Se contaron las manchas usando una unidad lectora Elispot de Carl Zeiss Vision. Los resultados se corresponden con los valores medios obtenidos con cada una de las condiciones después de restar el fondo (<10 manchas). Los resultados se expresan como unidades formadoras de manchas (SFC) por millón de células del bazo de entrada (Figura 7).

65

Se realizaron mediciones de citocinas múltiples (IL-2, IFN-g, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) sobre células del bazo frescas re-estimuladas con el péptido ENV (301-322) de ratones inmunizados con la dosis de 5 nmol de FAVS-1-ENV. Se recogieron los sobrenadantes a las 24 horas y a las 48 horas. Se midieron los niveles de citocinas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IFN- γ) en las muestras de sobrenadantes de cultivo celular usando el ELISA en sándwich específico de citocinas según el formato múltiple desarrollado por SearchLight™ Proteomic Arrays (Pierce Biotechnology, Woburn, MA). Los resultados se expresaron en pg de citocina/ml.

Se mostró que FAVS-1-ENV administrado solo inducía predominantemente la producción de citocinas Th-1 (es decir, IL-2 e IFN-g), produciéndose también bajos niveles de citocinas Th-2. La inclusión de murabutida en la formulación condujo a la inducción de una respuesta Th-1/Th-2 más equilibrada, con mayores niveles de citocinas Th-2, tales como IL-5, IL-10 e IL-13 (Figura 8).

Ejemplo 5

Inmunogenicidad de péptidos vectorizados con fluorocarburos administrados por la vía mucosa

Se compraron ratones libres de patógenos específicos (hembras Balb/c de 6-8 semanas) de Harlan (RU). Se administró FAVS-1-ENV (50 nmoles por ratón) dos veces por vía intranasal en PBS 0,01 M solo o en combinación con 100 μ g de murabutida con un intervalo de 10 días entre ambas administraciones. Los ratones fueron ligeramente anestesiados con isoflurano (Isoflo, Solvay, RU). Se administraron 20 μ l de solución de péptido soluble (10 μ l/orificio nasal) usando una micropipeta. Un grupo de control recibió PBS solo. Cada grupo de dosificación comprendió seis animales. Los ratones fueron sacrificados 10 días después de la última administración por asfixia con dióxido de carbono. Se extirparon los bazos, se reunieron para cada grupo de ratones y se aislaron las células del bazo. Se lavaron las células tres veces con RPMI-1640 antes del recuento. El recuento se realizó usando una cámara de recuento Thomas. Se cultivaron las células del bazo de los ratones individuales con la concentración apropiada de péptido (10 o 0 μ g/ml de epítipo T colaborador ENV (301-322) o CTL P18-I10) en medio de cultivo durante 18 horas a 37 °C bajo una atmósfera con 5 % de CO₂. Entonces se realizó el ensayo Elispot de IFN-g usando el kit Diaclone como se describe en el Ejemplo 3. Se contaron las manchas usando una unidad lectora Elispot de Carl Zeiss Vision. Los resultados se corresponden con los valores medios obtenidos con cada una de las condiciones después de restar el fondo (<10 manchas). Los resultados se expresan como unidades formadoras de manchas (SFC) por millón de células del bazo de entrada. Los datos representan el promedio para 6 ratones.

La totalidad de los seis ratones por grupo inmunizados por vía intranasal tanto con FAVS-1-ENV solo como en combinación con murabutida produjeron una potente respuesta de linfocitos T sistémica. La combinación con murabutida condujo a aumentos modestos en la frecuencia de linfocitos T productores de IFN-gamma (Figura 9).

Ejemplo 6

Péptidos del VIH de ejemplos

Péptidos candidatos para la unión al vector fluorocarbonado para producir una vacuna profiláctica o terapéutica para el VIH pueden incluirse los siguientes uno o más péptidos o fragmentos de los mismos, u homólogos (que incluyen las correspondientes secuencias consenso, ancestrales o de árbol central del VIH-1 que representan diferentes clados, tales como, pero no se limitan a, los clados A, B, C, D, F, G y H referidos en la base de datos de Los Alamos National Laboratory 2004) o variantes naturales y no naturales de los mismos, pero no necesariamente de manera exclusiva. Se han utilizado los códigos estándar de aminoácidos de una letra y de tres letras. Los homólogos tienen al menos un 50 % de identidad en comparación con una secuencia de referencia. Preferentemente, un homólogo tiene el 80, 85, 90, 95, 98 o 99 % de identidad con una secuencia que existe de forma natural. Las secuencias proporcionadas a continuación tienen 35 aminoácidos de longitud. Los fragmentos de estas secuencias que contienen uno o más epítopes también son péptidos candidatos para la unión al vector fluorocarbonado.

SEQ ID N°1

WKGE GAVVIQDNSDIKVVPRRKAKIIRDY GKQ MAG

Trp-Lys-Gly-Glu-Gly-Ala-Val-Val-Ile-Gln-Asp-Asn-Ser-Asp-Ile-

Lys-Val-Val-Pro-Arg-Arg-Lys-Ala-Lys-Ile-Ile-Arg-Asp-Tyr-Gly-

Lys-Gln-Met-Ala-Gly

SEQ ID N°2

EIYKRWIIILGLNKIVRMYSPTSILDIRQGPKEPFR

Glu-Ile-Tyr-Lys-Arg-Trp-Ile-Ile-Leu-Gly-Leu-Asn-Lys-Ile-Val-Arg-Met-Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Ile-Leu-Asp-Ile-Arg-Gln-Gly-Pro-Lys-Glu-Pro-Phe-Arg

5 SEQ ID N°3

EHLKTAVQMAVFIHNFKRKGGIGGYSAGERIVDII

Glu-His-Leu-Lys-Thr-Ala-Val-Gln-Met-Ala-Val-Phe-Ile-His-Asn-Phe-Lys-Arg-Lys-Gly-Gly-Ile-Gly-Gly-Tyr-Ser-Ala-Gly-Glu-Arg-Ile-Val-Asp-Ile-Ile

10 SEQ ID N°4

WEFVNTPLVVKLWYQLEKEPIVGAETFYVDGAANR

Trp-Glu-Phe-Val-Asn-Thr-Pro-Pro-Leu-Val-Lys-Leu-Trp-Tyr-Gln-Leu-Glu-Lys-Glu-Pro-Ile-Val-Gly-Ala-Glu-Thr-Phe-Tyr-Val-Asp-Gly-Ala-Ala-Asn-Arg

SEQ ID N°5

GERIVDIIATDIQTKELQKQITKIQNFRVYYRDSR

Gly-Glu-Arg-Ile-Val-Asp-Ile-Ile-Ala-Thr-Asp-Ile-Gln-Thr-Lys-Glu-Leu-Gln-Lys-Gln-Ile-Thr-Lys-Ile-Gln-Asn-Phe-Arg-Val-Tyr-Tyr-Arg-Asp-Ser-Arg

15 SEQ ID N°6

FRKYTAFTIPSINNETPGIRYQYNVLPQGWKGSPA

Phe-Arg-Lys-Tyr-Thr-Ala-Phe-Thr-Ile-Pro-Ser-Ile-Asn-Asn-Glu-Thr-Pro-Gly-Ile-Arg-Tyr-Gln-Tyr-Asn-Val-Leu-Pro-Gln-Gly-Trp-Lys-Gly-Ser-Pro-Ala

20 SEQ ID N°7

NWFDTNWLWYIKIFIMIVGGLIGLRIVFAVLSIV

Asn-Trp-Phe-Asp-Ile-Thr-Asn-Trp-Leu-Trp-Tyr-Ile-Lys-Ile-Phe-Ile-Met-Ile-Val-Gly-Gly-Leu-Ile-Gly-Leu-Arg-Ile-Val-Phe-Ala-Val-Leu-Ser-Ile-Val

25 SEQ ID N°8

ENPYNTPVFAIKKKDSTKWRKLVDFRELNKRTQDF

Glu-Asn-Pro-Tyr-Asn-Thr-Pro-Val-Phe-Ala-Ile-Lys-Lys-Lys-Asp-Ser-Thr-Lys-Trp-Arg-Lys-Leu-Val-Asp-Phe-Arg-Glu-Leu-Asn-Lys-Arg-Thr-Gln-Asp-Phe

30

SEQ ID N°9

VASGYIEAEVIPAETGQETAYFLLKLAGRWPVKTI

Val-Ala-Ser-Gly-Tyr-Ile-Glu-Ala-Glu-Val-Ile-Pro-Ala-Glu-Thr-
Gly-Gln-Glu-Thr-Ala-Tyr-Phe-Leu-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Arg-Trp-
Pro-Val-Lys-Thr-Ile

5 SEQ ID N°10

PDKSESELVSQIIEQLIKKEKVYLAWVPAHKGIGG

Pro-Asp-Lys-Ser-Glu-Ser-Glu-Leu-Val-Ser-Gln-Ile-Ile-Glu-Gln-
Leu-Ile-Lys-Lys-Glu-Lys-Val-Tyr-Leu-Ala-Trp-Val-Pro-Ala-His-
Lys-Gly-Ile-Gly-Gly

SEQ ID N°11

10

NRWQVMIVWQVDRMRIRTWKSLVKHHMYISRKAKG

Asn-Arg-Trp-Gln-Val-Met-Ile-Val-Trp-Gln-Val-Asp-Arg-Met-Arg-
Ile-Arg-Thr-Trp-Lys-Ser-Leu-Val-Lys-His-His-Met-Tyr-Ile-Ser-
Arg-Lys-Ala-Lys-Gly

SEQ ID N°12

15

HPDKWTVQPIVLPKDSWTVNDIQKLVGKLNWASQ

His-Pro-Asp-Lys-Trp-Thr-Val-Gln-Pro-Ile-Val-Leu-Pro-Glu-Lys-
Asp-Ser-Trp-Thr-Val-Asn-Asp-Ile-Gln-Lys-Leu-Val-Gly-Lys-Leu-
Asn-Trp-Ala-Ser-Gln

SEQ ID N°13

20

PAIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDDLIVVGS

Pro-Ala-Ile-Phe-Gln-Ser-Ser-Met-Thr-Lys-Ile-Leu-Glu-Pro-Phe-
Arg-Lys-Gln-Asn-Pro-Asp-Ile-Val-Ile-Tyr-Gln-Tyr-Met-Asp-Asp-
Leu-Tyr-Val-Gly-Ser

SEQ ID N°14

25

MARGAHTNDVKQLTEAVQKIATESIVIWGKTPKFKL

Met-Arg-Gly-Ala-His-Thr-Asn-Asp-Val-Lys-Gln-Leu-Thr-Glu-Ala-
Val-Gln-Lys-Ile-Ala-Thr-Glu-Ser-Ile-Val-Ile-Trp-Gly-Lys-Thr-
Pro-Lys-Phe-Lys-Leu

SEQ ID N°15

30

EKAFSPEVIPMFSALSEGATPQDLN'TMLN'TVGGHQ

Glu-Lys-Ala-Phe-Ser-Pro-Glu-Val-Ile-Pro-Met-Phe-Ser-Ala-Leu-
Ser-Glu-Gly-Ala-Thr-Pro-Gln-Asp-Leu-Asn-Thr-Met-Leu-Asn-Thr-
Val-Gly-Gly-His-Gln

SEQ ID N°16

NLLRAIEAQQLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLK
 Asn-Leu-Leu-Arg-Ala-Ile-Glu-Ala-Gln-Gln-His-Leu-Leu-Gln-Leu-
 Thr-Val-Trp-Gly-Ile-Lys-Gln-Leu-Gln-Ala-Arg-Val-Leu-Ala-Val-
 Glu-Arg-Tyr-Leu-Lys

5

SEQ ID N°17

ASVLSGGELDRWEKIRLRPGGKKKYKIKHIVWASR
 Ala-Ser-Val-Leu-Ser-Gly-Gly-Glu-Leu-Asp-Arg-Trp-Glu-Lys-Ile-
 Arg-Leu-Arg-Pro-Gly-Gly-Lys-Lys-Lys-Tyr-Lys-Leu-Lys-His-Ile-
 Val-Trp-Ala-Ser-Arg

10

SEQ ID N°18

ELYKYKVVKIEPLGVAPTKAKRRVVQREKRAVGIG
 Glu-Leu-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Val-Val-Lys-Ile-Glu-Pro-Leu-Gly-Val-
 Ala-Pro-Thr-Lys-Ala-Lys-Arg-Arg-Val-Val-Gln-Arg-Glu-Lys-Arg-
 Ala-Val-Gly-Ile-Gly

15

SEQ ID N°19

FPISPIETVPVKLKPGMDGPKVKQWPLTEEKIKAL
 Phe-Pro-Ile-Ser-Pro-Ile-Glu-Thr-Val-Pro-Val-Lys-Leu-Lys-Pro-
 Gly-Met-Asp-Gly-Pro-Lys-Val-Lys-Gln-Trp-Pro-Leu-Thr-Glu-Glu-
 Lys-Ile-Lys-Ala-Leu

20

SEQ ID N°20

QIYQEPFKNLKTFGKYARMRGAHTNDVKQLTEAVQK
 Gln-Ile-Tyr-Gln-Glu-Pro-Phe-Lys-Asn-Leu-Lys-Thr-Gly-Lys-Tyr-
 Ala-Arg-Met-Arg-Gly-Ala-His-Thr-Asn-Asp-Val-Lys-Gln-Leu-Thr-
 Glu-Ala-Val-Gln-Lys

25

SEQ ID N°21

NLLRAIEAQQLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLK
 Asn-Leu-Leu-Arg-Ala-Ile-Glu-Ala-Gln-Gln-His-Leu-Leu-Gln-Leu-
 Thr-Val-Trp-Gly-Ile-Lys-Gln-Leu-Gln-Ala-Arg-Val-Leu-Ala-Val-
 Glu-Arg-Tyr-Leu-Lys

30

SEQ ID N°22

AGLKKKKSVTVLDVGDAYFSVPLDKDFRKYTAFTI
 Ala-Gly-Leu-Lys-Lys-Lys-Lys-Ser-Val-Thr-Val-Leu-Asp-Val-Gly-
 Asp-Ala-Tyr-Phe-Ser-Val-Pro-Leu-Asp-Lys-Asp-Phe-Arg-Lys-Tyr-
 Thr-Ala-Phe-Thr-Ile

SEQ ID N°23

TTNQKTELQAIHLALQDSGLEVNIVTDSQYALGII
 Thr-Thr-Asn-Gln-Lys-Thr-Glu-Leu-Gln-Ala-Ile-His-Leu-Ala-Leu-
 Gln-Asp-Ser-Gly-Leu-Glu-Val-Asn-Ile-Val-Thr-Asp-Ser-Gln-Tyr-
 Ala-Leu-Gly-Ile-Ile

5 SEQ ID N°24

VSQNYPIVQNLQGMVHQALSPRTLNAWVKVVEEK
 Val-Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-Ile-Val-Gln-Asn-Leu-Gln-Gly-Gln-Met-
 Val-His-Gln-Ala-Ile-Ser-Pro-Arg-Thr-Leu-Asn-Ala-Trp-Val-Lys-
 Val-Val-Glu-Glu-Lys

10 SEQ ID N°25

EAELELAENREILKEPVHGVYDPSKDLIAEIQKQ
 Glu-Ala-Glu-Leu-Glu-Leu-Ala-Glu-Asn-Arg-Glu-Ile-Leu-Lys-Glu-
 Pro-Val-His-Gly-Val-Tyr-Tyr-Asp-Pro-Ser-Lys-Asp-Leu-Ile-Ala-
 Glu-Ile-Gln-Lys-Gln

SEQ ID N°26

TPDKKHQKEPFLWWMGYELHPDKWTVQPIVLPKED
 Thr-Pro-Asp-Lys-Lys-His-Gln-Lys-Glu-Pro-Pro-Phe-Leu-Trp-Met-
 Gly-Tyr-Glu-Leu-His-Pro-Asp-Lys-Trp-Thr-Val-Gln-Pro-Ile-Val-
 Leu-Pro-Glu-Lys-Asp

15 SEQ ID N°27

EPFRDYVDRFYKTLRAEQASQEVKNWMTETLLVQN
 Glu-Pro-Phe-Arg-Asp-Tyr-Val-Asp-Arg-Phe-Tyr-Lys-Thr-Leu-Arg-
 Ala-Glu-Gln-Ala-Ser-Gln-Glu-Val-Lys-Asn-Trp-Met-Thr-Glu-Thr-
 Leu-Leu-Val-Gln-Asn

20 SEQ ID N°28

NEWTLELLEELKSEAVRHFPRIWLHGLGQHIYETV
 Asn-Glu-Trp-Thr-Leu-Glu-Leu-Leu-Glu-Glu-Leu-Lys-Ser-Glu-Ala-
 Val-Arg-His-Phe-Pro-Arg-Ile-Trp-Leu-His-Gly-Leu-Gly-Gln-His-
 Ile-Tyr-Glu-Thr-Tyr

25 SEQ ID N°29

EGLIYSQKRQDILLDLWVYHTQGYFPDWQNYTPGPG
 Glu-Gly-Leu-Ile-Tyr-Ser-Gln-Lys-Arg-Gln-Asp-Ile-Leu-Asp-Leu-
 Trp-Val-Tyr-His-Thr-Gln-Gly-Tyr-Phe-Pro-Asp-Trp-Gln-Asn-Tyr-
 Thr-Pro-Gly-Pro-Gly

30

SEQ ID N°30

HFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDLDLVVYHTQGYFPD

His-Phe-Leu-Lys-Glu-Lys-Gly-Gly-Leu-Glu-Gly-Leu-Ile-Tyr-Ser-
Gln-Lys-Arg-Gln-Asp-Ile-Leu-Asp-Leu-Trp-Val-Tyr-His-Thr-Gln-
Gly-Tyr-Phe-Pro-Asp

5 SEQ ID N°31

FPVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIY

Phe-Pro-Val-Arg-Pro-Gln-Val-Pro-Leu-Arg-Pro-Met-Thr-Tyr-Lys-
Ala-Ala-Val-Asp-Leu-Ser-His-Phe-Leu-Lys-Glu-Lys-Gly-Gly-Leu-
Glu-Gly-Leu-Ile-Tyr

SEQ ID N°32

10

FPQITLWQRPLVTIKIGGQLKEALLDTGADDTVLE

Phe-Pro-Gln-Ile-Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val-Thr-Ile-Lys-
Ile-Gly-Gly-Gln-Leu-Lys-Glu-Ala-Leu-Leu-Asp-Thr-Gly-Ala-Asp-
Asp-Thr-Val-Leu-Glu

SEQ ID N°33

LVITTYWGLHTGERDWHLGQGVSIIEWRKKRYSTQV

Leu-Val-Ile-Thr-Thr-Tyr-Trp-Gly-Leu-His-Thr-Gly-Glu-Arg-Asp-
Trp-His-Leu-Gly-Gln-Gly-Val-Ser-Ile-Glu-Trp-Arg-Lys-Lys-Arg-
Tyr-Ser-Thr-Gln-Val

15

SEQ ID N°34

APPEESFRFGEETTPSQKQEPIDKELYPLASLRS

Ala-Pro-Pro-Glu-Glu-Ser-Phe-Arg-Phe-Gly-Glu-Glu-Thr-Thr-Thr-
Pro-Ser-Gln-Lys-Gln-Glu-Pro-Ile-Asp-Lys-Glu-Leu-Tyr-Pro-Leu-
Ala-Ser-Leu-Arg-Ser

20

SEQ ID N°35

KRRVVQREKRAVGIGAMFLGFLGAAGSTMGAASMT

Lys-Arg-Arg-Val-Val-Gln-Arg-Glu-Lys-Arg-Ala-Val-Gly-Ile-Gly-
Ala-Met-Phe-Leu-Gly-Phe-Leu-Gly-Ala-Ala-Gly-Ser-Thr-Met-Gly-
Ala-Ala-Ser-Met-Thr

25

SEQ ID N°36

GLGQHIYETYGDTWAGVEAIRILQQLLFIFHRIG

Gly-Leu-Gly-Gln-His-Ile-Tyr-Glu-Thr-Tyr-Gly-Asp-Thr-Trp-Ala-
Gly-Val-Glu-Ala-Ile-Ile-Arg-Ile-Leu-Gln-Gln-Leu-Leu-Phe-Ile-
His-Phe-Arg-Ile-Gly

30

Los péptidos candidatos para su inclusión en una vacuna profiláctica o terapéutica para el VIH pueden ser péptidos de cualquiera de los dominios estructurales o funcionales Gag, Pol, Nef, Env, Vif, Vpr, Vpu, Tat o Rev en cualquiera de tales combinaciones.

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> Immune Targeting Systems BONNET, Dominique BROWN, Carlton B GEORGES, Bertrand SIZER, Philip J

<120> Vectores y construcciones de administración de antígenos

<130> N.110305G

10 <150> GB 0408164.2
<151> 13-04-2004

<150> EP 05729595.8
<151> 01-04-2005

15 <160> 40

<170> Patent In versión 3.2

20 <210> 1
<211> 22
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

25 <400> 1

Asn Asn Thr Arg Lys Arg Ile Arg Ile Gln Arg Gly Pro Gly Arg Ala
1 5 10 15

Phe Val Thr Ile Gly Lys
20

30 <210> 2
<211> 22
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

35 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Secuencia peptídica de un péptido vector-fluorocarbono

<400> 2

Asn Asn Thr Arg Lys Arg Ile Arg Ile Gln Arg Gly Pro Gly Arg Ala
1 5 10 15

Phe Val Thr Ile Gly Lys
20

40 <210> 3
<211> 17
<212> PRT

45 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Secuencia peptídica de un péptido vector-fluorocarbono

50 <400> 3

ES 2 596 682 T3

Ile Arg Ile Gln Arg Gly Pro Gly Arg Ala Phe Val Thr Ile Gly Lys
 1 5 10 15

Lys

5 <210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 <400> 4

Arg Gly Pro Gly Arg Ala Phe Val Thr Ile
 1 5 10

10 <210> 5
 <211> 35
 <212> PRT
 15 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 <400> 5

Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys
 1 5 10 15

Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp Tyr Gly Lys Gln
 20 25 30

Met Ala Gly
 35

20 <210> 6
 <211> 35
 <212> PRT
 25 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 <400> 6

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

Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro Lys Glu
 20 25 30

Pro Phe Arg
 35

30 <210> 7
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 35 <400> 7

ES 2 596 682 T3

Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe
 1 5 10 15

Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Val
 20 25 30

Asp Ile Ile
 35

5
 <210> 8
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 <400> 8

Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu
 1 5 10 15

Glu Lys Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala
 20 25 30

Ala Asn Arg
 35

10
 <210> 9
 <211> 35
 <212> PRT
 15 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 <400> 9

Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Thr Asp Ile Gln Thr Lys Glu
 1 5 10 15

Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg
 20 25 30

Asp Ser Arg
 35

20
 <210> 10
 <211> 35
 <212> PRT
 25 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 <400> 10

Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr
 1 5 10 15

Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly
 20 25 30

Ser Pro Ala
 35

ES 2 596 682 T3

<210> 11
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

5

<400> 11

Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile
 1 5 10 15

Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Val Phe Ala Val Leu
 20 25 30

Ser Ile Val
 35

10

<210> 12
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

15

<400> 12

Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser
 1 5 10 15

Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr
 20 25 30

Gln Asp Phe
 35

20

<210> 13
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

25

<400> 13

Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly
 1 5 10 15

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

Lys Thr Ile
 35

30

<210> 14
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 14

ES 2 596 682 T3

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

Ile Lys Lys Glu Lys Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly
20 25 30

Ile Gly Gly
35

5
<210> 15
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 15

Asn Arg Trp Gln Val Met Ile Val Trp Gln Val Asp Arg Met Arg Ile
1 5 10 15

Arg Thr Trp Lys Ser Leu Val Lys His His Met Tyr Ile Ser Arg Lys
20 25 30

Ala Lys Gly
35

15
<210> 16
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 16

His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp
1 5 10 15

Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp
20 25 30

Ala Ser Gln
35

20

25
<210> 17
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 17

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

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

Val Gly Ser
35

30

ES 2 596 682 T3

<210> 18
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 5
 <400> 18
 Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val
 1 5 10 15
 Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys
 20 25 30
 Phe Lys Leu
 35
 10
 <210> 19
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 15
 <400> 19
 Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
 1 5 10 15
 Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
 20 25 30
 Gly His Gln
 35
 20
 <210> 20
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 25
 <400> 20
 Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr
 1 5 10 15
 Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg
 20 25 30
 Tyr Leu Lys
 35
 30
 <210> 21
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
 <400> 21

ES 2 596 682 T3

Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys Ile Arg
1 5 10 15

Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Trp
20 25 30

Ala Ser Arg

35

5
<210> 22
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
<400> 22

Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile Glu Pro Leu Gly Val Ala
1 5 10 15

Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln Arg Glu Lys Arg Ala Val
20 25 30

Gly Ile Gly
35

10
15
<210> 23
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
<400> 23

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

Met Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile
20 25 30

Lys Ala Leu
35

20
25
<210> 24
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
<400> 24

ES 2 596 682 T3

Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala
 1 5 10 15

Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala
 20 25 30

Val Gln Lys
 35

- <210> 25
- <211> 35
- <212> PRT
- <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
- <400> 25

Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr
 1 5 10 15

Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg
 20 25 30

Tyr Leu Lys
 35

- <210> 26
- <211> 35
- <212> PRT
- <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
- <400> 26

Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15

Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Lys Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala
 20 25 30

Phe Thr Ile
 35

- <210> 27
- <211> 35
- <212> PRT
- <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
- <400> 27

ES 2 596 682 T3

Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile His Leu Ala Leu Gln
1 5 10 15

Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu
20 25 30

Gly Ile Ile
35

5
<210> 28
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
<400> 28

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

His Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val
20 25 30

Glu Glu Lys
35

10
15
<210> 29
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
<400> 29

Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro
1 5 10 15

Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile
20 25 30

Gln Lys Gln
35

20
25
<210> 30
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1
<400> 30

Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly
1 5 10 15

Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Val Leu Pro
20 25 30

Glu Lys Asp
35

ES 2 596 682 T3

<210> 31
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

5

<400> 31

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

Glu Gln Ala Ser Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr Leu Leu
20 25 30

Val Gln Asn
35

10 <210> 32
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

15 <400> 32

Asn Glu Trp Thr Leu Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Ser Glu Ala Val
1 5 10 15

Arg His Phe Pro Arg Ile Trp Leu His Gly Leu Gly Gln His Ile Tyr
20 25 30

Glu Thr Tyr
35

20 <210> 33
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

25 <400> 33

Glu Gly Leu Ile Tyr Ser Gln Lys Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu Trp
1 5 10 15

Val Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro
20 25 30

Gly Pro Gly
35

30 <210> 34
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 34

ES 2 596 682 T3

His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Glu Gly Leu Ile Tyr Ser Gln
1 5 10 15

Lys Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu Trp Val Tyr His Thr Gln Gly Tyr
20 25 30

Phe Pro Asp
35

5
<210> 35
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 35

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

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

Leu Ile Tyr
35

10

15
<210> 36
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 36

Phe Pro Gln Ile Thr Leu Trp Gln Arg Pro Leu Val Thr Ile Lys Ile
1 5 10 15

Gly Gly Gln Leu Lys Glu Ala Leu Leu Asp Thr Gly Ala Asp Asp Thr
20 25 30

Val Leu Glu
35

20

25
<210> 37
<211> 35
<212> PRT
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

<400> 37

Leu Val Ile Thr Thr Tyr Trp Gly Leu His Thr Gly Glu Arg Asp Trp
1 5 10 15

His Leu Gly Gln Gly Val Ser Ile Glu Trp Arg Lys Lys Arg Tyr Ser
20 25 30

Thr Gln Val
35

ES 2 596 682 T3

<210> 38
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

5

<400> 38

Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro
 1 5 10 15

Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp Lys Glu Leu Tyr Pro Leu Ala Ser
 20 25 30

Leu Arg Ser
 35

10 <210> 39
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

15

<400> 39

Lys Arg Arg Val Val Gln Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala
 1 5 10 15

Met Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala
 20 25 30

Ser Met Thr
 35

20 <210> 40
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1

25

<400> 40

Gly Leu Gly Gln His Ile Tyr Glu Thr Tyr Gly Asp Thr Trp Ala Gly
 1 5 10 15

Val Glu Ala Ile Ile Arg Ile Leu Gln Gln Leu Leu Phe Ile His Phe
 20 25 30

Arg Ile Gly
 35

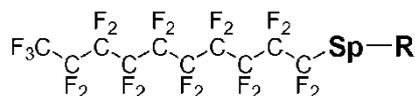
REIVINDICACIONES

1. Una construcción de vector fluorocarbonado-antígeno de estructura $C_mF_n-CyH_x-(Sp)-R$, en la que $m = 3$ a 30 , $n \leq 2m + 1$, $y = 0$ a 15 , $x \leq 2y$, $(m + y) = 3 - 30$ y Sp es un resto de espaciador químico opcional y R es un péptido inmunogénico derivado de un agente infeccioso, una proteína autóloga o un antígeno del cáncer, en el que dicho péptido consiste en entre 7 y 70 aminoácidos y comprende al menos un epítipo de clase I o II del MHC, o de linfocito B, y dicho resto de espaciador está seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol, lisina o arginina.

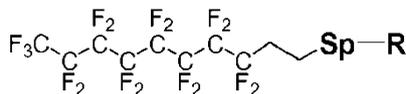
2. La construcción de la reivindicación 1, en la que el agente infeccioso es un virus, una bacteria, una micobacteria, un parásito o un hongo.

3. La construcción de la reivindicación 1 o 2, en la que $n = 2m + 1$ y $x = 2y$.

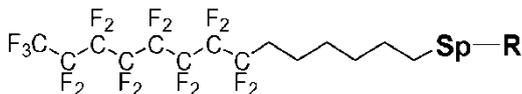
4. La construcción de vector fluorocarbonado-antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene la estructura



o



o



5. La construcción de vector fluorocarbonado-antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el péptido:

- (a) comprende más de un epítipo solapante lineal, o comprende múltiples epítipos y/o es un péptido de fusión; y/o
- (b) contiene entre 7 y 35 aminoácidos.

6. La construcción de vector fluorocarbonado-antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el péptido comprende uno o más epítipos de una proteína vírica, opcionalmente una proteína del virus de la inmunodeficiencia humana.

7. La construcción de vector fluorocarbonado-antígeno de la reivindicación 6, en la que el péptido es un epítipo del VIH o uno o más epítipos *env* del VIH, opcionalmente seleccionados de SEQ ID Nos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 o 36, o fragmentos, derivados, homólogos o combinaciones de los mismos y el péptido del epítipo *env* del VIH con la secuencia de aminoácidos NNTRKRIRIQRGPGRAFVTIGK.

8. La construcción de vector fluorocarbonado-antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en la que el virus es un virus de la gripe.

9. Una formulación preventiva o terapéutica que comprende una o más construcciones vector fluorocarbonado-antígeno de las reivindicaciones 1 a 8, opcionalmente:

- (a) en combinación con uno o más vehículos, excipientes, diluyentes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables; y/o
- (b) formulada para administración parenteral, oral, ocular, rectal, nasal, transdérmica, tópica o vaginal; y/o
- (c) que es un líquido, sólido, aerosol o gas.

10. La formulación preventiva o terapéutica de la reivindicación 9 que incluye un adyuvante seleccionado del grupo que consiste en derivados de muramil dipéptido (MDP), CpG, monofosforil lípido A, adyuvantes de aceite en agua, adyuvantes de agua en aceite, sales de aluminio, complejo inmunoestimulante (ISCOM), liposomas, micropartículas, saponinas, citocinas o toxinas y toxoides bacterianos.

ES 2 596 682 T3

11. La construcción de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición de la reivindicación 9 o 10 para su uso en un método para tratar el cuerpo humano o animal por terapia.
- 5 12. La construcción de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición de la reivindicación 9 o 10 para su uso como una vacuna profiláctica o producto farmacéutico inmunoterapéutico.
13. La construcción de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición de la reivindicación 9 o 10 para su uso en un método para tratar o inmunizar contra una enfermedad infecciosa o cáncer.
- 10 14. La construcción para su uso según la reivindicación 13, en la que la enfermedad infecciosa es una infección vírica, opcionalmente VIH o gripe.
- 15 15. El uso de la construcción de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición de la reivindicación 9 o 10 en la preparación de una vacuna profiláctica o producto farmacéutico inmunoterapéutico, opcionalmente para administración parenteral, mucosal, oral, nasal, tópica, ocular, rectal, transdérmica o vaginal.

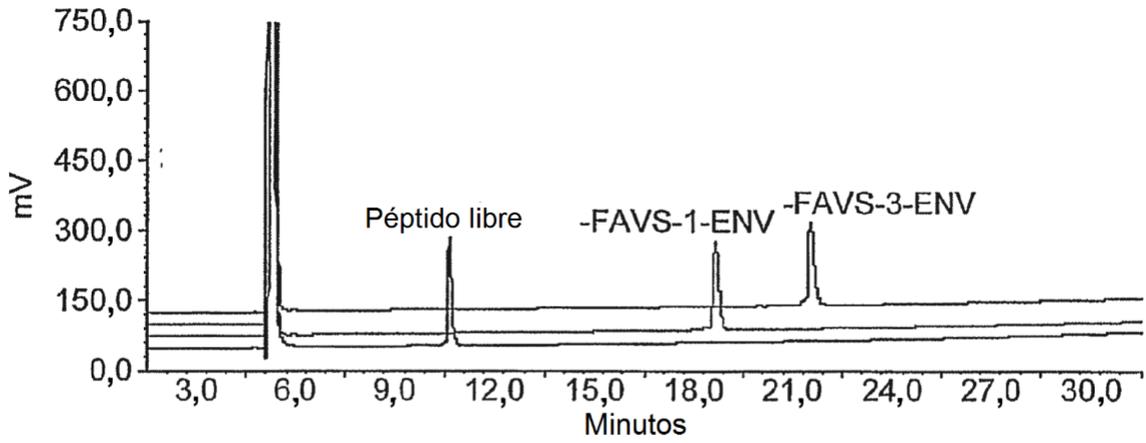


FIG. 1

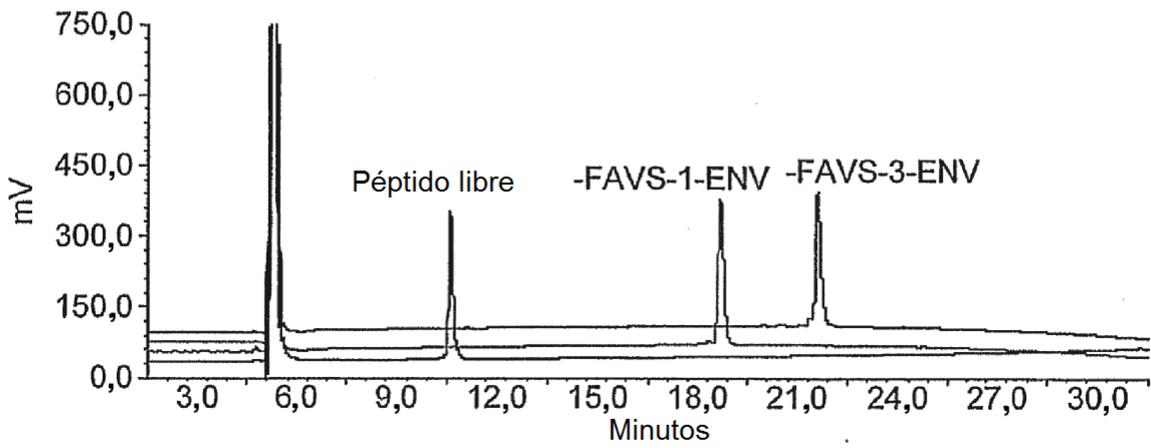
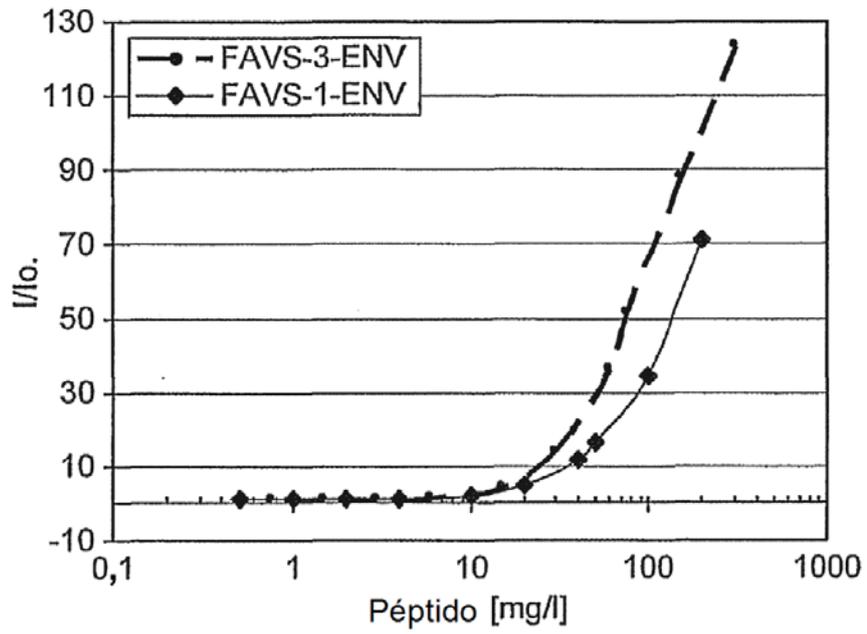


FIG. 2



Peptide	CMC (mg/l)	CMC (nmol/ml)
ENV	Ninguna	Ninguna
FAVS-1-ENV	15	1,6
FAVS-3-ENV	15	1,7

FIG. 3

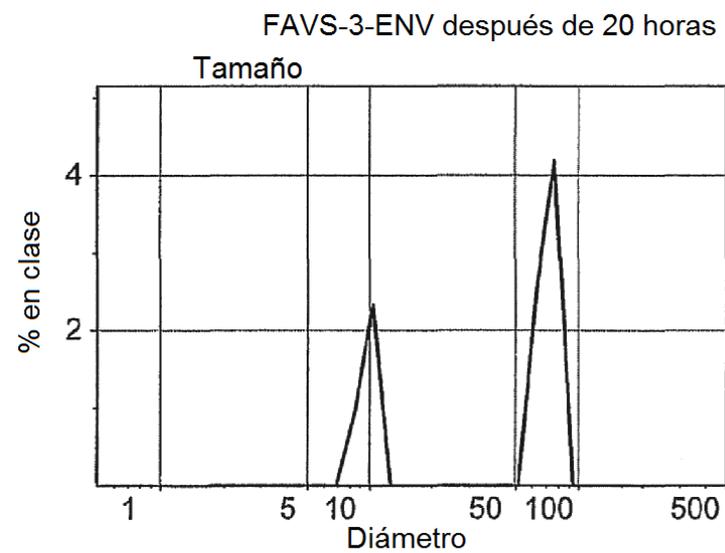
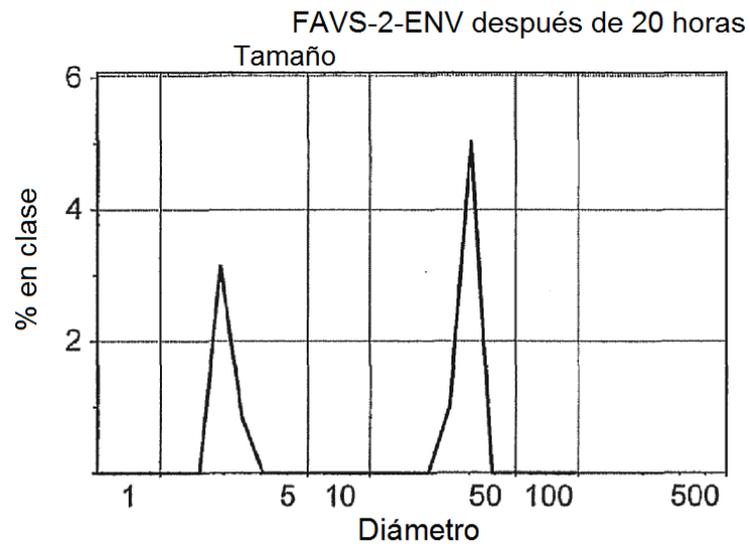
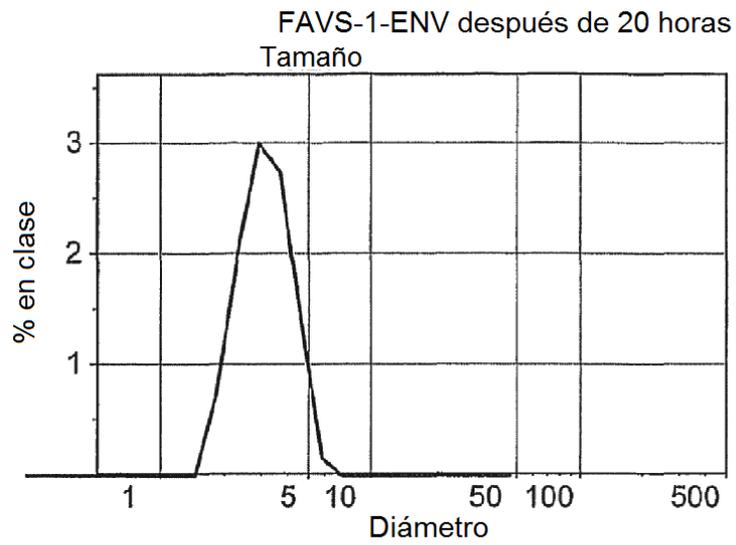


FIG. 4

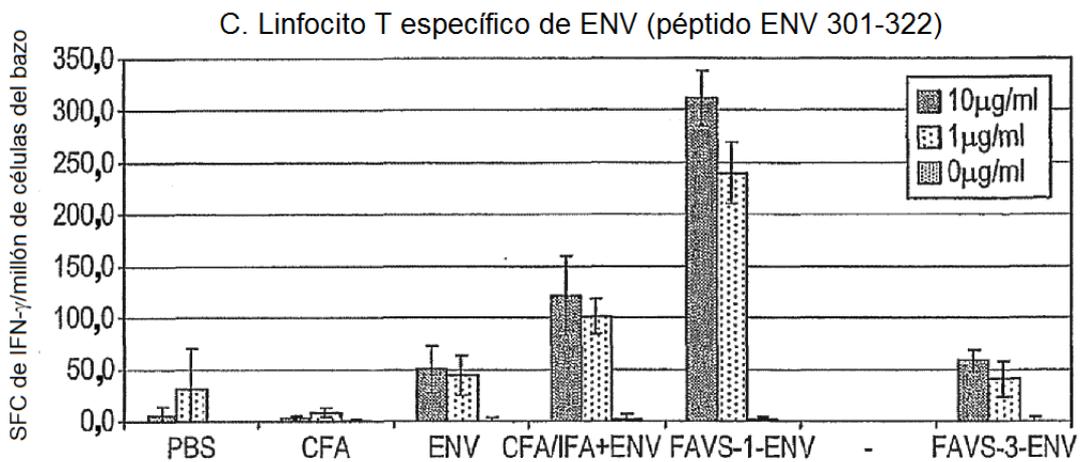
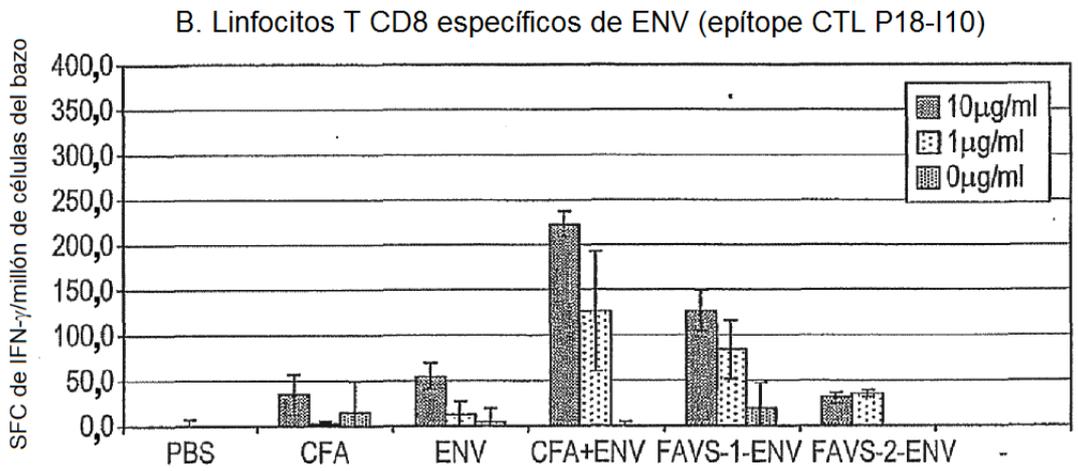
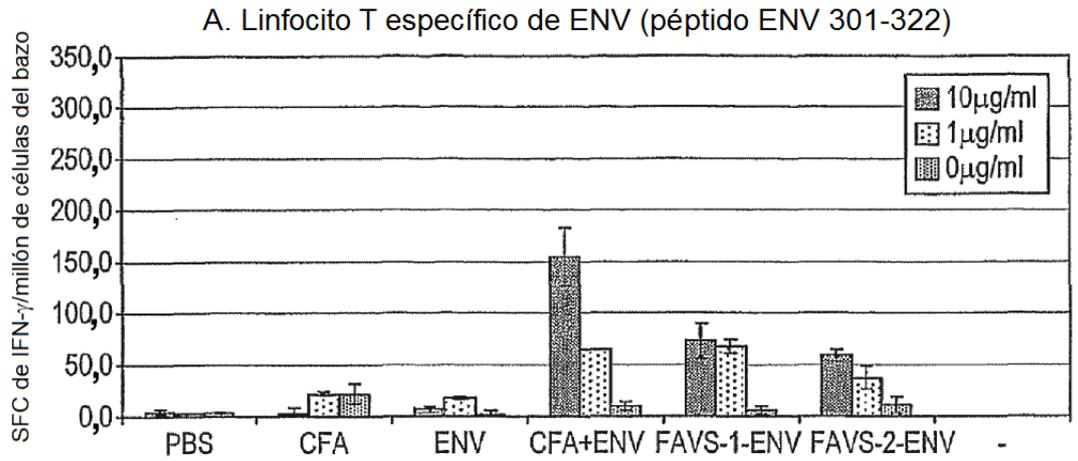


FIG. 5

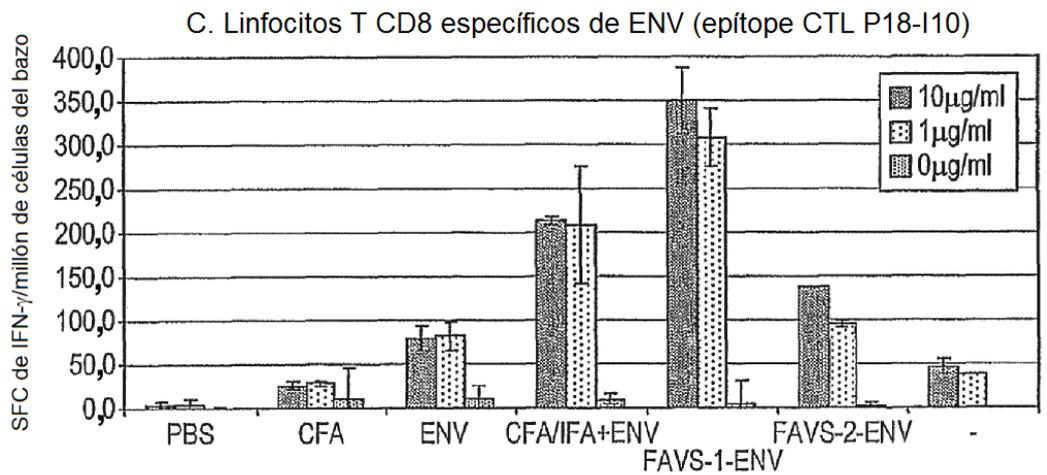
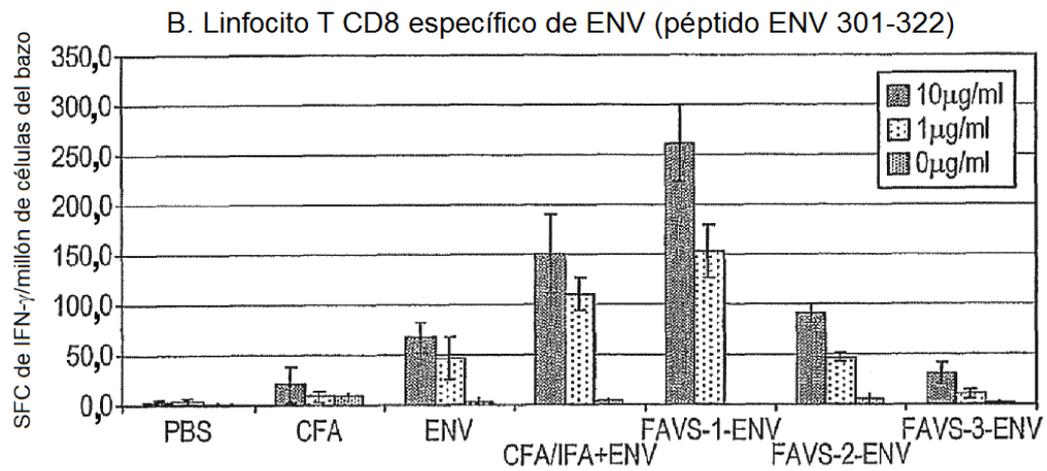
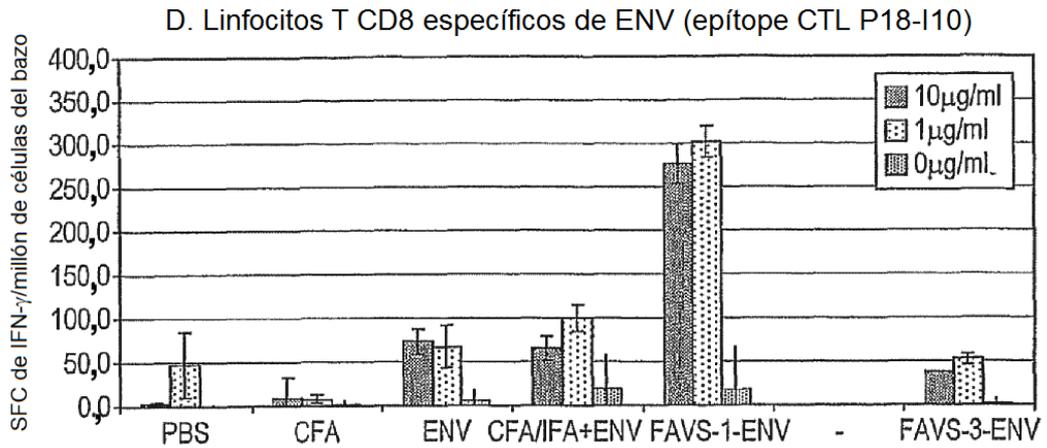


FIG. 5 continuación

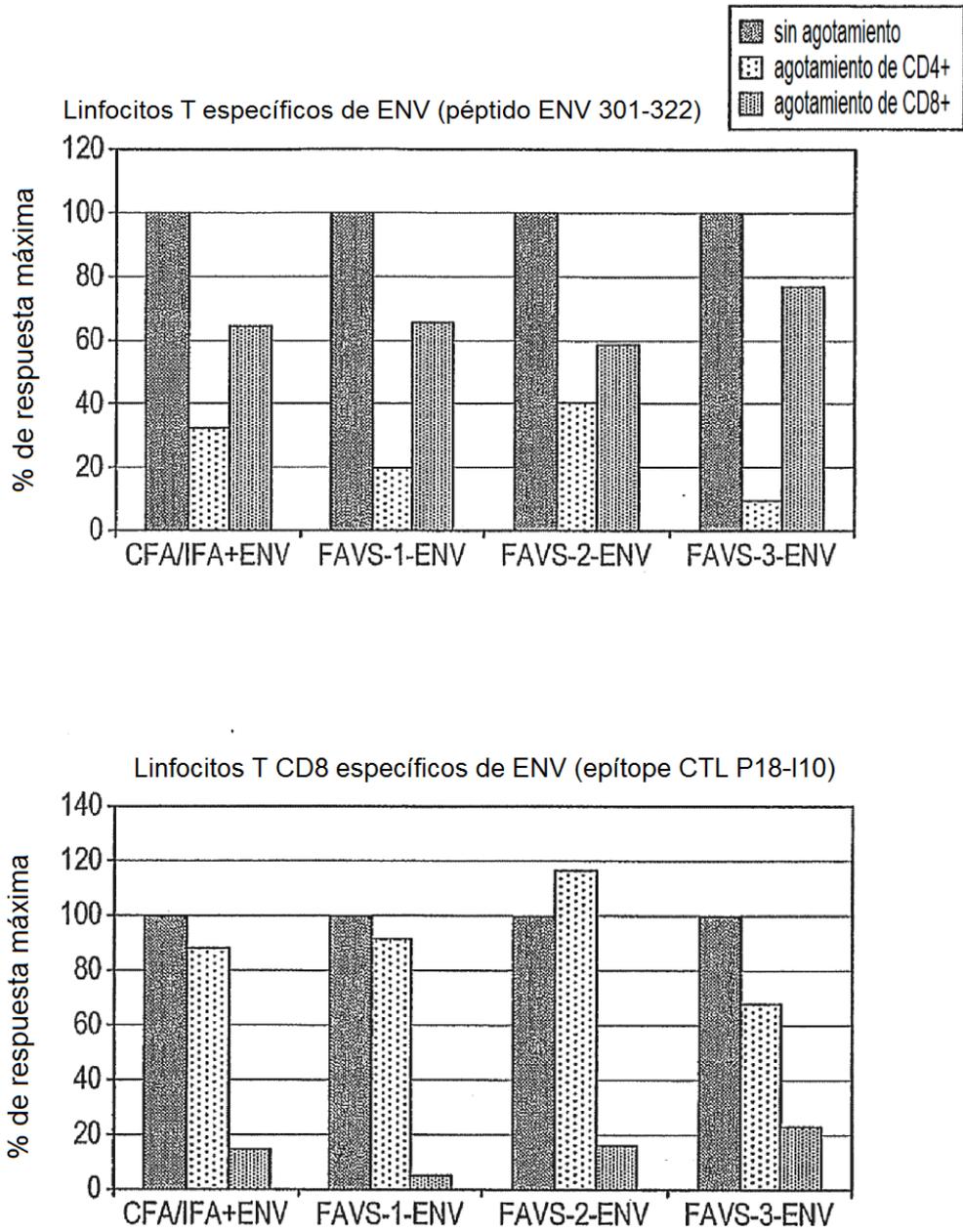


FIG. 6

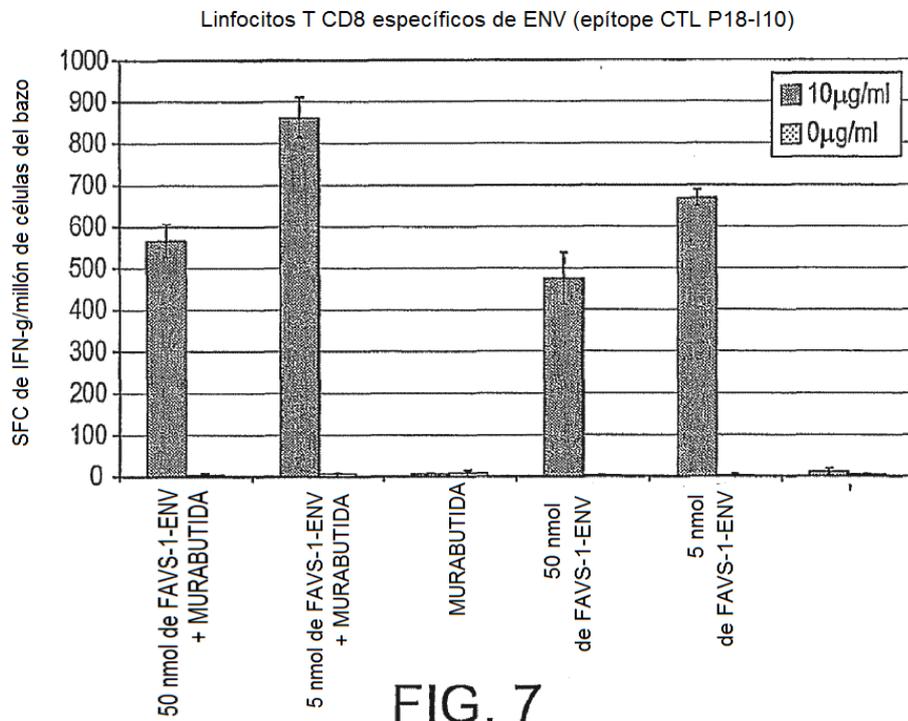
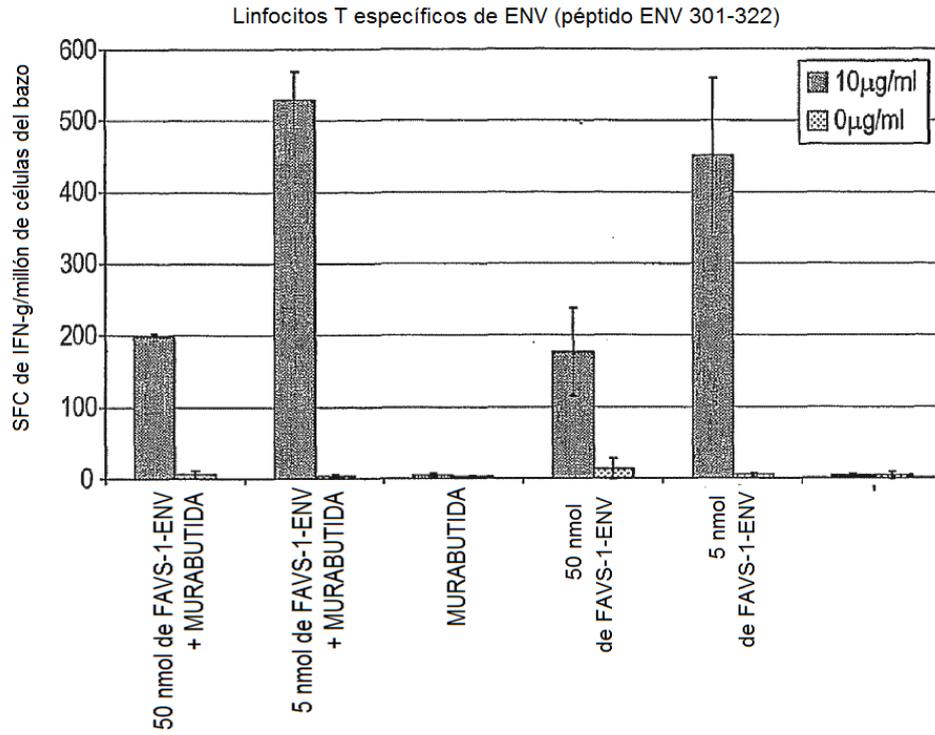


FIG. 7

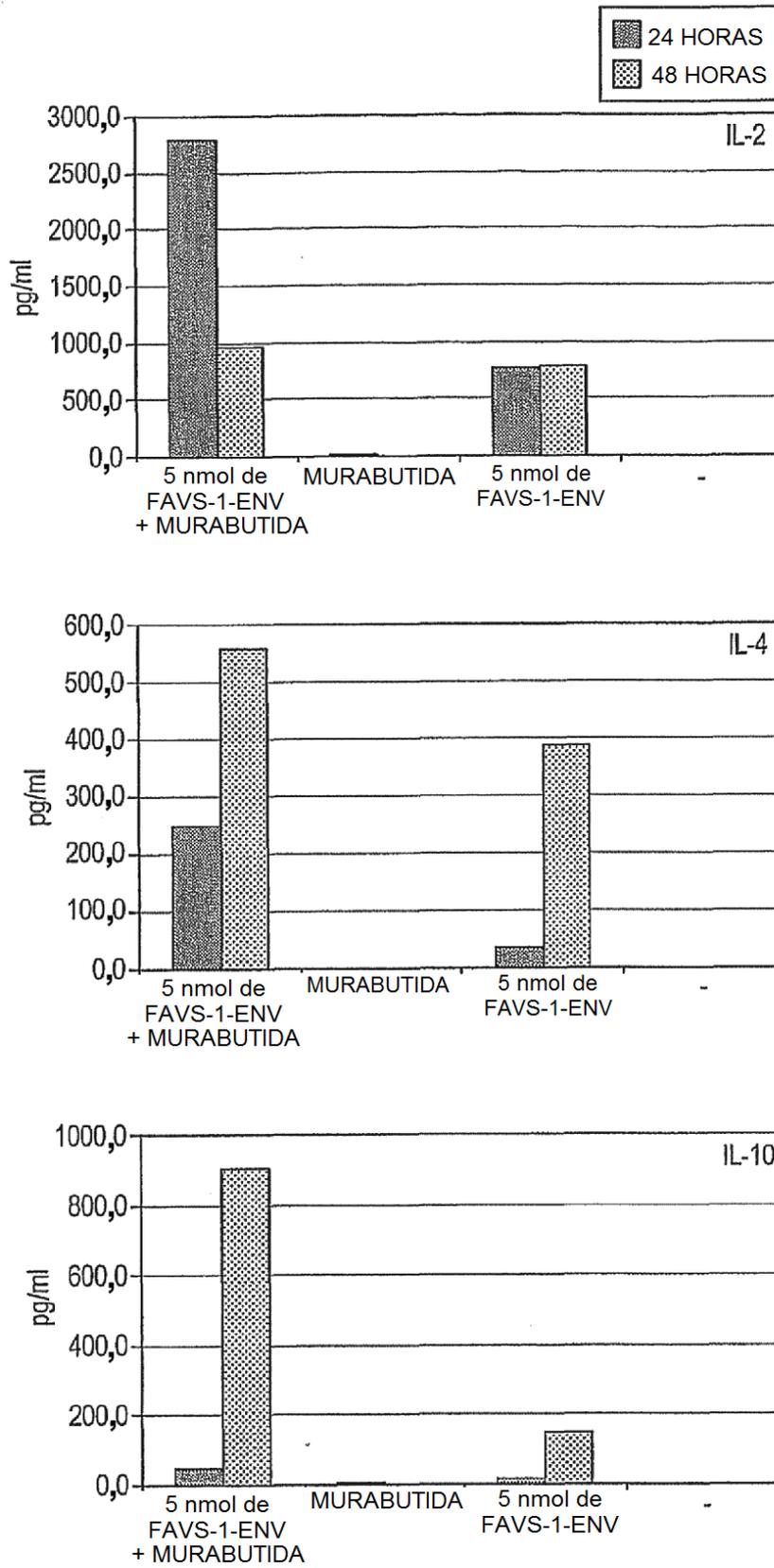


FIG. 8

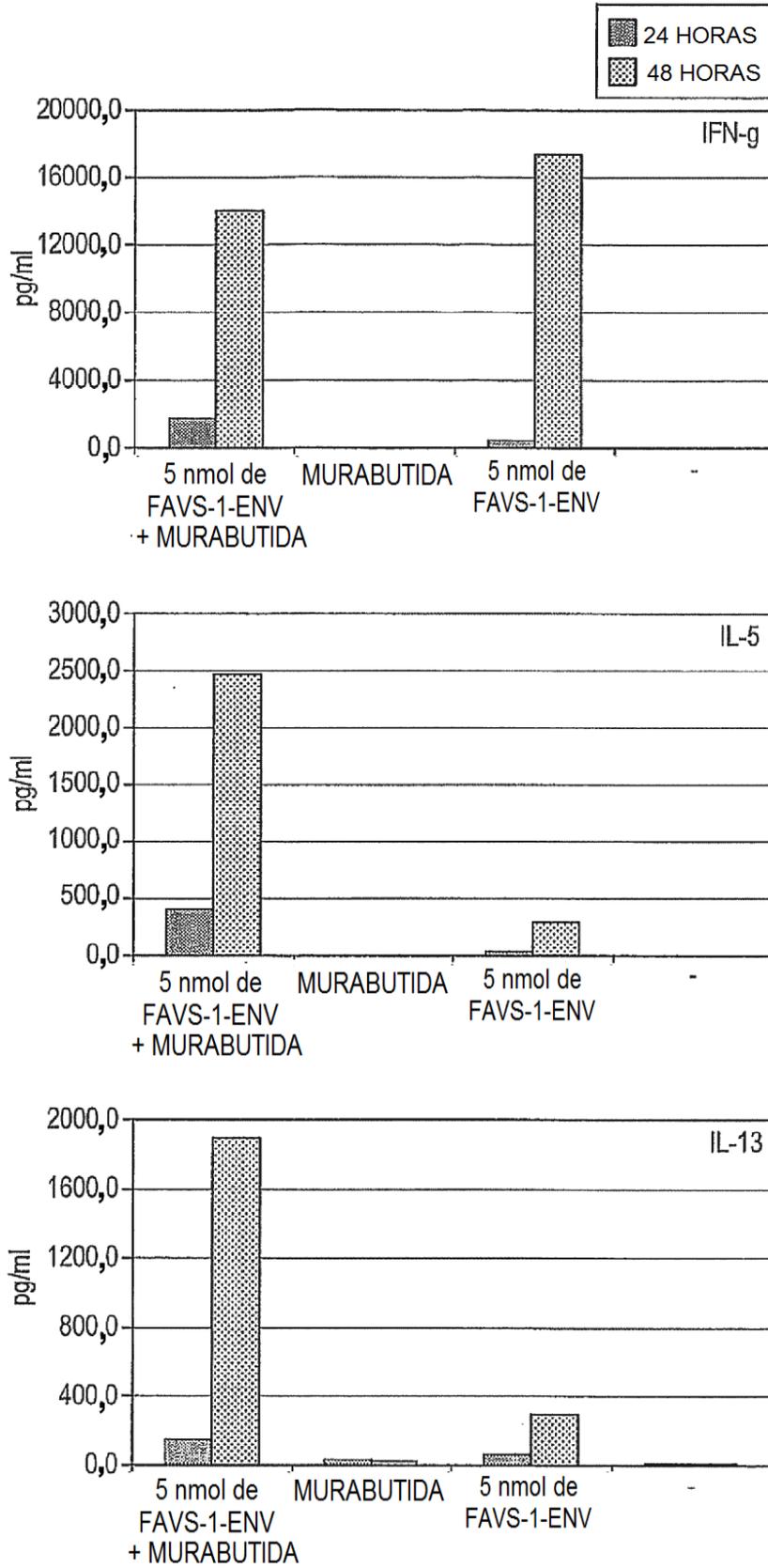


FIG. 8 continuación

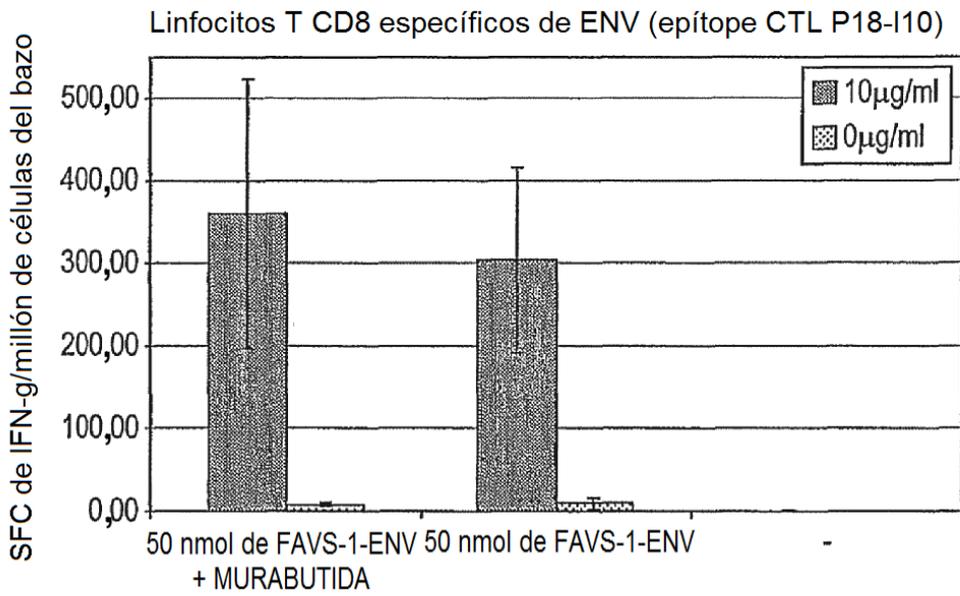
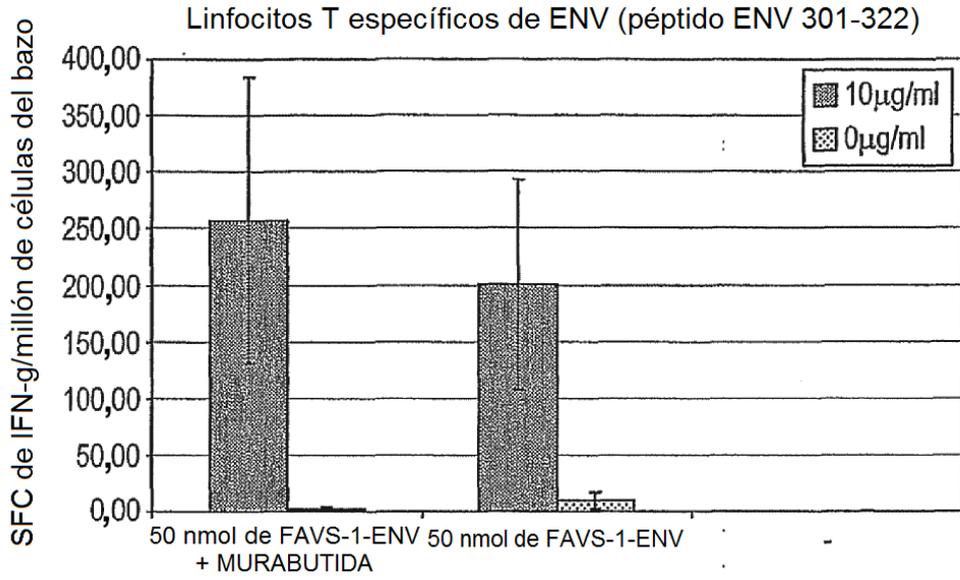


FIG. 9