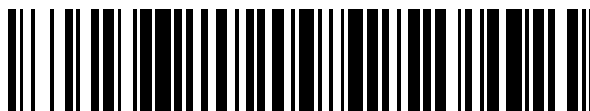


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 864**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 14/435 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.03.2010** **PCT/US2010/026268**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.09.2010** **WO2010104747**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2010** **E 10751208 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.12.2016** **EP 2406288**

54 Título: **Vacunas dirigidas a células presentadoras de antígenos**

30 Prioridad:

10.03.2009 US 159059 P

10.03.2009 US 159062 P

10.03.2009 US 159055 P

04.03.2010 US 717778

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.06.2017

73 Titular/es:

BAYLOR RESEARCH INSTITUTE (50.0%)

3310 Live Oak Street, Suite 501

Dallas, TX 75204, US y

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA

RECHERCHE MÉDICALE (50.0%)

72 Inventor/es:

ZURAWSKI, GERARD;

BANCHEREAU, JACQUES, F.;

FLAMAR, ANNE-LAURE;

LEVY, YVES y

MONTES, MONICA

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 618 864 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

Vacunas dirigidas a células presentadoras de antígenos

5 **Sector de la técnica**

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

10 **Estado de la técnica**

Sin limitar el alcance de la invención, se describen sus antecedentes en relación con la presentación de antígenos. Un ejemplo de vacunas y métodos de presentación de antígenos se enseña en el documento de patente de EE.UU. 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 del extremo carboxi-terminal que se une a CD40. En resumen, se enseña vacunas que dirigen uno o más antígenos a un receptor de superficie celular para aumentar la respuesta inmune humoral y celular específica del antígeno. El/los antígeno/s unido/s a un dominio que se une a un receptor de superficie celular está/n internalizado/s, portando uno o varios antígenos en un compartimento intracelular en el que el/los antígeno/s se digiere/n en péptidos y se cargan en moléculas de MHC. Los linfocitos T específicos de los antígenos peptídicos se activan, conduciendo a una potenciación de la respuesta inmune. La vacuna puede comprender uno o varios antígenos unidos a un dominio que se une al menos a un receptor, o a uno o varios antígenos que codifican plásmidos de ADN unidos a un dominio que se une al menos a un receptor. Una realización preferida de la invención dirige el antígeno env del VIH-1 al receptor CD40, dando lugar al suministro de antígeno a células positivas en CD40 y a la activación selectiva del receptor de CD40 en células que presentan antígenos de env del VIH-1 a linfocitos T.

En la solicitud de patente de EE.UU. n.º 20080254026, presentada por Li, *et al.*, se encuentra otro ejemplo de anticuerpos monoclonales anti-CD40 antagonistas y métodos de uso. En resumen, se desvelan composiciones y métodos para su uso en terapia para tratar enfermedades mediadas por la 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 al antígeno del mismo a un paciente que lo necesita. El anticuerpo anti-CD40 antagonista o fragmento de unión al antígeno del mismo está libre de actividad agonista significativa, pero presenta 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 al antígeno del mismo inhibe de forma beneficiosa la proliferación y/o la diferenciación de células que expresan CD40 humano, tales como linfocitos B.

En la solicitud de patente de EE.UU. n.º 20080241139, presentada por Delucia, se enseña otro ejemplo más de una combinación 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 dicha solicitud enseña combinaciones adyuvantes que comprenden al menos un agonista de TLR microbiano tal como un virus, una bacteria o una levadura completos o parte de los mismos tal como una membrana, un esferoplasto, un citoplasto o un fantasma, un agonista de CD40 o de 4-1BB y, opcionalmente, un antígeno en el que las 3 fracciones pueden estar separados o pueden comprender el mismo microorganismo o virus recombinante. También se proporciona el uso de estos adyuvantes inmunes para el tratamiento de diversas enfermedades crónicas tales como el cáncer y la infección por VIH.

La solicitud de patente de EE.UU. n.º 20080199471, presentada por Bernett, *et al.*, se dirige a anticuerpos CD40 optimizados y a métodos de uso de los mismos. En resumen, se dice que dicha 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 de uso de los anticuerpos de la invención.

Finalmente, la solicitud de patente de EE.UU. n.º 20080181915, presentada por Tripp, *et al.*, se dirige a un adyuvante de ligando de CD40 para el virus sincitial respiratorio. En resumen, se dice que dicha solicitud enseña métodos y adyuvantes para aumentar una respuesta inmune con respecto al RSV en un hospedador, comprendiendo los métodos y adyuvantes 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. La potenciación de la respuesta inmune producida por los adyuvantes y métodos de la presente invención incluyen tanto el aumento de la expresión de citocinas Th1 como el aumento de la producción de anticuerpos.

El documento WO2008/097817 desvela antígenos multivariables que forman complejos con un anticuerpo monoclonal humanizado de dirección.

Objeto de la invención

En una realización, la presente invención es una proteína de fusión que comprende la fórmula: Anticuerpo(Ab)-Conector peptídico (PL)-Antígeno (Ag)x, Ab-(PL-Ag)x; Ab-(Ag-PL)x; Ab-(PL-Ag-PL)x; Ab-(Ag-PL-Ag)x; Ab-(PL-Ag)x-PL; Ab-(Ag-PL)x-Ag; NH₂-Ab-(PL-Ag)x-COOH; NH₂-Ab-(Ag-PL)x-COOH; Ab-(PL-Ag)x-(Ply-Agz)_n; o Ab-(Ag-PL)x-(Ply-Agz)_n, en la que Ab es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', Fab')₂, Fc o ScFv del mismo; en la que PL es al menos un conector peptídico seleccionado de SSVSPTTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11), PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12), TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13) o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14); en la que Ag es al menos un antígeno seleccionado de un antígeno bacteriano de tuberculosis micobacteriana, un antígeno de VIH y un antígeno de VHC; en la que x es un número entero de 1 a 20, en la que n es 0 a 19; y en la que y o z es 0 a 10. En un aspecto de la divulgación, Ag se selecciona de un antígeno vírico, un antígeno tumoral, un antígeno de enfermedad infecciosa, un antígeno autoinmune, una toxina o combinaciones de los mismos. En otro aspecto de la divulgación, el Ag es un péptido concatémico. En otro aspecto, -(PL-Ag)x, -(Ag-PL)x, -(PL-Ag-PL)x o -(Ag-PL-Ag)x están ubicados en el extremo carboxi-terminal de la cadena pesada del Ab o fragmento del mismo. En otro aspecto, el Ag genera una respuesta inmune humoral y/o una respuesta inmune celular en un hospedador. En un aspecto, el Ab comprende al menos la región variable de anti-CD40_12E12.3F3 (n.º de acceso de ATCC PTA-9854), anti-CD40_12B4.2C10 (n.º de presentación de depósito HS446, n.º de acceso de ATCC ____) y anti-CD40_11B6.1C3 (n.º de presentación de depósito HS440, n.º de acceso de ATCC ____).

En un aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de enfermedades autoinmunes o trastornos asociados con los antígenos implicados en la enfermedad autoinmune seleccionada de descarboxilasa de ácido glutámico 65 (GAD65), ADN nativo, proteína básica de la mielina, proteína proteolipídica de la mielina, componentes de los receptores de la acetilcolina, tiroglobulina y receptor de la hormona estimulante de la tiroides (TSH). En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de antígenos de enfermedades infecciosas que se seleccionan de antígenos bacterianos, víricos, parasitarios y fúngicos. En otro aspecto, x comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más Ag diferentes de antígenos separados por al menos un PL. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más Ag separados por al menos un PL que comprende una alanina y una serina. En otro aspecto, el Ab es un fragmento de anticuerpo seleccionado de Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o un ScFv.

En un aspecto, el Ab se une específicamente a un MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD 19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN-γ y el receptor de IL-2, ICAM-1, receptor Fcγ, receptor de linfocitos T o lectina. En otro aspecto, el Ab es una IgA, IgD, IgE, IgG o IgM, o isotipo de las mismas. En otro aspecto, el Ab es un anticuerpo humano o un anticuerpo humanizado. El PL comprende una alanina y una serina. El PL se selecciona de: SSVSPTTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14).

Otra realización más de la presente invención es un vector de expresión de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión que comprende: un primer polinucleótido que codifica una cadena ligera de anticuerpo o fragmento de la misma; y un segundo polinucleótido que codifica una cadena pesada de anticuerpo o fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv de una cadena ligera de anticuerpo; y un segundo polinucleótido que codifica una cadena pesada de anticuerpo o fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv de una cadena pesada de anticuerpo, en el que la proteína de fusión comprende la siguiente fórmula: Ab-(PL-Ag)x o Ab-(Ag-PL)x; en la que Ab es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv del mismo; en la que PL es al menos un conector peptídico seleccionado de SSVSPTTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11), PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12), TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13) o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14), en la que Ag es al menos un antígeno seleccionado de un antígeno bacteriano de tuberculosis micobacteriana, un antígeno de VIH y un antígeno de VHC; en la que x es un número entero de 1 a 20. En un aspecto, (PL-Ag)x o (Ag-PL)x se encuentran en el extremo carboxi-terminal de la cadena pesada de Ab o fragmento del mismo. En otro aspecto, el primer y segundo polinucleótido están en un solo vector de expresión. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de antígenos de enfermedades infecciosas que se seleccionan de antígenos bacterianos, víricos, parasitarios y fúngicos. En otro aspecto, x comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más Ag de diferentes antígenos separados por al menos un PL. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más Ag separados por al menos un PL que comprende una alanina y una serina. En otro aspecto, el Ab es un fragmento de anticuerpo seleccionado de Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv. En otro aspecto, el Ab se une específicamente a un MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD 19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN-γ y receptor de IL-2, ICAM-1, receptor Fcγ, receptor de linfocitos T o lectina. En otro aspecto, el Ab es una IgA, IgD, IgE, IgG o IgM, o isotipo de las mismas. En otro aspecto, el Ab es un anticuerpo humano o un anticuerpo humanizado. El PL comprende una alanina y una serina y el PL se selecciona

de: SSVSPTTSHVHTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14). En otro aspecto, el primer y segundo polinucleótidos están cadena abajo de un promotor constitutivo.

Otra realización más de la presente divulgación es una proteína de fusión secretable, estable, que comprende la fórmula: $\text{NH}_2\text{-Ab-(PL-Ag)}_x\text{-COOH}$ o $\text{NH}_2\text{-Ab-(Ag-PL)}_x\text{-COOH}$; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; en la que PL es al menos un péptido conector que comprende al menos un sitio de glicosilación; en la que Ag es al menos un antígeno inmunogénico; y en la que x es un número entero de 1 a 20, siendo la proteína de fusión estable y soluble en solución en comparación con la proteína Ab-Ag sola que no es soluble ni estable.

Otra realización es un método de estabilización de péptidos antigénicos, que comprende: Incorporar uno o más péptidos antigénicos que son inestables o insolubles en una proteína de fusión, teniendo la proteína de fusión la siguiente estructura: Ab-(PL-Ag)_x o Ab-(Ag-PL)_x ; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', F(ab')_2 , Fc o ScFv del mismo; en la que PL es al menos un conector peptídico seleccionado de SSVSPTTSHVHTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11), PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12), TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13) o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14); en la que Ag es al menos un antígeno seleccionado de un antígeno bacteriano de tuberculosis micobacteriana, un antígeno de VIH y un antígeno de VHC; en la que x es un número entero de 1 a 20.

Otra realización más de la presente invención es una célula hospedadora que comprende un vector de expresión de ácido nucleico de la invención. En otra realización de la divulgación, la célula hospedadora comprende un vector de expresión que produce una proteína de fusión que comprende la fórmula: Ab-(PL-Ag)_x ; Ab-(Ag-PL)_x ; Ab-(PL-Ag-PL)_x ; Ab-(Ag-PL-Ag)_x ; $\text{Ab-(PL-Ag)}_x\text{-PL}$; o $\text{Ab-(Ag-PL)}_x\text{-Ag}$; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; en la que PL es al menos un conector peptídico que comprende al menos un sitio de glicosilación; en la que Ag es al menos un antígeno; y en la que x es un número entero de 1 a 20, teniendo la proteína de fusión mayor estabilidad en solución que la misma proteína de fusión sin el sitio de glicosilación.

La presente invención también incluye una composición farmacéutica que comprende una proteína de fusión de la invención.

Otra realización más de la presente divulgación es una proteína de fusión que comprende la fórmula: $\text{Ab-(PL-Ag)}_x\text{-(PLy-Agz)}_n$; o $\text{Ab-(Ag-PL)}_x\text{-(PLy-Agz)}_n$; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; en la que PL es al menos un conector peptídico que comprende al menos un sitio de glicosilación; en la que Ag es al menos un antígeno; y en la que x es un número entero de 1 a 20; en la que n es 0 a 19; y en la que y o z es 0 a 10, teniendo la proteína de fusión mayor estabilidad en solución que la misma proteína de fusión sin el sitio de glicosilación.

Otra realización es una vacuna aislada y purificada que comprende una proteína de fusión de la invención, en la que la proteína de fusión comprende: una cadena pesada seleccionada de al menos una de las SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10, 16, 17, 18, 19, 20, 36, 37, 96, 97, 98, 99, 110, 111, 112, 118, 119, 134, 136, 138, 146 y 147 que se une específicamente a CD40; y una cadena ligera que se une específicamente a CD40. En un aspecto, el anticuerpo se define además como un anticuerpo humanizado.

Otra realización más de la presente divulgación es una proteína de fusión que comprende la fórmula: Ab-(PL-Ag)_x ; Ab-(Ag-PL)_x ; Ab-(PL-Ag-PL)_x ; Ab-(Ag-PL-Ag)_x ; $\text{Ab-(PL-Ag)}_x\text{-PL}$; o $\text{Ab-(Ag-PL)}_x\text{-Ag}$; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; en la que PL es al menos un conector peptídico que comprende al menos un sitio de glicosilación; Ag es al menos un antígeno vírico; y x es un número entero de 1 a 20. En un aspecto, la proteína de fusión tiene mayor estabilidad en solución que el PL sin el sitio de glicosilación. En otro aspecto de la divulgación, el Ag comprende un péptido de un adenovirus, retrovirus, picornavirus, virus del herpes, rotavirus, hantavirus, coronavirus, togavirus, flavivirus, rabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus, bunyavirus, arenavirus, reovirus, papilomavirus, parvovirus, virus de la viruela, hepadnavirus o virus espongiforme. En otro aspecto de la divulgación, el Ag comprende un péptido de al menos uno de VIH, CMV, hepatitis A, B y C, gripe; sarampión, poliomielitis, viruela, rubeola, sincital respiratorio, herpes simple, varicela zóster, virus de Epstein-Barr, encefalitis japonesa, rabia, gripe o virus del resfriado.

En otro aspecto, el Ag se selecciona de: Nef (66-97): VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL (SEQ ID NO: 1); Nef (116-145): HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 2); Gag p17 (17-35): EKIRLRPGGKKKYKLKHIV (SEQ ID NO: 3); Gag p17-p24 (253-284): NPPIPVGEIYKRWILGLNKNIVRMYSPSILD (SEQ ID NO: 4); o Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDL (SEQ ID NO: 5). En otro aspecto, el Ag es de 19 a 32 restos. En otro aspecto, el Ag se selecciona de un epítipo de linfocitos T citotóxicos (CTL) identificado en las proteínas Nef, Gag y Env del VIH-1 presentadas en el contexto de las moléculas MHC de clase I. En otro aspecto, el Ag se selecciona de gp120, gp41, Gag, p17, p24, p2, p7, p1, p6, Tat, Rev, PR, RT, IN, Vif, Vpr, Vpx, Vpu y Nef del VIH. En otro aspecto, x comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19. En otro aspecto de la divulgación, el Ag comprende péptidos de virus de diferentes antígenos separados por diferentes conectores peptídicos. En otro aspecto, el Ag está separado por al menos un PL que comprende una alanina y una serina. La proteína de fusión se selecciona de las SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 36. La proteína de fusión se puede aislar de una célula que comprende un vector de polinucleótido que codifica la

proteína de fusión, comprendiendo el vector de polinucleótido las SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 36. En otro aspecto, el Ab comprende SEQ ID NO: 37 y 38.

La proteína de fusión se puede aislar de una célula que comprende un vector de polinucleótido que expresa la proteína de fusión, y la parte de Ab comprende las SEQ ID NO: 39 y 40. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de las SEQ ID NO: 52-56, 58-60, 61-69, 70-72 o 73-77. En otro aspecto, el Ag es de 17 a 60 restos. En otro aspecto, el Ag es de 8, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 a 60 restos de longitud. En otro aspecto de la divulgación, el Ag comprende al menos un lipopéptido. En otro aspecto, el Ag está en el extremo carboxi-terminal y comprende además un grupo (Palm)-NH₂ en el extremo carboxi-terminal. El PL se selecciona de: SSVSPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o TNGSITVAATAPTPTVNTATPSAA (SEQ ID NO: 14). El PL comprende una alanina y una serina.

Otra realización de la presente divulgación es un vector de administración de antígenos víricos que comprende: una proteína de fusión que comprende un anticuerpo anti-CD40 o fragmento del mismo y uno o más péptidos víricos en el extremo carboxi-terminal del anticuerpo anti-CD40, en el que cuando dos o más péptidos víricos están presentes, los péptidos víricos están separados por el uno o más conectores peptídicos que comprenden al menos un sitio de glicosilación potencial. En otro aspecto de la divulgación, un vector de administración de antígenos es un anticuerpo anti-CD40 o fragmento del mismo y dos o más péptidos víricos en el extremo carboxi-terminal de la cadena ligera, la cadena pesada o tanto la cadena ligera como la cadena pesada del anticuerpo anti-CD40, en el que dos o más péptidos víricos están separados por uno o más conectores peptídicos que comprenden al menos un sitio de glicosilación potencial.

Otra realización más de la presente divulgación es un método de estabilización de péptidos víricos que comprende: incorporar uno o más péptidos víricos que son inestables o insolubles en una proteína de fusión con un anticuerpo, en el que el anticuerpo y los péptidos víricos están separados por uno o más conectores peptídicos que comprenden uno o más sitios de glicosilación. Otra realización más de la divulgación es un método de potenciación de las respuestas de los linfocitos T que comprende: inmunizar a un sujeto que necesita vacunación con una cantidad eficaz de una vacuna que comprende la fórmula: Ab-(PL-Ag)_x o Ab-(Ag-PL)_x; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; PL es al menos un péptido conector que comprende al menos un sitio de glicosilación; Ag es al menos un antígeno vírico; y x es un número entero de 1 a 20. En un aspecto, la proteína de fusión tiene una mayor estabilidad en solución que una proteína de fusión idéntica sin el sitio de glicosilación. En otro aspecto de la divulgación, el al menos un antígeno vírico comprende péptidos de adenovirus, retrovirus, picornavirus, virus del herpes, rotavirus, hantavirus, coronavirus, togavirus, flavivirus, rabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus, bunyavirus, arenavirus, reovirus, papilomavirus, parvovirus, virus de la viruela, hepadnavirus o virus espongiforme. En otro aspecto de la divulgación, el al menos un antígeno vírico comprende péptidos de al menos uno de VIH, CMV, hepatitis A, B y C, gripe; sarampión, poliomielitis, viruela, rubeola, sincitial respiratorio, herpes simple, varicela zóster, virus de Epstein-Barr, encefalitis japonesa, rabia, gripe o virus del resfriado.

En un aspecto, el Ag se selecciona de: Nef (66-97): VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL (SEQ ID NO: 1); Nef (116-145): HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 2); Gag p17 (17-35): EKIRLRPGGKKKYKLKHIV (SEQ ID NO: 3); Gag p17-p24 (253-284): NPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILD (SEQ ID NO: 4); y/o Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDL (SEQ ID NO: 5). En otro aspecto, el Ag es de 19 a 32 restos y se selecciona de un epítipo de linfocitos T citotóxicos (CTL) identificado en las proteínas Nef, Gag y Env del VIH-1 presentadas en el contexto de las moléculas MHC de clase I. En otro aspecto, el Ag se selecciona de gp120, gp41, Gag, p17, p24, p2, p7, p1, p6, Tat, Rev, PR, RT, IN, Vif, Vpr, Vpx, Vpu y Nef del VIH. En otro aspecto, x comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19. En otro aspecto, el Ag comprende dos o más antígenos víricos de diferentes virus. El PL comprende una alanina y una serina. En otro aspecto, la vacuna se selecciona de SEQ ID NO: 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 36. En otro aspecto, el Ab comprende las SEQ ID NO: 37 y 38. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de las SEQ ID NO: 52-56, 58-60, 61-69, 70-72 o 73-77. En otro aspecto, el Ag es de 17 a 60 restos. En otro aspecto, el Ag es de 8, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 a 60 restos de longitud. En otro aspecto, el Ag comprende un lipopéptido. En otro aspecto, el Ag está en el extremo carboxi-terminal y comprende un grupo (Palm)-NH₂ en el extremo carboxi-terminal. El PL se selecciona de: SSVSPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o TNGSITVAATAPTPTVNTATPSAA (SEQ ID NO: 14).

Otra realización más de la presente divulgación es un método de fabricación de IFN γ específico de péptidos de VIH productor de linfocitos T, que comprende: Inmunizar un sujeto con una proteína de fusión que comprende un anticuerpo anti-CD40 o fragmento del mismo, con uno o más péptidos de VIH en el extremo carboxi-terminal del anticuerpo; y aislar células mononucleares de sangre periférica del sujeto, en el que las células mononucleares periféricas aisladas están enriquecidas en IFN γ específico de péptidos de VIH productor de linfocitos T, en el que el anticuerpo anti-CD40 comprende las SEQ ID NO: 37 y 38 o fragmentos de las mismas. En un aspecto de la divulgación, el sujeto es un paciente sospechoso de tener una infección por VIH. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más péptidos de VIH, y los péptidos están separados por uno o más conectores peptídicos.

En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más péptidos de VIH, y los péptidos están separados por el uno o más conectores peptídicos que comprenden secuencias de glicosilación. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más péptidos de VIH, y los péptidos están separados por uno o más conectores peptídicos que comprenden una alanina y una serina. En otro aspecto, el uno o más péptidos de VIH comprenden al menos un lipopéptido. En otro aspecto, el uno o más péptidos del VIH comprenden un grupo (Palm)-NH₂ en el extremo carboxi-terminal. En otro aspecto, el uno o más péptidos del VIH son de 19 a 32 aminoácidos de longitud y se seleccionan de un epítipo de linfocitos T citotóxicos (CTL) identificado en las proteínas Nef, Gag y Env del VIH-1 en el contexto de las moléculas MHC de clase I. En otro aspecto, el uno o más péptidos de VIH se seleccionan de gp120, gp41, Gag, p17, p24, p2, p7, p1, p6, Tat, Rev, PR, RT, IN, Vif, Vpr, Vpx, Vpu y Nef del VIH. En otro aspecto, el uno o más péptidos víricos se seleccionan de al menos uno de: Nef (66-97): VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL (SEQ ID NO: 1); Nef (116-145): HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 2); Gag p17 (17-35): EKIRLRPGGKKKYKLKHIV (SEQ ID NO: 3); Gag p17-p24 (253-284): NPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPSILD (SEQ ID NO: 4); y/o Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDL (SEQ ID NO: 5).

Otra realización más de la presente divulgación es una proteína de fusión que comprende un anticuerpo anti-CD40, o fragmento del mismo, con uno o más péptidos víricos en el extremo carboxi-terminal del anticuerpo separados por un PL que comprende al menos una alanina y una serina. En un aspecto, el uno o más péptidos víricos son péptidos de VIH. En otro aspecto, el uno o más péptidos víricos se seleccionan de al menos uno de: Nef (66-97): VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL (SEQ ID NO: 1); Nef (116-145): HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 2); Gag p17 (17-35): EKIRLRPGGKKKYKLKHIV (SEQ ID NO: 3); Gag p17-p24 (253-284): NPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPSILD (SEQ ID NO: 4); y/o Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDL (SEQ ID NO: 5).

La presente divulgación también incluye un método de fabricación de una proteína de fusión que comprende: Insertar en un vector de expresión una construcción de ácido nucleico que comprende polinucleótidos que codifican una proteína que tiene la fórmula: Ab-(PL-Ag)x o Ab-(Ag-PL)x; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; PL es al menos un conector peptídico que comprende al menos un sitio de glicosilación; Ag es al menos un antígeno vírico; y x es un número entero de 1 a 20; y cultivar el vector en condiciones suficientes para permitir la expresión de la proteína de fusión. En un aspecto, la proteína de fusión tiene más estabilidad en solución que una proteína de fusión idéntica sin el sitio de glicosilación. En otro aspecto de la divulgación, el al menos un antígeno vírico comprende péptidos de adenovirus, retrovirus, picornavirus, virus del herpes, rotavirus, hantavirus, coronavirus, togavirus, flavivirus, rhabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus, bunyavirus, arenavirus, reovirus, papilomavirus, parvovirus, virus de la viruela, hepadnavirus o virus espongiforme. En otro aspecto de la divulgación, el al menos un antígeno vírico comprende péptidos de al menos uno de VIH, CMV, hepatitis A, B y C, gripe; sarampión, poliomielitis, viruela, rubeola, sincicial respiratorio, herpes simple, varicela zóster, virus de Epstein-Barr, encefalitis japonesa, rabia, gripe o virus del resfriado. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende la cadena ligera del Ab, la cadena pesada del Ab, o tanto la cadena ligera como la cadena pesada del Ab. En otro aspecto, el Ag se selecciona de: Nef (66-97): VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL (SEQ ID NO: 1); Nef (116-145): HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 2); Gag p17 (17-35): EKIRLRPGGKKKYKLKHIV (SEQ ID NO: 3); Gag p17-p24 (253-284): NPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPSILD (SEQ ID NO: 4); y/o Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDL (SEQ ID NO: 5).

Otra realización más de la presente divulgación incluye un método de expansión de linfocitos T específicos del antígeno *in vitro*, que comprende: aislar PBMC de un paciente con VIH; incubar las PBMC aisladas con una cantidad eficaz de una vacuna del péptido de VIH α CD40.LIPO5; expandir las PBMC en presencia de una cantidad eficaz de IL-2; recoger las células; y evaluar la producción de citocinas por parte de las células para determinar la presencia de linfocitos T específicos contra el VIH. Otra realización de la divulgación es linfocitos T específicos del antígeno del VIH fabricados mediante el método que comprende: aislar PBMC de un paciente con VIH; incubar las PBMC aisladas con una cantidad eficaz de una vacuna del péptido de VIH α CD40.LIPO5; expandir las PBMC en presencia de una cantidad eficaz de IL-2; recoger las células; y evaluar la producción de citocinas por parte de las células para determinar la presencia de linfocitos T específicos contra el VIH. Otra realización de la divulgación es un método de fabricación de una vacuna terapéutica que comprende: cargar una célula dendrítica con vacuna del péptido de VIH α CD40.LIPO5 que comprende: aislar monocitos de pacientes con VIH; diferenciar los monocitos en células dendríticas con IFN α y GM-CSF; y exponer las células dendríticas diferenciadas a un péptido de VIH α CD40.LIPO5, en el que las células dendríticas cargadas son capaces de estimular linfocitos T específicos del péptido del VIH autólogos *in vitro*.

La presente divulgación también incluye una vacuna terapéutica fabricada mediante el método que comprende: cargar una célula dendrítica con vacuna del péptido de VIH α CD40.LIPO5 que comprende: aislar monocitos de pacientes con VIH; diferenciar los monocitos en células dendríticas con IFN α y GM-CSF; y exponer las células dendríticas diferenciadas a un péptido de VIH α CD40.LIPO5, en el que las células dendríticas cargadas son capaces de estimular linfocitos T específicos del péptido del VIH autólogos *in vitro*. Otra realización de la divulgación es una vacuna terapéutica que comprende una proteína de fusión que comprende la fórmula: Ab-(PL-Ag)x; Ab-(Ag-PL)x; Ab-(PL-Ag-PL)x; Ab-(Ag-PL-Ag)x; Ab-(PL-Ag)x-PL; o Ab-(Ag-PL)x-Ag; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; PL es al menos un conector peptídico que

comprende al menos un sitio de glicosilación; Ag es al menos un antígeno vírico; y x es un número entero de 1 a 20.

Otra realización más de la presente divulgación incluye una proteína de fusión que comprende la fórmula: Ab-(PL-Ag)x; Ab-(Ag-PL)x; Ab-(PL-Ag-PL)x; Ab-(Ag-PL-Ag)x; Ab-(PL-Ag)x-PL; o Ab-(Ag-PL)x-Ag; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; PL es al menos un conector peptídico que comprende al menos un sitio de glicosilación; Ag es al menos un antígeno del cáncer; y x es un número entero de 1 a 20. En un aspecto, la proteína de fusión tiene más estabilidad en solución que la misma proteína de fusión sin el sitio de glicosilación. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de antígenos asociados a tumores seleccionados de CEA, antígeno específico de la próstata (PSA), HER-2/neu, BAGE GAGE, MAGE 1-4, 6 y 12, proteína relacionada con MUC (Mucina) (MUC-1, MUC-2, etc.), gangliósidos GM2 y GD2, ras, myc, tirosinasa, MART (antígeno de melanoma), MARCO-MART, ciclina B1, ciclina D, Pmel 17(gp100), secuencia del intrón V GnT-V (secuencia V del intrón V de N-acetilglucoaminiltransferasa), psm de Ca de próstata, antígeno de suero de próstata (PSA), PRAME (antígeno de melanoma), β -catenina, MUM-1-B (producto del gen mutado ubicuo del melanoma), GAGE (antígeno del melanoma) 1, BAGE (antígeno del melanoma) 2-10, c-ERB2 (Her2/neu), EBNA (antígeno nuclear del virus de Epstein-Barr) 1-6, gp75, virus de papiloma humano (VPH) E6 y E7, p53, proteína de resistencia pulmonar (LRP), Bcl-2, y Ki-67. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de antígenos asociados a tumores que comprenden antígenos de leucemias y linfomas, tumores neurológicos tales como astrocitomas o glioblastomas, melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, tumores gastrointestinales, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer pancreático, tumores genitourinarios tales como de cuello uterino, útero, cáncer de ovario, cáncer vaginal, cáncer testicular, cáncer de próstata o cáncer de pene, tumores óseos, tumores vasculares o cánceres de 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.

En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de: MWVPWFLTSLVTWIGAAPLILSRIVGGWECEKHSQPWQVLVASRGRAVCGGVLPVHPQWV (SEQ ID NO: 74); LTAHHCIRNKSVILLGRHSLFHPEDTGQVFQVSHSFPHPLYDMSLLKNRFLRPGDDSSHD (SEQ ID NO: 75); LMLRLSEPAELTDAVKVMDLPTQEPALGTTTCYASGWSIEPEEFLTPKKLQCVDLHVIS (SEQ ID NO: 76); NDVCAQVHPQKVTKFMLCAGRWTGGKSTCSGDSGGPLVCNGVLQGITSWGSEPCALPERP (SEQ ID NO: 77); o SLYTKWHYRKWKIDTIVANP (SEQ ID NO: 78), y fragmentos de las mismas. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de: IMDQVPFSV (SEQ ID NO: 113); ITDQVPFSV (SEQ ID NO: 114); YLEPGPVTV (SEQ ID NO: 115); YLEPGPVTA (SEQ ID NO: 116); KTWGQYWQV (SEQ ID NO: 117); DTTEPATPTPTVTTPTTTKVPNRQDWLGVSRLRTKAWNRQLYPEWTEAQRLCDWRGGQVS LKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPQSQKVLDPGQVWVNNIINGSQVWGGQPVYPQETDDACI FPDGGPCPSGWSQKRSFVYVWKTWQYVQLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTMEVTYVHR RGSQSYVPLAHSSAFITDQVPFSVSVSQQYRALDGGNKHFLRNQ (SEQ ID NO: 122); PLTFALQLHDPGSLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRAXVVTHTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTS CGSSPVPAS (SEQ ID NO: 124); GTTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEPSTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAES TGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAA (SEQ ID NO: 126); QVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATRLVLRQVPLDCVLYRYG SFSVTLDIVQ (SEQ ID NO: 128); y GIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGPLKEACMEISSPGCQPPAQRQCQVLPSPACQLVLH QILKGGSGTYCLNVSLADTNLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGQ (SEQ ID NO: 130), y fragmentos de las mismas.

En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de: MEMKILRALNFGRLPLHLRRLASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTMLDY (SEQ ID NO: 132); y DWLVQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPPK (SEQ ID NO: 133). En otro aspecto, el Ag se selecciona de al menos uno de: MEHQLLCCEVETIRRAYPDANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCV (SEQ ID NO: 141); QKEVLPSMRKIVATWMLEVCEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVA SKMKETIPLTAEKLCIYDINSIRPEELLQMELL (SEQ ID NO: 142); LVNKLWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENKQIRKHAQTFFVALCATDVKFISNPPSMV (SEQ ID NO: 143); y AAGSVAAVQGLNLRSPNNFLSYRLTRFLSRVIKCDPDCLRACQEIEALLESSLRQAQQNM DPKAAEEEEEEVDLACTPTDVRDVI (SEQ ID NO: 144), y fragmentos de los mismos. En otro aspecto, el Ag es de 19 a 32 aminoácidos de longitud. En otro aspecto, el Ag es de 17 a 60 aminoácidos de longitud y se selecciona de un epítipo de linfocito T citotóxico (CTL) identificado en PSA o ciclina 1. En otro aspecto, x comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19. En otro aspecto de la divulgación, el Ag comprende dos o más péptidos del cáncer de diferentes antígenos del cáncer separados por el PL. En otro aspecto, el Ag está separado por al menos un PL que comprende una alanina y una serina. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de las SEQ ID NO: 74-78, 79-86, 87-92, 93-95, 113-117, 122-130, 132-133 y 141-144. En otro aspecto, el Ab comprende las SEQ ID NO: 38 y 39. El Ab puede ser expresado por un vector de expresión de ácido nucleico que comprende las SEQ ID NO: 40 y 41. El PL se selecciona de: SSVSPTTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o TNGSITVAATAPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14). El PL comprende una alanina y una serina.

Otra realización más de la presente divulgación incluye un vector de administración de antígeno que expresa un anticuerpo anti-CD40 o fragmento del mismo y dos o más péptidos del cáncer en el extremo carboxi-terminal de la cadena ligera, la cadena pesada o tanto la cadena ligera como la cadena pesada del anticuerpo anti-CD40, en el

que cuando dos o más péptidos del cáncer están presentes, los péptidos del cáncer están separados por uno o más conectores peptídicos que comprenden al menos un sitio de glicosilación. El uno o más conectores peptídicos se seleccionan de: SSVSPPTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o TNGSITVAATAPTPTVTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14).

Otra realización más de la presente divulgación incluye una proteína de fusión anti-CD40 que comprende un anticuerpo anti-CD40 o fragmento del mismo y uno o más péptidos del cáncer en el extremo carboxi-terminal del anticuerpo anti-CD40, en la que, cuando están presentes dos o más péptidos del cáncer, los péptidos del cáncer están separados por uno o más péptidos conectores que comprenden al menos un sitio de glicosilación. El fragmento de anticuerpo se selecciona de un fragmento Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv. En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de las SEQ ID NO: 74-78, 79-86, 87-92, 93-95, 113-117, 122-130, 132-133 y 141-144.

Otra realización más de la presente divulgación incluye un método de estabilización de péptidos del cáncer que comprende: incorporar uno o más péptidos del cáncer que son inestables o insolubles en una proteína de fusión con un anticuerpo, en el que el anticuerpo y los péptidos del cáncer están separados por uno o más conectores peptídicos que comprenden uno o más sitios de glicosilación. En otro aspecto de la divulgación, la proteína de fusión comprende dos o más péptidos del cáncer, y los péptidos del cáncer están separados por uno o más conectores peptídicos. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más péptidos del cáncer, y los péptidos están separados por uno o más conectores peptídicos. En otro aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más péptidos del cáncer, y los péptidos están separados por uno o más conectores que comprenden una alanina y una serina. El péptido del cáncer se puede seleccionar de antígenos asociados a tumores seleccionados de CEA, antígeno específico de la próstata (PSA), HER-2/neu, BAGE GAGE, MAGE 1-4, 6 y 12, proteína relacionada con MUC (Mucina) (MUC-1, MUC-2, etc.), gangliósidos GM2 y GD2, ras, myc, tirosinasa, MART (antígeno de melanoma), MARCO-MART, ciclina B1, ciclina D, Pmel 17(gp100), secuencia del intrón V Gnt-V (secuencia V del intrón V de N-acetilglucoaminiltransferasa), psm de Ca de próstata, antígeno de suero de próstata (PSA), PRAME (antígeno de melanoma), β -catenina, MUM-1-B (producto del gen mutado ubicuo del melanoma), GAGE (antígeno del melanoma) 1, BAGE (antígeno del melanoma) 2-10, c-ERB2 (Her2/neu), EBNA (antígeno nuclear del virus de Epstein-Barr) 1-6, gp75, virus de papiloma humano (VPH) E6 y E7, p53, proteína de resistencia pulmonar (LRP), Bcl-2, y Ki-67. En otro aspecto, el Ag se selecciona de antígenos asociados a tumores que comprenden antígenos de leucemias y linfomas, tumores neurológicos tales como astrocitomas o glioblastomas, melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, tumores gastrointestinales, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer pancreático, tumores genitourinarios tales como de cuello uterino, útero, cáncer de ovario, cáncer vaginal, cáncer testicular, cáncer de próstata o cáncer de pene, tumores óseos, tumores vasculares o cánceres de 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.

En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de: MWVPWFLTSLVTWIGAAPLILSRIVGGWECEKHSQPWQVLVASRGRAVCGGVLVHPQWV (SEQ ID NO: 74); LTAHCIRNKSVILLGRHSLFHPEDTGQVFQVSHSFPHPLYDMSLLKNRFLRPDDSSHD (SEQ ID NO: 75); LMLRLSEPAELTDAVKVMDLPTQEPALGTTTCYASGWGSEIEPEEFLTPKKLQCVDLHVIS (SEQ ID NO: 76); NDVCAQVHPQKVTKFMLCAGRWTGGKSTCSGDSGGPLVCNGVLQGITSWGSEPCALPERP (SEQ ID NO: 77); o SLYTKWHYRKWKIDTIVANP (SEQ ID NO: 78).

En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de: IMDQVPFSV (SEQ ID NO: 113); ITDQVPFSV (SEQ ID NO: 114); YLEPGPVT (SEQ ID NO: 115); YLEPGPVTA (SEQ ID NO: 116); KTWGQYWQV (SEQ ID NO: 117); DTTEPATPTPTPTPTTTKVPNRQDWLGVSRLRTKAWNRQLYPEWTEAQRDCWRGGQVS LKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPQSQKVLDPDQVIVVNTIINGSQVWGGQPVPYQETDDACI FPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVWKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGTHTMEVTYVHR RGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQRLALDGGNKHFLRNQ (SEQ ID NO: 122); PLTFALQLHDPSPGYLAEDLSYTWDFGDSSGTLISRAVVTHTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTS CGSSPVPAS (SEQ ID NO: 124); GTTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEPSTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAES TGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAA (SEQ ID NO: 126); QVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYG SFSVTLDIVQ (SEQ ID NO: 128); y GIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGPKACMEISSPGCQPPAQRQCQVLPSPACQLVLH QILKGGSGTYCLNVLADTNLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGQ (SEQ ID NO: 130), y fragmentos de las mismas.

En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de: MEMKILRALNFGRLPLHFLRRASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTMLDY (SEQ ID NO: 132); y DWLVQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPPK (SEQ ID NO: 133).

En otro aspecto de la divulgación, el Ag se selecciona de al menos una de: MEHQLLCCEVETIRRAYPDANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCV (SEQ ID NO: 141); QKEVLPSMRKIVATWMLEVCEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVA

SKMKETIPLTAEKLCIYTDNSIRPEELLQMELL (SEQ ID NO: 142);
 LVNKLKWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENKQIIRKHAQTFVALCATDVKFISNPPSMV (SEQ ID NO: 143); y
 AAGSVVAQGLNLRSPNNFLSYRLTRFLSRVIKCDPDCLRACQEIEALLESSLRQAQQNM
 DPKAAEEEEEEVDLACTPTDVRDVI (SEQ ID NO: 144), y fragmentos de las mismas. En otro aspecto, el Ag
 es de 19 a 32 aminoácidos de longitud. En otro aspecto de la divulgación, el Ag es de 17 a 60 aminoácidos de
 longitud y se selecciona de un epítipo de linfocito T citotóxico (CTL) identificado en PSA o ciclina 1. En otro aspecto,
 x comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19. En otro aspecto, la proteína de fusión
 comprende péptidos del cáncer de diferentes antígenos separados por diferentes conectores peptídicos. En otro
 aspecto, la proteína de fusión comprende dos o más péptidos del cáncer, separados por uno o más conectores
 peptídicos que comprenden una alanina y una serina. En otro aspecto, el anticuerpo comprende las SEQ ID NO: 38
 y 39. La proteína de fusión puede ser expresada por un vector de expresión de ácido nucleico que comprende las
 SEQ ID NO: 40 y 41. El conector peptídico se selecciona de: SSVSPITSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11);
 PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o
 TNGSITVAATAPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14).

Otra realización más de la presente divulgación incluye un método de potenciación de las respuestas de los
 linfocitos T, que comprende: inmunizar a un sujeto que necesita vacunación con una cantidad eficaz de una vacuna
 que comprende una proteína de fusión que comprende un anticuerpo anti-CD40 o parte del mismo y uno o más
 péptidos de cáncer unidos al extremo carboxi-terminal del anticuerpo anti-CD40. Los péptidos del cáncer se pueden
 seleccionar de antígenos asociados a tumores seleccionados de CEA, antígeno específico de la próstata (PSA),
 HER-2/neu, BAGE GAGE, MAGE 1-4, 6 y 12, proteína relacionada con MUC (Mucina) (por ejemplo, MUC-1, MUC-2,
 etc.), gangliósidos GM2 y GD2, ras, myc, tirosinasa, MART (antígeno de melanoma), MARCO-MART, ciclina B1,
 ciclina D, Pmel 17(gp100), secuencia del intrón V GnT-V (secuencia V del intrón V de N-acetilglucoaminiltransferasa), psm de Ca de próstata, antígeno de suero de próstata (PSA), PRAME (antígeno de
 melanoma), β -catenina, MUM-1-B (producto del gen mutado ubicuo del melanoma), GAGE (antígeno del melanoma)
 1, BAGE (antígeno del melanoma) 2-10, c-ERB2 (Her2/neu), EBNA (antígeno nuclear del virus de Epstein-Barr) 1-6,
 gp75, virus de papiloma humano (VPH) E6 y E7, p53, proteína de resistencia pulmonar (LRP), Bcl-2, y Ki-67. Los
 péptidos del cáncer se pueden seleccionar de antígenos asociados a tumores que comprenden antígenos de
 leucemias y linfomas, tumores neurológicos tales como astrocitomas o glioblastomas, melanoma, cáncer de mama,
 cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, tumores gastrointestinales, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer
 de hígado, cáncer pancreático, tumores genitourinarios tales como de cuello uterino, útero, cáncer de ovario, cáncer
 vaginal, cáncer testicular, cáncer de próstata o cáncer de pene, tumores óseos, tumores vasculares o cánceres de
 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.

Otra realización más de la presente divulgación incluye un método de fabricación de una proteína de fusión de
 antígeno anti-CD40, que comprende: expresar una proteína de fusión que comprende un anticuerpo anti-CD40 o
 fragmento del mismo en una célula hospedadora, comprendiendo la proteína de fusión uno o más péptidos del
 cáncer en el extremo carboxi-terminal del anticuerpo anti-CD40 o fragmento del mismo, en el que, cuando dos o más
 péptidos del cáncer están separados por uno o más conectores, al menos un conector comprende un sitio de
 glicosilación; y aislar la proteína de fusión. La proteína de fusión expresada en el hospedador, además, se puede
 aislar y purificar. El hospedador puede ser una célula eucariota. Los péptidos del cáncer se pueden seleccionar de
 antígenos asociados a tumores seleccionados de CEA, antígeno específico de la próstata (PSA), HER-2/neu, BAGE
 GAGE, MAGE 1-4, 6 y 12, proteína relacionada con MUC (Mucina) (MUC-1, MUC-2, etc.), gangliósidos GM2 y GD2,
 ras, myc, tirosinasa, MART (antígeno de melanoma), MARCO-MART, ciclina B1, ciclina D, Pmel 17(gp100),
 secuencia del intrón V GnT-V (secuencia V del intrón V de N-acetilglucoaminiltransferasa), psm de Ca de próstata,
 antígeno de suero de próstata (PSA), PRAME (antígeno de melanoma), β -catenina, MUM-1-B (producto del gen
 mutado ubicuo del melanoma), GAGE (antígeno del melanoma) 1, BAGE (antígeno del melanoma) 2-10, c-ERB2
 (Her2/neu), EBNA (antígeno nuclear del virus de Epstein-Barr) 1-6, gp75, virus de papiloma humano (VPH) E6 y E7,
 p53, proteína de resistencia pulmonar (LRP), Bcl-2, y Ki-67. Los péptidos del cáncer se pueden seleccionar de
 antígenos asociados a tumores que comprenden antígenos de leucemias y linfomas, tumores neurológicos tales
 como astrocitomas o glioblastomas, melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello,
 tumores gastrointestinales, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer pancreático, tumores
 genitourinarios tales como de cuello uterino, útero, cáncer de ovario, cáncer vaginal, cáncer testicular, cáncer de
 próstata o cáncer de pene, tumores óseos, tumores vasculares o cánceres de 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. Los péptidos
 del cáncer se pueden seleccionar de al menos uno de:
 MWVPWFLTSLVTWIGAAPLILSRIVGGWECEKHSQPWQVLVASRGRAVCGGLVHPQWV (SEQ ID NO: 74);
 LTAAHCI RNKSVILLGRHSLFHPEDTGQVFQVSHSFPHPLYDMSLLKNRFLRPGDDSSHD (SEQ ID NO: 75);
 LMLLRLEPAELTDAVKVMDLPTQEPALGTTTCYASGWGSEIEEFLTPKKLQCVDLHVIS (SEQ ID NO: 76);
 NDVCAQVHPQVKTKFMLCAGRWTGGKSTCSGDSGGPLVCNGVLQGITSWGSEPCALPERP (SEQ ID NO: 77); o
 SLYTKWHYRKWKIDTIVANP (SEQ ID NO: 78).

Los péptidos del cáncer se pueden seleccionar de al menos uno de: IMDQVPFSV (SEQ ID NO: 113); ITDQVPFSV (SEQ ID NO: 114); YLEPGPVT (SEQ ID NO: 115); YLEPGPVT (SEQ ID NO: 116); KTWGQYWQV (SEQ ID NO: 117); DTTEPATPTTPVTTPTTTKVPRNQDWLGVSRQLRTKAWNRQLYPEWTEAQRDCWRGGQVS LKVSNDGPTLIGANASFSIALNFGSQKVLDPDQVWVNNIINGSQVWGGQPVYPQETDDACI
 5 FPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVWKTWGWQVVLGGPVSGLSIGTGRAMLGTHTEVTVYHR
 RGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLRALDGGNKHFLRNQ (SEQ ID NO: 122);
 PLTFALQLHDPSTGYLAEDLSYTWDFGDSSGTLISRAVVTHTYLEPGPVTAAQVVLQAAIPLTS CGSSPVPAS (SEQ ID NO: 124); GTTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTTGPQAPTAEPSTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAES
 10 TGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTAA (SEQ ID NO: 126);
 QVTTTEWVETTARELPIPEPEPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYG SFSVTLDIVQ (SEQ ID NO: 128); y GIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQRCLQVLPSPACQLVLH QILKGGSGTYCLNVSLADTNLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGQ (SEQ ID NO: 130), y fragmentos de las mismas.

Los péptidos del cáncer se pueden seleccionar de al menos uno de:
 15 MEMKILRALNFGRLPLHLRASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTMDY (SEQ ID NO: 132); y
 DWLVQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPPK (SEQ ID NO: 133).

Los péptidos del cáncer se pueden seleccionar de al menos uno de:
 20 MEHQLLCCEVETIRRAYPDANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCV (SEQ ID NO: 141);
 QKEVLPSMRKIVATWMLVECEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVA
 SKMKETIPLTAEKLCIYTDNSIRPEELLQMELL (SEQ ID NO: 142);
 LVNKLKWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENKQIRKHAQTFFALCATDVKFISNPPSMV (SEQ ID NO: 143); y
 AAGSVAAVQGLNLRSPNNFLSYRLTRFLSRVIKCDPDCLRACQEIEALLESSLRQAQNM
 25 DPKAAEEEEEEEEVDLACTPTDVRDVI (SEQ ID NO: 144), y fragmentos de las mismas.

Otra realización más de la presente divulgación incluye un método de expansión de linfocitos T específicos del antígeno in vitro, que comprende: aislar células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un paciente con
 30 cáncer; incubar las PBMC aisladas con una cantidad inmunogénica de una vacuna de α CD40-(PL-Ag)x o α CD40-(Ag-PL)x, en la que Ag es un antígeno asociado al tumor y x es un número entero de 1 a 20; expandir las PBMC en presencia de una cantidad eficaz de IL-2; recoger las células; y evaluar la producción de citocinas por parte de las células para determinar la presencia de linfocitos T específicos contra el cáncer.

Otra realización más de la presente divulgación incluye linfocitos T específicos del antígeno asociados a tumores fabricados mediante el método que comprende: aislar células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un
 35 paciente con cáncer; incubar las PBMC aisladas con una cantidad inmunogénica de una vacuna de α CD40-(PL-Ag)x o (CD40-(Ag-PL), en la que Ag es un antígeno asociado al tumor y x es un número entero de 1 a 20; expandir las PBMC en presencia de una cantidad eficaz de IL-2; recoger las células; y evaluar la producción de citocinas por parte de las células para determinar la presencia de linfocitos T específicos del antígeno asociados al tumor.

Otra realización más de la presente divulgación incluye una vacuna terapéutica que comprende una proteína de fusión que comprende la fórmula: Ab-(PL-Ag)x; Ab-(Ag-PL)x; Ab-(PL-Ag-PL)x; Ab-(Ag-PL-Ag)x; Ab-(PL-Ag)x-PL; o
 40 Ab-(Ag-PL)x- Ag; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; PL es al menos un conector peptídico que comprende al menos un sitio de glicosilación; Ag es al menos un antígeno del cáncer; y x es un número entero de 1 a 20.

45 Descripción de las figuras

Para una comprensión más completa de las características y las 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:

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

55 La Figura 2 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversos péptidos del VIH (Carriles 1 y 2) secretados a partir de células 293F transfectadas, analizados luego mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con azul brillante de Coomassie.

60 La Figura 3 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversas cadenas de péptidos del VIH (Carriles 1 a 5) secretados a partir de células 293F transfectadas, analizados luego mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con azul brillante de Coomassie.

La Figura 4 muestra anticuerpos recombinantes purificados de afinidad hacia la proteína A fusionados con diversas cadenas de péptidos del VIH (Carriles 1 a 6) secretados a partir de células 293F transfectadas, analizados luego mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con azul brillante de Coomassie.

La Figura 5 describe el protocolo usado *in vitro* para ensayar la potencia del anticuerpo recombinante de fusión del péptido del VIH α CD40.LIPO5 (rAb de α CD40.LIPO5) para generar la expansión de los linfocitos T específicos del antígeno en el contexto de un cultivo de PBMC.

La Figura 6 muestra la producción de IFN γ específico de péptidos del VIH en PBMC de pacientes con VIH incubadas 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 basal del cultivo a cada péptido.

La Figura 7 es un resumen de las respuestas de la vacuna de péptidos α CD40.LIPO5 frente a las 5 regiones de péptidos de 8 pacientes con VIH.

La Figura 8 muestra que la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 genera la expansión de los linfocitos T específicos de péptidos del VIH capaces de secretar múltiples citocinas - una característica deseable en una vacuna. La Figura 8 también muestra que la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 genera respuestas específicas de los péptidos gag253, nef66, nef116 y pol325 caracterizadas por la producción de múltiples citocinas (paciente A5).

La Figura 9 muestra el protocolo de ensayo de la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 para determinar su capacidad para dirigir la expansión de los linfocitos T específicos de antígenos procedentes de una captación dirigida por las DC y la presentación de epítopos peptídicos en su complejo MHC de superficie.

La Figura 10 muestra la secreción de citocinas como respuesta a péptidos del VIH a partir de cultivos conjuntos de células DC y linfocitos T tratados con diversas dosis de vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 (paciente A10).

La Figura 11 muestra que las PBMC del paciente A4 tratado con la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 genera la expansión de linfocitos T específicos del antígeno con especificidad hacia la región gag253, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles.

La Figura 12A es la secuencia de cadena pesada de la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 que muestra las regiones conectoras flexibles en negrita, las secuencias de unión subrayadas y las regiones de péptidos del VIH sombreadas en gris. La Figura 12A muestra que las PBMC del paciente A3 tratado con la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 generan la expansión de los linfocitos T específicos del antígeno con especificidades hacia las regiones gag253, nef66 y nef116, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles. La Figura 12B muestra las respuestas de linfocitos T específicas del 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 Figura 12C es un estudio similar al que se muestra en la Figura 12B, a excepción de que las PBMC son de un paciente con VIH diferente (A2). La Figura 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 de anti-DCIR.HIV5pep, anti-LOX-1.HIV5pep y no LIPO5 para generar una amplia selección de respuestas de linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ específicos de péptidos del VIH.

La Figura 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 Figura 14 muestra la proliferación de linfocitos T CD4 y CD8 por las DC dirigidas con anti-CD40-HA1. Se cultivaron 5 x 10³ IFNDC cargadas junto con 2 ug/ml de anti-CD40-HA o Ig-HA1 de control con linfocitos T CD4⁺ o CD8⁺ autólogos marcados con CFSE (2 x 10⁵) durante 7 días. A continuación, se sometieron las células a tinción con anticuerpos anti-CD4 o anti-CD8. Se ensayó la proliferación celular midiendo la dilución de CFSE.

La Figura 15 muestra una valoración de proteína de fusión de HA1 en la proliferación de linfocitos T CD4⁺. Se cultivaron las IFNDC (5 K) cargadas con proteínas de fusión junto con linfocitos T CD4⁺ marcados con CFSE (200 K) durante 7 días.

La Figura 16 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4⁺ específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Se volvieron a estimular los linfocitos T CD4⁺ con las DC cargadas con 5 uM de los péptidos indicados y, a continuación, se sometió a tinción el IFN γ intracelular.

La Figura 17 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4⁺ específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Se volvieron a estimular los linfocitos T CD4⁺ con las DC cargadas con los péptidos indicados durante 36 h, y, a continuación, se analizó el sobrenadante del cultivo para determinar la medición de FN γ .

La Figura 18 muestra que la dirección de CD40 da lugar a la potenciación de la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8⁺ específicos de MART-1. Se cultivaron IFNDC (5 K/pocillo) cargadas con proteínas de fusión

junto con linfocitos T CD8 + purificados durante 10 días. Se sometieron las células a tinción con anti-CD8 y tetrámero. Las células proceden de donantes sanos (HLA-A*0201+).

La Figura 19 muestra que la dirección de CD40 da lugar a la potenciación de la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8⁺ específicos de MART-1 (Resumen de 8 experimentos repetidos usando células de diferentes donantes sanos).

La Figura 20 muestra que los CTL CD8⁺ inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-MART-1 son funcionales. Se mezclaron los linfocitos T CD8⁺ cultivados junto con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión con linfocitos T2 cargados con epítipo de péptido 10 uM.

La Figura 21 muestra que los CTL CD8⁺ inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-Flu M1 son funcionales. Los linfocitos T CD8⁺ cultivados junto con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión se mezclaron con linfocitos T2 cargados con epítipo de péptido 1,0 nM.

La Figura 22 muestra un esbozo del protocolo para ensayar la capacidad de una vacuna compuesta de anti-CD4012E12 unido a PSA (antígeno específico de la próstata) para generar la expansión de una población de linfocitos T sin tratamiento previo. Los linfocitos T CD4⁺ específicos de PSA corresponden a una amplia selección de epítipos de PSA. En resumen, se incuban las DC obtenidas mediante cultivo con IFN α y GM-CSF de monocitos de un donante sano con la vacuna. Al día siguiente, se disponen las células en medio recién preparado y se añaden linfocitos T CD4⁺ puros del mismo donante. Varios días más tarde, se añaden péptidos de PSA y, tras cuatro horas, se determinan los niveles de gamma-IFN secretado en los sobrenadantes del cultivo.

La Figura 23 muestra que muchos péptidos de PSA generan 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 lugar a la sensibilización de respuestas inmunes frente a múltiples epítipos del antígeno.

La Figura 24 muestra que las DC dirigidas con anti-CD40-PSA inducen respuestas de linfocitos T CD8⁺ específicas de PSA. Se dirigieron las IFNDC con 1 ug de proteína de fusión de mAb con PSA. Se cultivaron los linfocitos T CD8⁺ autólogos purificados conjuntamente durante 10 días. Se sometieron las células a tinción 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, lo que, a su vez, genera la expansión de linfocitos T CD8⁺ específicos de PSA.

La Figura 25 es un esquema (izquierda) y la producción de IFN γ por linfocitos T de las combinaciones de péptidos y control para el Donante 2. Se cultivaron 5 x 10³ de las IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 con linfocitos T CD4⁺ autólogos purificados (2 x 10⁵) durante 8 días. A continuación, se volvieron a estimular las células con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Se sometieron las células a tinción para la medición de la expresión de IFN γ intracelular.

La Figura 26 muestra un barrido de péptidos y producción de IFN γ por linfocitos T obtenidos a partir de las combinaciones de péptidos mostrados en la Figura 25 y control para el Donante 2. Se cultivaron 5 x 10³ de las IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 junto con linfocitos T CD4⁺ autólogos purificados (2 x 10⁵) durante 8 días. A continuación, se volvieron a estimular las células con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Se sometieron las células a tinción para la medición de la expresión de IFN γ intracelular.

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

La Figura 28 es un resumen de los epítipos inmunodominantes de CD4⁺ y CD8⁺ para MART-1.

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

La Figura 30 muestra el diseño para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicionales.

La Figura 31 muestra la expresión y el diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicionales.

La Figura 32 es un resumen de los epítipos inmunodominantes de CD4⁺ y CD8⁺ para gp100.

La Figura 33 muestra la expresión y el diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicionales.

La Figura 34A muestra la Ciclina B1 de longitud completa fusionada el extremo C-terminal de bien la cadena H de anticuerpo o la cola de cohesión para su secreción por células 293F de mamífero. La Figura 34B muestra la

Ciclina B1 de longitud completa fusionada al extremo C-terminal de bien la cadena H de anticuerpo o la cola de cohesión para su secreción por parte de células 293F de mamífero.

La Figura 35 muestra la estrategia de segmentación de la Ciclina B1 basada en las regiones de dominio estructural conocidas o predichas.

La Figura 36 muestra que los segmentos de Ciclina D1 p1, p3 y p4, pero no p2, se expresan bien como fusiones directas a la cadena H C-terminal.

La Figura 37 muestra los niveles relativos de expresión de los diversos segmentos de Ciclina D1 como fusiones directas a la cadena H C-terminal en diversas combinaciones con secuencias conectoras flexibles.

La Figura 38 muestra un resumen de las diversas construcciones de cadena H-segmento de ciclina D1 y su expresividad relativa como vacunas.

La Figura 39 muestra que la ciclina D1 de longitud completa fusionada al extremo C-terminal de una cadena H del anticuerpo de dirección a DC se expresa muy mal como un anticuerpo recombinante secretado.

Descripción detallada de la invención

Aunque más adelante se describen con detalle la preparación y el uso de diversas realizaciones de la presente invención, se debería observar que la presente invención proporciona muchos conceptos inventivos aplicables que se pueden realizar en una amplia variedad de contextos específicos. Las realizaciones específicas tratadas en el presente documento son meramente 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 los significados comúnmente entendidos por el experto habitual en los campos relevantes de la presente invención. Algunos términos tales como "un", "una", "el" y "la" no pretenden hacer referencia solamente a una entidad en singular, sino que incluyen la clase general de la que se puede usar un ejemplo específico con fines ilustrativos. En el presente documento, la terminología se usa para describir realizaciones específicas de la invención, pero su uso no delimita la invención, a menos que se profile en las reivindicaciones.

La divulgación también incluye variantes y otra modificación de un anticuerpo (o "Ab") o fragmentos del mismo, por ejemplo, proteína de fusión anti-CD40 (anticuerpo se usa indistintamente 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, fragmentos Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc y Fv monocatenarios (ScFv), o cualquier fragmento biológicamente eficaz de una inmunoglobulina que se una de forma específica a, por ejemplo, CD40. Los anticuerpos de origen humano o los anticuerpos humanizados presentan una reducción o ninguna inmunogenicidad en seres humanos, y tienen un número inferior o ningún epítipo inmunogénico en comparación con los anticuerpos no humanos. En general, los anticuerpos y sus fragmentos se seleccionan para que tengan un nivel reducido o ninguna antigenicidad en seres humanos.

Como se usan en el presente documento, los términos "Ag" o "antígeno" se refieren a una sustancia capaz unirse a una región de unión al antígeno de una molécula de inmunoglobulina o de generar una respuesta inmune, por ejemplo, una respuesta inmune mediada por linfocitos T mediante la presentación del antígeno en proteínas celulares del antígeno de histocompatibilidad principal (MHC). Como se usa en el presente documento, "antígeno" incluye, pero sin limitación, determinantes antigénicos, haptenos e inmunógenos que pueden ser péptidos, moléculas pequeñas, hidratos de carbono, lípidos, ácidos nucleicos o combinaciones de los mismos. El inmunólogo experto reconocerá que, cuando se trata de 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 el 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 de un "antígeno", la parte del antígeno que se une a las regiones determinantes de la complementariedad de los dominios variables del anticuerpo (ligera y pesada), 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 de un antígeno de proteína (CD40), pero también porta uno o más epítopos de péptidos para la presentación por el MHC a linfocitos T. En ciertos casos, los antígenos administrados por la vacuna o proteína de fusión de la presente invención se internalizan y son procesados por las células presentadoras de antígeno antes de la presentación, por ejemplo, mediante la escisión de una o más partes del anticuerpo o de la 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 reconocida de forma específica bien por los linfocitos B o los linfocitos T. Los linfocitos B responden a determinantes antigénicos foráneos a través de la producción de anticuerpos, mientras que los linfocitos T están mediados por la 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 de histocompatibilidad principal (MHC) (por ejemplo, Clase I o Clase II) a un receptor de linfocitos T. En general, los determinantes epitópicos son péptidos cortos de 5 a 30 aminoácidos de longitud que se ajustan en el surco de la molécula del MHC que presenta ciertos grupos laterales de aminoácidos hacia el receptor de linfocitos T y tiene otros ciertos restos en el surco, por ejemplo, debido a características de carga específicas del surco, los grupos laterales del péptido y el receptor de linfocitos T. En 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 suministrar la parte antigénica de la vacuna. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmentos del mismo pueden unirse a o pueden formar una proteína de fusión con el antígeno que genera la respuesta inmune. Para las vacunas celulares, el vector para el suministro y/o la presentación del antígeno es la célula presentadora de antígeno, que es suministrada por la célula que se carga con el antígeno. En ciertos casos, el propio vector celular también puede procesar y presentar el/los antígeno/s a los linfocitos T y activar una respuesta inmune específica del antígeno. Cuando se usa en el contexto de los ácidos nucleicos, un "vector" se refiere a una construcción, que es capaz de suministrar y, preferentemente, de expresar uno o más genes o secuencias de polinucleótidos de interés en una célula hospedadora. Los ejemplos de vectores incluyen, pero sin limitación, vectores víricos, 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.

Las composiciones y métodos de la presente invención se pueden usar con una amplia variedad de péptidos y/o proteínas en la que el anticuerpo o fragmento del mismo y el conector peptídico o "PL" crean una proteína que es estable y/o soluble.

Como se usan en la presente memoria, las composiciones y los métodos usan un vector de administración de antígeno que comprende la fórmula: Ab-(PL-Ag) x o Ab-(Ag-PL) x ; en la que Ab es un anticuerpo o fragmento del mismo; PL es al menos un conector peptídico que comprende al menos un sitio de glicosilación; Ag es al menos un antígeno vírico; y x es un número entero de 1 a 20. Un ejemplo de un anticuerpo para su uso con la presente invención comprende al menos la región variable de anti-CD40_{12E12.3F3} (n.º de acceso ATCC PTA-9854), anti-CD40_{12B4.2C10} (n.º de depósito HS446, n.º de acceso ATCC ---) y anti-CD40_{11B6.1C3} (n.º de depósito HS440, n.º de acceso ATCC ---).

Como se usan en el presente documento, los términos "estable" e "inestable" cuando se refieren a proteínas se usan para describir un péptido o una proteína que mantiene su estructura tridimensional y/o actividad (estable) o que pierde inmediatamente o con el tiempo su actividad estructura tridimensional y/o actividad (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 procariota 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 insolubles y/o inestables en proteínas que son estables y/o solubles. Otro ejemplo de estabilidad frente a la inestabilidad es cuando el dominio de la proteína con una conformación estable tiene una temperatura de fusión (T_f) superior a la del dominio inestable de la proteína cuando se mide en la misma solución. Un dominio es estable en comparación con otro dominio cuando la diferencia en la T_f es al menos de aproximadamente 2 °C, más preferentemente aproximadamente 4 °C, todavía más preferentemente aproximadamente 7 °C, incluso más preferentemente aproximadamente 10 °C, incluso más preferentemente aproximadamente 15 °C, aún más preferentemente aproximadamente 20 °C, incluso a un más preferentemente 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 cadena de desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos bien en una forma monocatenaria o bicatenaria (incluyendo análogos conocidos de nucleótidos naturales). Una secuencia de ácidos nucleicos bicatenaria 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. Se pueden diseñar múltiples sitios de clonación (MCS) en los lugares del extremo carboxi-terminal de las cadenas pesadas y/o ligeras de los anticuerpos para permitir una inserción en fase del péptido para la 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 mayor. El experto en la materia reconocerá que, para el diseño y la

implantación de un vector que tenga la fórmula Ab-(PL-Ag)x o Ab-(Ag-PL)x, se puede manipular al nivel del ácido nucleico mediante el uso de técnicas conocidas en la materia, 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 que codifican el Ab, Ag y PL se pueden insertar usando la 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 (PL-Ag)x o (Ag-PL)x en el extremo carboxi-terminal de la cadena ligera del anticuerpo, la cadena pesada, o ambas, se puede diseñar un sitio de clonación múltiple (MCS) 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, los péptidos, los oligopéptidos y las proteínas se incluyen dentro de la definición de polipéptido. Este término tampoco hace referencia ni excluye modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilaciones, acetilaciones, fosforilaciones y similares. Dentro de la definición se incluyen, 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 la expresión "dominio del polipéptido" se refieren a la secuencia de un polipéptido que se pliega en una única región globular en su conformación nativa, y que puede presentar propiedades de unión o funcionales diferenciadas.

Una secuencia de polipéptido o de aminoácidos "obtenida 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 codificado en la secuencia, o una parte del mismo en el que la parte consiste en al menos de 3 a 5 aminoácidos, preferentemente al menos de 4 a 7 aminoácidos, más preferentemente al menos de 8 a 10 aminoácidos e incluso más preferentemente al menos de 11 a 15 aminoácidos, o que se puede identificar de forma inmune 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 conserve la actividad biológica y, por lo general, no es reactivo con el sistema inmune del sujeto. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, vehículos farmacéuticos convencionales tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones tales como una emulsión de aceite/agua, y diversos tipos de agentes humectantes. Se pueden usar ciertos diluyentes, por ejemplo, para la administración en aerosol o parenteral, que pueden ser solución salina tamponada con fosfato o solución salina normal (0,85 %).

La divulgación proporciona una molécula de unión a CD40 que comprende al menos un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1_L, CDR2_L y CDR3_L, teniendo la región CDR1_L la secuencia de aminoácidos SASQGISNYLN (SEQ ID NO: 41), teniendo la región CDR2_L la secuencia de aminoácidos YTSILHS (SEQ ID NO: 42) y teniendo la región CDR3_L la secuencia de aminoácidos QQFNKLPT (SEQ ID NO: 43), cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en SEQ ID NO: 37; y su equivalente directo.

Por consiguiente, la divulgación proporciona una molécula de unión a CD40 que comprende un sitio de unión al antígeno que comprende al menos un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1_H, CDR2_H y CDR3_H, teniendo la región CDR1_H la secuencia de aminoácidos GFTFSDYYMY (SEQ ID NO: 44), teniendo la región CDR2_H la secuencia de aminoácidos YINSGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 45) y teniendo la región CDR3_H la secuencia de aminoácidos RGLPFHAMDY (SEQ ID NO: 46), cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en SEQ ID NO: 38; y sus equivalentes directos.

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 (V_L) como se ha definido anteriormente. En otro aspecto, la divulgación 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 (V_H) 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 (V_H) como de cadena ligera (V_L), en los que la molécula de unión a CD40 comprende al menos un sitio de unión al antígeno que comprende: a) un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_L) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1_L, CDR2_L y CDR3_L, teniendo la región CDR1_L la secuencia de aminoácidos SASQGISNYLN (SEQ ID NO: 41), teniendo la región CDR2_L la secuencia de aminoácidos YTSILHS (SEQ ID NO: 42), y teniendo la región CDR3_L la secuencia de aminoácidos QQFNKLPT (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 (V_H) que comprende, en regiones hipervariables de secuencias CDR1_H, CDR2_H y CDR3_H, teniendo la región CDR1_H la secuencia de aminoácidos GFTFSDYYMY (SEQ ID NO: 44), teniendo la región CDR2_H la secuencia de aminoácidos YINSGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 45) y teniendo la región CDR3_H la secuencia de aminoácidos RGLPFHAMDY (SEQ ID NO: 46), cuyas secuencias de

aminoácidos se muestran en la SEQ ID NO: 38; y sus equivalentes directos.

A menos que se indique de otro modo, en el presente documento, cualquier cadena polipeptídica se describe como aquella que tiene una secuencia de aminoácidos que comienza en el extremo N-terminal y que termina en el extremo C-terminal. Cuando el sitio de unión al antígeno comprende los dominios tanto V_H como V_L, estos se pueden situar en la misma molécula de polipéptido o, preferentemente, cada dominio puede estar en una cadena diferente, formando el dominio V_H parte de una cadena pesada de inmunoglobulina o fragmento de la misma y formando el dominio V_L parte de una cadena ligera de inmunoglobulina o fragmento de la misma.

Los ejemplos no limitantes de antígenos dirigidos por los anticuerpos incluyen, pero sin limitación: marcador de superficie celular seleccionado de MHC de clase I, MHC de clase II, CD1, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD 19, CD20, CD29, CD31, CD40, CD43, CD44, CD45, CD54, CD56, CD57, CD58, CD83, CD86, CMRF-44, CMRF-56, DCIR, DC-ASPGR, CLEC-6, CD40, BDCA-2, MARCO, DEC-205, receptor de manosa, Langerina, DECTIN-1, B7-1, B7-2, receptor de IFN-γ y receptor de IL-2, ICAM-1, receptor de Fc gamma, receptores de linfocitos T, lectinas u otros receptores de células inmunes. Los antígenos que están dirigidos por la parte de anticuerpo de la presente invención son expresados específicamente por células presentadoras de antígeno, por ejemplo, células dendríticas, células de Langerhans, macrófagos y linfocitos B.

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 bien sola o asociada con otras moléculas que tengan una o más de las CDR de V_L y V_H 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 inmune), 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 divulgación también se puede realizar en un anticuerpo monocatenario que tenga los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras de un anticuerpo unidos de forma covalente por 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 entera.

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 de un anticuerpo humano diferente.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo injertado con CDR" se refiere a un anticuerpo en el que las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) hipervariables 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 esencialmente todas las otras partes de la inmunoglobulina (por ejemplo, las regiones conservadas de los dominios variables, es decir, regiones marco conservadas), se obtienen de un anticuerpo aceptor (en el caso de un anticuerpo humanizado - un anticuerpo de origen humano). Un anticuerpo injertado con CDR puede incluir unos cuantos 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 todas las regiones constantes y variables de las cadenas tanto pesadas como ligeras son de origen humano, o esencialmente idénticas a secuencias de origen humano, no necesariamente del mismo anticuerpo, e incluye anticuerpos producidos por ratones en los que los genes de la 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 el documento EP 0546073 B1, la patente de EE.UU. n.º 5.545.806, la patente de EE.UU. n.º 5.569.825, la patente de EE.UU. n.º 5.625.126, la patente de EE.UU. n.º 5.633.425, la patente de EE.UU. n.º 5.661.016, la patente de EE.UU. n.º 5.770.429, el documento EP 0 438474 B1 y el documento EP 0 463151 B1.

La molécula de unión a CD40 de la invención puede ser un anticuerpo humanizado que comprende las CDR obtenidas de los anticuerpos anti-CD40_{12E12.3F3}, anti-CD40_{11B6.1C3} o 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_{12E12.3F3} que son parte de la SEQ ID NO: 148 y la SEQ ID NO: 149, anti-CD40_{12B4.2C10} de SEQ ID NO: 150 y SEQ ID NO: 151 o SEQ ID NO: 152, y/o anti-CD40_{11B6.1C3}, SEQ ID NO: 153 y SEQ ID NO: 154, o combinaciones de los mismos. Los dominios de región constante también comprenden preferentemente dominios de región constante humana adecuados, por ejemplo como los descritos 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.

Las regiones hipervariables se pueden asociar con cualquier tipo de regiones marco conservadas, por ejemplo, de origen humano. Las 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_12E12.3F3 que forma parte de SEQ ID NO: 149; anti-CD40_12B4.2C10 - SEQ ID NO: 151 o SEQ ID NO: 152, y/o anti-CD40_11B6.1C3 - SEQ ID NO: 154, o combinaciones de los mismos, por ejemplo, regiones FR1L, FR2L, FR3L y FR4L. De una manera similar, SEQ ID NO. 148 muestra el armazón de cadena pesada de anti-CD40_12E12.3F3 (o los equivalentes para anti-CD40_12B4.2C10 y anti-CD40_11B6.1C3, SEQ ID NOS: 150 y 153, respectivamente) que incluye la secuencia de las regiones FR1H, FR2H, FR3H y FR4H. 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 enseña 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_L y V_H, así como los anticuerpos completos y las versiones humanizadas de los mismos. Las secuencias de ácidos nucleicos incluyen las SEQ ID NO: 155 y 156, que son las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo anti-CD40, respectivamente, así como las secuencias de ácidos nucleicos que incluyen el 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 de ácido nucleico o aminoácido. Asimismo, las CDR pueden tener una identidad de secuencias de un 85, 90, 95 o un 100 % al nivel de ácido nucleico o aminoácido, individualmente, en grupos, o 2, 3, 4 o 5 o todas en conjunto.

Los anticuerpos monoclonales generados frente a una proteína encontrada de forma natural en todos los seres humanos, normalmente, se desarrollan en un sistema no humano, por ejemplo, en ratones, y como tales normalmente son proteínas no humanas. Como una consecuencia directa de esto, un anticuerpo xenogénico como el producido por un hibridoma, cuando se administra a seres humanos, genera una respuesta inmune no deseada que está mediada predominantemente por la parte constante de la inmunoglobulina xenogénica. Los anticuerpos xenogénicos tienden a generar una respuesta inmune en el hospedador, limitando de ese modo el uso de dichos anticuerpos, ya que no se pueden administrar durante un período de tiempo prolongado. Por lo tanto, es particularmente útil usar anticuerpos monocatenarios, de un solo dominio, quiméricos, injertados con CDR o, en especial, humanos, que probablemente no generen una respuesta alógena sustancial cuando se administran a seres humanos. La presente divulgación incluye anticuerpos con cambios menores en una secuencia de aminoácidos tales como eliminación, adición o sustitución de uno, unos cuantos o incluso varios aminoácidos que son simplemente formas alélicas de la proteína original que tiene esencialmente propiedades idénticas.

La inhibición de la unión de CD40 a su receptor se puede analizar de forma conveniente en diversos ensayos incluyendo ensayos tales como los que se describen más adelante en el texto del presente documento. La expresión "hasta el mismo grado" pretende significar que la referencia y las moléculas equivalentes presentan, en una base estadística, curvas de inhibición de la 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.

En general, el anticuerpo anti-CD40 humano comprende al menos: (a) una cadena ligera que comprende un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos esencialmente idéntica a la mostrada en SEQ ID NO: 1 comenzando con el aminoácido de 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 esencialmente idéntica a la mostrada en 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 γ 1, γ 2, γ 3, γ 4, μ , β 2 o δ o ϵ , preferentemente del tipo γ , mientras que la parte constante de una cadena ligera humana puede ser de tipo κ o λ (que incluye los subtipos λ 1, λ 2 y λ 3), pero es preferentemente del tipo κ . En la técnica, se conocen bien las secuencias de aminoácidos de las posiciones generales de los dominios variables y constantes y, en general, siguen la nomenclatura de Kabat.

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

De una manera muy general, la divulgación proporciona: (i) moléculas de ADN que codifican una molécula de unión a CD40 de un solo dominio, una molécula de unión a CD40 monocatenaria, una cadena pesada o ligera o fragmentos de las mismas de una molécula de unión a CD4; e (ii) el uso de las moléculas de ADN para la producción de una molécula de unión a CD40 mediante métodos recombinantes.

El presente estado de la técnica es tal que el experto en la materia puede sintetizar las moléculas de ADN 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 codifican. Un método de 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. Se determinan los segmentos de ADN que codifican las regiones marco conservadas y las regiones hipervariables, y se retiran los segmentos de ADN que codifican las regiones hipervariables de modo

que los segmentos de ADN que codifican las regiones marco conservadas se fusionan junto con los 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. Se preparan casetes de CDR sintéticos bicatenarios mediante síntesis de ADN de acuerdo con las secuencias dadas en SEQ ID NO: 1 y 3 o 2 y 4 (secuencias de aminoácidos y ácidos nucleicos, respectivamente). Estos casetes se suelen proporcionar con extremos pegajosos de modo que se pueden ligar en las uniones del armazón.

No es necesario tener acceso al ARNm a de una línea celular de hibridoma productora para obtener una construcción de ADN que codifique las moléculas de unión a CD40. Por ejemplo, la solicitud de PCT WO 90/07861 da instrucciones completas para la producción de un anticuerpo mediante técnicas de ADN recombinante que solo dan información relativa 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.

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

Por ejemplo, se preparan una primera y una segunda construcciones de ADN que se unen de forma específica a CD40. En resumen, una primera construcción de ADN codifica una cadena ligera o un 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 CDR_{1L}, CDR_{2L} y CDR_{3L} cuyas secuencias de aminoácidos se muestran en 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 variable; y b) una segunda parte que codifica una parte constante de cadena ligera o un 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 o fragmento de la misma, seguido de un codón de parada.

La primera parte codifica un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos esencialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO: 1. Una segunda parte codifica la parte constante de una cadena pesada humana, más preferentemente la parte constante de la cadena humana γ1. 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 un fragmento de la misma y comprende a) una primera parte que codifica un dominio variable que comprende de forma alternativa regiones marco conservadas e hipervariables; siendo las regiones hipervariables CDR_{1H} y, opcionalmente, CDR_{2H} y CDR_{3H}, 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 un 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 esencialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO. 2. La primera parte tiene la secuencia de nucleótidos que se muestra en SEQ ID NO. 2 comenzando con el nucleótido de la posición 1 y terminando con el nucleótido de 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 κ humana.

La divulgación también incluye moléculas que se unen a CD40 en las que uno o más restos de CDR_{1L}, CDR_{2L}, CDR_{3L}, CDR_{1H}, CDR_{2H} o CDR_{3H} o los armazones, normalmente solo unos cuantos (por ejemplo, FR1-4_L o _H), se cambian con respecto a los restos mostrados en las SEQ ID NO. 37 y SEQ ID NO. 38; mediante, por ejemplo, mutagénesis dirigida de las secuencias de ADN correspondientes. La divulgación incluye las secuencias de ADN que codifican dichas moléculas de unión a CD40 modificadas. En particular, la divulgación incluye moléculas de unión a CD40 en las que uno o más restos de CDR_{1L}, CDR_{2L} y/o CDR_{3L} se han modificado con respecto a los restos mostrados en SEQ ID NO. 37, y uno o más restos de CDR_{1H}, CDR_{2H} y/o CDR_{3H} se han modificado con respecto a los restos mostrados en SEQ ID NO. 38.

Cada una de las construcciones de ADN se coloca 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 al que se transferirán las construcciones de ADN para la expresión. Sin embargo, si la expresión se va a producir en una célula de mamífero, se puede usar un promotor de gen de inmunoglobulina

en linfocitos B. La primera y segunda partes se pueden separar por un intrón, y se puede colocar un potenciador de forma conveniente en el intrón entre la primera y la segunda parte. La presencia de un potenciador de este tipo que se transcribe, pero que no se traduce, puede ayudar en la transcripción eficaz. En determinadas realizaciones, la primera y la segunda construcción 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 adecuado se puede obtener de acuerdo con métodos convencionales que incluyen la microinyección en huevos de la primera y la segunda construcción de ADN colocadas en secuencias de control adecuadas que transfieren los huevos así preparados a hembras pseudopreñadas apropiadas y seleccionando una descendencia que exprese el anticuerpo deseado.

La divulgación también proporciona un vector de expresión capaz de replicarse en una línea de células procariotas 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 transfiere a continuación a un organismo hospedador adecuado. Cuando las construcciones de ADN se insertan por separado en dos vectores de expresión, se pueden transferir por separado, es decir, un tipo de vector por célula, o se pueden transferir conjuntamente, siendo esta última posibilidad la preferida. Un organismo hospedador adecuado puede ser una línea celular de bacteria, de levadura o de mamífero, prefiriéndose la última. Más preferentemente, la línea de células de mamífero es de origen linfocítico, 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.

Cuando las cadenas de anticuerpo se producen en un cultivo celular, las construcciones de ADN primero se deben insertar bien en un vector de expresión individual o en dos vectores de expresión separados pero compatibles, prefiriéndose esta última posibilidad. Para la expresión en células de mamífero, se prefiere 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.

En un aspecto adicional 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.

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 el epítipo antigénico de CD40 humano. Por lo tanto, lo más sorprendente es que los anticuerpos para este epítipo, por ejemplo, el anticuerpo anti-CD40_12E12.3F3, son capaces de suministrar antígeno de forma eficaz a células dendríticas (DC). Los anticuerpos, en particular, los anticuerpos quiméricos e injertados con CDR y, en especial, los anticuerpos humanos, que tienen especificidad de unión hacia el epítipo antigénico de CD40 humano maduro; y el uso de dichos anticuerpos para carga de antígeno de DC son nuevos.

Para usar el anticuerpo anti-CD40 para indicaciones de tratamiento, la dosis apropiada variará, por supuesto, dependiendo, por ejemplo, del anticuerpo desvelado en el presente documento que se vaya a emplear, del hospedador, del modo de administración y de la naturaleza y la gravedad de la afección que se esté tratando. Sin embargo, en uso profiláctico, en general, se han encontrado resultados satisfactorios a dosis de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal, más habitualmente 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 a aproximadamente una vez cada 3 meses, más habitualmente en el intervalo de aproximadamente una vez cada 2 semanas a aproximadamente una vez cada 10 semanas, por ejemplo, una vez cada 4 a 8 semanas. El anticuerpo anti-CD40 se puede administrar por vía parenteral, intravenosa, por ejemplo, en la vena antecubital u otra vena periférica, por vía intramuscular o subcutánea.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar de una manera convencional, por ejemplo, en una forma liofilizada. Para la 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 mayor volumen para la administración por infusión en lugar de una inyección en bolo, es ventajoso incorporar albúmina de suero humano o la propia sangre heparinizada del paciente a la solución salina en el momento de la formulación. La presencia de un exceso de dicha proteína fisiológicamente inerte previene la pérdida de anticuerpos por adsorción en las paredes del recipiente y los tubos usados con la solución de infusión. Si se usa albúmina, una concentración adecuada es del 0,5 al 4,5 % en peso de la solución salina.

Una realización de la presente divulgación proporciona un inmunoconjugado que comprende un anticuerpo humanizado, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD40 humanizado, unido a una o más moléculas efectoras, antígeno/s y/o uno o varios marcadores detectable/s. Preferentemente, la molécula efectora es una molécula terapéutica tal como, por ejemplo, uno o más péptidos que comprenden uno o más epítopos de linfocitos T, una toxina, una molécula pequeña, una citocina o una quimiocina, una enzima o un radiomarcador.

Las toxinas ilustrativas incluyen, pero sin limitación, exotoxina de *Pseudomonas* o toxina de difteria. Los ejemplos de moléculas pequeñas incluyen, pero sin limitación, compuestos quimioterapéuticos tales como taxol, doxorubicina, etopósido y bleomicina. Las citocinas ilustrativas incluyen, pero sin limitación, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-12, IL-17 e IL-25. Las enzimas ilustrativas incluyen, pero sin limitación, RNAsas, DNAsas, proteasas, quinasas y caspasas. Los radioisótopos ilustrativos incluyen, pero sin limitación, ³²P e ¹²⁵I.

Como se usa en el presente documento, el término "epítipo" se refiere a una molécula o sustancia capaz de estimular una respuesta inmune. En un ejemplo, algunos epítipos incluyen, pero sin limitación, 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 inmune cuando el polipéptido se procesa y se presenta en una molécula de complejo principal de histocompatibilidad (MHC). En general, los epítipos incluyen péptidos presentados en la superficie de células unidas de forma no covalente al surco de unión del MHC de Clase I o Clase II, de modo que puedan interactuar con receptores de linfocitos T y las respectivas moléculas auxiliares de linfocitos T.

Procesamiento proteolítico de los antígenos. Los epítipos que son presentados por el MHC en células de presentación de antígenos son péptidos de escisión o productos de precursores de antígenos de proteínas o de péptidos de mayor tamaño. Para los epítipos de MHC I, los antígenos de proteína suelen ser digeridos por proteasomas residentes en la célula. La digestión proteasómica intracelular produce fragmentos de péptidos de una longitud de aproximadamente 3 a 23 aminoácidos que, a continuación, se cargan en la proteína del MHC. Actividades proteolíticas adicionales dentro de la célula, o en el medio extracelular, pueden recortar y procesar estos fragmentos adicionalmente. El procesamiento de epítipos de la Clase II del MHC, en general, se produce a través de proteasas intracelulares del compartimento lisosómico/endosómico. Los péptidos procesados previamente se pueden unir 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 inmune directamente hacia las células de presentación de antígeno.

Para identificar epítipos potencialmente eficaces como compuestos inmunogénicos, las predicciones de la unión del MHC solo son útiles, pero no suelen ser suficientes. La presente divulgación incluye métodos de identificación de forma específica de los epítipos en los antígenos que con mayor probabilidad conducirán a la respuesta inmune 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 aquellos epítipos que producirán con la mayor probabilidad la respuesta inmune deseada usando las células de presentación de antígenos y el repertorio de linfocitos T del propio paciente. Las composiciones y los métodos se pueden aplicar a cualquier secuencia de proteínas, permitiendo que el usuario identifique los epítipos que son capaces de unirse a MHC, y se presentan de forma apropiada a linfocitos T que responderán al antígeno. Por consiguiente, la divulgación no se limita a una diana ni afección médica en particular, sino que, en cambio, engloba uno o varios epítipos de MHC de cualquier fuente útil.

Como se usa en el presente documento, el término "sustituido en superficie" se refiere a un armazón de anticuerpo humanizado en el que los sitios de unión al antígeno o las CDR obtenidos a partir de anticuerpos 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 sustituidos en superficie pueden ser células de mamífero transfectadas para la expresión de anticuerpos humanos recombinantes que presentan la especificidad hacia el antígeno del anticuerpo no humano y se someterán a modificaciones posteriores a la traducción que potenciarán su expresión, estabilidad, su utilidad, o combinaciones de las mismas.

Antígenos

Los ejemplos de antígenos víricos incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, VIH, VHC, CMV, adenovirus, retrovirus, picornavirus, etc. Un ejemplo no limitante de antígenos retrovíricos tales como antígenos retrovíricos de los antígenos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tales como productos génicos de los genes gag, pol y env, la proteína Nef, la transcriptasa inversa y otros componentes del VIH; antígenos del virus 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 víricos tales como ARN vírico de la hepatitis C; antígenos víricos de la gripe tales como hemaglutinina y neuraminidasa, y otros componentes víricos de la gripe; antígenos víricos del sarampión tales como la proteína de fusión del virus del sarampión y otros componentes del virus del sarampión; antígenos víricos 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 la 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 antígenicos del virus sincitial respiratorio; antígenos víricos del herpes simplex, tales como proteínas inmediatas tempranas, glicoproteína D y otros componentes antígenicos del virus del herpes simplex; antígenos víricos de la varicela zóster, tales como gpl de, gpII, y otros componentes antígenicos víricos de la varicela zóster; antígenos víricos de la encefalitis japonesa, tales como las proteínas E, M-E, M-E-NS1, NS1, NS1-NS2A, E al 80 %, y otros componentes

antigénicos víricos de la encefalitis japonesa; antígenos víricos de la rabia tales 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, Nueva York, 1991) para ejemplos adicionales de antígenos víricos. El al menos un antígeno vírico pueden ser péptidos de un adenovirus, retrovirus, picornavirus, virus del herpes, rotavirus, hantavirus, coronavirus, togavirus, flavivirus, rhabdovirus, paramixovirus otomixovirus, bunyavirus, 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 vírico son péptidos obtenidos a partir de al menos uno de virus de VIH, CMV, hepatitis A, B, y C, gripe, 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 de al menos uno de: Nef (66-97): VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGG (SEQ ID NO: 1); Nef (116-145): HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 2); Gag p17 (17-35): EKIRLRPGGKKKYKLKHIV (SEQ ID NO: 3); Gag p17-p24 (253-284): NPPIPVGEIYKRWILGLNKIVRMYSPTSILD (SEQ ID NO: 4); o Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIYQYMDDLY (SEQ ID NO: 5). Los péptidos de proteínas de fusión están separados por uno o más conectores seleccionados de: SSVSPTTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11); PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12); TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13); o TNGSITVAATAPTVPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14).

Las dianas antigénicas que se pueden suministrar usando las vacunas de antígeno anti-CD40 incluyen genes que codifican antígenos tales como antígenos víricos, antígenos bacterianos, antígenos fúngicos o antígenos parasitarios. Los patógenos incluyen tripanosomas, tenias, lombrices, helmintos, malaria. Los marcadores tumorales tales como antígeno fetal o antígeno específico de próstata, 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 invención con fines de vacunación podría requerir que los antígenos asociados con el vector fueran lo suficientemente no inmunogénicos como para permitir la expresión a largo plazo del transgén, para el que se podría desear una respuesta inmune intensa. En algunos casos, la vacunación de un individuo solo puede ser necesaria con poca frecuencia, como cada año o cada dos años, y puede proporcionar protección inmune a largo plazo frente al agente infeccioso. Los 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 la patente de EE.UU. n.º 6.541.011, en particular, en las tablas que emparejan organismos y secuencias específicas que se pueden usar.

Los antígenos bacterianos para su uso con las vacunas de antígeno anti-CD40 desvelados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, antígenos bacterianos tales como toxina de *Pertussis*, hemaglutinina filamentosa, pertactina, FIM2, FIM3, adenilato ciclasa y otros componentes 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 de choque térmico 65 (HSP65), la proteína secretada principal de 30 kDa, antígeno 85A y otros componentes antigénicos de micobacterias; componentes antigénicos de bacterias *Helicobacter pylori*; antígenos bacterianos neumocócicos tales como neumolisina, polisacáridos capsulares neumocócicos y otros componentes antigénicos de bacterias neumocócicas; antígenos bacterianos de *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 otros componentes 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. Los patógenos parciales o completos también pueden ser: *Haemophilus influenzae*; *Plasmodium falciparum*; *Neisseria meningitidis*; *Streptococcus pneumoniae*; *Neisseria gonorrhoeae*; *Salmonella* de serotipo typhi; *Shigella*; *Vibrio cholerae*; Fiebre del Dengue; Encefalitis; Encefalitis japonesa; enfermedad de Lyme; *Yersinia pestis*; virus del Nilo occidental; fiebre amarilla; tularemia; hepatitis (vírica, bacteriana); RSV (virus sincitial respiratorio); HPIV 1 y HPIV 3; adenovirus; viruela; alergias y cánceres.

Los antígenos fúngicos para su uso con las composiciones y los métodos incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, componentes de antígenos fúngicos de *Candida*; antígenos fúngicos de *Histoplasma* tales como la proteína de choque térmico 60 (HSP60) y otros componentes de antígeno fúngico de *Histoplasma*; antígenos fúngicos criptocócicos tales como polisacáridos capsulares y otros componentes de antígeno fúngicos criptocócicos; antígenos fúngicos de *Coccidioides* tales como antígenos esféricos y otros componentes de antígeno fúngico de *Coccidioides*; y antígenos fúngicos de tiña tales como tricofitina y otros componentes de antígeno fúngico de *Coccidioides*.

Los ejemplos de protozoos y otros antígenos parasitarios incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, antígenos de *Plasmodium falciparum* tales como antígenos de superficie de merozoítos, antígenos de superficie de esporozoítos,

antígenos de circunsporozoítos, antígenos de superficie de gametocitos/gametos, antígeno pf 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, paramiosina 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.

El antígeno que se puede dirigir usando las vacunas de antígeno anti-CD40, en general, se seleccionará basándose en una serie de factores, que incluyen: probabilidad de internalización, nivel de especificidad de células inmunes, tipo de célula inmune dirigida, nivel de madurez y/o activación de las células inmunes y similares. En la presente 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, CD 19, CD20, CD56 y/o CD57. Los ejemplos de marcadores de superficie celular para células presentadoras de antígeno incluyen, pero sin limitación, MHC de clase I, MHC de clase II, CD45, B7-1, B7-2, receptor de IFN- γ y receptor de IL-2, receptor de ICAM-1 y/o Fc γ . Los ejemplos de marcadores de superficie celular para linfocitos T incluyen, pero sin limitación, CD3, CD4, CD8, CD 14, CD20, CD11b, CD16, CD45 y HLA-DR.

Los antígenos diana en superficies celulares para el suministro incluyen los característicos de antígenos tumorales que normalmente se obtienen de la superficie celular, citoplasma, núcleo, orgánulos y similares de células de tejido tumoral. Los ejemplos de dianas tumorales para la parte de anticuerpo de la presente invención incluyen, pero sin limitación, cánceres hematológicos tales como leucemias y linfomas, tumores neurológicos tales como astrocitomas o glioblastomas, melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, tumores gastrointestinales, tales como cáncer gástrico o de colon, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, tumores genitourinarios tales como cáncer de cuello uterino, de 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.

Los ejemplos de antígenos que se pueden suministrar solos o en combinación con células inmunes para la presentación de antígenos incluyen proteínas tumorales, por ejemplo, oncogenes mutados; proteínas víricas asociadas con tumores; y mucinas y glicolípidos tumorales. Los antígenos pueden ser proteínas víricas asociadas con tumores que podrían ser las de las clases de virus indicados anteriormente. Ciertos antígenos pueden ser característicos de algunos tumores (siendo un subconjunto proteínas habitualmente 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 mutación característica de un tumor. Otros antígenos incluyen una o varias 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.

Los 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 la 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 intrón V GnT-V (secuencia de intrón V de N-acetilglucoaminiltransferasa V), psm de Ca de Próstata, PRAME (antígeno de melanoma), β -catenina, MUM-1- B (producto génico mutado ubicuo de melanoma), GAGE (antígeno de melanoma) 1, MAGE, BAGE (antígeno de melanoma) 2-10, c-ERB2 (Her2/neu), DAGE, EBNA (antígeno nuclear del Virus de Epstein-Barr) 1-6, gp75, virus del papiloma humano (HPV) E6 y E7, p53, proteína de resistencia pulmonar (LRP), Bcl-2, Ki-67, Ciclina B1, gp100, Survivina y NYESO-1.

Además, la molécula inmunogénica puede ser un autoantígeno que participa en el inicio y/o la propagación de una enfermedad autoinmune, cuya patología 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 dichas enfermedades, puede ser deseable dirigir una respuesta inmune mediada por anticuerpos en curso (es decir, una de tipo Th2) al autoantígeno relevante hacia una respuesta inmune celular (es decir, una de tipo Th1). Como alternativa, puede ser deseable prevenir la aparición o la reducción del nivel de una respuesta de Th2 al autoantígeno en un sujeto que no tiene, pero del que se sospecha que es susceptible a, la enfermedad autoinmune relevante mediante la inducción de forma profiláctica de una respuesta de Th1 al autoantígeno apropiado. Los autoantígenos de interés incluyen, 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. Los ejemplos de otros antígenos varios implicados en uno o más tipos de respuesta autoinmune incluyen, por ejemplo, hormonas endógenas tales como hormona luteinizante, hormona estimulante folicular, testosterona, hormona de crecimiento, prolactina y otras hormonas.

Se pueden usar antígenos implicados en enfermedades autoinmunes, alergias y rechazos de injertos. Por ejemplo, se puede usar un antígeno implicado en una cualquiera o más de las siguientes enfermedades o trastornos autoinmunes: diabetes, diabetes mellitus, artritis (incluyendo artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, artrosis, artritis sorbiática), esclerosis múltiple, miastenia grave, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis autoinmune, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica y dermatitis eccematosa), soriasis, síndrome de Sjogren, incluyendo queratoconjuntivitis seca secundaria al Síndrome de Sjogren, alopecia areata, respuestas alérgicas debidas 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 leproso, uveítis autoinmune, encefalomiелitis alérgica, 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, esprúe idiopático, liquen plano, enfermedad de Crohn, oftalmopatía de Graves, sarcoidosis, cirrosis biliar primaria, uveítis posterior y fibrosis pulmonar intersticial. Los ejemplos de antígenos implicados en la enfermedad autoinmune incluyen ácido glutámico descarboxilasa 65 (GAD 65), ADN nativo, proteína básica de mielina, proteína proteolípida de mielina, componentes del receptor de acetilcolina, tiroglobulina y receptor de la hormona estimulante de tiroides (TSH).

Los ejemplos de antígenos implicados en alergias incluyen antígenos del polen tales como antígenos del polen del cedro japonés, antígenos del polen de la ambrosía, antígenos del polen del césped inglés, antígenos obtenidos de animales tales como antígenos de los ácaros del polvo y antígenos de felinos, antígenos de histocompatibilidad y penicilina y otros fármacos terapéuticos. Los ejemplos de antígenos implicados en el rechazo de injertos incluyen componentes antigénicos del injerto que se va a trasplantar en el receptor del injerto, tales como los componentes de injertos de corazón, pulmón, hígado, páncreas, riñón y neuronales. El antígeno puede ser un ligando de péptido modificado que sea útil en el tratamiento de una enfermedad autoinmune.

Los expertos en la materia observarán que es posible modificar la secuencia de cualquier molécula efectora de proteína de modo que no influya esencialmente en las ventajas funcionales de la proteína efectora. Por ejemplo, por lo general, se considera que la glicina y la alanina se pueden intercambiar al igual que el ácido aspártico y el ácido glutámico, y la asparagina y la glutamina. El experto en la materia reconocerá que muchas variaciones diferentes de secuencias efectoras codificarán efectores con aproximadamente la misma actividad que el efector nativo. La molécula efectora y el anticuerpo se pueden conjugar con medios químicos o medios recombinantes como se ha descrito anteriormente. Las modificaciones químicas incluyen, por ejemplo, la derivatización con el fin de unir la molécula efectora y el anticuerpo entre sí, bien directamente o a través de un compuesto de unión, con métodos que se conocen bien en la materia de la 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 de la fracción que se vaya a unir al anticuerpo. Por lo general, los polipéptidos contienen una variedad de grupos funcionales; por ejemplo, grupos ácido carboxílico (COOH), amina libre ($-NH_2$) o sulfhidrilo ($-SH$), que están disponibles para la reacción con un grupo funcional adecuado en un anticuerpo para producir la unión de la molécula efectora. Como alternativa, el anticuerpo se puede derivatizar para exponerlo o unirlo 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 la molécula efectora. Los expertos en la materia conocen bien algunos conectores adecuados, e incluyen, pero sin limitación, 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 un enlace disulfuro a cisteína). Sin embargo, en una realización preferida, 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 haya alcanzado su sitio diana. Por lo tanto, en estas circunstancias, los inmunoconjugados comprenderán enlaces que se pueden escindir en la proximidad del sitio diana. La escisión del conector para liberar la molécula efectora del anticuerpo se puede generar mediante actividad o condiciones enzimáticas a las que se somete el inmunoconjugado bien 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 el tumor o pH ácido).

Las modificaciones químicas ilustrativas de la molécula efectora y del anticuerpo de la presente invención también incluyen la 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. Las composiciones inmunogénicas, que se proponen como adecuadas para su uso como una vacuna, se pueden preparar más fácilmente de una manera directa a partir de péptidos estimulantes de linfocitos T inmunogénicos preparados de una manera desvelada en el presente documento. El material de vacunación final se somete a diálisis ampliamente para retirar las moléculas de bajo peso molecular no deseadas y/o se liofiliza para una formulación más fácil en un vehículo deseado. Las composiciones y los métodos se pueden usar para fabricar una vacuna celular, por ejemplo, la parte de unión a anti-CD40 de suministro de antígenos del anticuerpo se usa para dirigir el/los antígeno/s a una célula de presentación de antígeno, que, a continuación, "carga" el antígeno en proteínas de MHC para la presentación. Por lo tanto, la vacuna celular es la célula de presentación de antígeno que se ha cargado 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 conocidos en la técnica, por ejemplo, los de las patentes de EE.UU. n.º 4.608.251; 4.601.903; 4.599.231; 4.599.230; y 4.578.770. Por lo general, dichas 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 se suele mezclar con excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el principio activo. Los 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 potencian la eficacia de las vacunas.

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

El modo de aplicación puede variar ampliamente, sin embargo, lo más probable es que ciertas realizaciones del presente documento se administren 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 la 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 semanalmente o cada dos semanas. Un programa de vacunación normal suele realizarse en intervalos de dos a doce semanas o en intervalos de tres a seis semanas. Pueden ser deseables refuerzos periódicos a intervalos de 1 a 5 años, normalmente tres años, para mantener niveles protectores de la respuesta inmune o después de una probabilidad de una remisión o nueva infección. El curso de la inmunización puede ir seguido de ensayos para, por ejemplo, la activación de linfocitos T, la secreción de citocinas o incluso la producción de anticuerpos, realizada lo más habitualmente *in vitro*. Estos ensayos de respuesta inmune se conocen bien y se pueden encontrar en una amplia diversidad de patentes y como se enseña en el presente documento.

La vacuna 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. Una dosis unitaria se define como la que contiene una cantidad determinada previamente de la composición terapéutica calculada para producir las respuestas deseadas en asociación con su administración, es decir, la vía apropiada y el régimen de tratamiento. La cantidad para administrar, y la vía y la formulación en particular son competencia de los expertos en las técnicas clínicas. El sujeto que se vaya a tratar también se puede evaluar, en particular, el estado del sistema inmune del sujeto y la protección deseada. No es necesario que la dosis unitaria se administre como una sola inyección, sino que puede incluir infusión continua durante un período de tiempo establecido. La dosis unitaria se puede describir de forma conveniente en términos de ADN/kg (o proteína/kg) de peso corporal, con intervalos de entre aproximadamente 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,5, 1, 10, 50, 100, 1.000 o más mg/ADN o proteína/kg de peso corporal de administración.

Asimismo, 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, se pueden suministrar 0,4 mg, 0,5 mg, 0,8 mg, 1,0 mg, 1,5 mg, 2,0 mg, 2,5 mg, 3,0 mg, 4,0 mg, 5,0 mg, 5,5 mg, 6,0 mg, 6,5 mg, 7,0 mg y 7,5 mg de la vacuna a un individuo *in vivo*. La dosis de la vacuna que se va a administrar depende en gran medida del peso y del estado físico del sujeto que se esté tratando, así como de la vía de administración y de la frecuencia del tratamiento. Una composición farmacéutica que incluye un polinucleótido desnudo unido previamente a un vector de suministro liposomal o vírico 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. Así pues, las composiciones particulares 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 de proteína que está unido independientemente 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.

Los anticuerpos se pueden unir opcionalmente de forma covalente o no covalente a un marcador detectable. Los marcadores detectables adecuados para dicho uso incluyen cualquier composición detectable con métodos espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmuoquímicos, eléctricos, ópticos o químicos. Los marcadores útiles incluyen perlas magnéticas (por ejemplo, DYNABEADS®), colorantes fluorescentes (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína, rojo Texas, rodamina, proteína fluorescente de color verde, y similares), radiomarcadores (por ejemplo, ³H, ¹²⁵I, ³⁵S, ¹⁴C o ³²P), enzimas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina y otras usadas comúnmente en un ELISA), y marcadores colorimétricos tales como oro coloidal, o perlas de vidrio o plástico coloreadas (por ejemplo, poliestireno, polipropileno, látex, etc.).

Los métodos para detectar dichos marcadores son muy conocidos por los expertos en la materia. Así pues, por ejemplo, los radiomarcadores se pueden detectar usando película fotográfica o contadores de centelleo, los marcadores fluorescentes se pueden detectar usando un fotodetector para detectar la iluminación emitida. Los marcadores enzimáticos normalmente se detectan proporcionando la enzima con un sustrato y detectando el producto de reacción producido mediante la acción de la enzima en el sustrato, y los marcadores colorimétricos se detectan simplemente visualizando el marcador coloreado.

Las composiciones de inmunoconjugado de la presente invención son particularmente útiles para la administración parenteral, tal como la administración intravenosa o la administración en una cavidad corporal. Las composiciones para la administración normalmente comprenderán una solución del anticuerpo y/o del inmunoconjugado disuelto en un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente un vehículo acuoso. Se puede usar una variedad de vehículos acuosos, por ejemplo, solución salina tamponada y similares. Estas soluciones son estériles y, en general, están exentas de material no deseado. Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización bien conocidas, convencionales. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables si se requiere para aproximarse a condiciones fisiológicas tales como el ajuste del pH y los agentes de tamponamiento, agentes de 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, viscosidades, peso corporal y similares de acuerdo con el modo de administración seleccionado en particular y las necesidades del paciente.

Así pues, una composición de inmunoconjugado farmacéutico típica de la presente invención para la administración intravenosa sería de aproximadamente 0,1 a 10 mg por paciente al día. Se pueden usar dosis de 0,1 hasta aproximadamente 100 mg por paciente al día. Los métodos reales de preparación de 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". Las cantidades eficaces para este uso dependerán de la gravedad de la enfermedad que el estado general de salud del paciente. Una cantidad eficaz del compuesto es la que proporciona bien un alivio subjetivo de uno o varios síntomas o una mejora que se puede identificar de forma objetiva según las indicaciones del médico u otro observador cualificado.

Las administraciones individuales o múltiples de las composiciones se realizan dependiendo de la dosis y de la frecuencia según las necesidades y tolerabilidad del 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 dosis se administra una vez, pero se puede aplicar de forma periódica hasta que se consiga un resultado terapéutico o hasta que los efectos secundarios garanticen la interrupción de la terapia. En general, la dosis es suficiente para tratar o mejorar síntomas o signos de enfermedad sin producir toxicidad inaceptable al paciente.

Las formulaciones parenterales de liberación controlada de las composiciones de inmunoconjugado de la presente invención se pueden preparar como implantes, inyecciones oleosas o como sistemas de partículas. Para una amplia visión de conjunto de los sistemas de suministro de proteínas, véase, Banga, A. J., "THERAPEUTIC PEPTIDES Y PROTEINS: FORMULATION, PROCESSING, Y DELIVERY SYSTEMS", Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, Pa., (1995). Los sistemas de partículas incluyen microesferas, micropartículas, microcápsulas, nanocápsulas, nanoesferas y nanopartículas. Las microcápsulas contienen la proteína terapéutica como un núcleo

central. En las microesferas, el agente terapéutico se dispersa por la partícula. Las partículas, microesferas y microcápsulas con un tamaño inferior a aproximadamente 1 μm , en general, se denominan nanopartículas, nanoesferas y nanocápsulas, respectivamente. Los capilares tienen un diámetro de aproximadamente 5 μm de modo que solo las nanopartículas se administran por vía intravenosa. Las micropartículas normalmente tienen un diámetro de aproximadamente 100 μm , y se administran por vía subcutánea o por vía intramuscular.

Se pueden usar polímeros para la liberación controlada por iones de composiciones de inmunoconjugado de la presente invención. En la técnica, se conocen diversas matrices poliméricas degradables y no degradables para su uso en la administración controlada de fármacos (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 la temperatura corporal, la hidroxiapatita se ha usado como un microvehículo para la liberación controlada de proteínas y/o liposomas, y se puede usar para la liberación controlada, así como para la dirección del fármaco en forma de cápsulas lipídicas. Se conocen numerosos sistemas adicionales para la administración controlada de proteínas terapéuticas. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.º 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 inmunoconjugados se incluye una variedad de afecciones patológicas causadas por células humanas específicas que se pueden eliminar mediante la acción tóxica de la proteína de fusión. Por ejemplo, anti-CD40_12E12.3F3 (n.º de acceso de ATCC PTA-9854), anti-CD40_12B4.2C10 (n.º de acceso de ATCC ____, n.º de presentación AB13-22.12B4.2C10 (HS446)) y anti-CD40_11B6.1C3 (n.º de acceso de ATCC ____, n.º de presentación AB13-22.11B6.1C3 (HS440)) humanizados, los anticuerpos desvelados en el presente documento, una aplicación preferida para los inmunoconjugados es el tratamiento de células malignas que expresan CD40.

En otra realización, la presente divulgación 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. Dichas muestras incluyen, pero sin limitación, 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 cortes de tejidos, tales como cortes congelados tomados para fines histológicos. Por lo general, una muestra biológica se obtiene de un organismo eucariota pluricelular, preferentemente un mamífero tal como una rata, un ratón, una vaca, un perro, una cobaya o un conejo, y más preferentemente un primate, tal como un macaco, un chimpancé o un ser humano. Lo más preferentemente, la muestra es de un ser humano. Los anticuerpos también se pueden usar *in vivo*, por ejemplo, como una herramienta de diagnóstico para formación de imágenes *in vivo*.

Los kits normalmente comprenderán una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un anticuerpo (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. El anticuerpo será un fragmento de Fv anti-CD40 humanizado, tal como un fragmento de scFv o dsFv. Además, los kits normalmente incluirán materiales con instrucciones que desvelan métodos de uso de un anticuerpo (por ejemplo, para su carga en células dendríticas antes de la 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 de detección del marcador (por ejemplo, sustratos enzimáticos para marcadores enzimáticos, conjuntos de filtros para detectar marcadores fluorescentes, marcadores secundarios apropiados tales como HRP anti-ratón de oveja o similares). Los kits pueden incluir además tampones u otros reactivos usados de forma rutinaria para la práctica de un método en particular. Dichos kits y contenidos apropiados son bien conocidos por los expertos en la materia.

En otro conjunto de uso, los inmunoconjugados dirigidos por anticuerpos se pueden usar para eliminar células dirigidas de una población de células de un cultivo. Por ejemplo, si se prefiere una población específica de linfocitos T, los inmunoconjugados se pueden usar para enriquecer una población de linfocitos T que tenga el efecto opuesto de la respuesta inmune en curso. Por lo tanto, por ejemplo, las células cultivadas a partir de un paciente que tiene un cáncer se pueden eliminar de células cancerosas proporcionando al paciente células dendríticas que se cargaron con antígeno usando los anticuerpos como una fracción de dirección para los antígenos que desencadenarán una respuesta inmune frente al cáncer, virus u otro patógeno. Asimismo, los inmunoconjugados 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.

Ejemplo 1: Vacuna de péptidos del VIH anti-CD40

Se seleccionaron cinco secuencias con una longitud de 19 a 32 aminoácidos de una multiplicidad de epítopos de linfocitos T citotóxicos (CTL) identificados en las proteínas Nef, Gag y Env del VIH-1 en el contexto de diferentes moléculas de MHC de clase I. Se ha informado que las 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 después en la posición C-terminal mediante un grupo (Palm)-NH₂, 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) Klinguer *et al.*, "Vaccine", Volumen 18, 259-267] y en una solicitud de patente ["Cytotoxic T lymphocyte-inducing lipopeptides and use as vaccines". Gras-Masse H. *et al.*, n.º de patente EP0491628 (1992-06-24); US 5871746 (1999-02-16)].

Una vacuna para el VIH muy deseable debería estar compuesta de anticuerpo frente al receptor de las células dendríticas recombinante fusionado con los péptidos del VIH anteriores. 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.

Nef (66-97) es: VGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGL (SEQ ID NO: 1)

Nef (116-145) es: HTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKL (SEQ ID NO: 2)

Gag p17 (17-35) es: EKIRLRPGGKKKYKLKHIV (SEQ ID NO: 3)

Gag p17-p24 (253-284) es: NPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILD (SEQ ID NO: 4)

Pol 325-355 (RT 158-188) es: AIFQSSMTKILEPFRKQNPDIYQYMDDLY (SEQ ID NO: 5).

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena pesada (H) de hlgG4 - gag17 del VIH, en la que la región (17-35) de Gag p17 se muestra en negrita. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASEKIRLRPGGKKKYKLKHIVAS. (SEQ ID NO.: 6)

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H - gag253 del VIH, en la que la región (253-284) de Gag p17-p24 se muestra en negrita. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-gag17] C655 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASNPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILDAS. (SEQ ID NO.: 7)

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H - nef116 del VIH, en la que la región (116-145) de Nef se muestra en negrita. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-nef116] C680 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLAS. (SEQ ID NO.: 8)

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H - nef66 del VIH, en la que la región (66-97) de Nef está sombreada en negra. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

5

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-nef66] C679 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS

DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASVGFVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLAS. (SEQ ID NO.: 9)

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H - pol158 del VIH, en la que la región (RT 158-188) de Pol 325-355 se muestra en negra. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

10

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-pol158] C667 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASAIQSSMTKILEPFRKQNPDIYIYQYMDLYAS. (SEQ ID NO.: 10)

- 15 La Figura 1 muestra anticuerpos recombinantes purificados mediante afinidad con la proteína A fusionados a diversos péptidos del VIH (carriles 1 a 5) secretados por células 293F transfectadas, analizados mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con azul brillante de Coomassie. Se transfectaron vectores de expresión para las cadenas H fusionadas a diversas regiones codificantes de péptidos del VIH C-terminales junto con el plásmido de cadena ligera (L) coincidente en células 293F transitorias durante tres días antes de recoger el sobrenadante para la
- 20 posterior purificación. El número de células y la cantidad de ADN fueron constantes entre las transfecciones. Dado que la matriz de afinidad de proteína A se usó en exceso, el análisis de SDS-PAGE define tanto el rendimiento de producción como la integridad de la cadena H de las diversas construcciones vacunales. Los carriles 1, 4 y 5 (bandas superiores) muestran que las cadenas H fusionadas directamente a los péptidos gag17, nef66 y pol158 del VIH se pueden secretar bien. El carril 2 muestra que la cadena H fusionada directamente al péptido gag253 del VIH

se expresa mal. El carril 3 muestra que la cadena H fusionada directamente al péptido nef116 del VIH no se expresa en absoluto.

5 Sorprendentemente, se encontró que el uso de secuencias conectoras de regiones codificantes interpeptídicas potencialmente glicosiladas flexibles mejora la secreción de las proteínas de fusión de anticuerpo recombinante intacto-péptidos del VIH.

10 Las secuencias conectoras flexibles usadas se derivan del precursor B del armazón de anclaje celulosómico [*Bacteroides cellulosolvens*] y se han descrito por los presentes inventores en la solicitud de patente de EE.UU. en trámite junto con la presente con n.º de serie 61/081.234.

15 Las secuencias que se muestran a continuación son las secuencias de 25 aminoácidos de longitud de las cuatro secuencias enlazadoras peptídicas seleccionadas. Las secuencias subrayadas son los sitios de N-glicosilación predichos.

20 Flex1 es: SSVSPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11)
Flex2 es: PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12)
Flex3 es: TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13)
Flex4 es: TNGSITVAATAPTPTVTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14)

Estas secuencias [los conectores se muestran en negrita y subrayadas las regiones obtenidas a partir de la cohesión] se derivan de los espaciadores del dominio entre cohesinas de la proteína bacteriana precursor B del armazón de anclaje celulosómico >gi|50656899|gb|AAT79550.1| [*Bacteroides cellulosolvens*]:

MQSPRLKRKILSVILAVCYIISSFSIQFAATPQVNIIGSAQGIPGSTVKVPINLQNVPEIGINNCDF
 TIKFDS DILDFNSVEAGDIVPLPVASFSSNNSKDIIKFLFSDATQGNMPINENGLFAVISFKIKDN
 AQKGISNIKVSSYGSFSGMSGKEMQSLSPFFSGSIDVSDVSTSKLDVKVGNVEGIAGTEVNVPI
 TFENVDPNGINNCNFTLSYDSNALEFLTTEAGNIPLAIADYSSYRSMEGKIKFLFSDSSQGTRSI
 KNDGVFANIKFKIKGNAIRDYRIDLSELGSFSSKQNNNLKSIATQFLSGSVNVKDIESSVSPTT
SVHPTPTSVPPTPTKSSPGNKMKIQIGDVKANQGDTVIVPITFNEVPVMGVNNCNFTLAYDK
 NIMEFISADAGDIVTLPMANYSYNMPDGLVKFLYNDQAQGAMSIKEDGTFANVKFKIKQSA
 AFGKYSVGIIKAIGSISALSNSKLIPIESIFKDGSITVTNKPIVNIEIGKVVKVAGDKIKVPVEIKDIP
 SIGINNCNFTLKYNSNVLYVSNEAGTIVPAPLANLSINKPDEGIIKLLFSDASQGGMPIKDNGIF
 VNLEFQAVNDANIGVYGLELDTIGAFSGISSAKMTSIEPQFNNGSIEIFNSAQTPVPSNTEVQTP
TNTISVTPTNNSTPTNNSTPKPNPLYNLNVNIGEISGEAGGVIEVPIEFKNVPDFGINNCDFSVK
 YDKSIFEYVTYEAGSIVKDSIVNLACMENSIIINLLFNDATQSSSPIKNNGVFAKLKFKINSNAA
 SGTYQINAEGYGKFSGNLNGKLT SINPIFENGIIINIGNVTVKPTSTPADSSTITPTATPTATPTIK
GTPTVTPIYWMNVLIGNMNAAIGEEVVVPIEFKNVPPFGINNCDFKLVYDSNALELKKVEAGD
 IVPEPLANLSSNKSEGKIQFLFNDASQGSMQIENGGVFAKITFKVKSTAASGIYNIRKDSVGSFS
 GLIDNKMTSIGPKFTDGSIVVGTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPIATPTIKGTPTATPMYW
 MNVVIGKMNAEVGGEVVVPIEFNNVPSFGINNCDFKL VYDATALELKNVEAGDIIKTPLANFS
 NNKSEEGKISFLFNDASQGSMQIENGGVFAKITFKVKSTTATGVYDLRKDLVGSFSGLKDNKM
 TSIGAEFTNGSITVAATAPTPTVNATPSAATPTVTPTATATPSVTIPTVTPTATATPSVTIPT
VTPTATATPSAATPTVTPTATATPSVTIPTVTPTVTATPSDTIPTVTPTATATPSAIVTTITPTATA
KPIATPTIKGTPTATPMYWMNVVIGKMNAEVGGEVVVPIEFKNVPSFGINNCDFKLVYDATALELKNVEAGDIIKTPLANFS
 NNKSEEGKISFLFNDASQGSMQIENGGVSAKITFKVKSTTAIGVYD
 IRKDLIGSFSGLKDSKMTSIGAEFTNGSITVATTAPTPTATATPSVTIPTVTPTATATPGTATP
GTATPTATATPGAATPTETATPSVMIPTVTPTATATPTATATPTVKGTPTIKPVYKMNVVIGRV
 NVVAGEEVVVPVEFKNIPAIGVNNCNFVLEYDANVLEVKKVDAGEIVPDALINFGSNNSDGK
 VYFLFNDALQGRMQIANDGIFANITFKVKSSAAAGIYNIRKDSVGAFSGLVDKLVPIAEFTDG
 SISVESAKSTPTATATGTNVTPTVAATVTPTATPASTTPTATPTATSTVKGTPTATPLYSMNVII
 GKVNAEASGEVVVPVEFKDVPSIGINNCNFILEYDASALELDSAEAGEIVPVPLGNFSSNNKDE
 GKIYFLFSDGTQGRMQIVNDGIFAKIKFKVKSTASDGTYYIRKDSVGAFSGLIEKKIIGAEFTD
 GSITVRSLTPTPTVTPNVASPTPTKVVAEPTSNQPAGGPITGTIPTATTTATATPTKASVATATP
 TATPIVVVEPTIVRPGYNKDADLAVFISSDKSRYEESSIITYSIEYKNIGKVNATNVKIAAQIPKF
 TKVYDAAKGAVKGSEIVWMIGNLAVGESYTKKEYKVKVDSLTKSEEYTDNTVTISSDQTVDIPE

NITGNDKSTIRVMLYSNRFTPGSHSSYLGYKDKTFKPKQNVTRA EVAAMFARIMGLTVKD
GAKSSYKDVSNKHWALKYIEAVTKSGIFKGYKDSTFHPNAPITRAELSTVIFNYLHLNNIAPSK
VHFTDINKHWAKNYIEEIYRFKLIQGYSDGSFKPNNITRAEVVTMINRMLYRGPLKVKGVSF
PDVSPKYWAYGDIEEASRNHKYTRDEKDGSEILIE (SEQ ID NO.: 15).

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena pesada (H)-péptidos gag17-nef66-nef116 del VIH, en la que las secuencias de los péptidos gag17, nef66, nef116 del VIH están en negrita. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-gag17-nef66-nef116] C694 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASEKIRLRPGGKKKYKLKHIVASVGFPVTPQVPLRPMTYKA AVDL SHFLK
EKGGLASHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLAS (SEQ ID NO.: 16).

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H – péptidos gag17-nef116 del VIH, en la que las secuencias de los péptidos gag17 y nef116 del VIH [cursiva] están enlazadas a través de un espaciador f1 [mostrado en negrita]. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-gag17-f1-nef116] C692 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASEKIRLRPGGKKKYKLKHIVASSSVPTTSVHPTPTSPPTPTKSSPASHTQGY
FPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLAS (SEQ ID NO.: 17).

La Figura 2 muestra anticuerpos recombinantes purificados mediante afinidad con la proteína A fusionados a diversos péptidos del VIH (carriles 1 y 2) secretados por células 293F transfectadas, analizados luego mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con azul brillante de Coomassie. Se transfectoron vectores de expresión para las cadenas H fusionadas a diversas regiones codificantes de péptidos del VIH C-terminales junto con el plásmido de cadena L coincidente en células 293F transitorias durante tres días antes de recoger el sobrenadante para la posterior purificación. Los carriles 1 y 2 (bandas superiores) muestran que las cadenas H fusionadas directamente a una cadena de péptido del VIH de gag17-nef66-pol116 se pueden secretar bien. Además, también se expresa bien el producto de cadena H que contiene una cadena de péptido del VIH de gag17 y nef116 separados por el espaciador flexible f1 (carril 2). Así pues, el péptido nef116 del VIH, que no se expresa como un producto secretado cuando se fusiona directamente solo a la cadena H, se puede expresar bien cuando se adjunta en algunos otros péptidos y contextos de cadenas flexibles. Cabe señalar que la cadena H fusionada directamente a gag17-f1-nef116

[82 restos] migra más lentamente que la cadena H con gag17-nef66-nef116 [89 restos], esto sugiere que el conector flexible f1 está glicosilado, posiblemente también potenciando la producción del anticuerpo de fusión gag17-f1-nef116 secretado frente al anticuerpo de fusión gag17-nef66-nef116.

- 5 La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H - cadena de péptidos del VIH de gag17-gag253-nef66, en la que cada secuencia de péptido del VIH [sombreada en cursiva] está separada por un espaciador f interpeptídico [mostrado en negrita]. En este caso, se insertó un conector largo de 27 aminoácidos flex-v1 (v1) [mostrado en negrita y cursiva] derivado del precursor B de armazón de anclaje celulosómico [*Bacteroides cellulosolvens*, regiones subrayadas en negrita y en cursiva] entre el extremo C-terminal de la cadena H y la cadena de espaciadores flexibles de péptidos del VIH. . Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-Pep-gag17-f1-gag253-f2-nef66] C711 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASEKIRLRPGGKKKYKLKHIVASSSVS
PTTSVHPTPTSPPTPTKSSPASNPPIPVGEIYKRWILGLNKIVRMYSPTSILDAAPTSTPADSSTI
TPTATPTATPTIKGASVGFVPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLAS (SEQ ID NO.: 18).

- 15 La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H - cadena de péptidos del VIH de pol158-gag17-nef66-nef116-gag253, en la que las secuencias de péptidos están sombreadas en gris. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-pol158-gag17-nef66-nef116-gag253] C713 es:

20

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASAIQSSMTKILEPFRKQNPDIYIYQYMDDLYASEKIRLRPGGKKKYKLK
HIVASVGFVPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLASHTQGYFPDWQNYTPGPGVRY
PLTFGWLYKLASNPPIPVGEIYKRWILGLNKIVRMYSPTSILDA (SEQ ID NO.: 19).

- 25 La Figura 3 muestra anticuerpos recombinantes purificados mediante afinidad con la proteína A fusionados a diversas cadenas de péptidos del VIH (carriles 1 a 5) secretados por células 293F transfectadas, analizados luego mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con azul brillante de Coomassie. Se transfectaron vectores de expresión para las cadenas H fusionadas a diversas regiones codificantes de péptidos del VIH C-terminales junto con el plásmido de cadena L coincidente en células 293F transitorias durante tres días antes de recoger el sobrenadante para la posterior purificación. Los carriles 1, 2 y 3 (bandas superiores) muestran que los 4 espaciadores flexibles de péptidos del VIH fusionados a cadena H a través del conector flexible flex-v1 se pueden secretar bien. Sin embargo, una cadena de 4 péptidos del VIH fusionados directamente a la cadena H no se expresa en absoluto (carril 4, banda superior). Además, el carril 5 (banda superior) muestra que una cadena de 5 péptidos del VIH fusionados directamente a la cadena H no se expresa en absoluto. Este resultado sugiere que ciertas combinaciones y

30

contextos de conectores flexibles y secuencias de codificación de péptidos del VIH pueden potenciar la secreción de proteínas de fusión de anticuerpo recombinante - péptidos del VIH (carriles 1, 2 y 3).

La siguiente secuencia es una proteína de fusión de cadena H - cadena de péptidos del VIH de gag17-gag253-nef66-nef116-pol158, en la que cada secuencia de péptido del VIH [sombreada en cursiva] está separada por un espaciador f interpeptídico [mostrado en negrita]. Se insertó el conector flexible flex-v1 (v1) [mostrado en negrita y cursiva] entre el extremo C-terminal de la cadena H y la cadena de espaciadores flexibles de péptidos del VIH. Los restos AS subrayados son secuencias de unión.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-hlgG4H-Flex-v1-Pep-gag17-f1-gag253-f2-nef116-f3-nef66-f4-pol158] C825 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSTPTNNSNPKNPASEKIRLRPGGKKKYKLKHIVASSVS
PTTSVHPTPTSVPPTPTKSSPASNPPIPVGEIYKRWILGLNKIVRMYSPSILDASPTSTPADSSTI
TPTATPTATPTIKGASHTQGYFPDQWNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLASTVTPTATATPSAIVTT
ITPTATTKPASVGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLASTNGSITVAATAPTVTPTVN
ATPSAAASAIFQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDLYAS. (SEQ ID NO.: 20)

La Figura 4 muestra anticuerpos recombinantes purificados mediante afinidad con la proteína A fusionados a diversas cadenas de péptidos del VIH (carriles 1 a 6) secretados por células 293F transfectadas, analizados luego mediante SDS-PAGE de reducción y tinción con azul brillante de Coomassie. Se transfectaron vectores de expresión para las cadenas H fusionadas a diversas regiones codificantes de péptidos del VIH C-terminales junto con el plásmido de cadena L coincidente en células 293F transitorias durante tres días antes de recoger el sobrenadante para la posterior purificación. Los carriles 1, 3 y 5 (bandas superiores) muestran que la cadena de los 4 espaciadores flexibles de péptidos del VIH fusionados a cadena H a través del conector flexible flex-v1 se puede secretar bien. Los carriles 2 y 6 (bandas superiores) muestran que la cadena de los 5 espaciadores flexibles de péptidos del VIH fusionados a cadena H a través del conector flexible flex-v1 se expresan mal. Sin embargo, ciertas combinaciones y contextos de secuencias codificantes de péptidos del VIH potencian la secreción de proteínas de fusión de anticuerpo recombinante-péptido del VIH (carriles 3 y 4). Por lo tanto, la cadena H fusionada a una cadena de 5 espaciadores flexibles de péptidos del VIH a través del conector flexible flex-v1 se puede expresar bien cuando se adjunta en algunos otros contextos de péptidos y cadenas flexibles (carril 4).

La presente divulgación incluye composiciones y métodos para secuencias conectoras de regiones codificantes interpeptídicas potencialmente glicosiladas flexibles y combinaciones de dichas regiones codificantes de péptidos del VIH que son particularmente favorables para la secreción eficaz de vacunas de fusión de anticuerpo frente a receptor de CD-péptido del VIH.

El uso de secuencias conectoras de dominios interestructurales derivadas de bacterias que degradan la celulosa como secuencias conectoras entre dominios preferidas en el diseño de proteínas - en particular, las que tienen sitios de glicosilación altamente predichos. Las propiedades deseables de estas secuencias son i) la flexibilidad inherente, facilitando de este modo la separación de los dominios enlazados, lo que debería ayudar enormemente a su plegamiento correcto, y manteniendo el acceso del receptor de linfocitos B a los epítomos de antígeno dependientes de la configuración; ii) la glicosilación, ayudando así a la secreción y la solubilidad de la proteína de fusión producida intacta, y también protegiendo las secuencias conectoras de las proteasas del medio de cultivo.

Ciertas combinaciones de regiones codificantes de péptidos del VIH favorecen la secreción, y esas secuencias conectoras flexibles particulares insertadas entre las secuencias de codificación de péptidos del VIH también pueden ayudar a la secreción de las vacunas de cadenas de péptidos del VIH intactas - principios que también pueden aplicarse para resolver problemas similares para otros antígenos peptídicos preferidos.

Secuencias de ADN de secuencias conectoras y codificantes de antígeno preferidas. Los codones de la secuencia de unión y los codones de parada están en negrita.

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-gag17] C655 es:

GCTAGTGAGAAGATCCGGCTGCGGCCCGGCGGCAAGAAGAAGTACAAGCTGAAGCACAT
CGTGGCTAGCT**GTA** (SEQ ID NO.: 21)

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-nef66] C679 es:

GCTAGTGTGGGCTTCCCCGTGACCCCCAGGTGCCCCTGCGGCCCATGACCTACAAGGCC
GCCGTGGACCTGAGCCACTTCCTGAAGGAGAAGGGCGGCCTGGCTAGCT**GTA** (SEQ ID
NO.: 22)

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Pep-pol158] C667 es:

GCTAGTGCCATCTTCCAGAGCAGCATGACCAAGATCCTGGAGCCCTTCCGGAAGCAGAAC
CCCGACATCGTGATCTACCAGTACATGGACGACCTGTACGCTAGCT**GTA** (SEQ ID NO.: 23)

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-Pep-gag253] C681 es:

GCTAGTCAGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACAGCACCCCCACC
AACAAACAGCAACCCCAAGCCCAACCCCG**GCTAGT**AACCCCCCATCCCCGTGGGCGAGAT
CTACAAGCGGTGGATCATCCTGGGCCTGAACAAGATCGTGCGGATGTACAGCCCCACCAG
CATCCTGGACGCTAGCT**GTA** (SEQ ID NO.: 24)

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-Flex-v1-Pep-gag17-nef116] C686 es:

GCTAGTCAGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACAGCACCCCCACC
AACAAACAGCAACCCCAAGCCCAACCCCG**GCTAGT**GAGAAGATCCGGCTGCGGCCCGGCGG
CAAGAAGAAGTACAAGCTGAAGCACATCGTG**GCTAGT**CACACCCAGGGCTACTTCCCCG
ACTGGCAGAACTACACCCCCGGCCCCGGCGTGCGGTACCCCTGACCTTCGGCTGGCTGT
ACAAGCTGGCTAGCT**GTA** (SEQ ID NO.: 25)

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-hlgG4H-Flex-v1-Pep-gag17-f1-gag253-f2-nef116-f3-nef66-f4-pol158] C825 es:

GCTAGTCAGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACAGCACCCCCACC
AACAACAGCAACCCCCAAGCCCAACCCCCGCTAGTGAGAAGATCCGGCTGCGGCCCGGCGG
CAAGAAGAAGTACAAGCTGAAGCACATCGTGGCTAGTAGCAGCGTGAGCCCCACCACCA
GCGTGACCCCCACCCCCACCAGCGTGCCCCCACCCCCACCAAGAGCAGCCCCGCTAGTA
ACCCCCCATCCCCGTGGGCGAGATCTACAAGCGGTGGATCATCCTGGGCCTGAACAAGA
TCGTGCGGATGTACAGCCCCACCAGCATCCTGGACGCTAGTCCCACCAGCACCCCCGCCG
ACAGCAGCACCATCACCCCCACCGCCACCCCCACCGCCACCCCCACCATCAAGGGCGCTA
GTCACACCCAGGGCTACTTCCCCGACTGGCAGAACTACACCCCCGGCCCCGGCGTGCGGT
ACCCCCTGACCTTCGGCTGGCTGTACAAGCTGGCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCG
CCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATCACCCCCACCGCCACCACCAAGCCCCGCTAGTG
TGGGCTTCCCCGTGACCCCCAGGTGCCCCCTGCGGCCCATGACCTACAAGGCCGCCGTGG
ACCTGAGCCACTTCCTGAAGGAGAAGGGCGGCCTGGCTAGTACCAACGGCAGCATCACC
GTGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCGCCGCT
AGTGCCATCTTCCAGAGCAGCATGACCAAGATCCTGGAGCCCTTCCGGAAGCAGAACCCC
GACATCGTGATCTACCAGTACATGGACGACCTGTACGCTAGCTGA. (SEQ ID NO.: 26)

Secuencias de ADN de secuencias conectoras y codificantes de antígeno preferidas. Los codones de la secuencia de unión están en negrita.

Nef (66-97) es:

GCTAGTGTGGGCTTCCCCGTGACCCCCAGGTGCCCCTGCGGCCCATGACCTACAAGGCC
GCCGTGGACCTGAGCCACTTCCTGAAGGAGAAGGGCGGCCTGGCTAGC (SEQ ID NO.: 27)

Nef (116-145) es:

GCTAGTCACACCCAGGGCTACTTCCCCGACTGGCAGAACTACACCCCCGGCCCCGGCGTG
CGGTACCCCCTGACCTTCGGCTGGCTGTACAAGCTGGCTAGC (SEQ ID NO.: 28)

Gag p17 (17-35) es:

GCTAGTGAGAAGATCCGGCTGCGGCCCGGCGGCAAGAAGAAGTACAAGCTGAAGCACAT
CGTGGCTAGC (SEQ ID NO.: 29)

Gag p17-p24 (253-284) es:

GCTAGTAACCCCCCATCCCCGTGGGCGAGATCTACAAGCGGTGGATCATCCTGGGCCTG
AACAAGATCGTGCGGATGTACAGCCCCACCAGCATCCTGGACGCTAGC (SEQ ID NO.: 30)

Pol 325-355 (RT 158-188) es:

GCTAGTGCCATCTTCCAGAGCAGCATGACCAAGATCCTGGAGCCCTTCCGGAAGCAGAAC
CCCGACATCGTGATCTACCAGTACATGGACGACCTGTACGCTAGC (SEQ ID NO.: 31)

Flex1 es:

**GCTAGTAGCAGCGTGAGCCCCACCACCAGCGTGACCCCCACCCCCACCAGCGTGCCCCC
ACCCCCACCAAGAGCAGCCCCGCTAGC** (SEQ ID NO.: 32)

5 Flex2 es:

**GCTAGTCCCACCAGCACCCCCGCCGACAGCAGCACCATCACCCCCACCGCCACCCCCACC
GCCACCCCCACCATCAAGGGCGCTAGC** (SEQ ID NO.: 33)

Flex3 es:

10

**GCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCGCCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATCACC
CCCACCGCCACCACCAAGCCCCGCTAGC** (SEQ ID NO.: 34)

Flex4 es:

15

**GCTAGTACCAACGGCAGCATCACCGTGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTG
AACGCCACCCCCAGCGCCGCCGCTAGC** (SEQ ID NO.: 35)

La presente divulgación incluye composiciones y métodos de ensamblaje de construcciones que codifican péptidos del VIH y secuencias conectoras flexibles. Los vectores de expresión de cadena H normalmente tienen un sitio de NheI [g|ctagc] unido al codón del resto C-terminal de la cadena H, o [para los vectores flex-v1] el codón C-terminal de la secuencia de flex-v1. Las secuencias conectoras flexibles o las secuencias de péptidos del VIH tienen un sitio de Spe I [a|ctagt] que precede al conector flexible N-terminal o codón de péptido del VIH, un sitio de Nhe I unido al conector flexible C-terminal o codón de péptido del VIH, seguido por un codón de parada TGA, seguido por un sitio de Eco RI, seguido por un sitio de Not I. Dichos fragmentos Spe I-Not I del enlazador flexible o péptido del VIH se insertan en el vector de cadena H preparado con la digestión de Nhe I - Not I. Nhe I y Spe I son sitios compatibles, pero cuando se enlazan, [g|ctagt] ya no es un sitio Nhe I ni Spe I. Así pues, fragmentos adicionales Spe I - Not I de conector flexible o péptido del VIH se pueden insertar en el nuevo intervalo de Nhe I - Not I distal al enlazador flexible inicial o péptido del VIH. De este modo, las cadenas de regiones codificantes de péptido del VIH y/o conector flexible se pueden unir a la región codificante de la cadena H del vector de expresión.

30 Ejemplo 2. Vacuna de péptidos del VIH - biología de dirección de antígeno *in vitro*

Ensayos de vacuna 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 α CD40.LIPO5 (rAb de α CD40.LIPO5) para mediar la presentación del antígeno, se añadió el rAb de fusión a células sanguíneas de individuos infectados por VIH, y se midió la producción de citocinas a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC).

La Figura 5 describe el protocolo usado *in vitro* para ensayar la potencia del anticuerpo recombinante de fusión del péptido del VIH α CD40.LIPO5 (rAb de α CD40.LIPO5) para generar la expansión de los linfocitos T específicos del antígeno en el contexto de un cultivo de PBMC. En resumen, se incuban PBMC (2×10^6 células/ml) de aféresis de pacientes con VIH con un intervalo de dosis de vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5. El segundo día, se añaden 100 U/ml de IL-2 al cultivo y, a continuación, se repone el medio cada 2 días con 100 U/ml de IL-2. El día 10, se exponen las células expandidas durante 48 h a los péptidos largos individuales correspondiendo a las 5 secuencias de péptidos del VIH incorporadas en el rAb de fusión de péptidos del VIH α CD40.LIPO5. A continuación, se recogen los sobrenadantes del cultivo y se evalúan para determinar la producción de citocinas (con los linfocitos T con especificidades hacia el receptor de linfocitos T [TCR] para secuencias peptídicas) usando un ensayo de perlas Multiplex (Luminex). La producción de citocinas específicas del antígeno detectadas en dicho ensayo, si dependiera de la presencia de la vacuna de péptido del VIH anti-CD40.LIPO5, refleja la captación de la vacuna por células de presentación de antígeno [APC] en el cultivo, y el procesamiento [degradación proteolítica] y la presentación de péptidos en el 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 dichas células 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 de la Figura 5 se usó para ensayar la expansión *in vitro* de los linfocitos T específicos de péptidos del VIH como respuesta

a vacuna de péptido anti-CD40.LIPO5. Los resultados de 7 individuos se muestran en la Figura 6, e indican que el rAb de fusión del péptido del VIH α CD40.LIPO5 generó respuestas del IFN γ específicas de péptidos del VIH en todos los pacientes estudiados. Por lo tanto, el rAb de fusión del péptido del VIH α CD40.LIPO5 permite que las DC presenten de forma cruzada al menos 1 o 2 péptidos diferentes con respecto a los 5 péptidos de la vacuna para los linfocitos T de cada individuo. Sin embargo, el conjunto de péptidos del VIH que estimuló la producción de IFN γ era diferente para cada paciente - lo que más probablemente refleja diferentes combinaciones de linfocitos T de memoria para la especificidad del VIH.

La Figura 6 muestra la producción de IFN γ específica del péptido del VIH en las PBMC de pacientes con VIH incubados con diversas concentraciones de vacuna de cadena de péptido anti-CD40.LIPO5. C es el grupo de control, que no recibió vacuna, y define la respuesta basal del cultivo a cada péptido.

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

La vacuna de péptido α CD40.LIPO5 puede generar la proliferación de linfocitos T específicos del antígeno capaces de secretar un amplio espectro de citocinas.

La Figura 8 muestra que la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 genera la expansión de los linfocitos T específicos de péptidos del VIH capaces de secretar múltiples citocinas - una característica deseable en una vacuna. En la Figura 8, la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 genera respuestas específicas de los péptidos gag253, nef66, nef116 y pol325 caracterizadas por la producción de múltiples citocinas. Se trata del paciente A5.

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

La Figura 9 muestra el protocolo de ensayo de una vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 para determinar su capacidad para dirigir la expansión de los linfocitos T específicos del antígeno dando como resultado una captación dirigida por las DC y la presentación de epítopos peptídicos en su complejo MHC de superficie. En resumen, se diferencian los monocitos de pacientes con VIH en las DC mediante cultivo durante 2 días con IFN α y GM-CSF. A continuación, se añaden diferentes dosis de vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 o una mezcla de los 5 péptidos durante 18 h. Se añaden linfocitos T autólogos al cultivo conjunto (a una proporción de 1:20) el día 3. El día 5, se añaden 100 U/ml de IL-2 al cultivo y, a continuación, se repone el medio cada 2 días con 100 U/ml de IL-2. El día 10, se vuelven a exponer las células expandidas durante 48 h a los péptidos largos individuales correspondientes a las 5 secuencias de péptidos del VIH incorporadas en el rAb de fusión del péptido del VIH α CD40.LIPO5. A continuación, se recogen los sobrenadantes del cultivo y se evalúan para la producción de citocinas usando Luminex.

La Figura 10 muestra la secreción de citocinas como respuesta a péptidos del VIH a partir de cultivos conjuntos de células DC-linfocitos T tratados con diversas dosis de vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5. Se trata del paciente A10. Los resultados del paciente A10 mostrados en la Figura 10 demuestran la expansión de los linfocitos T específicos del antígeno que corresponden a epítopos dentro de las regiones de los péptidos del VIH gag17, gag253 y pol325. En la mayoría de los casos, existe una concordancia de las respuestas entre la vacuna del péptido del VIH α CD40.LIPO5 y la vacuna no LIPO5 [mezcla de 5 péptidos del VIH no lipidados con secuencias correspondientes a las de la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5]. Por lo tanto, la vacuna de péptidos del VIH α 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 del uso de la vacuna de péptidos del VIH α CD40.LIPO5 para la vacunación *ex vivo*, con lo que las "DC vacunadas" se deberían crioconservar para la futura reinyección en el mismo paciente.

Vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 - posible efecto inmune de las regiones conectoras flexibles. Es posible que las secuencias conectoras flexibles que se intercalan en las secuencias de péptido del VIH de la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 por sí mismas contengan epítopos de linfocitos T. La Figura 11 muestra que el paciente A4 no parece tener una combinación significativa de linfocitos T de memoria con especificidades hacia las cinco secuencias conectoras flexibles de la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5. En la Figura 11, las PBMC del paciente A4 tratado con la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 generan la expansión de los linfocitos T específicos del antígeno con especificidad hacia la región gag253, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles. Se usó el protocolo descrito en la Figura 9, con los péptidos largos del conector flexible correspondientes en secuencia a las zonas en negrita, los péptidos del VIH están en negrita y cursiva, mostrado en la siguiente secuencia.

La secuencia de cadena pesada de la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 que muestra las regiones conectoras flexibles en negrita, las secuencias de unión subrayadas y las regiones del péptido del VIH sombreadas en negrita y cursiva.

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPS
LKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYGYGYGGYFDVWGAGTTVTVSSAK
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYT
QKSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASEKIRLRPGGKKKYKLKHIVASSS
VSPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSPASNPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILDASPTSTPA
DSSTITPTATPTATPTIKGASHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLASTVTPTATAT
PSAIVTTITPTATTKPASVGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLASTNGSITVAATA
PTVTPTVNATPSAAASAIQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDDLYAS. (SEQ ID NO.:36).

5 En la Figura 12A, las PBMC del paciente A3 tratado con la vacuna del péptido del VIH α CD40.LIPO5 generan la expansión de linfocitos T específicos del antígeno con especificidades hacia las regiones gag253, nef66 y nef116, pero no hacia las secuencias conectoras flexibles. Se usó el protocolo descrito en la Figura 1, con los péptidos largos del conector flexible correspondientes en secuencia a las zonas en negrita mostrados en la Figura 8.

10 Las Figura 12B muestra las respuestas de los linfocitos T específicos del antígeno del 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. Tras 1 h, se añadió brefeldina A y la incubación continuó durante un período adicional de 5 horas antes de la tinción para el análisis de FACS. Las representaciones de FACS muestran la tinción de IFN γ y CD8 en linfocitos T CD3 $^{+}$. Los círculos indican la expansión significativa provocada por la vacuna de células IFN γ^{+} en comparación con células de las PBMC cultivadas sin vacuna. Las células CD8 $^{+}$ son linfocitos T CD4 $^{+}$. Los datos muestran que esa vacuna anti-CD40.HIV5pep provocaba una expansión fuerte de los linfocitos T CD8 $^{+}$ específicos de nef66 (N66) que no se observa con los otros vehículos de dirección de DC.

Se trata de datos basados en la cadena de péptidos del VIH LIPO5. Por ejemplo, la cadena H 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:

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSKATSGFTSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPD
TVKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQTSVTVSSAKTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSV

VTVPSSSLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQ
KSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASEKIRLRPGGKKKYKLKHIVASSSVS
PTTSVHPTPTSVPPTPTKSSPASNPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILDASPTSTPADSSTI
TPTATPTATPTIKGASHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWLYKLASTVTPTATATPSAIVTT
ITPTATTKPASVGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLASTNGSITVAATAPTPTVTN
ATPSAAASAIQSSMTKILEPFRKQNPDIVIYQYMDDLYAS (SEQ ID NO.: 37).

La Figura 12C es un estudio similar al que se muestra en la Figura 12B, a excepción de que las PBMC son de un paciente con VIH diferente (A2). Los datos muestran las respuestas de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ específicos del antígeno provocadas por anti-CD40.HIV5pep, pero no por las otras vacunas de dirección de DC ni por una mezcla de los propios péptidos.

La Figura 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 generar un amplio intervalo de respuestas de los linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ específicas del péptido del VIH.

Se ha de tener en cuenta la inmunogenicidad de las secuencias conectoras flexibles para el diseño de la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5. Los conjuntos de datos limitados mostrados anteriormente, de ensayo del recuerdo de los linfocitos T con especificidades por 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 sensibilizar las respuestas *de novo* está sin someterse al ensayo. Las respuestas a la vacuna de péptido del VIH α CD40.LIPO5 en monos se pueden analizar. Si fuera necesario, se pueden identificar ciertos epítomos menos deseables dentro de estas regiones con una combinación de métodos informáticos predictivos y barridos de estimulación de péptidos, y a continuación, se pueden eliminar mediante la introducción de cambios mutacionales que anulen la interacción de TCR.

La molécula de unión anti-CD40 incluye una cadena ligera que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos (SEQ ID. NO 38). La región variable de la cadena ligera del anticuerpo está subrayada y las CDR están en negrita (SEQ ID NOS: 42, 43 y 44, respectivamente).

[0234] MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASOGISNYLNWYQQ
KPDGTVKLLIYYTSILHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIGNLEPEDIATYYCQQFNKLPPTFGGGT
KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO.:38).

La molécula de unión anti-CD40 incluye una cadena pesada que tiene la secuencia siguiente. La región variable de la cadena ligera del anticuerpo está subrayada y las CDR están en negrita (SEQ ID NO: 45, 46 y 47, respectivamente).

[0236] MNLGLSLIFLVVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSKATSGFTFSDYYMYWVR
QTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPDYTKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARR
GLPFHAMDYWGQGTSTVTVSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP
CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTL
PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKAS (SEQ ID NO.:39).

El ácido nucleico que codifica la cadena ligera puede comprender la SEQ ID NO. La región variable de la secuencia de ácido nucleico de cadena ligera de anticuerpo está subrayada y las CDR están en negrita.

[0238] ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGA
 TGTGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTAGGAGACAGAGTCA
CCATCAGTTGCAGTGCAAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAACTGGTATCAGCAGAAA
CCAGATGGAACCTGTTAAACTCCTGATCTATTACACATCAATTTTACACTCAGGAGTCCCA
TCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCGGCAACCTGGAA
CCTGAAGATATTGCCACTTACTATTGTTCAGCAGTTTAATAAGCTTCCTCCGACGTTCCGGT
GGAGGCACCAAACTCGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC
 CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA
 TCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCA
 GGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
 CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG
 GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO.: 40).

El ácido nucleico que codifica la cadena pesada puede comprender la SEQ ID NO: 40. La región variable de la secuencia de ácido nucleico de cadena pesada de anticuerpo está subrayada y las CDR están en negrita.

[0240] ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCTTGTCTTGTTTTAAAGGTGTCCAGTGT
GAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTC
TCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCAGACT
CCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTTCGCATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATT
ATCCAGACACTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTG
TACCTGCAAATGAGCCGGCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGG
GGGTTACCGTTCCATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTC
 AGCCAAAACGAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGA
 GAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTC
 GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA
 GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACC
 TACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCC

 AAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGGGACCATCAGTC
 TTCCTGTTCCCCCAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGT
 GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATG
 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTAC
 CGTGTGGTCAGCGTCTCTACCGTCTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG
 TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
 GGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAA
 GAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
 GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACT
 CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGG
 GGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGA
 GCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGCTGA (SEQ ID NO.: 41).

Un anticuerpo humanizado 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_L que tiene la secuencia de aminoácidos SASQGISNYLN (SEQ ID NO: 41), la CDR2_L que tiene la secuencia de aminoácidos YTSILHS (SEQ ID NO: 42) y la CDR3_L que tiene la secuencia de aminoácidos QQFNKLPT (SEQ ID NO: 43); 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 CDR1_H, CDR2_H y CDR3_H, teniendo la CDR1_H la secuencia de aminoácidos GFTFSDYYMY (SEQ ID NO: 45), teniendo la CDR2_H la secuencia de aminoácidos YINSGGGSTYYPDVTKG (SEQ ID NO: 46) y teniendo la CDR3_H la secuencia de aminoácidos RGLPFHAMDY (SEQ ID NO: 47). Por ejemplo, el anticuerpo humanizado puede comprender un armazón de V_L que tenga una identidad de al menos un 95 % con el armazón de SEQ ID NO: 38 y un armazón de V_H que tenga una identidad de al menos un 95 % con el armazón de SEQ ID NO: 39. En otro aspecto, las secuencias de CDR donantes son de ANTI-CD40_12E12.3F3 y, además, en las que el anticuerpo o fragmento del mismo se une de forma específica a CD40.

Ejemplo 3. Exploración del antígeno específico de la 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. Se incubaron 1×10^6 DC de IL-4 durante 1 h en hielo con 3 mg/ml de gammaglobulina humana en PBS que contenía BSA al 3 % para bloquear la unión inespecífica. Se pulsaron las células durante 30 minutos en hielo con mAb anti-CD40 marcado con Alexa 568 (todo a 20 ng/ml de concentración final en bloque inespecífico). A continuación, se lavaron las células y se permitió la internalización de los anticuerpos unidos a superficie durante diferentes períodos de tiempo, entre 0 y 90 minutos, a 37 °C. Después de la internalización, se lavaron las células dos veces con PBS enfriado con hielo que contenía BSA al 1 % y azida sódica al 0,05 % (PBA) y se fijaron en formaldehído exento de metanol al 1 % (MFF) enfriado con hielo en PBS durante una noche a 4 °C. Se permeabilizaron las células en BSA al 3 % en PBS 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, se incubaron las células durante 1 h en hielo con 3 mg/ml de gammaglobulina humana en PBAS. BODIPY-faloaloidina diluido en PBAS y se incubó con células durante 1 hora en hielo. Se sometieron a tinción las células adicionalmente con TOPRO-II, como una contratinción nuclear. Se formaron imágenes de los portaobjetos en un microscopio confocal Leica SP1.

Células. Los anticuerpos monoclonales para la tinción de superficie celular se adquirieron en BD Biosciences (CA). Los monocitos (1×10^6 /ml) de donantes sanos se cultivaron en medio Cellgenics (Francia) que contenía GM-CSF (100 ng/ml) e IL-4 (50 ng/ml) o GM-CSF (100 ng/ml) e IFN α (500 Unidades/ml) (R&D, CA). Para las IFNDC, las células se alimentaron el día 1 con IFN α y GM-CSF. Para las DC de IL-4, se suplementaron las mismas cantidades de citocinas en el medio el día uno y el día tres. Las PBMC se aislaron de capas leucocitarias usando gradientes de Percoll™ (GE Healthcare, Buckinghamshire, RU) mediante centrifugación en gradiente de densidad. Los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ totales se purificaron usando kits de StemCell (CA).

Péptidos. Se sintetizaron 15-meros (solapamiento de 11 aminoácidos) para antígeno específico de la 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), (Mimotopes).

Cultivo conjunto de DC y linfocitos T, y expresiones de citocinas. Se cultivaron 5×10^3 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) con 2×10^5 linfocitos T CD4⁺ marcados con CFSE durante 8 días. Se ensayó la proliferación midiendo la dilución de CFSE después de la tinción de células con anticuerpo anti-CD4 marcado con APC.

Para medir la expresión de IFN γ intracelular, se volvieron a estimular los linfocitos T CD4⁺ con 1-5 μ M de los péptidos indicados durante 5 h en presencia de Brefeldina A. En experimentos separados, se volvieron a estimular los linfocitos T CD4⁺ con los péptidos indicados durante 36 h, y a continuación, se midieron las citocinas secretadas por los linfocitos T CD4⁺ con el Luminex.

Se cultivaron los linfocitos T CD8⁺ junto con las DC durante 10 días en presencia de 20 unidades/ml de IL-2 y 20 unidades/ml de IL-7. El día 10 del cultivo, los linfocitos T CD8⁺ se sometieron a tinción con anti-CD8 y los tetrámeros indicados.

Ensayo de CTL. El día 10 del cultivo, se realizó un ensayo de liberación de ^{51}Cr de 5 h. Se pulsaron los linfocitos T2 en primer lugar con ^{51}Cr y, a continuación, se marcaron con epítipo HLA-A2 de MART-1 10 μ M o epítipo de M1 del virus de la gripe 1 nM. Los linfocitos T2 sin péptido se usaron como control. Se calculó la media de las muestras por triplicado, y se determinó el porcentaje de lisis específica usando la siguiente fórmula: porcentaje de lisis específica = $100 \times (\text{liberación de } ^{51}\text{Cr} \text{ experimental} - \text{liberación de } ^{51}\text{Cr} \text{ de control}) / (\text{liberación de } ^{51}\text{Cr} \text{ máxima} - \text{liberación de } ^{51}\text{Cr} \text{ de control})$. 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 la inmunización de ratones y la exploración e los mAb, respectivamente. Se diseñó un vector de mamífero para proteínas de fusión de IgFc humanas como se ha descrito en [*J. Immunol.* 163: 1973-1983 (1999)]. El vector de expresión de mamíferos para proteínas de ectodominio.AP receptor se generó usando PCR para amplificar ADNc para los restos 133-1581 de AP (gb|BC009647|) a la vez que se añadía un sitio Xho I en fase proximal y un resto de His 6C-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/I 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 sometieron a diálisis frente a PBS.

Se generaron mAb de ratón mediante tecnología convencional. En resumen, se inmunizaron ratones BALB/c de seis semanas de vida i.p. con 20 µg de proteína de fusión de ectodominio.hlgGFc receptor con adyuvante Ribi, a continuación, se reforzaron con 20 µg de antígeno de diez y quince días más tarde. Tras tres meses, los ratones se reforzaron de nuevo tres días antes de extirpar los bazo. De tres a cuatro días después de un refuerzo final, se recogió el drenaje de los ganglios linfáticos (LN). Se fusionaron los linfocitos B del bazo o las células LN con células SP2/O-Ag 14 (ATCC). Se exploraron los sobrenadantes del hibridoma para analizar los mAb específicos de la proteína de fusión del ectodominio receptor en comparación con la pareja de fusión sola, o con el ectodominio receptor fusionado con fosfatasa alcalina [*J. Immunol.* 163: 1973-1983 (1999)]. A continuación, se exploraron los pocillos positivos 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). Se mezclaron los sobrenadantes del hibridoma con un volumen igual de glicina 1,5 M, NaCl 3 M, 1 x PBS, pH 7,8 (tampón de unión) y se movieron con resina MabSelect (GE Healthcare, CA) (800 µl/5 ml de sobrenadante). Se lavó la resina con tampón de unión y se eluyó con glicina 0,1 M, pH 2,7. Después de neutralizar con Tris 2 M, se sometieron los mAb a diálisis frente a PBS.

Expresión y purificación de los mAb recombinantes. Se preparó ARN total a partir de células de hibridoma usando el kit RNeasy (Qiagen, CA) y se usó para la síntesis de ADNc y la PCR (kit SMART RACE, BD Biosciences) usando los cebadores 5' y los cebadores 3' específicos de genes suministrados (mlgGk, 5'ggatggtgggaagatggatcagttggtgcagcatc3' (SEQ ID NO: 48); mlgG2a, 5'ccaggcatccttagagtcaccgaggagccagt3') (SEQ ID NO: 49). A continuación, se clonaron los productos de la PCR (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, se usaron los cebadores específicos para amplificar por PCR el péptido señal y las regiones V, incorporando a la vez sitios de restricción de franqueo para la clonación en vectores de expresión que codifican regiones IgGk o IgG4H humanas cadena abajo. El vector para la expresión de mVk-hlgk quimérico se construyó mediante la amplificación de los restos 401-731 (gij|63101937|) flanqueados por sitios Xho I y Not I e insertando esto en el intervalo de Xho I - Not I de pIRES2-DsRed2 (BD Biosciences). Se usó la PCR para amplificar la región Vk del mAb a partir del codón iniciador, adjuntando un sitio Nhe I o Spe I y, después, CACC, a la región de codificación (por ejemplo, el resto 126 de gij|76779294|), adjuntando un sitio Xho I distal. A continuación, se clonó el fragmento de PCR 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 gij|49257887| y los restos 67-709 de gij|21669402|. El vector de IgG4H humano de control corresponde a los restos 12-1473 de gij|19684072| con las sustituciones 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. Se usó la PCR para amplificar la región VH del mAb a partir del codón iniciador, adjuntando después CACC un sitio Bgl II, a la región que codifica el resto 473 de gij|19684072|. A continuación, se clonó el fragmento de PCR en el intervalo de Bgl II - Apa I del vector anterior.

Expresión y purificación de proteína de fusión de Flu HA1. La secuencia de codificación del antígeno Flu HA1 es una proteína CipA [*Clostridium thermocellum*] gij|479126| con los restos 147-160 que preceden a la hemaglutinina [virus de la gripe A (A/Puerto Rico/8/34(H1N1))] gij|126599271|, los 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 H para codificar proteína de fusión de anticuerpo recombinante-HA1 (rAb.HA1). Asimismo, las proteínas de fusión de anticuerpo recombinante-PSA (rAb.PSA) se codificaron mediante la inserción de los restos 101-832 de antígeno específico de la próstata gij|34784812| con la secuencia proximal GCTAGCGATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACA CTTCTAGCGC (SEQ ID NO: 50) (sitio Nhe I y espaciador CipA) y un sitio Not I distal en el mismo vector de cadena H. Se expresaron proteínas de anticuerpo recombinante y se purificaron como se ha descrito anteriormente para las proteínas de fusión de hFc. En algunos casos, se transfirieron la región codificante del antígeno rAb y la región codificante de la cadena L correspondiente para separar los vectores cethS-puro UCOE (Millipore, CA). El uso de 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)]. Se sembraron células CHO-S cultivadas en CD-CHO con suplementos de medio GlutaMAX y HT (Invitrogen) a 5 x 10⁵ ml 24 h antes de su transfección en

matraces Ehrlenmyer de Corning de 500 ml, y se incubaron en CO₂ al 8 % a 125 rpm. El día de la transfección, se añadieron 1,2 x 10⁷ células con viabilidad de al menos un 95 % hasta un volumen final de 30 ml en un matraz de 125 ml en CD-CHO con GlutaMAX. Se añadieron 48 µl de reactivo FreeStyle Max (Invitrogen) en 0,6 ml de OptiPRO SFM (Invitrogen) mezclando con cuidado a 24 µg de vector de cadena ligera linealizado con Sce I y 24 µg de vector de cadena pesada linealizado con Sce I mezclados y filtrados en condiciones estériles en 0,6 ml de OptiPRO SFM. Después de 20 min, se añadió el complejo de ADN-lípido lentamente al matraz de cultivo de CHO-S de 125 ml con centrifugación. Se incubaron las células 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 µg/ml de puromicina (A.G. Scientific, CA), 2 x GlutaMAX y 0,25 x Pen/Estrep (Invitrogen). El día 2, se añadieron otros 5 µg/ml de puromicina directamente al cultivo y se permitió que la selección evolucionara ~10-14 días mientras se seguía la viabilidad celular a partir de seis días después de la transfección. El recuento de células viables disminuyó y cuando la densidad viable es de ~2-3 x 10⁶/ml, se transfirieron las células a medio de selección recién preparado (CD CHO-S + CHO M5 con 2 x GlutaMAX, 0,25 x Pen/Estrep, 10 µg/ml de Puromicina) a 10⁶/ml. Se prepararon reservas de células congeladas cuando la viabilidad alcanzó > 90 %. Se separaron las células en medio de selección cuando la densidad celular superaba 2 x 10⁶/ml hasta un aumento de 4 x 250 ml en matraces de 500 ml. El sobrenadante se recogió cuando la viabilidad celular cayó por debajo de un 80 % con una densidad celular final máxima ~7 x 10⁶/ml. Los niveles de endotoxina resultaron ser inferiores a 0,2 unidades/ml.

Expresión y purificación de proteínas Flu M1 y MART-1 recombinantes. Se usó la PCR para amplificar el ORF del gen M1 de la gripe A/Puerto Rico/8/34/Mount Sinai (H1N1) mientras se incorporaba un sitio Nhe I distal al codón iniciador y un sitio Not I distal al codón de parada. Se clonó el fragmento digerido en pET-28b(+) (Novagen), colocando el ORF de M1 en fase con una marcador de His6, codificando de este modo la proteína de M1 His.Flu. Un derivado de pET28b (+) codificante de un dominio de cohesina de 169 restos N-terminal de *C. thermocellum* (sin publicar) insertado entre los sitios Nco I y Nhe I expresó Coh.His. Para la expresión de Cohesina-Flex-hMART-1-PéptidoA-His, la secuencia

GACACCACCGAGGCCCGCCACCCCCACCCCCCGTGACCACCCCCACCACCACCGACCGG
AAGGGCACCACCGCCGAGGAGCTGGCCGGCATCGGCATCCTGACCGTGATCCTGGGCGGC
AAGCGGACCAACAACAGCACCACCCACCAAGGGCGAATTCTGCAGATATCCATCACACTGG CGGCCG (SEQ ID NO:51) (codificante de DTTEARHPHPVTPPTDRKGTIAEELAG/ILTVILGGKRTNNSTPTKGEFCRYP SHWRP (SEQ ID NO:52)- los restos en cursiva son el 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 anterior. 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 la resistencia a la kanamicina (40 µg/ml) y se agitaron a 200 revoluciones/min hasta el crecimiento en fase logarítmica media cuando se añadieron 120 mg/l de IPTG. Tras tres horas, se recogieron las células por centrifugación y se almacenaron a -80 °C. Se volvieron a suspender las células de *E. coli* de cada fermentación de 1 l en 30 ml DE Tris 50 mM enfriado con hielo, EDTA 1 mM a pH 8,0 (tampón B) con 0,1 ml de inhibidor de proteasa cóctel II (Calbiochem, CA). Se sometieron las células a ultrasonidos en hielo 2 veces durante 5 min cada vez en el ajuste 18 (Fisher Sonic Dismembrator 60) con un período 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, se pasó la fracción de sobrenadante de lisado celular de 50 ml 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 a través del flujo de Q Sepharose. Esto se cargó a 4 ml/min en una columna HP de quelación HiTrap de 5 ml cargada con Ni⁺⁺. Se lavó la proteína unida a la columna con NaPO₄ 20 mM, NaCl 300 mM a pH 7,6 (tampón D) seguido de otro lavado con H₃COONa 100 mM a pH 4.0. Se eluyó la proteína unida con H₃COONa 100 mM a pH 4,0. Se combinaron las fracciones máximas y se cargaron a 4 ml/min en una columna HiTrap S de 5 ml equilibrada con H₃COONa 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 NaPO₄ 50 mM a pH 5.5. Se combinaron fracciones máximas que eluyeron a NaCl aproximadamente 500 mM. Para la purificación de Coh.Flu M1.His, se sometieron a lisis las células de 2 l de cultivo como se ha descrito anteriormente. Tras la centrifugación, se añadieron 2,5 ml de Triton X114 al sobrenadante con incubación en hielo durante 5 min. Tras la incubación adicional a 25 °C durante 5 min, se separó el sobrenadante del Triton X114 tras la centrifugación a 25 °C. Se repitió la extracción y se pasó el sobrenadante 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 a través del flujo de Q Sepharose. A continuación, se purificó la proteína mediante cromatografía con quelación de Ni⁺⁺ como se ha descrito anteriormente y se eluyó con imidazol 0-500 mM en tampón D.

La Figura 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 Figura 14 muestra la proliferación de linfocitos T CD4 y CD8 por las DC dirigidas con anti-CD40-HA1. Se cultivaron 5 x 10³ IFNDC cargadas junto con 2 µg/ml de anti-CD40-HA o Ig-HA1 de control con linfocitos T CD4⁺ o CD8⁺ autólogos marcados con CFSE (2 x 10⁵) durante 7 días. A continuación, se sometieron las células a tinción con anticuerpos anti-CD4 o anti-CD8. Se ensayó la proliferación celular midiendo la dilución de CFSE.

La Figura 15 muestra una valoración de proteína de fusión de HA1 en la proliferación de linfocitos T CD4⁺. Se cultivaron las IFNDC (5 K) cargadas con proteínas de fusión junto con linfocitos T CD4⁺ marcados con CFSE (200 K) durante 7 días.

La Figura 16 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4⁺ específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Se volvieron a estimular los linfocitos T CD4⁺ con las DC cargadas con 5 uM de los péptidos indicados y, a continuación, se sometió a tinción el IFN γ intracelular.

5 La Figura 17 muestra las IFNDC dirigidas con linfocitos T CD4⁺ específicos de HA1 activados con anti-CD40-HA1. Se volvieron a estimular los linfocitos T CD4⁺ con las DC cargadas con los péptidos indicados durante 36 h y, a continuación, se analizó el sobrenadante del cultivo para determinar la medición de FN γ .

10 La Figura 18 muestra que la dirección de CD40 da lugar a la potenciación de la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8⁺ específicos de MART-1. Se cultivaron IFNDC (5 K/pocillo) cargadas con proteínas de fusión junto con linfocitos T CD8⁺ + purificados durante 10 días. Se sometieron las células a tinción con anti-CD8 y tetrámero. Las células proceden de donantes sanos (HLA-A*0201+).

15 La Figura 19 muestra que la dirección de CD40 da lugar a la potenciación de la sensibilización cruzada de linfocitos T CD8⁺ específicos de MART-1 (Resumen de 8 experimentos repetidos usando células de diferentes donantes sanos).

20 La Figura 20 muestra que los CTL CD8⁺ inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-MART-1 son funcionales. Se mezclaron los linfocitos T CD8⁺ cultivados junto con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión con linfocitos T2 cargados con epítipo de péptido 10 uM.

25 La Figura 21 muestra que los CTL CD8⁺ inducidos con las IFNDC dirigidos con anti-CD40-Flu M1 son funcionales. Los linfocitos T CD8⁺ cultivados junto con las IFNDC dirigidos con proteínas de fusión se mezclaron con linfocitos T2 cargados con epítipo de péptido 1,0 nM.

30 La Figura 22 muestra un esbozo del protocolo para ensayar la capacidad de una vacuna compuesta de anti-CD4012E12 unido a PSA (antígeno específico de la próstata) para generar la expansión de una población de linfocitos T sin tratamiento previo. Los linfocitos T CD4⁺ específicos de PSA corresponden a una amplia selección de epítomos de PSA. En resumen, se incuban las DC obtenidas mediante cultivo con IFN α y GM-CSF de monocitos de un donante sano con la vacuna. Al día siguiente, se disponen las células en medio recién preparado y se añaden linfocitos T CD4⁺ puros del mismo donante. Varios días más tarde, se añaden péptidos de PSA y, tras cuatro horas, se determinan los niveles de gamma-IFN secretado en los sobrenadantes del cultivo.

35 La Figura 23 muestra que muchos péptidos de PSA generan 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 lugar a la sensibilización de respuestas inmunes frente a múltiples epítomos del antígeno. La cartografía de péptidos de antígeno PSA. Se cultivaron 5 x 10³ IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-PSA junto con linfocitos T CD4⁺ autólogos purificados (2 x 10⁵) durante 8 días. A continuación, se volvieron a estimular las células con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de PSA durante 36 h. Se midió la cantidad de IFN γ con Luminex. Las células son de donantes sanos.

40 La Figura 24 muestra que las DC dirigidas con anti-CD40-PSA inducen respuestas de linfocitos T CD8⁺ específicas de PSA. Se dirigieron las IFNDC con 1 ug de proteína de fusión de mAb con PSA. Se cultivaron los linfocitos T CD8⁺ autólogos purificados conjuntamente durante 10 días. Se sometieron las células a tinción 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, lo que, a su vez, genera la expansión de linfocitos T CD8⁺ específicos de PSA. En resumen, se cultivaron 5 x 10³ IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-PSA junto con linfocitos T CD8⁺ autólogos purificados (2 x 10⁵) durante 10 días. A continuación, se sometieron las células a tinción con tetrámero. Las células son de donante sano positivo para HLA-0*201.

50 La Figura 25 es un esquema (izquierda) y la producción de IFN γ por linfocitos T de las combinaciones de péptidos y control para el Donante 2. Se cultivaron 5 x 10³ de las IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 con linfocitos T CD4⁺ autólogos purificados (2 x 10⁵) durante 8 días. A continuación, se volvieron a estimular las células con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Se sometieron las células a tinción para la medición de la expresión de IFN γ intracelular.

55 La Figura 26 muestra un barrido de péptidos y la producción de IFN γ por linfocitos T obtenidos a partir de las combinaciones de péptidos mostrados en la Figura 25 y control para el Donante 2. Se cultivaron 5 x 10³ de las IFNDC cargadas con 2 ug/ml de anti-CD40-Ciclina D1 junto con linfocitos T CD4⁺ autólogos purificados (2 x 10⁵) durante 8 días. A continuación, se volvieron a estimular las células con 5 uM de péptidos individuales obtenidos a partir de Ciclina D1 durante 5 h en presencia de Brefeldina A. Se sometieron las células a tinción para la medición de la expresión de IFN γ intracelular.

60 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 de inducir y activar antígeno específico para la inmunidad mediada por linfocitos T tanto CD4⁺ como CD8⁺. Así pues, las vacunas preparadas con mAb anti-CD40 inducirán una potente inmunidad

frente al cáncer y las infecciones.

Información del péptido:

5 Secuencias de HA1:

MKANLLVLLCALAAADADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDSHNGK
LCR (SEQ ID NO.:53)

LKGIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELRE (SEQ ID NO.:54)

QLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKLKN
S (SEQ ID NO.:55)

YVNKKGKEVLVLWGIHPPNSKEQQNLYQNENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERP KVR
DQA (SEQ ID NO.:56)

GRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKCQTPL
G (SEQ ID NO.:57)

AINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMTGLRNIPSI (SEQ ID NO.:58)

Secuencias de los péptidos de la Figura 17

10 Péptido 22: SSFERFEIFPKESSWPN (SEQ ID NO: 9)

Péptido 45: GNLIAPWYAFALSRGFG (SEQ ID NO: 60)

Péptido 46: WYAFALSRGFGSGIITS (SEQ ID NO: 61).

15

Secuencias de NP:

MASQGTKRSYEQMETDGERQNATEIRASVGKMIGGIGRFYIQMCTELKLSDYEGRLIQ
NS (SEQ ID NO.:62)

LTIERMVLSAFDERRNKYLEEHPSAGKDPKKTGGPIYRRVNGKWMRELILYDKEEIRRI
W (SEQ ID NO.:63)

RQANNGDDATAGLTHMMIWHSNLNDATYQRTRALVRTGMDPRMCSLMQGSTLPRR
SGAAG (SEQ ID NO.:64)

AAVKGVGTMVMELVRMIKRGINDRNFWRGENGRKTRIAYERM CNILKGKFQTAAQK
AMMD (SEQ ID NO.:65)

QVRESRNP GNAEFEDLTFLARSALILRGSAHKSCLPACVYGPAVASGYDFEREGYSL
VG (SEQ ID NO.:66)

IDPFRLLQNSQVYSLIRPNENPAHKSQLVWMACHSAAFEDLRVLSFIKGTKVLPRGKLS
T (SEQ ID NO.:67)

RGVQIASNENMETMESSTLELRSRYWAIRTRSGGNTNQQRASAGQISIQPTFSVQRNLP
F (SEQ ID NO.:68)

DRTTIMAAFNGNTEGRTSDMRTEIIRMMESARPEDVSFQGRGVFELSDEKAASPIVPSF
D (SEQ ID NO.:69)

MSNEGSYFFGDNAEEYDN (SEQ ID NO.:70)

Secuencias de los péptidos de la Figura 23

- 5 Péptido 22: GKWVRELVLVDKEEIRR (SEQ ID NO: 71)
Péptido 33: RTGMDPRMCSLMQGSTL (SEQ ID NO: 72)
Péptido 46: MCNILKGKFQTAAQKAM (SEQ ID NO: 73).

Secuencia del antígeno específico de la próstata (PSA)

10

MWVPVVFLTSLVTWIGAAPLILSRIVGGWECEKHSQPWQVLVASRGRAVCGGVLVHP
QWV (SEQ ID NO.:74)

LTAAH CIRNKS VILLGRHSLFHPEDTGQVFQVSHSFPHP LYDMSLLKNRFLRPGDDSSH
D (SEQ ID NO.:75)

LMLLRLSEPAELTDAVKVMDLPTQEPALGTTTCYASGWGSIEPEEFLTPKKLQCVDLHV
IS (SEQ ID NO.:76)

NDVCAQVHPQKVTKFMLCAGRWTGGKSTCSGDSGGPLVCNGVLQGITSWGSEPCAL
PERP (SEQ ID NO.:77)

SLYTKWHYRKWIKDTIVANP (SEQ ID NO.:78)

Secuencias de los péptidos en la Figura 23

- 15 Péptido 1: APLILSRIVGGWECE (SEQ ID NO: 79)
Péptido 4: ECEKHSQPWQVLVAS (SEQ ID NO: 80)
Péptido 25: GDDSSHDLMLLRLSE (SEQ ID NO: 1)
Péptido 26: SHDLMLLRLSEPAEL (SEQ ID NO: 82)
Péptido 49: SGDSGGPLVCNGVLQ (SEQ ID NO: 83)
20 Péptido 54: GSEPCALPERPSLYT (SEQ ID NO: 84)
Péptido 56: ERPSLYTKVWHYRKW (SEQ ID NO: 85)
Péptido 58: WHYRKWIKDTIVAN (SEQ ID NO: 86).

Secuencia de ciclina D1

MRSYRFSDYLHMSVSFSNDMDLFCGEDSGVFSGESTVDFSSSEVDSPGDSIACFIEDE
R (SEQ ID NO.:87)

HFVPGHDYLSRFQTRSLDASAREDSVAWILKVQAYYNFQPLTAYLAVNYMDRFLYAR
RLP (SEQ ID NO.:88)

ETSGWPMQLLAVACLSLAAKMEEILVPSLFDFQVAGVKYLFEAKTIKRMELLVLSVLD
WR (SEQ ID NO.:89)

LRSVTPFDFFISFFAYKIDPSGTFGLGFFISHATEILSNIKEASFLEYWPSSIAAAAILCV (SEQ ID NO.:90)

ANELPSLSSVVNPHEPETWCDGLSKEKIVRCYRLMKAMAIENNRLNTPKVIKLRVS
VR (SEQ ID NO.:91)

ASSTLTRPSDESSFSSSPCKRRKLSGYSWVGDETSTN (SEQ ID NO.:92)

5 Secuencias de los péptidos de la Figura 26.

Péptido 7: DRVLRAMLKAEETCA (SEQ ID NO: 93)

Péptido 8: RAMLKAEETCAPSVS (SEQ ID NO: 94)

10

Péptido 10: TCAPSVSYFKCVQKE (SEQ ID NO: 95).

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

15

La Figura 27 muestra la expresión y el diseño de la construcción para anticuerpos de péptidos anti-CD40-MART-1. La Figura 28 es un resumen de los epítopos inmunodominantes de CD4⁺ y CD8⁺ para MART-1. Las Figuras 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 H con toda la región de codificación de MART-1 no se secreta en absoluto a partir de LA producción de células de mamífero [no mostrado]. El aducto Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1 se expresa particularmente bien, y es una realización preferida 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 epítopos de MART-1. La diapositiva 2 de la presentación en Powerpoint de MART-1 muestra que estos aductos se pueden añadir de forma satisfactoria a múltiples vehículos de receptor anti-DC.

20

25

La siguiente secuencia es una cadena de péptidos de hMART-1 - cadena H de la proteína de fusión de pep3-pep1-pep2 en la que cada secuencia de péptidos de hMART1 [en negrita y cursiva] está separada por un espaciador interpeptídico f [mostrado en negrita]. En este caso, un conector largo de 27 aminoácidos, flex-v1(v1) [en cursiva], obtenido a partir del precursor B de armazón de anclaje celulosómico [*Bacteroides cellulosolvens* - descrito en la divulgación de la invención de la vacuna de gag-nef] se insertó entre el extremo C-terminal de la cadena H y en la cadena de espacios flexibles de péptidos de hMART1. Los restos de AS subrayados son secuencias de unión.

30

35

[manti-CD40_12E12.3F3_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1] C981 es:

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGS
 TYYPDTVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGTSTVTS
 SAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
 SLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASGFDHRDSKVSLQEKNCEPVVP
NAPPAYEKLSAEQSPPPYSPPASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAASMPREDAHFIYGYPK
KGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGAS (SEQ ID NO.:96)

5 [manti-CD40_12E12.3F3_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1-f3-Pep-2] C978 es:

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGS
 TYYPDTVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGTSTVTS
 SAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
 SLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASGFDHRDSKVSLQEKNCEPVVP
NAPPAYEKLSAEQSPPPYSPPASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAASMPREDAHFIYGYPK
KGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPASVLLIGCWYCR
RRNGYRALMDKSLHVGTQCALTRRCPQEGAS (SEQ ID NO.:97)

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1] C1012 es:

10 QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDK
 RYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYGYGYGGYFDVWGAGTTVT
 VSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK
 GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
 HNHYTQKSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASGFDHRDSKVSLQEKNCEPV
VPNAPPAYEKLSAEQSPPPYSPPASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAASMPREDAHFIYGY
PKKGHHSYTTAEAAAGIGILTVILGAS (SEQ ID NO.:98)

[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3-f4-Pep-1-f3-Pep-2] C1013 es:

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDK
 RYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYGYGYGGYFDVWGAGTTVT
 VSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFEGGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSTPTNNSNPKNPASGFDHRDSKVSLQEKNCEPVVP
NAPPAYEKLSAEQSPPPYSPASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAASMPREDAHFIYGYPK
KGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPASVLLIGCWYCR
RRNGYRALMDKSLHVGTCALTRRCPQEGAS (SEQ ID NO.:99)

5 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 negrita, el péptido 2 está en negrita y cursiva, y el péptido 3 está subrayado en negrita:

AACACCGACAACAACAGATGATCTGGATGCAGCTAGTGGGTTTGATCATCGGGACAGC
 AAAGTGTCTCTTCAAGAGAAAACTGTGAACCTGTGGTTCCCAATGCTCCACCTGCT
 TATGAGAACTCTCTGCAGAACAGTCACCACCACCTTATTCACCTGCTAGTACCAACG
 GCAGCATCACCGTGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTGAACGCCACCCCA
 GCGCCGCGCTAGTATGCCAAGAGAAGATGCTCACTTCATCTATGGTTACCCCAAGAAGGG
 GCACGGCCACTCTTACACCACGGCTGAAGAGGGCGCTGGGATCGGCATCCTGACAGTGATC
 CTGGGAGCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCGCCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACC
 ATCACCCCCACCGCCACCACCAAGCCCGCTAGTGTCTTACTGCTCATCGGCTGTTGGTA
TTGTAGAAGACGAAATGGATACAGAGCCTTGATGGATAAAAGTCTTCATGTTGGCAC
TCAATGTGCCTTAACAAGAAGATGCCACAAGAAGGGtgaGCGGCCGCATCGAAGAGCT
 CGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGGCATGC (SEQ ID NO.:100)

El péptido 3 está en negrita seguido de la secuencia de aminoácidos de Flex-4 - subrayada.

GFDHRDSKVSLQEKNCEPVVPNAPPAYEKL**SAEQSPPPYSP**ASTNGSITVAATAPTVTPT (SEQ ID NO: 101).

El péptido 1 está en negrita seguido de la secuencia de aminoácidos de Flex-3 - subrayada.

VNATPSAAAS**MPREDAHFIYGYPKKGHGH****SYTTAEAAAGIGILTVILGASTVTPTATATP** (SEQ ID NO: 102).

El péptido 3 está en negrita.

SAIVTTITPTATTKPAS**VLLIGCWYCRRRNGYRALMDKSLHVGTCALTRRCPQEG** (SEQ ID NO: 103).

MART1-Péptido 3, la parte en cursiva es el epítipo inmunodominante CD4⁺.

GFDHRDSKVSLQEKNCEPVVPNAPPAYEKL**SAEQSPPPYSP** (SEQ ID NO: 104).

Flex-4

ASTNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAAAS (SEQ ID NO: 105).

- 5 MART1-Péptido 1, la parte en cursiva es el epítipo inmunodominante CD4⁺ y la parte en cursiva subrayada es el epítipo inmunodominante CD8⁺.

MPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILG (SEQ ID NO: 106)

- 10 Flex-3: ASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPAS (SEQ ID NO: 107).

MART1 - Péptido 2 la parte en cursiva es el epítipo inmunodominante CD4⁺.

VLLIGCWYCRRRNGYRALMDKSLHVGTCALTRRCPQEG (SEQ ID NO: 108).

- 15 Construcciones de MART1 con dos péptidos:

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

- 20 ***GFDHRDSKVSLOEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQSPPPYSPASTNGSITVAATAPTPTPTVNA***
TPSAAASMPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGAS (SEQ ID NO.:109)

Secuencia de proteína: C978. rAB-cetHS-puro[manti-CD40_12E12.3F3_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3 (negrita-cursiva-subrayada)-f4(negrita)-Pep-1 (negrita-cursiva)-f3 (cursiva)-Pep-2 (negrita-subrayada)]

- 25 MNLGLSLIFLVVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDDYYMYWVRQTPEK
RLEWVAYINSGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHA
MDYWGGQTSVTVSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP
EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTYRVVSVLTVHLQDNLNKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKASKQTPTNTISVTPTNNTPTNNSNPKPNPAS***GFDHRDS***
KVSLOEKNCEPVVPNAPPAYEKLSAEQSPPPYSPASTNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAAAS

MPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPAS
VLLIGCWYCRRRNGYRALMDKSLHVGTCALTRRCPQEGAS (SEQ ID NO.:110)

Secuencia de proteína: C981. rAB-cetHS-puro[manti-CD40_12E12.3F3_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-hMART-1-Pep-3 (negrita-cursiva-subrayada)-f4-(negrita)-Pep-1](negrita-subrayada)

MNLGLSLIFLVVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEK
 RLEWVAYINSGGGSTYYPD TVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMY YCARRGLPFHA
 MDYWGQGT SVTVSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
 GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKT YTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGPCCPPCPAP
 EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN
 VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKASQTPNTISVTPTNNTPTNNSNPKPNPAS GFDHRDS
KVSLOEKNCPEVVPNAPPAYEKL SAEQSPPPYSPASTNGSITVAATAPTVTPTVNATPSAAAS
MPREDAHFIYGYPKKGHGHSYTTAEAAAGIGILTVILGAS (SEQ ID NO.:111)

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

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

MDLVLRCLLHLAVIGALLAVGATKVP RNQDWLG VSRQLRTKAWN RQLYPEWTEAQR
 LDCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIALNFP GSQKVL PDGQVIWVNNTIINGSQVWGGQP
 VYPQETDDACIFPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVW ***KTWGQYWQV***LG GPVSGLSIGTGRAMLGT
 HTMEVTVYHRRGSR SYVPLAHSSSAFT ***ITDQVPFSV***VSQ LRALDGGNKHFLRNQPLTFALQL
 HDPSGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRALVVTHT ***YLEPGPVTA***QVVLQAAIPLTSCGSSPVPG
 TTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEP SGTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAEST
 GMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAAQVTTTEWVETTARELPIPE
 PEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQGIESAEILQ
 AVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQRLCQPVLPSPACQLVLHQILKGGSGT
 YCLNVSLADTNSLAVVSTQLIMPGQEAGLGQ ***VPLIVGILLVMAVVLASLI***YRRRLMKQDFSVPQ
 LPHSSSHWLRLPRIFCSCPIGENSPLL SGQQV (SEQ ID NO.:112)

Las secuencias de péptidos limitados por HLA-A0201 conocidas son: GP100 M: 209-217 (2M): IMDQVPFSV (SEQ ID NO: 113); 209-217 WT: ITDQVPFSV (SEQ ID NO: 114) GP100 M: 280-288 (9V): YLEPGPVTV (SEQ ID NO: 115) 280-288 WT: YLEPGPVTA (SEQ ID NO: 116) GP100 WT: 154-162: KTWGQYWQV (SEQ ID NO: 117).

Las Figuras 29-33 muestran los aductos de gp100 que se expresaron de forma satisfactoria como vacunas de dirección a receptor anti-DC secretadas. Estos emplearon el uso de las secuencias conectoras flexibles, y la fragmentación y el barajado de la región codificante del ectodominio de gp100. Se describen las realizaciones preferidas de aductos de vacuna de gp100.

La Figura 29 muestra la expresión y el diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100. La Figura 30 muestra el diseño para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicionales. La Figura 31 muestra la expresión y el diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicionales. La Figura 32 es un resumen de los epítomos inmunodominantes CD4⁺ y CD8⁺ para gp100. La Figura 33 muestra la expresión y el diseño de la construcción para anticuerpos de péptido anti-CD40-gp100 adicionales.

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 **negrita-cursiva**, los conectores flexibles están en **negrita** y los restos de AS subrayados son secuencias de unión:

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGS
 TYYPDTVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGSTVTVS
 SAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
 SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHN
 HYTQKSLSLSLGKASDTTEPATPTTPVTTPPTTKVPRNQDWLGVSRLRTKAWNRLYPEWTE
AQRDLCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPGSQKVLDPGQVIWVNNIINGSQVWG
GQPVYPQETDDACIFPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVWKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAML
GTHTMEVTVYHRRGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLRALDGGNKHFLRNQASTNGS
 ITVAATAPTPTPTVNATPSAAASGTTDGHRTTEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEPS
GTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVV
LSGTTAAASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPASQVTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSI
MSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQASTNGSITVAATAPTPT
PTVNATPSAAASGIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQRLCQ
PVLPSPACQLVLHQILKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGQASTVTP
TATATPSAIVTTITPTATTKPASPLTFALQLHDPGYLAADLSYTWDFGDSSGTLISRALVVT
HTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPAS (SEQ ID NO.:118)

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

RLQLQESGPGLLKPSVTLSTCTVSGDSVASSSYWGWVRQPPGKLEWIGTINFSGN
 MYYSPSLRSRVTMSADMSSENSFYCLKDSVTAADTAVYYCAAGHLVMGFGAHWGQGLVSV
 SPASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
 YSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV
 LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
 FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLGKASDTTEPATPTTPVTTPTTTKVPRNQDWLGVSRLRTKAWNRQLYPEW
 TEAQRLLDCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFSIALNFPQSQKVLDPDQVIVVNNTHINGSQV
 WGGQPVPYQETDDACIFPDGGPCPSGWSQKRSFVYVWKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGR
 AMLGTHMEVTVYHRRGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLRALDGGNKHFLRNQAS
 TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAAASGTTDGHRTTEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPT
 AEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEV
 SIVVLSGTTAAASVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPASQVTTTEWVETTARELPIPEPEGPD
 ASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQASTNGSITVAATAP
 TVTPTVNATPSAAASGIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQR
 LCQPVLPSPACQLVLHQILKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGQAST
 VTPTATATPSAIVTTITPTATTKPASPLTFALQLHDPSTGYLAEADLSYTWDFGDSSGTLISRAL
 VVTHTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTSCGSSPVPAS (SEQ ID NO.:119)

- 5 gp100: - Secuencia de ácido nucleico. Péptido 1 - subrayado, Péptido 2 - cursiva, Péptido 3 - negrita, Péptido 4 - negrita-subrayado, Péptido 5 - negrita-cursiva.

GATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACAAAAGT
ACCCAGAAACCAGGACTGGCTTGGTGTCTCAAGGCAACTCAGAACCAAAGCCTGGAACAG
GCAGCTGTATCCAGAGTGGACAGAAGCCCAGAGACTTGACTGCTGGAGAGGTGGTCAAGT
GTCCCTCAAGGTCAGTAATGATGGGCCTACACTGATTGGTGCAAATGCCTCCTTCTCTATT
GCCTTGAACCTCCCTGGAAGCCAAAAGGTATTGCCAGATGGGCAGGTTATCTGGGTCAAC
AATACCATCATCAATGGGAGCCAGGTGTGGGGAGGACAGCCAGTGTATCCCCAGGAAACT
GACGATGCCTGCATCTTCCCTGATGGTGGACCTTGCCCATCTGGCTCTTGGTCTCAGAAGA
GAAGCTTTGTTTATGTCTGGAAGACCTGGGGCCAATACTGGCAAGTTCTAGGGGGCCAG
TGTCTGGGCTGAGCATTGGGACAGGCAGGGCAATGCTGGGCACACACACCATGGAAGTGA
CTGTCTACCATCGCCGGGGATCCCAGAGCTATGTGCCTCTTGCTCATTCCAGCTCAGCCTT
CACCATTACTGACCAGGTGCCTTTCTCCGTGAGCGTGTCCCAGTTGCGGGCCTTGGATGGA
GGGAACAAGCACTTCCTGAGAAATCAGGCTAGTACCAACGGCAGCATCACCGTGGCCGCC
ACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCGCCGCTAGTGGCACC
ACAGATGGGCACAGGCCAACTGCAGAGGCCCTAACACCACAGCTGGCCAAGTGCTACTACA
GAAGTTGTGGGTACTACACCTGGTCAGGCGCCAACCTGCAGAGCCCTCTGGAACCACATCTGTGC

AGGTGCCAACCCTGAAGTCATAAGCACTGCACCTGTGCAGATGCCAACTGCAGAGAGCACAG
 GTATGACACCTGAGAAGGTGCCAGTTTCAGAGGTATGGGTACCACACTGGCAGAGATGTCAAC
 TCCAGAGGCTACAGGTATGACACCTGCAGAGGTATCAATTGTGGTGCTTTCTGGAACACAGCT
 GCAGCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCGCCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATC
 ACCCCCCACCGCCACCACCAAGCCCCGCTAGTCAGGTAACAACACTACAGAGTGGGTGGAGA
 CCACAGCTAGAGAGCTACCTATCCCTGAGCCTGAAGGTCCAGATGCCAGCTCAATCA
 TGTCTACGGAAAGTATTACAGGTTCCCTGGGCCCCCTGCTGGATGGTACAGCCACCT
 TAAGGCTGGTGAAGAGACAAGTCCCCCTGGATTGTGTTCTGTATCGATATGGTTCCT
 TTTCCGTCACCCTGGACATTGTCCAGGCTAGTACCAACGGCAGCATCACCGTGGCCGCC
 ACCGCCCCACCGTGACCCCCACCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCGCCGCTAGTGGTATT
GAAAGTGCCGAGATCCTGCAGGCTGTGCCGTCCGGTGAGGGGGATGCATTTGAGCT
GACTGTGTCTTGCCAAGGCGGGCTGCCCAAGGAAGCCTGCATGGAGATCTCATCGC
CAGGGTGCCAGCCCCCTGCCAGCGGCTGTGCCAGCCTGTGCTACCCAGCCCAGCC
TGCCAGCTGGTTCTGCACCAGATACTGAAGGGTGGCTCGGGGACATACTGCCTCAAT
GTGTCTCTGGCTGATACCAACAGCCTGGCAGTGGTCAGCACCCAGCTTATCGTGCCT
GGGATTCTTCTCACAGGTCAAGAAGCAGGCCTTGGGCAGTAAGCTAGTACCGTGACCC
 CCACCGCCACCGCCACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATCACCCCCACCGCCACCACCA
 AGCCCGCTAGTCTCTGACCTTTGCCCTCCAGCTCCATGACCCTAGTGGCTATCTGGCTGAA
 GCTGACCTCTCCTACACCTGGGACTTTGGAGACAGTAGTGGAACCCTGATCTCTCGGGGACY
 TGTGGTCACTCATACTTACCTGGAGCCTGGCCCAGTCACTGCCCAGGTGGTCCTGCAGGCTG
 CCATTCTCTCACCTCCTGTGGCTCCTCCCCAGTTCCA GCTAGC TGA (SEQ ID NO.:120)

GP100-Péptido 1 - Secuencia de ácido nucleico.

GATACAACAGAACCTGCAACACCTACAACACCTGTAACAACACCGACAACAACAA
 AAGTACCCAGAAACCAGGACTGGCTTGGTGTCTCAAGGCAACTCAGAACCAAAGCCTGGA
 ACAGGCAGCTGTATCCAGAGTGGACAGAAGCCCAGAGACTTGACTGCTGGAGAGGTGGTC
 AAGTGTCCCTCAAGGTCAGTAATGATGGGCCTACACTGATTGGTGCAAATGCCTCCTTCTC
 TATTGCCTTGAACCTCCCTGGAAGCCAAAAGGTATTGCCAGATGGGCAGGTTATCTGGGTC
 AACAATACCATCATCAATGGGAGCCAGGTGTGGGGAGGACAGCCAGTGTATCCCCAGGA
 AACTGACGATGCCTGCATCTTCCCTGATGGTGGACCTTGCCCATCTGGCTCTTGGTCTCAG
 AAGAGAAGCTTTGTTTATGTCTGGAAGACCTGGGGCCAATACTGGCAAGTTCTAGGGGGC
 CCAGTGTCTGGGCTGAGCATTGGGACAGGCAGGGCAATGCTGGGCACACACACCATGGAA
 GTGACTGTCTACCATCGCCGGGGATCCCAGAGCTATGTGCCTCTTGCTCATTCCAGCTCAG
 CCTTACCATTACTGACCAGGTGCCTTTCTCCGTGAGCGTGTCCAGTTGCGGGCCTTGGA
 TGGAGGGAACAAGCACTTCTGAGAAATCAG (SEQ ID NO.:121)

Secuencia de proteína:

DTTEPATPTTPVTTPTTTKVPRNQDWLGVSRLRTKAWNRQLYPEWTEAQRDCWRGGQVS
LKVSNDGPTLIGANASFIALNFPQSQKVLDPGQVIWVNNIINGSQVWGGQPVYPQETDDACI
FPDGGPCPSGSWSQKRSFVYVWKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTMEVTVYHR
RGSQSYVPLAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLRALDGGNKHFLRNQ (SEQ ID NO.:122)

5 GP100-Péptido 3

GGCACACAGATGGGCACAGGCCAACTGCAGAGGCCCTAACACCACAGCTGGCC
AAGTGCCTACTACAGAAGTTGTGGGTACTACACCTGGTCAGGCGCCAACTGCAGAGCCCT
CTGGAACCACATCTGTGCAGGTGCCAACCCTGAAGTCATAAGCACTGCACCTGTGCAGA
TGCCAACTGCAGAGAGCACAGGTATGACACCTGAGAAGGTGCCAGTTTCAGAGGTCATGG
GTACCACACTGGCAGAGATGTCAACTCCAGAGGCTACAGGTATGACACCTGCAGAGGTAT
CAATTGTGGTGCTTTCTGGAACCACAGCTGCA (SEQ ID NO.:123)

Secuencia de proteína:

10

GTTDGHRTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEPSGTTSVQVPTTEVISTAPVQ
MPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVSIVVLSGTTAA (SEQ ID NO.:124)

GP100-Péptido 4:

[0361] CAGGTAACAACACTACAGAGTGGGTGGAGACCACAGCTAGAGAGCTACCTATCCCTG
AGCCTGAAGGTCCAGATGCCAGCTCAATCATGTCTACGGAAAGTATTACAGGTTCCCTGG
GCCCCCTGCTGGATGGTACAGCCACCTTAAGGCTGGTGAAGAGACAAGTCCCCCTGGATT
GTGTTCTGTATCGATATGGTTCCTTTCCGTCACCCTGGACATTGTCCAG (SEQ ID NO.:125)

15

Secuencia de proteína:

QVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDGTATLRLVKRQVPLDCV
LYRYGSFSVTLDIVQ (SEQ ID NO.:126)

20

GP100-Péptido 5

GGTATTGAAAGTGCCGAGATCCTGCAGGCTGTGCCGTCCGGTGAGGGGGATGCAT
TTGAGCTGACTGTGTCTCCTGCCAAGGCGGGCTGCCAAGGAAGCCTGCATGGAGATCTCAT
CGCCAGGGTGCCAGCCCCCTGCCAGCGGCTGTGCCAGCCTGTGCTACCCAGCCCAGCCT
GCCAGCTGGTTCTGCACCAGATACTGAAGGGTGGCTCGGGGACATACTGCCTCAATGTGT
CTCTGGCTGATACCAACAGCCTGGCAGTGGTCAGCACCCAGCTTATCGTGCCTGGGATTCT
TCTCACAGGTCAAGAAGCAGGCCTTGGGCAG (SEQ ID NO.:127)

25

Secuencia de proteína:

GIESAEILQAVPSGEGDAFELTVSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQRLCQPVLPSPACQ
LVLHQILKGGSGTYCLNVSLADTNSLAVVSTQLIVPGILLTGQEAGLGQ (SEQ ID NO.:128)

5 GP100-Péptido 2

CCTCTGACCTTTGCCCTCCAGCTCCATGACCCTAGTGGCTATCTGGCTGAAGCTGA
CCTCTCCTACACCTGGGACTTTGGAGACAGTAGTGGAACCCTGATCTCTCGGGCACYTGTG
GTCACCTCATACTTACCTGGAGCCTGGCCCAGTCACTGCCAGGTGGTCCTGCAGGCTGCCA
TTCCTCTCACCTCCTGTGGCTCCTCCCCAGTTCAGCTAGC (SEQ ID NO.:129)

Secuencia de proteína:

10 PLTFALQLHDPSTGYLAADLSYTWDFGDSSGTLISRAXVVTHTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTS
CGSSPVPAS (SEQ ID NO.:130)

15 Antígeno de Ciclina B1. La Ciclina B1, también conocida como CCNB1, es un gen humano que codifica una proteína reguladora implicada en la mitosis. La Ciclina B1 forma complejos con p34(cdc2) para formar el factor 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.

20 Las Figuras 34A y 34B muestra que la Ciclina B1 de longitud completa fusionada al extremo C-terminal de bien la cadena H del anticuerpo o la cola de cohesión deja de ser secretada a partir de células de mamífero 293F. Los datos son ELISA anti-Fc humano y anti-cohesina en diluciones en serie de sobrenadantes de transfección. Las proteínas rAb.Ciclina B1 y Coh.Ciclina B1 están mal expresadas como productos secretados por las células de mamífero.

25 La siguiente secuencia de aminoácidos es de ciclina B1 humana. Dos regiones de péptidos conocidas por contener epítipo de linfocitos T están resaltadas en **negrita-subrayado** y en *cursiva-subrayado*.

MALRVTRNSKINAENKAKINMAGAKRVPTAPAATSKPGLRPRTALGDIGNKVSEQLQ
AKMPMKKEAKPSATGKVIDKKLPKPLEKVPMLVPVPVSEPVPEPEPEPEPEPVKEEKLSPIL
VDTASPSMETSGCAPAEEDLCQAFSDVILAVNDVDAEDGADPNLCSEYVKDIYAYLRQLEEE
QAVRPKYLLGREVTGNMRAIL**DWL****VQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPKK**
LQLVGVTAMFIASKYEEMYPPEIGDFAFVTDNTYTKHQIRQ**MEMKILRALNFG****LGRPLPLHFL**
RRASKIGEVDVEQHTLAKYLMETMLDYDMVHFPPSQIAAGAFCLALKILDNGEWTPTLQHLYS
YTEESLLPVMQHLAKNVVMVNQGLTKHMTVKNKYATSKHAKISTLPQLNSALVQDLAKAVA
KVHHHHHH (SEQ ID NO.:131)

30 Peptide-1 MEMKILRALNFG LGRPLPLHFLRRASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTMDY (SEQ ID NO: 132)

Péptido-2

DWLQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQNNCVPKK (SEQ ID NO: 133)

35 La Figura 35 muestra un resumen de los niveles de expresión relativa del 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-hlgG4H-C-Flex-v1 (negrita)-hCiclinaB1-Péptido-2(cursiva)-Péptido-1 (negrita-cursiva)-f4 (negrita)] [conectores de AS - subrayados].

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPD
TVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGTSTVTSSAKTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNP ASDWL VQVQMKFRLQETMYMTVSII
DRFMQNNCVPKKASMEMKILRALNFGGLGRPLPLHFLRRASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTMLD
YASTNDSITVAATAPTPTVNATPSAAAS (SEQ ID NO.:134)

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

ATGAACCTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAG
TGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCCGGAGGGTCCCTGAACTCTCCT
GTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCAGACTCCAGA
GAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCCAGA
CACTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCA
AATGAGCCGGCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGGTACC
GTTCCATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACG
AAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCC
GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCA
GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCA
ACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGT
CCCCCATGCCACCCCTGCCAGCACCTGAGTTGGAAGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTC
CCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGG
TGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGG
TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCA
GCGTCTCACCCTGCTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
CCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC
GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC
AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
AATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC

10

TTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTC
TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGT
CTCTGGGTAAAGCTAGTCAGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACA
GCACCCCCACCAACAACAGCAACCCCCAAGCCCCAACCCCGCTAGTGACTGGCTAGTACAGG
TTCAAATGAAATTCAGGTTGTTGCAGGAGACCATGTACATGACTGTCTCCATTATTGATCG
GTTTCATGCAGAATAATTGTGTGCCCAAGAAGGCTAGTATGGAAATGAAGATTCTAAGAGC
TTTAAACTTTGGTCTGGGTCGGCCTCTACCTTTGCACTTCCTTCGGAGAGCATCTAAGATTG
GAGAGTTGATGTGCGAGCAACATACTTTGGCCAAATACCTGATGGAACATACTATGTTGG
ACTATGCTAGTACCAACGACAGCATCACCGTGGCCGCCACCGCCCCACCGTGACCCCCA
CCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCGCCGCTAGCTGA (SEQ ID NO.:135)

C1143 rAB-cetHS-puro[manti-CD40_12E12.3F3_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (negrita)-hCidinaB1-Péptido-2(cursiva)-f3 (negrita)] [conectores de AS - subrayados].

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPD
TVKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGSVTVSSAKTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNP ASDWL VQVQMKFRLLQETMYMTVSII
DRFMQNNCVPKKASTVTPTATATPSAIVTTITPTATTKPAS (SEQ ID NO.:136)

5

La de arriba es la secuencia de la cadena H secretada madura para una forma de la vacuna anti-CD4012E12-ciclina B1. Los restos de AS son de sitios de restricción de la unión. La secuencia de codificación de ADN se muestra a continuación, e incluye el péptido señal.

10

ATGAACCTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAG
TGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGACGCCCGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCT
GTGCAACCTCTGGATTCACTTTCACTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCAGACTCCAGA
GAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCCAGA
CACTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCA
AATGAGCCGGCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGGTACC
GTTCCATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACG
AAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCC
GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACTCA
GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCA
ACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGT

CCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCC
 CCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGG
 TGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGG
 TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCA
 GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
 CCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC
 GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC
 AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
 AATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC
 TTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTC
 TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGT
 CTCTGGGTAAAGCTAGTCAGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACA
 GCACCCCCACCAACAACAGCAACCCCAAGCCCAACCCCGCTAGTGAAGTGGCTAGTACAGG
 TTCAAATGAAATTCAGGTTGTTGCAGGAGACCATGTACATGACTGTCTCATTATTGATCG
 GTTCATGCAGAATAATTGTGTGCCAAGAAGGCTAGTACCGTGACCCCCACCGCCACCGC
 CACCCCCAGCGCCATCGTGACCACCATCACCCCCACCGCCACCACCAAGCCCGCTAGCTG
 A (SEQ ID NO.:137)

C911 rAB-cetHS-puro[manti-CD40_12E12.3F3_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (negrita)-hCidinaB1-Péptido-1 (cursiva)-f4 (negrita)]

5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSYYMYWVRQTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPD
 TVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRGLPFHAMDYWGQGSTVTVSSAKTK
 GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 VTPVSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW
 LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSLGKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASMELKILRALNFGLGRPLPLHFLRR
 ASKIGEV DVEQHTLAKYLMELTMLDYASTNGSITVAATAPTPTVNATPSAAAS (SEQ ID
 NO.:138)

Secuencia de ácido nucleico de C911 rAB-cetHS-puro[manti-CD40_12E12.3F3_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (negrita)-hCiclinaB1-Péptido-1 (cursiva)-f4 (negrita)].

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAG
TGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCCGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCT
GTGCAACCTCTGGATTCACTTTTCACTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCAGACTCCAGA
GAAGAGGCTGGAGTGGGTTCGCATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCCAGA
CACTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCA

AATGAGCCGGCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGGTTACC
GTTCCATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACG
AAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCC
GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCA
GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCA
ACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGT
CCCCCATGCCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCC
CCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGG
TGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGG
TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCA
GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT
CCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC
GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC
AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
AATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTC
TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGT
CTCTGGGTAAAGCTAGTCAGACCCCCACCAACACCATCAGCGTGACCCCCACCAACAACA
GCACCCCCACCAACAACAGCAACCCCAAGCCCAACCCCGCTAGTATGGAAATGAAGATTC
TAAGAGCTTTAACTTTGGTCTGGGTTCGGCCTCTACCTTTGCACTTCCTTCGGAGAGCATC
TAAGATTGGAGAGGTTGATGTGAGCAACATACTTTGGCCAAATACCTGATGGAACATAAC
TATGTTGGACTATGCTAGTACCAACGGCAGCATCACCGTGGCCGCCACCGCCCCACCGT
GACCCCCACCGTGAACGCCACCCCCAGCGCCGCGCTAGCTGA (SEQ ID NO.:139)

- 5 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 expresión de la ciclina D1 se ha estudiado ampliamente en ciertos tipos de cáncer incluyendo el linfoma y el cáncer de pulmón de células no microcíticas. Aproximadamente un 30 por ciento de los carcinomas de mama son positivos en Ciclina D1. La sobreexpresión de la Ciclina D1 es ahora un criterio bien establecido para el diagnóstico del linfoma de células del manto, un linfoma no Hodgkin, maligno, que se caracteriza por una translocación cromosómica única, t(11;14).
- 10

Ciclina D1 - Péptido 1 - **negrita**, Péptido 2 - **negrita-subrayado**, Péptido 3 - *cursiva*, Péptido 4 - subrayado.

MEHQLLCCEVETIRRAYPDANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCVQKEVLP
SMRKIVATWMLEVCEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVASK
MKETIPLTAEKLCIYTDNSIRPEELLQMELL*LVNKLKWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENK*
QIIRKHAQTFVALCATDVVKFISNPPSMVAAGSVVAAVQGLNLRSPNNFLSYRRLTRFLSRVIKCD

PDCLRACQEQIEALLESSLRQAQQNMDPKAAEEEEEEEEVDLACTPTDVRDVDI (SEQ ID NO.:140)

5 Pep-1:

MEHQLLCCEVETIRRAYPDANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCV (SEQ ID NO: 141)

Pep-2

10

QKEVLPSMRKIVATWMLEVCEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVA
 SKMKETIPLTAEKLCIYTDNSIRPEELLQMELL (SEQ ID NO.:142)

Pep-3

15 LVNKLKWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENKQIIRKHAQTFVALCATDVVKFISNPPSMV (SEQ ID NO: 143)

Pep-4

AAGSVVAAVQGLNLRSPNNFLSYRRLTRFLSRVIKCDPDCLRACQEQIEALLESSLRQAQQNM
 DPKAAEEEEEEEEVDLACTPTDVRDVDI (SEQ ID NO.:144)

20

Secuencia de Flex-4

TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14)

25

Secuencia de Flex-3

TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13)

Flex-var1

30

QTPTNTISVTPTNNSTPTNNSNPKPNP (SEQ ID NO: 145)

La Figura 35 muestra la estrategia de segmentación de la ciclina B1 basada en las regiones de dominio estructurales conocidas o predichas.

35

La Figura 36 muestra que los segmentos de Ciclina D1 p1, p3 y p4, pero no p2, se expresan bien como fusiones directas al extremo C-terminal de la cadena H. Se trata de transfecciones transitorias de los vectores de cadena H transfectados junto con el vector de expresión de la cadena L en células 293F y los sobrenadantes recogidos después de 48-72 horas de expresión. Los segmentos de ciclina D1 p3 + p4 unidos entre sí en el extremo C-terminal de la cadena H también se expresan bien, pero otras diversas combinaciones, con y sin segmentos flexibles intercalados no se expresan o se expresan muy mal.

40

La Figura 37 muestra los niveles de expresión relativa de diversos segmentos de ciclina D1 como fusiones directas al extremo C-terminal de la cadena H en diversas combinaciones con secuencias conectoras flexibles. Se trata de transfecciones transitorias de los vectores de cadena H transfectados junto con el vector de expresión de la cadena L en células 293F, y los sobrenadantes se recogieron después de 48-72 horas de expresión. Los segmentos de ciclina D1 p2 + p3 + p4 + f4 unidos entre sí en el extremo C-terminal de la cadena H también se expresan lo suficientemente bien como para la producción de vacunas.

45

A continuación, se presentan las secuencias de proteínas de fusión de anti-DCIR 9E8- cadena H de Ciclina D1 útiles.

1082 es rAB-plRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (negrita)-hCiclinaD1-Pep-1 (cursiva)-f4 (negrita)--]

5

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDK
RYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVT
VSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLGLKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASMEHQLLCCEVETIRRAYP
DANLLNDRVLRAMLKAEETCAPSVSYFKCVASTNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAAAS (SEQ
ID NO.:146)

C1086 es rAB-plRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1 (negrita)-hCiclinaD1-Pep-2-(negrita)-Pep-3(negrita subrayado)- Pep-4 (cursiva)-f4)(negrita)]

10

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGLSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDK
RYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITIVDTADAATYYCARSSHYYGYGYGGYFDVWGAGTTVT
VSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLGLKASQTPTNTISVTPTNNSPTNNSNPKNPASQKEVLPSMRKIVATW
MLEVCEEQKCEEEVFPLAMNYLDRFLSLEPVKKSRLQLLGATCMFVASKMKETIPLTAE
KLCIYTDNSIRPEELLQMELLVNKLKWNLAAMTPHDFIEHFLSKMPEAEENKQIRKHA
QTFVALCATDVKFISNPPSMVAAGSVVAAVQGLNLRSPNNFLSYRLTRFLSRVIKCDPDCLRAC
QEIQEALLESSLRQAQQNMDPKAAEEEEEEEEVDLACTPTDVRDVIASTNGSITVAATAPTPT
PTVNATPSAAAS (SEQ ID NO.:147)

La Figura 38 muestra un resumen de las diversas construcciones de cadena H-segmentos de Ciclina D1 y su expresividad relativa como vacunas.

15

La Figura 39 anterior muestra que la ciclina D1 de longitud completa fusionada al extremo C-terminal de una cadena H del anticuerpo de dirección a DC se expresa muy mal como un anticuerpo recombinante secretado.

anti-CD40_12E12.3F3

20

anti-CD40_12E12.3F3_H-V-hlgG4H-C – la región subrayada muestra la secuencia de aminoácidos de la región V de la cadena pesada:

MNLGLSLIFLVVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVR
QTPEKRLEWVAYINSGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNANTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARRG
LPFHAMDYWGQGTSTVFVSSAKTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPPC
PPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKAS (SEQ ID NO.: 148)

anti-CD40_12E12.3F3_K-V-hlgGK-C – la región subrayada muestra la secuencia de aminoácidos de la región V de la cadena ligera:

5 MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQ
KPDGTVKLLIYYTSILHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIGNLEPEDIATYYCQQFNKLPTFGGGTK
LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC- (SEQ ID NO.: 149)

anti-CD40_12B4.2C10

10 Cadena pesada de anti-CD40_12B4.2C10:

MEWSWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVLHWV
KQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARG
YPAYSGYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVT
WNSGSLSSGVHTFPAVLQKGEFV (SEQ ID No.: 150)

Cadena ligera de anti-CD40_12B4.2C10:

15 MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQ
KPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCHHGNTLPWTFGGGT
KLEIKRADAAPTYSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQ
DSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID No.: 151)

Cadena ligera de anti-CD40_12B4.2C10- clon alternativo (17K6)

MDFQVQIFSFLLISASVIMSRGQIVLTQSPAILSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYRYQQK
PGSSPKPWIYGTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQYHSYPLTFGAGTK
LELKRADAAPTYSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQ
DSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID No.: 152)

20 anti-CD40_11B6.1C3

Cadena pesada de anti-CD40_HB6.1C3:

MGWSWIFLFLLSGTAGVLSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVWK
QSHVKSLEWIGRINPYNGATSYNQNFKDKASLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCARED
YVYWGGQTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSS
GVHTFPAVLQKGEFV (SEQ ID No.: 153)

Cadena ligera de anti-CD40_HB6.1C3:

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLH
WYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFAKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPWT
FGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLN
SWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID No.:
154)

[anti-CD40_12E12.3F3_K-V-hlgGK-C] – la región subrayada muestra la secuencia de la región V de la cadena ligera.

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGA
TGTGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTAGGAGACAGAGTCA
CCATCAGTTGCAGTGCAAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAAC
CAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTATTACACATCAATTTTACACTCAGGAGTCCCATC
AAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCGGCAACCTGGAACC
TGAAGATATTGCCACTTACTATTGTCAGCAGTTTAATAAGCTTCCTCCGACGTTCTGGTGGA
GGCACCAAACCTCGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCAT
CTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCC
CAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGG
AGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO.: 155)

[anti-CD40_12E12.3F3_H-V-hlgG4H-C] – la región subrayada muestra la secuencia de la región V de la cadena pesada:

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGT
GAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTC
TCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCAGACTCC
AGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTAATTCTGGTGGTGGTAGCACCTATTATCC
AGAACTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCT
GCAAATGAGCCGGCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGACGGGGGT

ACCGTTCCATGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAA
ACGAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACA
GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC
TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCT
ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCT
GCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATAT
GGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCGAAGGGGGACCATCAGTCTTCCTGT
TCCCCC AAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGT
GGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGA
GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGG
TCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG
TCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGC
CCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAG
GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC
TCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTC
TTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCC
TGTCTCTGGGTAAAGCTAGCTGA (SEQ ID NO.: 156)

Cadena pesada de anti-CD40_12B4.2C10_H-V-hlgG4H-C

ATGGAATGGAGTTGGATATTTCTCTTTCTTCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCACTC
 TGAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGAT
 GTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTATGTTTTGCACTGGGTGAAACAGAAG
 CCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACAATGATGGTACTAAGTACA
 ATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACA
 TGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGGCTATCC
 GGCCTACTCTGGGTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
 GCCAAAACGAAGGGGCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAG
 AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG
 TGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTACAGTCCTCAG
 GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCT
 ACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCC
 AAATATGGTCCCCCATGCCACCCCTGCCAGCACCTGAGTTTGAAGGGGGACCATCAGTC
 TTCCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGT
 GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATG
 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTAC
 CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG
 TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
 GGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAA
 GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA
 GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGTGTCTGGACT
 CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGG
 GGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGA
 GCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAGCTAGCTGA (SEQ ID NO.: 157)

Cadena ligera de anti-CD40_12B4.2C10_K-V-hlgGK-C (Variante 2)

ATGGATTTTCAAGTGCAGATTTTCAGCTTCCTGCTAATCAGTGCCTCAGTCATAAT
GTCCAGGGGACAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCCTGTCTGCATCTCCAGGGGAG
AAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGTACAGGTACCAGCAG
AAGCCAGGATCCTCACCCAAACCCTGGATTTATGGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCC
CTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCTCTTATTCTCTCACAATCAGCAGCATGGA
GGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAATATCATAGTTACCCGCTCACGTTCCGT
GCTGGGACCAAGCTCGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC
CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA
TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCA
GGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGA
CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG
GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO.: 158)

5 Cadena ligera de anti-CD40_12B4.2C10_K-V-hlgGK-C (Variante 2)

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGA
TGTGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCA
CCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAAC
CAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATC
AAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCA
AGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCATCATGGTAATACGCTTCCGTGGACGTTCCGTGGA
GGCACCAAGCTCGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCAT
CTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCC
CAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGG
AGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO.: 159)

Cadena pesada de anti-CD40_11B6.1C3_H-V-hlgG4H-C

ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTTCTCCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCTCTC
 TGAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGAT
 ATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACTACATGCACTGGGTGAAGCAAAGC
 CATGTAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGACGTATTAATCCTTACAATGGTGCTACTAGCTACA
 ACCAGAATTTCAAGGACAAGGCCAGCTTGACTGTAGATAAGTCCTCCAGCACAGCCTACA
 TGGAGCTCCACAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGAGGACT
 ACGTCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCCAAAACGAAGGGCCCAT
 CCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCT
 GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGA
 CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
 CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCA
 CAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCC
 ACCCTGCCCAGCACCTGAGTTTGAAGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCCTCAACCC
 AAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC
 CAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
 AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC
 GTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGG
 CCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACA
 GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG
 CCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC
 GGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTAC
 AGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTG
 ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA
 GCTAGCTGA (SEQ ID NO.: 160)

Cadena ligera de anti-CD40_11B6.1C3_K-V-hlgGK-C

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCTGCTTCCAGCAG
 TGATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCC
 ATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGGAAACACCTATTTACATTGGT
 ACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTC
 TGGGGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTGCGACTCAAGATCAG
 TAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTGG
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTCGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTC
 ATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA
 ATAACCTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGG
 GTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC
 AGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCCTGCGAAGTC

ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

(SEQ ID NO:161)

5 Se contempla que cualquier realización descrita en la presente memoria descriptiva se puede implantar en relación con cualquier método, kit, reactivo o composición de la invención, y viceversa. Además, las composiciones de la invención se pueden usar para lograr los métodos de la invención.

10 Se entenderá que las realizaciones concretas descritas en el presente documento se muestran a modo de ilustración y no como limitaciones de la invención.

15 El uso del término "uno" o "una", cuando se usa junto con la expresión "que comprende" en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva, puede significar "uno/a", pero también es coherente con el significado de "uno/a o más", "al menos uno/a" y "uno/a o más de uno/a". 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 se excluyan entre sí, aunque la divulgación apoye una definición que se refiera solo a alternativas e "y/o". A lo largo de la presente solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la variación de error inherente para el dispositivo, siendo empleado el método para determinar el valor o la variación que existe entre los objetos de estudio.

20 Como se usa en la presente memoria descriptiva y en la/s reivindicación/es, las expresiones "que comprende" (y cualquier forma de que comprende, tal como "comprenden" y "comprende"), "que tiene" (y cualquier forma de que tiene, tal como "tienen" y "tiene"), "que incluye" (y cualquier forma de que incluye, tal como "incluyen" e "incluye") o "que contiene" (y cualquier forma de que contiene, tal como "contienen" y "contiene") son inclusivas o indefinidas, y no excluyen elementos ni etapas del método sin mencionar, adicionales.

25 La expresión "o combinaciones de los/las mismos/as", 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, y si el orden es importante en un determinado contexto, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC o CAB. Siguiendo con este ejemplo, se incluyen expresamente las 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 comprenderá que, normalmente, no hay ningún límite en el número de elementos o términos de cualquier combinación, a menos que otra cosa sea evidente por el contexto.

35 Todas las composiciones y/o los métodos desvelados y reivindicados en el presente documento pueden realizarse y ejecutarse sin la necesidad de experimentación a la luz de la presente divulgación.

LISTADO DE SECUENCIAS

	<110> Baylor Research Institute
5	<120> VACUNAS DIRIGIDAS A CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENOS
	<130> R 60123
10	<140> EP 10751208.9 <141> 04-03-2010
	<150> 61/159.059 <151> 10-03-2009
15	<150> 61/159.055 <151> 10-03-2009
20	<150> 61/159.062 <151> 10-03-2009 <160> 161 <170> PatentIn versión 3.5
25	<210> 1 <211> 32 <212> PRT <213> Secuencia artificial
30	<220> <223> Péptido de VIH sintético. <400> 1
	Val Gly Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr 1 5 10 15
35	Lys Ala Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu 20 25 30
40	<210> 2 <211> 30 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Péptido de VIH sintético.
45	<400> 2
	His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro 1 5 10 15
50	Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Leu Tyr Lys Leu 20 25 30 <210> 3 <211> 19 <212> PRT <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de VIH sintético.

<400> 3

5

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

His Ile Val

<210> 4

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Péptido de VIH sintético.

15

<400> 4

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

20

<210> 5

<211> 31

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Péptido de VIH sintético.

<400> 5

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

30

<210> 6

<211> 475

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> cadena pesada de hlgG4 (H) - proteína de fusión de gag17 de VIH.

40

<400> 6

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	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	Glu	Lys	Ile	Arg	Leu	Arg	Pro	Gly	Gly	Lys	450	455	460	

Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Ala Ser
465 470 475

5 <210> 7
 <211> 488
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Cadena H - proteína de fusión de gag253 de VIH.
 <400> 7

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				

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	Asn	Pro	Pro	Ile	Pro	Val	Gly	Glu	Ile	Tyr
	450					455					460				
Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys	Ile	Val	Arg	Met	Tyr	Ser
465					470					475					480
Pro	Thr	Ser	Ile	Leu	Asp	Ala	Ser								
				485											

<210> 8
 <211> 486
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cadena H - proteína de fusión de nef116 de VIH.

<400> 8

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
 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 His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln
450 455 460

Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp
465 470 475 480

Leu Tyr Lys Leu Ala Ser
485

- 5 <210> 9
<211> 488
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> Cadena H - proteína de fusión de nef66 de VIH.

<400> 9

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
			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	Val	Gly	Phe	Pro	Val	Thr	Pro	Gln	Val	Pro
	450					455					460				
Leu	Arg	Pro	Met	Thr	Tyr	Lys	Ala	Ala	Val	Asp	Leu	Ser	His	Phe	Leu
465					470					475					480
Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Leu	Ala	Ser								
				485											

<210> 10
 <211> 487
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cadena H - proteina de fusión de pol158 de VIH.

<400> 10

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
 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 Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile
 450 455 460

Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr
 465 470 475 480

Met Asp Asp Leu Tyr Ala Ser
 485

5 <210> 11
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencia enlazadora sintética.

 10 <400> 11

Ser Ser Val Ser Pro Thr Thr Ser Val His Pro Thr Pro Thr Ser Val
1 5 10 15

Pro Pro Thr Pro Thr Lys Ser Ser Pro
20 25

 15 <210> 12
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Péptido enlazador sintético.

 <400> 12

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

Pro Thr Ala Thr Pro Thr Ile Lys Gly
20 25

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

 30 <220>
 <223> Péptido enlazador sintético.

 <400> 13

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

 35 <210> 14
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Péptido enlazador sintético.

 45 <400> 14

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

Thr Val Asn Ala Thr Pro Ser Ala Ala
 20 25

<210> 15

<211> 2299

<212> PRT

<213> *Bacteroides cellulosolvens*

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Ser Tyr Gly Ser Phe Ser Gly Met Ser Gly Lys Glu Met Gln Ser
 145 150 155 160

Leu Ser Pro Thr Phe Phe Ser Gly Ser Ile Asp Val Ser Asp Val Ser
 165 170 175

Thr Ser Lys Leu Asp Val Lys Val Gly Asn Val Glu Gly Ile Ala Gly
 180 185 190

Thr Glu Val Asn Val Pro Ile Thr Phe Glu Asn Val Pro Asp Asn Gly
 195 200 205

Ile Asn Asn Cys Asn Phe Thr Leu Ser Tyr Asp Ser Asn Ala Leu Glu
 210 215 220

Phe Leu Thr Thr Glu Ala Gly Asn Ile Ile Pro Leu Ala Ile Ala Asp
 225 230 235 240

Tyr Ser Ser Tyr Arg Ser Met Glu Gly Lys Ile Lys Phe Leu Phe Ser
 245 250 255

Asp Ser Ser Gln Gly Thr Arg Ser Ile Lys Asn Asp Gly Val Phe Ala
 260 265 270

Asn Ile Lys Phe Lys Ile Lys Gly Asn Ala Ile Arg Asp Thr Tyr Arg
 275 280 285

Ile Asp Leu Ser Glu Leu Gly Ser Phe Ser Ser Lys Gln Asn Asn Asn
 290 295 300

Leu Lys Ser Ile Ala Thr Gln Phe Leu Ser Gly Ser Val Asn Val Lys
 305 310 315 320

Asp Ile Glu Ser Ser Val Ser Pro Thr Thr Ser Val His Pro Thr Pro
 325 330 335

Thr Ser Val Pro Pro Thr Pro Thr Lys Ser Ser Pro Gly Asn Lys Met
 340 345 350

Lys Ile Gln Ile Gly Asp Val Lys Ala Asn Gln Gly Asp Thr Val Ile
 355 360 365

Val Pro Ile Thr Phe Asn Glu Val Pro Val Met Gly Val Asn Asn Cys
 370 375 380

Asn Phe Thr Leu Ala Tyr Asp Lys Asn Ile Met Glu Phe Ile Ser Ala
 385 390 395 400

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

Gln Thr Pro Val Pro Ser Asn Thr Glu Val Gln Thr Pro Thr Asn Thr
 645 650 655
 Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr
 660 665 670
 Pro Lys Pro Asn Pro Leu Tyr Asn Leu Asn Val Asn Ile Gly Glu Ile
 675 680 685
 Ser Gly Glu Ala Gly Gly Val Ile Glu Val Pro Ile Glu Phe Lys Asn
 690 695 700
 Val Pro Asp Phe Gly Ile Asn Asn Cys Asp Phe Ser Val Lys Tyr Asp
 705 710 715 720
 Lys Ser Ile Phe Glu Tyr Val Thr Tyr Glu Ala Gly Ser Ile Val Lys
 725 730 735
 Asp Ser Ile Val Asn Leu Ala Cys Met Glu Asn Ser Gly Ile Ile Asn
 740 745 750
 Leu Leu Phe Asn Asp Ala Thr Gln Ser Ser Ser Pro Ile Lys Asn Asn
 755 760 765
 Gly Val Phe Ala Lys Leu Lys Phe Lys Ile Asn Ser Asn Ala Ala Ser
 770 775 780
 Gly Thr Tyr Gln Ile Asn Ala Glu Gly Tyr Gly Lys Phe Ser Gly Asn
 785 790 795 800
 Leu Asn Gly Lys Leu Thr Ser Ile Asn Pro Ile Phe Glu Asn Gly Ile
 805 810 815
 Ile Asn Ile Gly Asn Val Thr Val Lys Pro Thr Ser Thr Pro Ala Asp
 820 825 830
 Ser Ser Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Pro Thr Ala Thr Pro Thr Ile
 835 840 845
 Lys Gly Thr Pro Thr Val Thr Pro Ile Tyr Trp Met Asn Val Leu Ile
 850 855 860
 Gly Asn Met Asn Ala Ala Ile Gly Glu Glu Val Val Val Pro Ile Glu
 865 870 875 880

Phe Lys Asn Val Pro Pro Phe Gly Ile Asn Asn Cys Asp Phe Lys Leu
 885 890 895

Val Tyr Asp Ser Asn Ala Leu Glu Leu Lys Lys Val Glu Ala Gly Asp
 900 905 910

Ile Val Pro Glu Pro Leu Ala Asn Leu Ser Ser Asn Lys Ser Glu Gly
 915 920 925

Lys Ile Gln Phe Leu Phe Asn Asp Ala Ser Gln Gly Ser Met Gln Ile
 930 935 940

Glu Asn Gly Gly Val Phe Ala Lys Ile Thr Phe Lys Val Lys Ser Thr
 945 950 955 960

Ala Ala Ser Gly Ile Tyr Asn Ile Arg Lys Asp Ser Val Gly Ser Phe
 965 970 975

Ser Gly Leu Ile Asp Asn Lys Met Thr Ser Ile Gly Pro Lys Phe Thr
 980 985 990

Asp Gly Ser Ile Val Val Gly Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr
 995 1000 1005

Pro Ser Ala Ile Val Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys
 1010 1015 1020

Pro Ile Ala Thr Pro Thr Ile Lys Gly Thr Pro Thr Ala Thr Pro
 1025 1030 1035

Met Tyr Trp Met Asn Val Val Ile Gly Lys Met Asn Ala Glu Val
 1040 1045 1050

Gly Gly Glu Val Val Val Pro Ile Glu Phe Asn Asn Val Pro Ser
 1055 1060 1065

Phe Gly Ile Asn Asn Cys Asp Phe Lys Leu Val Tyr Asp Ala Thr
 1070 1075 1080

Ala Leu Glu Leu Lys Asn Val Glu Ala Gly Asp Ile Ile Lys Thr
 1085 1090 1095

Pro Leu Ala Asn Phe Ser Asn Asn Lys Ser Glu Glu Gly Lys Ile
 1100 1105 1110

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

Glu Phe	Lys Asn Val Pro Ser	Phe Gly Ile Asn Asn	Cys Asp Phe
1340	1345	1350	
Lys Leu	Val Tyr Asp Ala Thr	Ala Leu Glu Leu Lys	Asn Val Glu
1355	1360	1365	
Ala Gly	Asp Ile Ile Lys Thr	Pro Leu Ala Asn Phe	Ser Asn Asn
1370	1375	1380	
Lys Ser	Glu Glu Gly Lys Ile	Ser Phe Leu Phe Asn	Asp Ala Ser
1385	1390	1395	
Gln Gly	Ser Met Gln Ile Glu	Asn Gly Gly Val Ser	Ala Lys Ile
1400	1405	1410	
Thr Phe	Lys Val Lys Ser Thr	Thr Ala Ile Gly Val	Tyr Asp Ile
1415	1420	1425	
Arg Lys	Asp Leu Ile Gly Ser	Phe Ser Gly Leu Lys	Asp Ser Lys
1430	1435	1440	
Met Thr	Ser Ile Gly Ala Glu	Phe Thr Asn Gly Ser	Ile Thr Val
1445	1450	1455	
Ala Thr	Thr Ala Pro Thr Val	Thr Pro Thr Ala Thr	Ala Thr Pro
1460	1465	1470	
Ser Val	Thr Ile Pro Thr Val	Thr Pro Thr Ala Thr	Ala Thr Pro
1475	1480	1485	
Gly Thr	Ala Thr Pro Gly Thr	Ala Thr Pro Thr Ala	Thr Ala Thr
1490	1495	1500	
Pro Gly	Ala Ala Thr Pro Thr	Glu Thr Ala Thr Pro	Ser Val Met
1505	1510	1515	
Ile Pro	Thr Val Thr Pro Thr	Ala Thr Ala Thr Pro	Thr Ala Thr
1520	1525	1530	
Ala Thr	Pro Thr Val Lys Gly	Thr Pro Thr Ile Lys	Pro Val Tyr
1535	1540	1545	
Lys Met	Asn Val Val Ile Gly	Arg Val Asn Val Val	Ala Gly Glu
1550	1555	1560	

Glu Val 1565	Val Val Pro Val	Glu Phe Lys Asn Ile	Pro Ala Ile Gly 1575
Val Asn 1580	Asn Cys Asn Phe	Val Leu Glu Tyr Asp	Ala Asn Val Leu 1590
Glu Val 1595	Lys Lys Val Asp	Ala Gly Glu Ile Val	Pro Asp Ala Leu 1605
Ile Asn 1610	Phe Gly Ser Asn	Asn Ser Asp Glu Gly	Lys Val Tyr Phe 1620
Leu Phe 1625	Asn Asp Ala Leu	Gln Gly Arg Met Gln	Ile Ala Asn Asp 1635
Gly Ile 1640	Phe Ala Asn Ile	Thr Phe Lys Val Lys	Ser Ser Ala Ala 1650
Ala Gly 1655	Ile Tyr Asn Ile	Arg Lys Asp Ser Val	Gly Ala Phe Ser 1665
Gly Leu 1670	Val Asp Lys Leu	Val Pro Ile Ser Ala	Glu Phe Thr Asp 1680
Gly Ser 1685	Ile Ser Val Glu	Ser Ala Lys Ser Thr	Pro Thr Ala Thr 1695
Ala Thr 1700	Gly Thr Asn Val	Thr Pro Thr Val Ala	Ala Thr Val Thr 1710
Pro Thr 1715	Ala Thr Pro Ala	Ser Thr Thr Pro Thr	Ala Thr Pro Thr 1725
Ala Thr 1730	Ser Thr Val Lys	Gly Thr Pro Thr Ala	Thr Pro Leu Tyr 1740
Ser Met 1745	Asn Val Ile Ile	Gly Lys Val Asn Ala	Glu Ala Ser Gly 1755
Glu Val 1760	Val Val Pro Val	Glu Phe Lys Asp Val	Pro Ser Ile Gly 1770
Ile Asn 1775	Asn Cys Asn Phe	Ile Leu Glu Tyr Asp	Ala Ser Ala Leu 1785

Glu 1790	Leu	Asp	Ser	Ala	Glu	Ala 1795	Gly	Glu	Ile	Val	Pro 1800	Val	Pro	Leu
Gly 1805	Asn	Phe	Ser	Ser	Asn	Asn 1810	Lys	Asp	Glu	Gly	Lys 1815	Ile	Tyr	Phe
Leu 1820	Phe	Ser	Asp	Gly	Thr	Gln 1825	Gly	Arg	Met	Gln	Ile 1830	Val	Asn	Asp
Gly 1835	Ile	Phe	Ala	Lys	Ile	Lys 1840	Phe	Lys	Val	Lys	Ser 1845	Thr	Ala	Ser
Asp 1850	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Ile	Arg 1855	Lys	Asp	Ser	Val	Gly 1860	Ala	Phe	Ser
Gly 1865	Leu	Ile	Glu	Lys	Lys	Ile 1870	Ile	Lys	Ile	Gly	Ala 1875	Glu	Phe	Thr
Asp 1880	Gly	Ser	Ile	Thr	Val	Arg 1885	Ser	Leu	Thr	Pro	Thr 1890	Pro	Thr	Val
Thr 1895	Pro	Asn	Val	Ala	Ser	Pro 1900	Thr	Pro	Thr	Lys	Val 1905	Val	Ala	Glu
Pro 1910	Thr	Ser	Asn	Gln	Pro	Ala 1915	Gly	Pro	Gly	Pro	Ile 1920	Thr	Gly	Thr
Ile 1925	Pro	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr 1930	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro 1935	Thr	Lys	Ala
Ser 1940	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro 1945	Thr	Ala	Thr	Pro	Ile 1950	Val	Val	Val
Glu 1955	Pro	Thr	Ile	Val	Arg	Pro 1960	Gly	Tyr	Asn	Lys	Asp 1965	Ala	Asp	Leu
Ala 1970	Val	Phe	Ile	Ser	Ser	Asp 1975	Lys	Ser	Arg	Tyr	Glu 1980	Glu	Ser	Ser
Ile 1985	Ile	Thr	Tyr	Ser	Ile	Glu 1990	Tyr	Lys	Asn	Ile	Gly 1995	Lys	Val	Asn
Ala 2000	Thr	Asn	Val	Lys	Ile	Ala 2005	Ala	Gln	Ile	Pro	Lys 2010	Phe	Thr	Lys

Val	Tyr	Asp	Ala	Ala	Lys	Gly	Ala	Val	Lys	Gly	Ser	Glu	Ile	Val
2015						2020					2025			
Trp	Met	Ile	Gly	Asn	Leu	Ala	Val	Gly	Glu	Ser	Tyr	Thr	Lys	Glu
2030						2035					2040			
Tyr	Lys	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Leu	Thr	Lys	Ser	Glu	Glu	Tyr	Thr
2045						2050					2055			
Asp	Asn	Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Ser	Asp	Gln	Thr	Val	Asp	Ile	Pro
2060						2065					2070			
Glu	Asn	Ile	Thr	Thr	Gly	Asn	Asp	Asp	Lys	Ser	Thr	Ile	Arg	Val
2075						2080					2085			
Met	Leu	Tyr	Ser	Asn	Arg	Phe	Thr	Pro	Gly	Ser	His	Ser	Ser	Tyr
2090						2095					2100			
Ile	Leu	Gly	Tyr	Lys	Asp	Lys	Thr	Phe	Lys	Pro	Lys	Gln	Asn	Val
2105						2110					2115			
Thr	Arg	Ala	Glu	Val	Ala	Ala	Met	Phe	Ala	Arg	Ile	Met	Gly	Leu
2120						2125					2130			
Thr	Val	Lys	Asp	Gly	Ala	Lys	Ser	Ser	Tyr	Lys	Asp	Val	Ser	Asn
2135						2140					2145			
Lys	His	Trp	Ala	Leu	Lys	Tyr	Ile	Glu	Ala	Val	Thr	Lys	Ser	Gly
2150						2155					2160			
Ile	Phe	Lys	Gly	Tyr	Lys	Asp	Ser	Thr	Phe	His	Pro	Asn	Ala	Pro
2165						2170					2175			
Ile	Thr	Arg	Ala	Glu	Leu	Ser	Thr	Val	Ile	Phe	Asn	Tyr	Leu	His
2180						2185					2190			
Leu	Asn	Asn	Ile	Ala	Pro	Ser	Lys	Val	His	Phe	Thr	Asp	Ile	Asn
2195						2200					2205			
Lys	His	Trp	Ala	Lys	Asn	Tyr	Ile	Glu	Glu	Ile	Tyr	Arg	Phe	Lys
2210						2215					2220			
Leu	Ile	Gln	Gly	Tyr	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Lys	Pro	Asn	Asn	Asn
2225						2230					2235			

Ile Thr Arg Ala Glu Val Val Thr Met Ile Asn Arg Met Leu Tyr
2240 2245 2250

Arg Gly Pro Leu Lys Val Lys Val Gly Ser Phe Pro Asp Val Ser
2255 2260 2265

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

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

Glu

<210> 16

<211> 541

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cadena pesada (H) - proteína de fusión de péptidos gag17-nef66-nef116 de VIH.

<400> 16

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
 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 Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys
450 455 460

Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Ala Ser Val Gly Phe Pro Val
465 470 475 480

Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala Ala Val Asp
485 490 495

Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Ala Ser His Thr Gln
500 505 510

Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Val Arg
515 520 525

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Leu Tyr Lys Leu Ala Ser
530 535 540

<210> 17

<211> 534

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena H - proteína de fusión de péptidos gag17-nef116 de VIH.

<400> 17

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
 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 Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys
 450 455 460

Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Ala Ser Ser Ser Val Ser Pro
 465 470 475 480

Thr Thr Ser Val His Pro Thr Pro Thr Ser Val Pro Pro Thr Pro Thr
 485 490 495

Lys Ser Ser Pro Ala Ser His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln
500 505 510

Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp
515 520 525

Leu Tyr Lys Leu Ala Ser
530

5 <210> 18
<211> 626
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Cadena H - cadena de péptidos de VIH de proteína de fusión gag17-gag253-nef66.
<400> 18

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
			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		
Val	Gly	Phe	Pro	Val	Thr	Pro	Gln	Val	Pro	Leu	Arg	Pro	Met	Thr	Tyr
		595					600					605			
Lys	Ala	Ala	Val	Asp	Leu	Ser	His	Phe	Leu	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Leu
	610					615					620				
Ala	Ser														

625

5 <210> 19
 <211> 608
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Cadena H - cadena de péptidos de VIH de proteína de fusión pol158-gag17-nef66-nef116-gag253.

 <400> 19

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	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 Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile
450 455 460

Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr
465 470 475 480

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

Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Ala Ser Val Gly Phe Pro
500 505 510

Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala Ala Val
515 520 525

Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Ala Ser His Thr
530 535 540

Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Val
545 550 555 560

Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Leu Tyr Lys Leu Ala Ser Asn Pro
565 570 575

Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu
580 585 590

Asn Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ala Ser
595 600 605

<210> 20
<211> 745
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cadena H - cadena de péptidos de VIH de proteína de fusión gag17-gag253-nef66-nef116-pol158.

<400> 20

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 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
 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

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

5	<210> 21 <211> 72 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Secuencias codificantes de enlazador y antígeno.	
	<400> 21	
	gctagtgaga agatccggct gcggcccgcc ggcaagaaga agtacaagct gaagcacatc	60
	gtggctagct ga	72
15	<210> 22 <211> 111 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.	
	<400> 22	
	gctagtggtgg gcttccccgt gacccccccag gtgcccctgc ggcccatgac ctacaaggcc	60
25	gccgtggacc tgagccactt cctgaaggag aaggggcgcc tggctagctg a	111
30	<210> 23 <211> 108 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.	
35	<400> 23	
	gctagtgcca tcttccagag cagcatgacc aagatcctgg agcccttcgg gaagcagaac	60
	cccgacatcg tgatctacca gtacatggac gacctgtacg ctagctga	108
40	<210> 24 <211> 198 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.	
	<400> 24	

gctagtcaga cccccaccaa caccatcagc gtgacccccca ccaacaacag cccccccacc	60
aacaacagca accccaagcc caacccccgct agtaaccccc ccatccccgt gggcgagatc	120
tacaagcggg ggatcatcct gggcctgaac aagatcgtgc ggatgtacag ccccaccagc	180
atcctggacg ctagctga	198

<210> 25
 <211> 255
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.
 <400> 25

gctagtcaga cccccaccaa caccatcagc gtgacccccca ccaacaacag cccccccacc	60
aacaacagca accccaagcc caacccccgct agtgagaaga tccggctgcg gcccggcggc	120
aagaagaagt acaagctgaa gcacatcgtg gctagtcaca ccaggggcta cttccccgac	180
tggcagaact acacccccgg ccccggcgtg cggtagcccc tgaccttcgg ctggctgtac	240
aagctggcta gctga	255

<210> 26
 <211> 882
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.
 <400> 26

gctagtcaga cccccaccaa caccatcagc gtgacccccca ccaacaacag cccccccacc 60
aacaacagca accccaagcc caaccccgt agtgagaaga tccggctgcg gcccggcggc 120
aagaagaagt acaagctgaa gcacatcgtg gctagtagca gcgtgagccc caccaccagc 180
gtgcacccca cccccaccag cgtgcccccc acccccacca agagcagccc cgctagtaac 240
ccccccatcc ccgtgggcga gatctacaag cggcggatca tcctgggcct gaacaagatc 300
gtgcggatgt acagccccac cagcatcctg gacgctagtc ccaccagcac ccccgccgac 360
agcagcacca tcacccccac cgccaccccc accgccaccc ccaccatcaa gggcgctagt 420
cacaccagc gctacttccc cgactggcag aactacaccc ccggccccgg cgtgcgggtac 480
cccctgacct tcggctggct gtacaagctg gctagtaccg tgacccccac cgccaccgcc 540
acccccagcg ccatcgtgac caccatcacc cccaccgcca ccaccaagcc cgctagtgtg 600
ggcttccccg tgacccccca ggtgcccctg cggcccatga cctacaaggc cgccgtggac 660
ctgagccact tcctgaagga gaagggcggc ctggctagta ccaacggcag catcacctg 720
gccgccaccg cccccaccgt gacccccacc gtgaacgcc cccccagcgc cgccgctagt 780

gccatcttcc agagcagcat gaccaagatc ctggagccct tccggaagca gaacccccgac 840
atcgtgatct accagtacat ggacgacctg tacgctagct ga 882

5 <210> 27
<211> 108
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.
<400> 27

gctagtgtgg gcttccccgt gacccccag gtgcccctgc ggcccatgac ctacaaggcc 60
gccgtggacc tgagccactt cctgaaggag aagggcggcc tggctagc 108

15 <210> 28
<211> 102
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.
<400> 28

25 gctagtcaca cccagggcta cttccccgac tggcagaact acacccccgg ccccgcgctg 60
cgggtacccc tgaccttcgg ctggctgtac aagctggcta gc 102

<210> 29
<211> 69

	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
5	<223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.		
	<400> 29		
	gctagtgaga agatccggct gcggcccggc ggcaagaaga agtacaagct gaagcacatc	60	
	gtggctagc	69	
10	<210> 30		
	<211> 108		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
15	<220>		
	<223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.		
	<400> 30		
20	gctagtaacc ccccatccc cgtgggcgag atctacaagc ggtggatcat cctgggcctg	60	
	aacaagatcg tgcggatgta cagccccacc agcatcctgg acgctagc	108	
	<210> 31		
	<211> 105		
25	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.		
30	<400> 31		
	gctagtgcc tcttccagag cagcatgacc aagatcctgg agcccttccg gaagcagaac	60	
	cccgacatcg tgatctacca gtacatggac gacctgtacg ctagc	105	
35	<210> 32		
	<211> 87		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
40	<220>		
	<223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.		
	<400> 32		
	gctagtagca gcgtgagccc caccaccagc gtgcacccca ccccaccag cgtgcccccc	60	
45	acccccacca agagcagccc cgctagc	87	
	<210> 33		
	<211> 87		
	<212> ADN		
50	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.		

	<400> 33		
	gctagtccca ccagcaccac cgccgacagc agcaccatca cccccaccgc cccccccacc	60	
	gccacccccca ccatcaaggg cgctagc	87	
5	<210> 34 <211> 87 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
10	<220> <223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.		
	<400> 34		
	gctagtaccg tgacccccac cgccaccgcc acccccagcg ccacgtgac caccatcacc	60	
15	cccaccgcca ccaccaagcc cgctagc	87	
	<210> 35 <211> 87 <212> ADN <213> Secuencia artificial		
20	<220> <223> Secuencia codificante de antígeno y enlazador.		
25	<400> 35		
	gctagtacca acggcagcat caccgtggcc gccaccgccc ccaccgtgac ccccaccgtg	60	
	aacgccaccc ccagcgccgc cgctagc	87	
30	<210> 36 <211> 745 <212> PRT <213> Secuencia artificial		
35	<220> <223> Vacuna peptídica de VIH sintetizada.		
	<400> 36		

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
 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

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> 37
<211> 739
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido de VIH sintético.

<400> 37

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 340	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro 345	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu 350	Pro	Pro
Ser	Gln	Glu 355	Glu	Met	Thr	Lys	Asn 360	Gln	Val	Ser	Leu	Thr 365	Cys	Leu	Val
Lys	Gly 370	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp 375	Ile	Ala	Val	Glu	Trp 380	Glu	Ser	Asn	Gly
Gln 385	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr 390	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro 395	Val	Leu	Asp	Ser	Asp 400
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu 405	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr 410	Val	Asp	Lys	Ser	Arg 415	Trp
Gln	Glu	Gly	Asn 420	Val	Phe	Ser	Cys	Ser 425	Val	Met	His	Glu	Ala 430	Leu	His
Asn	His	Tyr 435	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu 440	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly 445	Lys	Ala	Ser
Gln	Thr 450	Pro	Thr	Asn	Thr	Ile 455	Ser	Val	Thr	Pro	Thr 460	Asn	Asn	Ser	Thr
Pro 465	Thr	Asn	Asn	Ser 470	Asn	Pro	Lys	Pro	Asn 475	Pro	Ala	Ser	Glu	Lys	Ile 480
Arg	Leu	Arg	Pro	Gly 485	Gly	Lys	Lys	Lys	Tyr 490	Lys	Leu	Lys	His	Ile 495	Val
Ala	Ser	Ser	Ser 500	Val	Ser	Pro	Thr	Thr 505	Ser	Val	His	Pro	Thr 510	Pro	Thr
Ser	Val	Pro 515	Pro	Thr	Pro	Thr	Lys 520	Ser	Ser	Pro	Ala	Ser 525	Asn	Pro	Pro
Ile 530	Pro	Val	Gly	Glu	Ile	Tyr 535	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile 540	Leu	Gly	Leu	Asn
Lys 545	Ile	Val	Arg	Met	Tyr 550	Ser	Pro	Thr	Ser	Ile 555	Leu	Asp	Ala	Ser	Pro 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

<210> 38

<211> 234

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de molécula de unión anti CD40 sintética (cadena ligera).

<400> 38

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							
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> 39
<211> 467
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Secuencia de molécula de unión anti CD40 sintética (cadena pesada).

10

<400> 39

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

Lys Ala Ser
465

5 <210> 40
<211> 705
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de ácido nucleico de molécula de unión anti CD40 sintética (cadena ligera).
<400> 40

atgatgtcct ctgtcagtt ccttgggtctc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt	60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctaggaga cagagtcacc	120
atcagttgca gtgcaagtca gggcattagc aattatttaa actgggtatca gcagaaacca	180
gatggaactg ttaaaactcct gatctattac acatcaattt tacactcagg agtcccatca	240
aggttcagtg gcagtggggtc tgggacagat tattctctca ccatcggcaa cctggaacct	300
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag ttttaataagc ttctctcgac gttegggtgga	360
ggcaccaaac tcgagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca	420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat	480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag	540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg	600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctatgcct gcgaagtcac ccatcagggc	660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag	705

15 <210> 41
<211> 1404
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Secuencia de ácido nucleico de molécula de unión anti CD40 sintética (cadena pesada).
<400> 41

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaagggtg ccagtgtgaa	60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc	120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca	180
gagaagagggc tggagtgggt cgcatacatt aattctgggtg gtggtagcac ctattatcca	240

25

gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg 300
 caaatgagcc ggctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acggggggtta 360
 ccgttccatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctccagccaaa 420
 acgaagggcc catccgtctt cccctggcg ccctgtctca ggagcacctc cgagagcaca 480
 gccgcctgg gctgcctggg caaggactac ttccccgaac cggtgacggg gtcgtggaac 540
 tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggtg tcctacagtc ctccaggactc 600
 tactccctca gcagcgtggg gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc 660
 tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat 720
 ggtcccccac gccaccctg cccagcacct gagttcgaag ggggaccatc agtcttcctg 780
 ttccccccaa aacccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 840
 gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg 900
 gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg 960
 gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tgggtgaacg gcaaggagta caagtgaag 1020
 gtctccaaca aaggcctccc gtctctcatc 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 tgaggctctg cacaaccaact acacacagaa gagcctctcc 1380
 ctgtctctgg gtaaagctag ctga 1404

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

<220>
 <223> Región de dominio variable de cadena pesada del sitio de unión a antígeno de una molécula de unión a CD40 sintética.

<400> 42

Tyr Thr Ser Ile Leu His Ser
1 5

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

<220>
 <223> Región de dominio variable de cadena pesada del sitio de unión a antígeno de una molécula de unión a CD40 sintética.

<400> 43

Gln Gln Phe Asn Lys Leu Pro Pro Thr
1 5

5 <210> 44
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Región de dominio variable de cadena ligera del sitio de unión a antígeno de una molécula de unión a CD40 sintética.

<400> 44

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

15 <210> 45
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Región de dominio variable de cadena ligera del sitio de unión a antígeno de una molécula de unión a CD40 sintética.

25 <400> 45

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

Gly

30 <210> 46
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Región de dominio variable de cadena ligera del sitio de unión a antígeno de una molécula de unión a CD40 sintética.

<400> 46

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

40 <210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Región de dominio variable de cadena ligera del sitio de unión a antígeno de una molécula de unión a CD40 sintética.

50 <400> 47

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

5 <210> 48
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Cebadores sintéticos para PCR.

<400> 48
 ggatggtggg aagatggata cagtggtgc agcatc 36

15 <210> 49
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Cebadores sintéticos para PCR.

<400> 49
 ccaggcatcc tagagtcacc gaggagccag t 31

25 <210> 50
 <211> 70
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Secuencia de proteína de fusión anticuerpo-PSA.

<400> 50

gctagcgata caacagaacc tgcaacacct acaacacctg taacaacacc gacaacaaca 60

35 **cttctagcgc 70**

<210> 51
 <211> 186
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Secuencia de ácido nucleico de Cohesina-Flex-hMART-1-PéptidoA-His.

45 <400> 51

gacaccaccg aggcccgcga cccccacccc cccgtgacca cccccaccac caccgaccgg 60

aagggcacca ccgccgagga gctggccggc atcggcatcc tgaccgtgat cctgggcggc 120

aagcggacca acaacagcac cccaccaag ggcgattct gcagatatcc atcacactgg 180

cggccg 186

50 <210> 52
 <211> 61
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de Cohesina-Flex-hMART-1-PéptidoA-His.

<400> 52

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

5 <210> 53
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de péptido HA1.

<400> 53

Met Lys Ala Asn Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu 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

15 50 55 60

<210> 54
<211> 60
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de péptido HA1.

25 <400> 54

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

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

<210> 55

<211> 60

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido HA1.

<400> 55

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

<210> 56

<211> 60

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido HA1.

<400> 56

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> 57
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de péptido HA1.

<400> 57

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

<210> 58
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de péptido HA1.

<400> 58

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

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 59

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

Asn

<210> 60
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 60

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

Gly

<210> 61
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 61

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

Ser

<210> 62
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de NP.

<400> 62

10

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

<210> 63
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Secuencia de NP.

20

<400> 63

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> 64
 <211> 58
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Secuencia de NP.

<400> 64

Arg Gln Ala Asn Asn Gly Asp Asp Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met
1 5 10 15

Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn Asp Ala Thr Tyr Gln Arg Thr Arg
20 25 30

Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln
35 40 45

Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser Gly Ala
50 55

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

<220>
<223> Secuencia de NP.

<400> 65

Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu Leu Val Arg Met
1 5 10 15

Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg Gly Glu Asn Gly
20 25 30

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

Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Lys Ala Met Met Asp
50 55 60

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

<220>
<223> Secuencia de NP.

<400> 66

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

Thr Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His
20 25 30

Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Pro Ala Val Ala Ser Gly
35 40 45

Tyr Asp Phe Glu Arg Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly
50 55 60

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

<220>
<223> Secuencia de NP.

<400> 67

Ile Asp Pro Phe Arg Leu Leu Gln Asn Ser Gln Val Tyr Ser Leu Ile
1 5 10 15

Arg Pro Asn Glu Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala
20 25 30

Cys His Ser Ala Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Ser Phe Ile Lys
35 40 45

Gly Thr Lys Val Leu Pro Arg Gly Lys Leu Ser Thr
50 55 60

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

<220>
<223> Secuencia de NP.

<400> 68

Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn Glu Asn Met Glu Thr Met Glu Ser
1 5 10 15

Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Arg Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser
20 25 30

Gly Gly Asn Thr Asn Gln Gln Arg Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Ile
35 40 45

Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg Asn Leu Pro Phe
50 55 60

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

<220>
<223> Secuencia de NP.

<400> 69

Asp Arg Thr Thr Ile Met Ala Ala Phe Asn Gly Asn Thr Glu Gly Arg
1 5 10 15

Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met Glu Ser Ala Arg
20 25 30

Pro Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe Glu Leu Ser Asp
35 40 45

Glu Lys Ala Ala Ser Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp
50 55 60

<210> 70
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de NP.

<400> 70

Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Tyr
1 5 10 15

Asp Asn

5 <210> 71
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético.
 10 <400> 71
Gly Lys Trp Val Arg Glu Leu Val Leu Tyr Asp Lys Glu Glu Ile Arg
1 5 10 15
Arg
 15 <210> 72
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Péptido sintético.
 <400> 72
Arg Thr Gly Met Asp Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr
1 5 10 15
Leu
 25 <210> 73
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Péptido sintético.
 <400> 73
Met Cys Asn Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Lys Ala
1 5 10 15
Met
 35 <210> 74
 <211> 60
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia de PSA.
 45 <400> 74

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

5 <210> 75
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de PSA.

<400> 75

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

15 <210> 76
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Secuencia de PSA.

25 <400> 76

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> 77
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de PSA.

<400> 77

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> 78
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de PSA.

<400> 78

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

5 <210> 79
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético.
 <400> 79

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

15 <210> 80
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético.
 20 <400> 80

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

25 <210> 81
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Péptido sintético.
 <400> 81

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

35 <210> 82
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Péptido sintético.
 45 <400> 82

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

50 <210> 83
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Péptido sintético.
 <400> 83

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

<210> 84
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético.

<400> 84

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

<210> 85
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético.

<400> 85

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

<210> 86
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético.

<400> 86

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

<210> 87
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de ciclina D1.

<400> 87

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

5 <210> 88
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de ciclina D1.

<400> 88

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

15

20 <210> 89
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de ciclina D1.

25 <400> 89

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> 90
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de ciclina D1.

<400> 90

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> 91
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de ciclina D1.

<400> 91

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> 92
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de ciclina D1.

<400> 92

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

<210> 93
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 93

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

<210> 94
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 94

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

5 <210> 95
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Péptido sintético.
 <400> 95

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

15 <210> 96
 <211> 587
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Cadena H - péptido hMART-1.
 <400> 96

Glu 1	Val	Lys	Leu 5	Val	Glu	Ser	Gly	Gly 10	Leu	Val	Gln	Pro	Gly 15	Gly	
Ser	Leu	Lys 20	Leu	Ser	Cys	Ala	Thr 25	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe 30	Ser	Asp	Tyr
Tyr	Met 35	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Thr 40	Pro	Glu	Lys	Arg	Leu 45	Glu	Trp	Val
Ala 50	Tyr	Ile	Asn	Ser	Gly 55	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr 60	Pro	Asp	Thr	Val
Lys 65	Gly	Arg	Phe	Thr 70	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn 75	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr 80
Leu	Gln	Met	Ser 85	Arg	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr 95	Cys
Ala	Arg	Arg 100	Gly	Leu	Pro	Phe	His 105	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly 110	Gln	Gly
Thr	Ser 115	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala 120	Lys	Thr	Lys	Gly	Pro 125	Ser	Val	Phe
Pro 130	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg 135	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser 140	Thr	Ala	Ala	Leu
Gly 145	Cys	Leu	Val	Lys 150	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro 155	Val	Thr	Val	Ser	Trp 160
Asn	Ser	Gly	Ala 165	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His 170	Thr	Phe	Pro	Ala	Val 175	Leu
Gln	Ser	Ser 180	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser 185	Ser	Val	Val	Thr	Val 190	Pro	Ser
Ser	Ser 195	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr 200	Thr	Cys	Asn	Val	Asp 205	His	Lys	Pro
Ser 210	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys 215	Arg	Val	Glu	Ser	Lys 220	Tyr	Gly	Pro	Pro
Cys 225	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala 230	Pro	Glu	Phe	Glu	Gly 235	Gly	Pro	Ser	Val	Phe 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
580 585

<210> 97

<211> 656

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cadena H - péptido hMART-1.

<400> 97

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 100	Leu	Pro	Phe	His	Ala 105	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly 110	Gln	Gly
Thr	Ser	Val 115	Thr	Val	Ser	Ser	Ala 120	Lys	Thr	Lys	Gly	Pro 125	Ser	Val	Phe
Pro	Leu 130	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg 135	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser 140	Thr	Ala	Ala	Leu
Gly 145	Cys	Leu	Val	Lys	Asp 150	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val 155	Thr	Val	Ser	Trp 160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu 165	Thr	Ser	Gly	Val	His 170	Thr	Phe	Pro	Ala	Val 175	Leu
Gln	Ser	Ser	Gly 180	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser 185	Ser	Val	Val	Thr	Val 190	Pro	Ser
Ser	Ser	Leu 195	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr 200	Thr	Cys	Asn	Val	Asp 205	His	Lys	Pro
Ser	Asn 210	Thr	Lys	Val	Asp	Lys 215	Arg	Val	Glu	Ser	Lys 220	Tyr	Gly	Pro	Pro
Cys 225	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala 230	Pro	Glu	Phe	Glu	Gly 235	Gly	Pro	Ser	Val	Phe 240
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys 245	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu 250	Met	Ile	Ser	Arg	Thr 255	Pro
Glu	Val	Thr	Cys 260	Val	Val	Val	Asp 265	Val	Ser	Gln	Glu	Asp 270	Pro	Glu	Val
Gln	Phe	Asn 275	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly 280	Val	Glu	Val	His 285	Asn	Ala	Lys	Thr
Lys	Pro 290	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe 295	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg 300	Val	Val	Ser	Val
Leu 305	Thr	Val	Leu	His	Gln 310	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly 315	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys 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> 98
 <211> 593
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cadena H - péptido hMART-1.

<400> 98

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	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

5 <210> 99
 <211> 660
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Cadena H - péptido hMART-1.
 <400> 99

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				

				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					425					430					
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												

660

5 <210> 100
 <211> 630
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción sintética de ADN de MART-1.

<400> 100

```

aacaccgaca acaacagatg atctggatgc agctagtggg tttgatcatc gggacagcaa      60
agtgtctctt caagagaaaa actgtgaacc tgtggttccc aatgctccac ctgcttatga      120
gaaactctct gcagaacagt caccaccacc ttattcacct gctagtacca acggcagcat      180
caccggtggc gccaccgccc ccaccgtgac cccaccgtg aacgccaccc ccagcgccgc      240
cgctagtatg ccaagagaag atgctcactt catctatggt taccccaaga aggggcacgg      300
ccactcttac accacggctg aagaggccgc tgggatcggc atcctgacag tgatcctggg      360
agctagtacc gtgaccccca ccgccaccgc cacccccagc gccatcgtga ccaccatcac      420
ccccaccgcc accaccaage ccgctagtgt cttactgctc atcggtgtt ggtattgtag      480
aagacgaaat ggatacagag ccttgatgga taaaagtctt catgttggca ctcaatgtgc      540
cttaacaaga agatgccac aagaagggtg agcggccgca tcgaagagct cggtagcccg      600
ggatcctcta gagtcgacct gcaggcatgc                                     630

```

15 <210> 101
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Péptido sintético.

<400> 101

```

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
          50          55          60

```

25

<210> 102
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Péptido sintético.

<400> 102

10

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

His Phe Ile Tyr Gly Tyr Pro Lys Lys Gly His Gly His Ser Tyr Thr
 20 25 30

Thr Ala Glu Glu Ala Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly
 35 40 45

Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro
 50 55 60

<210> 103
 <211> 57
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Péptido sintético.

20

<400> 103

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

Ser Val Leu Leu Leu Ile Gly Cys Trp Tyr Cys Arg Arg Arg Asn Gly
 20 25 30

Tyr Arg Ala Leu Met Asp Lys Ser Leu His Val Gly Thr Gln Cys Ala
 35 40 45

Leu Thr Arg Arg Cys Pro Gln Glu Gly
 50 55

25

<210> 104
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Péptido MART1 sintético.

<400> 104

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

5 <210> 105
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido enlazador.

<400> 105

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

15 <210> 106
 <211> 38
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido MART1 con epítomos CD4+ y CD8+.

25 <400> 106

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

30 <210> 107
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Secuencia de péptido enlazador.

<400> 107

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

5 <210> 108
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Secuencia de péptido MART1 con epítipo CD4+.

<400> 108

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

15
 20 <210> 109
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético.

25 <400> 109

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> 110

<211> 675

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido MART1 sintético.

<400> 110

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				
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

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> 111
<211> 606
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<223> Péptido MART1 sintético.

<400> 111

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

<210> 112
<211> 661
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Secuencia de antígeno GP100.

10

<400> 112

Met 1	Asp	Leu	Val	Leu 5	Lys	Arg	Cys	Leu	Leu 10	His	Leu	Ala	Val	Ile 15	Gly
Ala	Leu	Leu	Ala 20	Val	Gly	Ala	Thr	Lys 25	Val	Pro	Arg	Asn	Gln 30	Asp	Trp
Leu	Gly	Val 35	Ser	Arg	Gln	Leu	Arg 40	Thr	Lys	Ala	Trp	Asn 45	Arg	Gln	Leu
Tyr 50	Pro	Glu	Trp	Thr	Glu	Ala 55	Gln	Arg	Leu	Asp	Cys 60	Trp	Arg	Gly	Gly
Gln 65	Val	Ser	Leu	Lys	Val 70	Ser	Asn	Asp	Gly	Pro 75	Thr	Leu	Ile	Gly	Ala 80
Asn	Ala	Ser	Phe	Ser 85	Ile	Ala	Leu	Asn	Phe 90	Pro	Gly	Ser	Gln	Lys 95	Val
Leu	Pro	Asp	Gly 100	Gln	Val	Ile	Trp	Val 105	Asn	Asn	Thr	Ile	Ile 110	Asn	Gly
Ser	Gln	Val 115	Trp	Gly	Gly	Gln	Pro 120	Val	Tyr	Pro	Gln	Glu 125	Thr	Asp	Asp
Ala 130	Cys	Ile	Phe	Pro	Asp	Gly 135	Gly	Pro	Cys	Pro	Ser 140	Gly	Ser	Trp	Ser
Gln 145	Lys	Arg	Ser	Phe	Val 150	Tyr	Val	Trp	Lys	Thr 155	Trp	Gly	Gln	Tyr	Trp 160
Gln	Val	Leu	Gly	Gly 165	Pro	Val	Ser	Gly	Leu 170	Ser	Ile	Gly	Thr	Gly 175	Arg
Ala	Met	Leu	Gly 180	Thr	His	Thr	Met	Glu 185	Val	Thr	Val	Tyr	His 190	Arg	Arg
Gly	Ser	Arg 195	Ser	Tyr	Val	Pro	Leu 200	Ala	His	Ser	Ser	Ser 205	Ala	Phe	Thr
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> 113 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Péptido sintético. <400> 113	Ile Met Asp Gln Val Pro Phe Ser Val 1 5
10		
15	<210> 114 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Péptido sintético. <400> 114	Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val 1 5
20		
25	<210> 115 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Péptido sintético. <400> 115	Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Val 1 5
30		
35	<210> 116 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Péptido sintético. <400> 116	Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala 1 5
40		
45	<210> 117 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Péptido sintético.	
50		
55	<210> 118 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Péptido sintético.	

<400> 117

Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp Gln Val
1 5

5 <210> 118
 <211> 1160
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Péptido sintético.

<400> 118

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	
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

5

<210> 119
<211> 1161
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 119

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
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ala
 435 440 445
 Ser Asp Thr Thr Glu Pro Ala Thr Pro Thr Thr Pro Val Thr Thr Pro
 450 455 460
 Thr Thr Thr Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp Leu Gly Val Ser Arg
 465 470 475 480
 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
 705 710 715 720
 Pro Asn Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Val Gly Thr
 725 730 735
 Thr Pro Gly Gln Ala Pro Thr Ala Glu Pro Ser Gly Thr Thr Ser Val
 740 745 750
 Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Ile Ser Thr Ala Pro Val Gln Met Pro
 755 760 765
 Thr Ala Glu Ser Thr Gly Met Thr Pro Glu Lys Val Pro Val Ser Glu
 770 775 780
 Val Met Gly Thr Thr Leu Ala Glu Met Ser Thr Pro Glu Ala Thr Gly
 785 790 795 800
 Met Thr Pro Ala Glu Val Ser Ile Val Val Leu Ser Gly Thr Thr Ala
 805 810 815
 Ala Ala Ser Thr Val Thr Pro Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Ala Ile
 820 825 830
 Val Thr Thr Ile Thr Pro Thr Ala Thr Thr Lys Pro Ala Ser Gln Val
 835 840 845
 Thr Thr Thr Glu Trp Val Glu Thr Thr Ala Arg Glu Leu Pro Ile Pro
 850 855 860
 Glu Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu Ser Ile
 865 870 875 880

Thr Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu Arg Leu
 885 890 895

Val Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr Gly Ser
 900 905 910

Phe Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile
 915 920 925

Thr Val Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Thr Pro Thr Val Asn Ala Thr
 930 935 940

Pro Ser Ala Ala Ala Ser Gly Ile Glu Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala
 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> 120
<211> 2142
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de ácido nucleico de GP100.

<400> 120

gatacaacag aacctgcaac acctacaaca cctgtaacaa caccgacaac aacaaaagta 60
cccagaaacc aggactggct tgggtgtctca aggcaactca gaaccaaagc ctggaacagg 120
cagctgtatc cagagtggac agaagcccag agacttgact gotggagagg tgggtcaagtg 180
tccttcaagg tcagtaatga tgggcctaca ctgattgggtg caaatgcctc cttctctatt 240
gccttgaact tccttgaag ccaaaaggta ttgccagatg ggcaggttat ctgggtcaac 300
aataccatca tcaatgggag ccagggtgtgg ggaggacagc cagtgtatcc ccaggaaact 360
gacgatgcct gcatcttccc tgatggtgga ccttgcccat ctggctcttg gtctcagaag 420
agaagctttg tttatgtctg gaagacctgg ggccaatact ggcaagttct agggggccca 480
gtgtctgggc tgagcattgg gacaggcagg gcaatgctgg gcacacacac catggaagtg 540
actgtctacc atcgccgggg atcccagagc tatgtgcctc ttgtcattc cagctcagcc 600
ttcaccatta ctgaccaggt gcctttctcc gtgagcgtgt ccagttgog ggccttggat 660
ggagggaaca agcacttcct gagaaatcag gctagtacca acggcagcat caccgtggcc 720
gccaccgccc ccaccgtgac cccaccgtg aacgccaccc ccagcgcgcg cgtagtggc 780
accacagatg ggcacaggcc aactgcagag gccctaaca ccacagctgg ccaagtgcct 840
actacagaag ttgtgggtac tacacctggt caggcgccaa ctgcagagcc ctctggaacc 900
acatctgtgc aggtgccaac cactgaagtc ataagcactg cacctgtgca gatgccaaact 960
gcagagagca caggatatgac acctgagaag gtgccagttt cagaggtcat gggtagccaca 1020

ctggcagaga tgtcaactcc agaggctaca ggtatgacac ctgcagaggt atcaattgtg 1080
 gtgctttctg gaaccacagc tgcagctagt accgtgaccc ccaccgccac cgccaccccc 1140
 agcgccatcg tgaccaccat cccccccacc gccaccacca agcccgctag tcaggtaaca 1200
 actacagagt ggggtggagac cacagctaga gagctaccta tccctgagcc tgaaggcca 1260
 gatgccagct caatcatgtc tacggaaagt attacagggt cctggggccc cctgctggat 1320
 ggtacagcca ccttaaggct ggtgaagaga caagtcccc tggattgtgt tctgtatcga 1380
 tatggttcct tttccgtcac cctggacatt gtccaggcta gtaccaacgg cagcatcacc 1440
 gtggccgcc cgcggccccc cgtgaccccc accgtgaacg ccacccccag cgccgcccgt 1500
 agtgggtattg aaagtgcga gatcctgcag gctgtgccgt ccgggtgaggg ggatgcattt 1560
 gagctgactg tgtcctgcc aaggcgggctg cccaaggaag cctgcatgga gatctcatcg 1620
 ccagggtgcc agccccctgc ccagcggctg tgccagcctg tgctaccag ccagcctgc 1680
 cagctgggtc tgcaccagat actgaagggt ggctcgggga catactgcct caatgtgtct 1740
 ctggctgata ccaacagcct ggcagtggtc agcaccagc ttatcgtgcc tgggattcct 1800
 ctacaggtc aagaagcagg ccttgggcag taagctagta ccgtgacccc caccgccacc 1860
 gccaccccca gcgccatcgt gaccaccatc acccccaccg ccaccaccaa gcccgctagt 1920
 cctctgacct ttgccctcca gctccatgac cctagtggct atctggctga agctgacctc 1980
 tectacacct gggactttgg agacagtagt ggaaccctga tctctcgggc acytgtggtc 2040
 actcatactt acctggagcc tggcccagtc actgccaggg tggctcctgca ggctgccatt 2100
 cctctcacct cctgtggctc ctcccagtt ccagctagct ga 2142

<210> 121

<211> 690

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de ácido nucleico del péptido GP100.

<400> 121

gatacaacag aacctgcaac acctacaaca cctgtaacaa caccgacaac aacaaaagta 60
 ccagaaacc aggactggct tgggtgtctca aggcaactca gaaccaaagc ctggaacagg 120
 cagctgtatc cagagtggac agaagcccag agacttgact gctggagagg tggccaagtg 180
 tccctcaagg tcagtaatga tgggcctaca ctgattgggtg caaatgcctc cttctctatt 240
 gccttgaact tccctggaag ccaaaaggta ttgccagatg ggcagggttat ctgggtcaac 300
 aataccatca tcaatgggag ccagggtgtg ggaggacagc cagtgtatcc ccaggaaact 360

gacgatgcct gcatcttccc tgatggtgga cettgcccac ctggctcttg gtctcagaag	420
agaagctttg tttatgtctg gaagacctgg ggccaatact ggcaagttct aggggggecca	480
gtgtctgggc tgagcattgg gacaggcagg gcaatgctgg gcacacacac catggaagtg	540
actgtctacc atcgccgggg atcccagagc tatgtgcctc ttgtcattc cagctcagcc	600
ttcaccatta ctgaccaggt gcctttctcc gtgagcgtgt ccagttgcg ggccttgat	660
ggagggaaca agcacttcct gagaaatcag	690

5	<210> 122
	<211> 230
	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
10	<220>
	<223> Secuencia de aminoácidos.
	<400> 122

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										

<210> 123
 <211> 327
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido sintético.

<400> 123

ggcaccacag atgggcacag gccaaactgca gagggccccta acaccacagc tggccaagtg	60
cctactacag aagttgtggg tactacacct ggtcaggcgc caactgcaga gccctctgga	120
accacatctg tgcaggtgcc aaccactgaa gtcataagca ctgcacctgt gcagatgcca	180
actgcagaga gcacaggtat gacacctgag aaggtgccag tttcagaggt catgggtacc	240
acactggcag agatgtcaac tccagaggct acaggtatga cacctgcaga ggtatcaatt	300
gtggtgcttt ctggaaccac agctgca	327

<210> 124
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido GP-100 sintético.

<400> 124

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

5 <210> 125
<211> 225
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Oligonucleótido de GP-100 sintético.
<400> 125

caggtaacaa ctacagagtg ggtggagacc acagctagag agctacctat ccctgagcct 60
gaagggtccag atgccagctc aatcatgtct acggaaagta ttacaggttc cctgggcccc 120
ctgctggatg gtacagccac cttaaggctg gtgaagagac aagtccccct ggattgtgtt 180
ctgtatcgat atggttcctt ttccgtcacc ctggacattg tccag 225

15 <210> 126
<211> 75
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Oligonucleótido de GP-100 sintético.
<400> 126

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

<210> 127

<211> 327

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido de GP-100 sintético.

<400> 127

gggtattgaaa gtgccgagat cctgcaggct gtgccgtccg gtgaggggga tgcatttgag 60
ctgactgtgt cctgccaagg cgggctgccc aaggaagcct gcatggagat ctcacgcca 120
gggtgccagc cccctgcca gcggctgtgc cagcctgtgc taccagccc agcctgccag 180
ctggttctgc accagatact gaagggtggc tcggggacat actgcctcaa tgtgtctctg 240
gctgatacca acagcctggc agtggtcagc accagctta tcgtgcctgg gattcttctc 300
acaggtcaag aagcaggcct tgggcag 327

<210> 128

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de GP-100 sintético.

<400> 128

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

<210> 129
 <211> 219
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Oligonucleótido de GP-100 sintético.

<400> 129

cctctgacct ttgccctcca gctccatgac cctagtggct atctggctga agctgacctc 60
 tcttacacct gggactttgg agacagtagt ggaaccctga tctctcgggc acytgtggctc 120
 actcatactt acctggagcc tggcccagtc actgcccagg tggtcctgca ggctgccatt 180
 cctctcacct cctgtggctc ctccccagtt ccagctagc 219

<210> 130
 <211> 73
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de GP-100 sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (38) .. (38)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 130

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

5 <210> 131
<211> 438
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Secuencia de aminoácidos de CiclinaB1 humana.

<400> 131

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	
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> 132
<211> 50
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 132

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

<210> 133
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.

<400> 133

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

<210> 134
<211> 594
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético.
<400> 134

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 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

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> 135

<211> 1842

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de oligonucleótido sintético.

<400> 135

```

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg ccagtgtgaa      60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggotta gtgcagcccg gagggtcctt gaaactctcc      120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca      180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt aattctgggtg gtggtagcac ctattatcca      240
gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg      300
caaatgagcc ggctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acgggggtta      360
ccgttccatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctcagccaaa      420

```

```

acgaagggcc catccgtctt cccctggtg ccctgtcca ggagcacctc cgagagcaca      480
gccgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac      540
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggtg tctacagtc ctcaggactc      600
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc      660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat      720
ggtcccccat gccaccctg cccagcacct gagttogaag ggggaccatc agtcttcctg      780
ttccccccaa aaccgaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg      840
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg      900
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg      960
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag     1020
gtctccaaca aaggcctccc gtccctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag     1080
ccccgagagc cacaggtgta caccctgccc ccattcccagg aggagatgac caagaaccag     1140
gtcagcctga cctgcctggt 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 accaacaacca tcagcgtgac cccaccaaac     1440
aacagcacc cccaccaaaa cagcaacccc aagcccaacc ccgctagtga ctggctagta     1500
caggttcaaa tgaattcag gttgttgacg gagaccatgt acatgactgt ctccattatt     1560
gatcggttca tgcagaataa ttgtgtgccc aagaaggcta gtatggaaat gaagattcta     1620
agagctttaa actttggtct gggtcggcct ctacctttgc acttccttcg gagagcatct     1680
aagattggag aggttgatgt cgagcaacat actttggcca aatacctgat ggaactaact     1740
atgttggact atgctagtag caacgacagc atcacggtgg ccgccaccgc cccacccgtg     1800
acccccaccg tgaacgccac cccagcgcc gccgctagct ga                          1842

```

<210> 136
 <211> 542
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético.

<400> 136

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 260	Val	Val	Val	Asp	Val 265	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro 270	Glu	Val					
Gln	Phe	Asn 275	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly 280	Val	Glu	Val	His	Asn 285	Ala	Lys	Thr					
Lys	Pro 290	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe 295	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg 300	Val	Val	Ser	Val					
Leu 305	Thr	Val	Leu	His	Gln 310	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly 315	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys 320					
Lys	Val	Ser	Asn 325	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser 330	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile 335	Ser					
Lys	Ala	Lys	Gly 340	Gln	Pro	Arg	Glu 345	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu 350	Pro	Pro					
Ser	Gln	Glu 355	Glu	Met	Thr	Lys	Asn 360	Gln	Val	Ser	Leu	Thr 365	Cys	Leu	Val					
Lys	Gly 370	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp 375	Ile	Ala	Val	Glu	Trp 380	Glu	Ser	Asn	Gly					
Gln 385	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr 390	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro 395	Val	Leu	Asp	Ser	Asp 400					
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu 405	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr 410	Val	Asp	Lys	Ser	Arg 415	Trp					
Gln	Glu	Gly	Asn 420	Val	Phe	Ser	Cys	Ser 425	Val	Met	His	Glu	Ala 430	Leu	His					
Asn	His	Tyr 435	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu 440	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly 445	Lys	Ala	Ser					
Gln	Thr 450	Pro	Thr	Asn	Thr	Ile 455	Ser	Val	Thr	Pro	Thr 460	Asn	Asn	Ser	Thr					
Pro 465	Thr	Asn	Asn	Ser	Asn 470	Pro	Lys	Pro	Asn	Pro 475	Ala	Ser	Asp	Trp	Leu 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> 137

<211> 1686

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido sintético.

<400> 137

atgaacttgg ggctcagctt gatttttcctt gtccttggtt taaaagggtg ccagtgtgaa	60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggttta gtgcagcccg gaggggtccct gaaactctcc	120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgcac 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 ttgggggtcaa ggaacctcag tcacogtctc ctacgcaaaa	420
acgaagggcc catccgtctt cccctggcg ccctgtcca ggagcacctc cgagagcaca	480
gccgccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtctgtggaac	540
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggtg tcctacagtc ctcaggactc	600
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc	660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat	720
ggtcccccat gccaccctg cccagcacct gagttogaag ggggaccatc agtcttctg	780
ttcccccaa aaccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg	840
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg	900
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg	960
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggtgaacg gcaaggagta caagtgcaag	1020
gtctccaaca aaggcctccc gtctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag	1080
ccccgagagc cacaggtgta caccctgccc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag	1140
gtcagcctga cctgcctggt 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 cccaccaaac	1440
aacagcacc ccaccaacaa cagcaacccc aagcccaacc ccgctagtga ctggctagta	1500
caggttcaaa tgaattcag gttgttgacg gagaccatgt acatgactgt ctccattatt	1560
gatcggttca tgcagaataa ttgtgtgccc aagaaggcta gtacogtgac cccacccgcc	1620
accgccccc ccagcgccat cgtgaccacc atcaccccca ccgccaccac caagcccgt	1680
agctga	1686

<210> 138

<211> 556

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

<400> 138

5

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 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> 139
<211> 1728
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido sintético.

<400> 139

5

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtcccttgttt taaaagggtgt ccagtgtgaa	60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcccg gagggtcctt gaaactctcc	120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtac tattacatgt attgggttcg ccagactcca	180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt aattctggtg gtggtagcac ctattatcca	240
gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg	300
caaatgagcc ggctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acgggggtta	360
ccgttccatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcacctctc ctgagccaaa	420
acgaagggcc catccgtctt cccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca	480
gcgcacctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cgggtgacgtt gtcgtggaac	540
tcaggcggcc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggtg tctacagtc ctcaggactc	600
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc	660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat	720
ggtcccccatt gccacacctg cccagcacct gaggtcgaag ggggaccatc agtcttctctg	780
ttccccccaa aacccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg	840
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg	900
gaggtgcata atgccaaagc aaagccgcgg gaggagcagt tcaacagcac gtaccgtgtg	960
gtcagcgtcc tcacctcct gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag	1020
gtctccaaca aaggcctccc gtctccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag	1080
ccccgagagc cacaggtgta caccctgcc ccatcccagg aggagatgac caagaaccag	1140
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccacagcg 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 cccaccaaac	1440
aacagcaccc ccaccaacaa cagcaacccc aagcccaacc ccgctagtat ggaaatgaag	1500
attctaagag ctttaaactt tggctctgggt cggcctctac ctttgcaact ccttcggaga	1560
gcatctaaga ttggagaggt tgatgtcgag caacatactt tggccaaata cctgatggaa	1620
ctaactatgt tggactatgc tagtaccaac ggcagcatca ccgtggccgc caccgcccc	1680
accgtgaccc ccacctgaa cgcaccccc agcgccgcgg ctagctga	1728

<210> 140

<211> 294
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Péptido de Ciclina D1 sintética.

 <400> 140

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

195					200					205					
Ala	Ala	Val	Gln	Gly	Leu	Asn	Leu	Arg	Ser	Pro	Asn	Asn	Phe	Leu	Ser
210						215					220				
Tyr	Tyr	Arg	Leu	Thr	Arg	Phe	Leu	Ser	Arg	Val	Ile	Lys	Cys	Asp	Pro
225					230					235					240
Asp	Cys	Leu	Arg	Ala	Cys	Gln	Glu	Gln	Ile	Glu	Ala	Leu	Leu	Glu	Ser
				245					250					255	
Ser	Leu	Arg	Gln	Ala	Gln	Gln	Asn	Met	Asp	Pro	Lys	Ala	Ala	Glu	Glu
			260					265					270		
Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Val	Asp	Leu	Ala	Cys	Thr	Pro	Thr	Asp
		275					280					285			
Val	Arg	Asp	Val	Asp	Ile										
	290														

<210> 141
 <211> 48
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido sintético.

<400> 141

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			

<210> 142
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de péptido sintético.

<400> 142

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

<210> 143

<211> 60

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético.

<400> 143

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

<210> 144

<211> 92

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético.

<400> 144

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 Glu Val Asp Leu
65 70 75 80

Ala Cys Thr Pro Thr Asp Val Arg Asp Val Asp Ile
85 90

5

<210> 145

<211> 27

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético.

15 <400> 145

Gln Thr Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Thr Pro Thr Asn Asn Ser Thr
1 5 10 15

Pro Thr Asn Asn Ser Asn Pro Lys Pro Asn Pro
20 25

20

<210> 146

<211> 560

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Proteína de fusión de cadena H de ciclina D1 sintética.

<400> 146

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	
			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	Met	Glu	His	Gln	Leu	Leu	Cys	Cys	Glu	Val	Glu	Thr	Ile
				485					490					495	
Arg	Arg	Ala	Tyr	Pro	Asp	Ala	Asn	Leu	Leu	Asn	Asp	Arg	Val	Leu	Arg
			500					505					510		
Ala	Met	Leu	Lys	Ala	Glu	Glu	Thr	Cys	Ala	Pro	Ser	Val	Ser	Tyr	Phe

515

520

525

Lys Cys Val Ala Ser Thr Asn Gly Ser Ile Thr Val Ala Ala Thr Ala
530 535 540

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

<210> 147

<211> 759

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético.

<400> 147

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
 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 Gln Lys Glu Val Leu Pro Ser Met Arg Lys Ile Val Ala
 485 490 495
 Thr Trp Met Leu Glu Val Cys Glu Glu Gln Lys Cys Glu Glu Glu Val
 500 505 510
 Phe Pro Leu Ala Met Asn Tyr Leu Asp Arg Phe Leu Ser Leu Glu Pro
 515 520 525
 Val Lys Lys Ser Arg Leu Gln Leu Leu Gly Ala Thr Cys Met Phe Val
 530 535 540
 Ala Ser Lys Met Lys Glu Thr Ile Pro Leu Thr Ala Glu Lys Leu Cys
 545 550 555 560
 Ile Tyr Thr Asp Asn Ser Ile Arg Pro Glu Glu Leu Leu Gln Met Glu
 565 570 575
 Leu Leu Leu Val Asn Lys Leu Lys Trp Asn Leu Ala Ala Met Thr Pro
 580 585 590
 His Asp Phe Ile Glu His Phe Leu Ser Lys Met Pro Glu Ala Glu Glu
 595 600 605
 Asn Lys Gln Ile Ile Arg Lys His Ala Gln Thr Phe Val Ala Leu Cys
 610 615 620
 Ala Thr Asp Val Lys Phe Ile Ser Asn Pro Pro Ser Met Val Ala Ala
 625 630 635 640

Gly	Ser	Val	Val	Ala	Ala	Val	Gln	Gly	Leu	Asn	Leu	Arg	Ser	Pro	Asn	
				645					650					655		
Asn	Phe	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Thr	Arg	Phe	Leu	Ser	Arg	Val	Ile	
			660					665					670			
Lys	Cys	Asp	Pro	Asp	Cys	Leu	Arg	Ala	Cys	Gln	Glu	Gln	Ile	Glu	Ala	
		675					680					685				
Leu	Leu	Glu	Ser	Ser	Leu	Arg	Gln	Ala	Gln	Gln	Asn	Met	Asp	Pro	Lys	
	690					695					700					
Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Val	Asp	Leu	Ala	Cys	
705					710					715					720	
Thr	Pro	Thr	Asp	Val	Arg	Asp	Val	Asp	Ile	Ala	Ser	Thr	Asn	Gly	Ser	
				725					730					735		
Ile	Thr	Val	Ala	Ala	Thr	Ala	Pro	Thr	Val	Thr	Pro	Thr	Val	Asn	Ala	
			740					745					750			
Thr	Pro	Ser	Ala	Ala	Ala	Ser										
		755														

<210> 148
 <211> 468
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Proteína de fusión sintética.

<400> 148

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

305		310		315		320
Val Val Ser Val	Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys					
	325			330		335
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu						
	340			345		350
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr						
	355			360		365
Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu						
	370			375		380
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp						
	385			390		400
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val						
	405			410		415
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp						
	420			425		430
Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His						
	435			440		445
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu						
	450			455		460
Gly Lys Ala Ser						
	465					

<210> 149
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Proteína de fusión sintética.

 <400> 149

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

<210> 150
<211> 203
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de cadena pesada anti CD40 sintética.

<400> 150

5

```

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> 151
<211> 234
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Secuencia de cadena ligera anti CD40 sintética.

10

<400> 151

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	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

5 <210> 152
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Proteína sintética.
 <400> 152

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				

ES 2 618 864 T3

180

185

190

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

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> 153

<211> 196

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína sintética.

<400> 153

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> 154

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína sintética.

<400> 154

5

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
Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly				
		165		170
Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser				
		180		185
Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp				
		195		200
Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr				
		210		215
Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys				
225		230		235

<210> 155

<211> 705

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de oligonucleótido sintético de cadena ligera anti CD40.

<400> 155

atgatgtcct ctgctcagtt ccttggtctc ctggtgctct gttttcaagg taccagatgt	60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctaggaga cagagtcacc	120
atcagttgca gtgcaagtca gggcattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca	180
gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaattt tacactcagg agtcccatca	240
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcggcaa cctggaacct	300
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag ttttaataagc ttctccgac gttcgggtgga	360
ggcaccaaac tcgagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca	420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat	480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag	540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg	600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctatgcct gcgaagtcac ccatcagggc	660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag	705

5 <210> 156
<211> 1404
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia de cadena pesada de oligonucleótido sintético anti CD40.

10 <400> 156

```

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg ccagtgtgaa      60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc      120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca      180
gagaagagggc tggagtgggt cgcatacatt aattctgggtg gtggtagcac ctattatcca      240
gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg      300
caaatgagcc ggctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acggggggtta      360
ccgttccatg ctatggacta ttgggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctacagccaaa      420
acgaaggggc catccgtctt cccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca      480
gccgccctgg gctgcctggg caaggactac ttccccgaac cggtgacggg gtcgtggaac      540
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggtctg tctacagtc ctcaggactc      600
tactccctca gcagcgtggg gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc      660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agagagttga gtccaaatat      720
gggtcccccac gccaccctg cccagcacct gagttcgaag ggggaccatc agtcttctctg      780
ttccccccaa aacccaagga cactctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg      840
gtggtggacg tgagccagga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggatggcgtg      900
gaggtgcata atgccaaagc aaagccgagg 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 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 ctga                                           1404

```

15 <210> 157
<211> 1410
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de oligonucleótido sintético.

5

<400> 157

atggaatgga gttggatatt tctctttctt ctgtcaggaa ctgcaggtgt ccactctgag	60
gtccagctgc agcagtctgg acctgagctg gtaaagcctg gggcttcagt gaagatgtcc	120
tgcaaggctt ctggatacac attcactgac tatgttttgc actgggtgaa acagaagcct	180
gggcagggcc ttgagtggat tggatatatt aatccttaca atgatggtag taagtacaat	240
gagaagttca aaggcaaggc cactactgact tcagacaaat cctccagcac agcctacatg	300
gagctcagca gcctgacctc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag gggctatccg	360
gcctactctg ggtatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca	420
gccaaaacga agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag	480
agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtcg	540
tggaaactcag gcgcctgac cagcggcgtg cacaccttcc oggctgtcct acagtctca	600
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc	660
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	720
aaatatggtc ccccatgccc accctgccc gacactgagt tcgaaggggg accatcagtc	780
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	840
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	1020
tgcaaggctt ccaacaaagg cctcccgctc tccatcgaga aaacctctc caaagccaaa	1080
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag	1140
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc	1260
gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg	1320
aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1380
ctctccctgt ctctgggtaa agctagctga	1410

10

<210> 158

<211> 708

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Secuencia de oligonucleótido sintético.

<400> 158

atggattttc aagtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt cataatgtcc	60
aggggacaaa ttgtttctcac ccagttctcca gcaatcctgt ctgcatctcc agggggagaag	120
gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgtacaggta ccagcagaag	180
ccaggatcct caccocaaacc ctggatttat ggcacatcca acctggcttc tggagtccct	240
gctcgtttca gtggcagtgg atctgggacc tcttattctc tcacaatcag cagcatggag	300
gctgaagatg ctgccactta ttactgccag caatatcata gttaccogct cacgttcggg	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 cagcacctcg	600
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctatg cctgcgaagt caccatcag	660
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag	708

<210> 159
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia de oligonucleótido sintético.

<400> 159

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

<210> 160
 <211> 1389
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de oligonucleótido sintético.

5

<400> 160

atgggatgga gctggatctt tctctttctc ctgtcaggaa ctgcagggtgt 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
gtcttccccc tggcgccctg ctccaggagc acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc	480
ctggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc	540
agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtctcag gactctactc cctcagcagc	600
gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac	660
aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga gttgagtcca aatatggtcc cccatgccc	720
ccctgcccag cacctgagtt cgaaggggga ccatcagttc tctgttccc cccaaaaccc	780
aaggacactc tcatgatctc ccggaccctt gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc	840
caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg tacgtggatg gcgtggaggt gcataatgcc	900
aagacaaagc cgggggagga gcagttcaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc	960
gtcctgcacc aggactggct gaacggcaag gagtacaagt gcaaggcttc caacaaaggc	1020
ctcccgctct ccctcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agagccacag	1080
gtgtacaccc tgccccatc ccaggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc	1140
ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg	1200
gagaacaact acaagaccac gcctcccggt ctggactccg acggtcctt ctctctctac	1260
agcaggctaa ccgtggacaa gagcaggtgg caggagggga atgtcttctc atgctccgtg	1320
atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca cagaagagcc tctccctgtc tctgggtaaa	1380
gctagctga	1389

10

<210> 161

<211> 717

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Secuencia de oligonucleótido sintético.

<400> 161

atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cagcagtgat	60
gttgtgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc	120
tcttgacagat ctagtcagag ccttgtagac agtaatggaa acacctatct acattggtac	180
ctgcagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct	240
ggggtcccag acagggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcgcact caagatcagt	300
agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgctctc aaagtacaca tggtccgtgg	360
acgttcggtg gaggcaccaa gctcgagatc aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc	420
atcttcccg cactctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg	480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtgggaagg tggataacgc cctccaatcg	540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	600
agcaccctga cgtgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctatgc ctgogaagtc	660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag	717

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión que comprende la fórmula:

- (a) Ab-(PL-Ag)_x;
- (b) Ab-(Ag-PL)_x;
- (c) Ab-(PL-Ag-PL)_x;
- (d) Ab-(Ag-PL-Ag)_x;
- (e) Ab-(PL-Ag)_x-PL;
- (f) Ab-(Ag-PL)_x-Ag;
- (g) NH₂-Ab-(PL-Ag)_x-COOH;
- (h) NH₂-Ab-(Ag-PL)_x-COOH;
- (i) Ab-(PL-Ag)_x-(PL_y-Ag_z)_n;
- o
- (j) Ab-(Ag-PL)_x-(PL_y-Ag_z)_n;

en las que Ab es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo F_v, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScF_v;
 en las que PL es al menos un conector peptídico seleccionado de SSVSPPTTSVHPTPTSPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11), PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12), TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13) o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14);
 en las que Ag es al menos un antígeno seleccionado de un antígeno bacteriano de *Mycobacterium tuberculosis*, un antígeno del VIH y un antígeno del VHC;
 en las que x es un número entero de 1 a 20;
 en las que n es 0 a 19; y
 en las que y o z es 0 a 10.

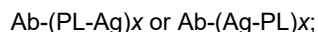
2. La proteína de fusión de la reivindicación 1 (a), (b), (c), (d), (e) o (f), en la que el Ab comprende al menos un dominio variable que tiene un 90 %, 95 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con:

- a) un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 148 y un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 149;
- b) un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 150 y un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 151 o 152; o
- c) un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 153 y un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 154;

o Ab comprende un isotipo de IgA, IgD, IgE, IgG o IgM; un anticuerpo humano; o un anticuerpo humanizado de a), b) o c).

3. Un método de estabilización de péptidos antigénicos que comprende:

incorporar uno o más péptidos antigénicos que son inestables o insolubles a una proteína de fusión, en el que la proteína de fusión tiene la siguiente estructura:



en la que Ab es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo F_v, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScF_v;

en la que PL es al menos un conector peptídico seleccionado de SSVSPPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11), PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12), TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13) o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14);

en la que Ag es al menos un antígeno seleccionado de un antígeno bacteriano de *Mycobacterium tuberculosis*, un antígeno del VIH y un antígeno del VHC; y

en la que x es un número entero de 1 a 20.

4. El método de la reivindicación 3, en el que el Ab comprende al menos un dominio variable que tiene un 90 %, 95 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con:

a) un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 148 y un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 149;

b) un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 150 y un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 151 o 152; o

c) un dominio variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 153 y un dominio variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 154;

o Ab comprende un isotipo de IgA, IgD, IgE, IgG o IgM; un anticuerpo humano; o un anticuerpo humanizado de a), b) o c).

5. Una vacuna aislada y purificada que comprende una proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la proteína de fusión comprende:

un anticuerpo que tiene una cadena pesada seleccionada de al menos una de las SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10, 16, 17, 18, 19, 20, 36, 37, 96, 97, 98, 99, 110, 111, 112, 118, 119, 134, 136, 138, 146 y 147 que se une de manera específica a CD40; y una cadena ligera que se une de forma específica a CD40.

6. Un vector de expresión de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:

un primer polinucleótido que codifica una cadena ligera de anticuerpo o fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv de una cadena ligera de anticuerpo; y

un segundo polinucleótido que codifica una cadena pesada de anticuerpo o fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv de una cadena pesada de anticuerpo, en el que la proteína de fusión comprende la siguiente fórmula:

$$\text{Ab}-(\text{PL}-\text{Ag})_x \text{ or } \text{Ab}-(\text{Ag}-\text{PL})_x;$$

en la que Ab es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc o ScFv;

en la que PL es al menos un conector peptídico seleccionado de SSVSPPTTSVHPTPTSVPPTPTKSSP (SEQ ID NO: 11), PTSTPADSSTITPTATPTATPTIKG (SEQ ID NO: 12), TVTPTATATPSAIVTTITPTATTKP (SEQ ID NO: 13) o TNGSITVAATAPTPTPTVNATPSAA (SEQ ID NO: 14);

en la que Ag es al menos un antígeno seleccionado de un antígeno bacteriano de *Mycobacterium tuberculosis*, un antígeno del VIH y un antígeno del VHC; y

en la que x es un número entero de 1 a 20.

7. El vector de la reivindicación 6, en el que el primer y segundo polinucleótido están cadena abajo de un promotor constitutivo.

8. Una célula hospedadora que comprende un vector de expresión de ácido nucleico de la reivindicación 6.

9. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de fusión de la reivindicación 1.

10. La proteína de fusión de la reivindicación 1, el método de la reivindicación 3 o el vector de expresión de ácido nucleico de la reivindicación 6, en los que el Ag es un antígeno del VIH seleccionado de las SEQ ID NO: 1-5.

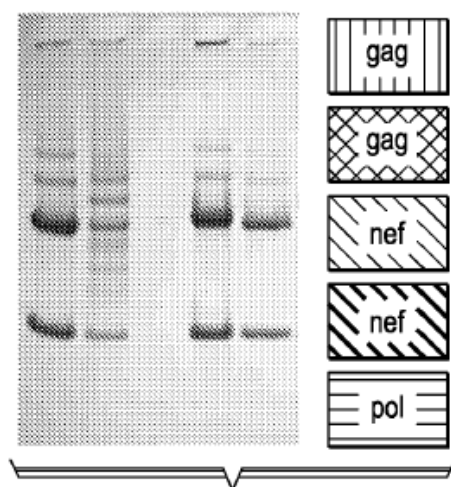


FIG. 1

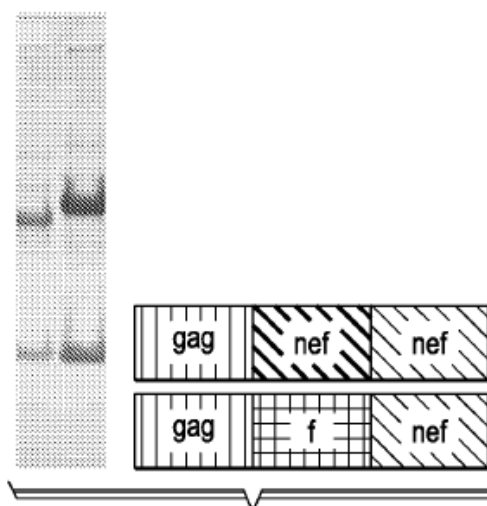


FIG. 2

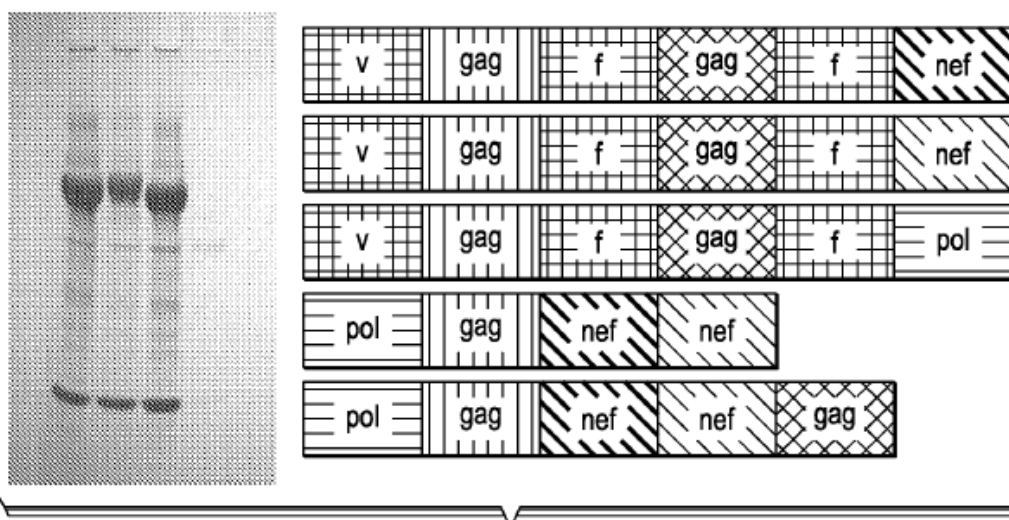


FIG. 3

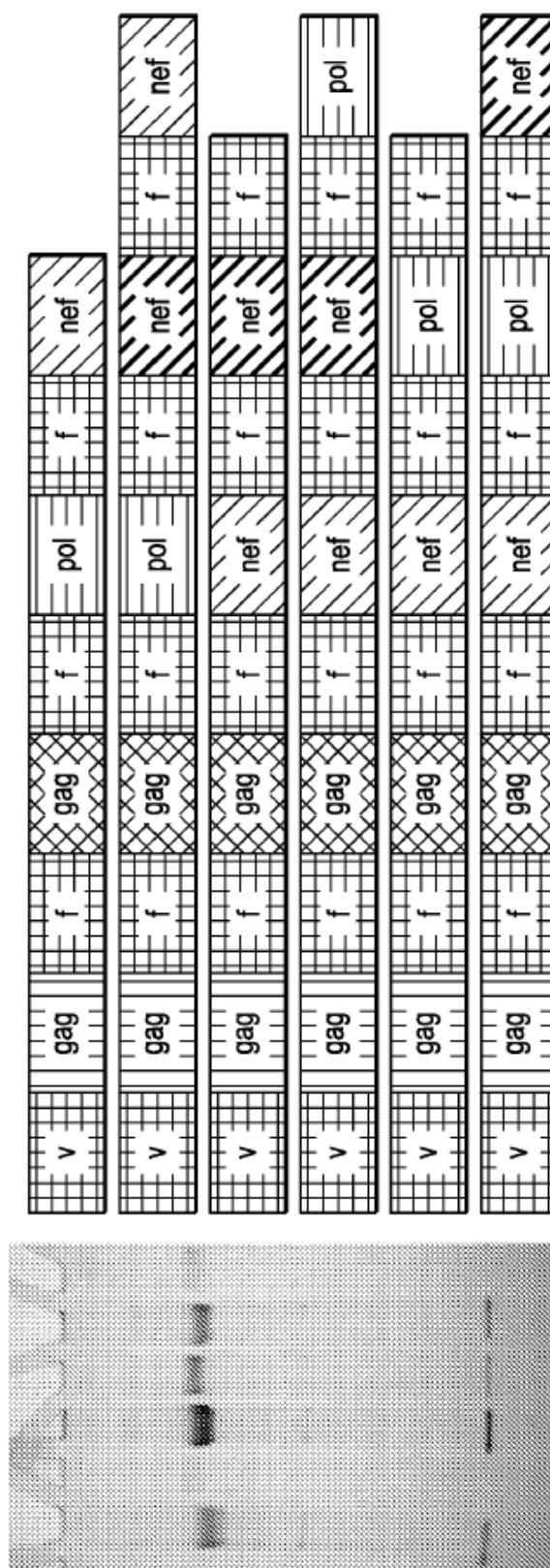


FIG. 4

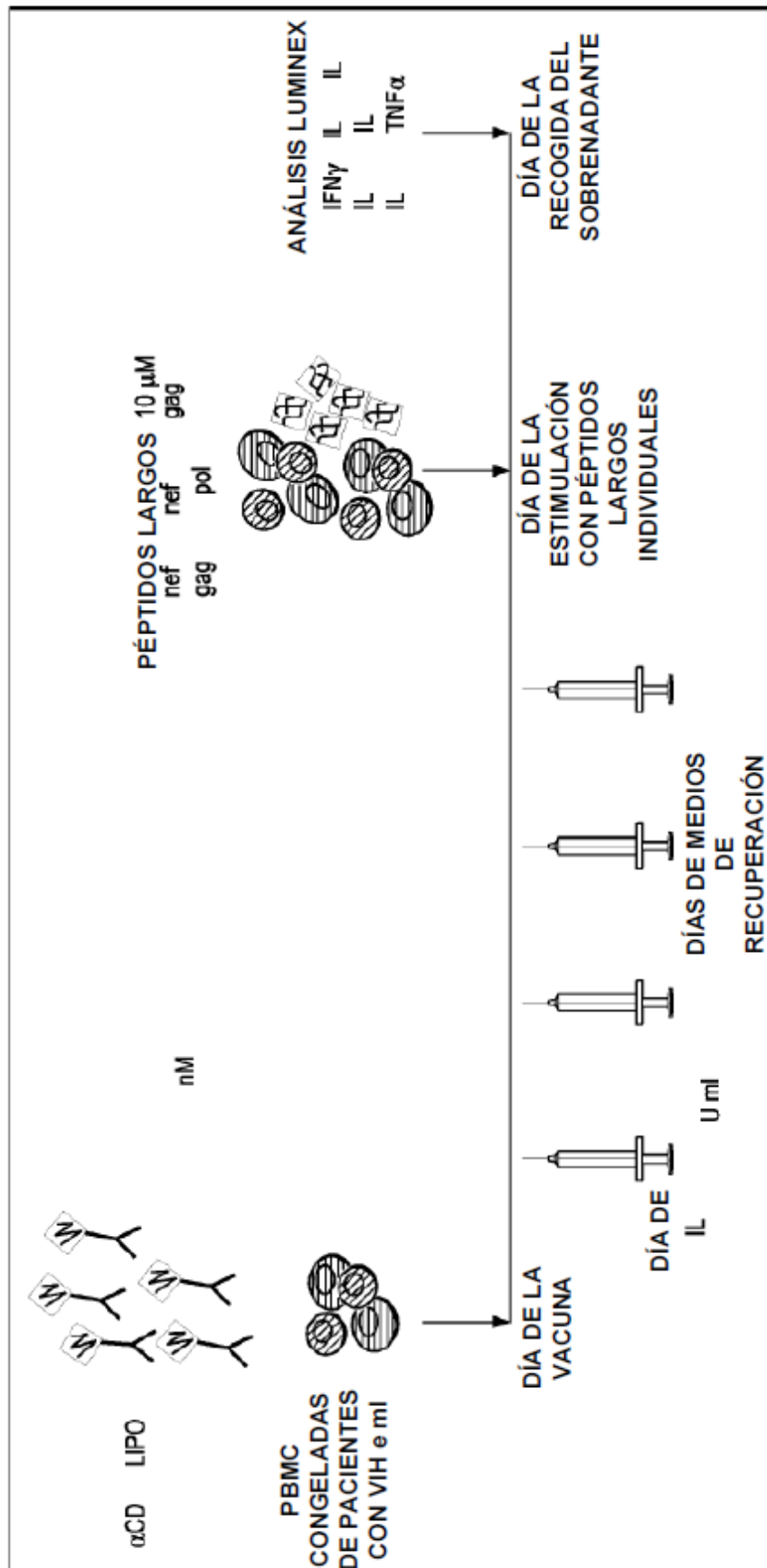


FIG. 5

FIG. 6A

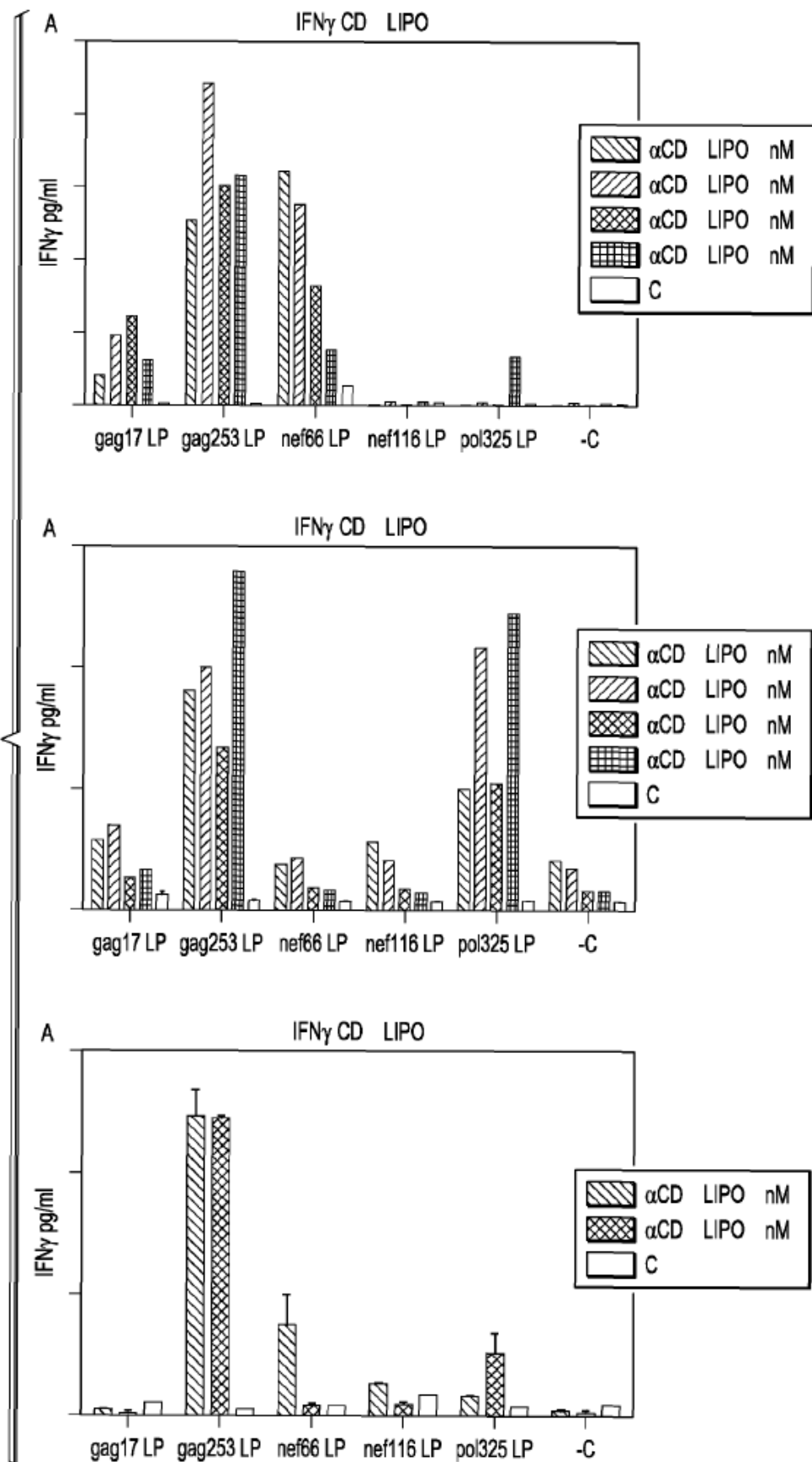
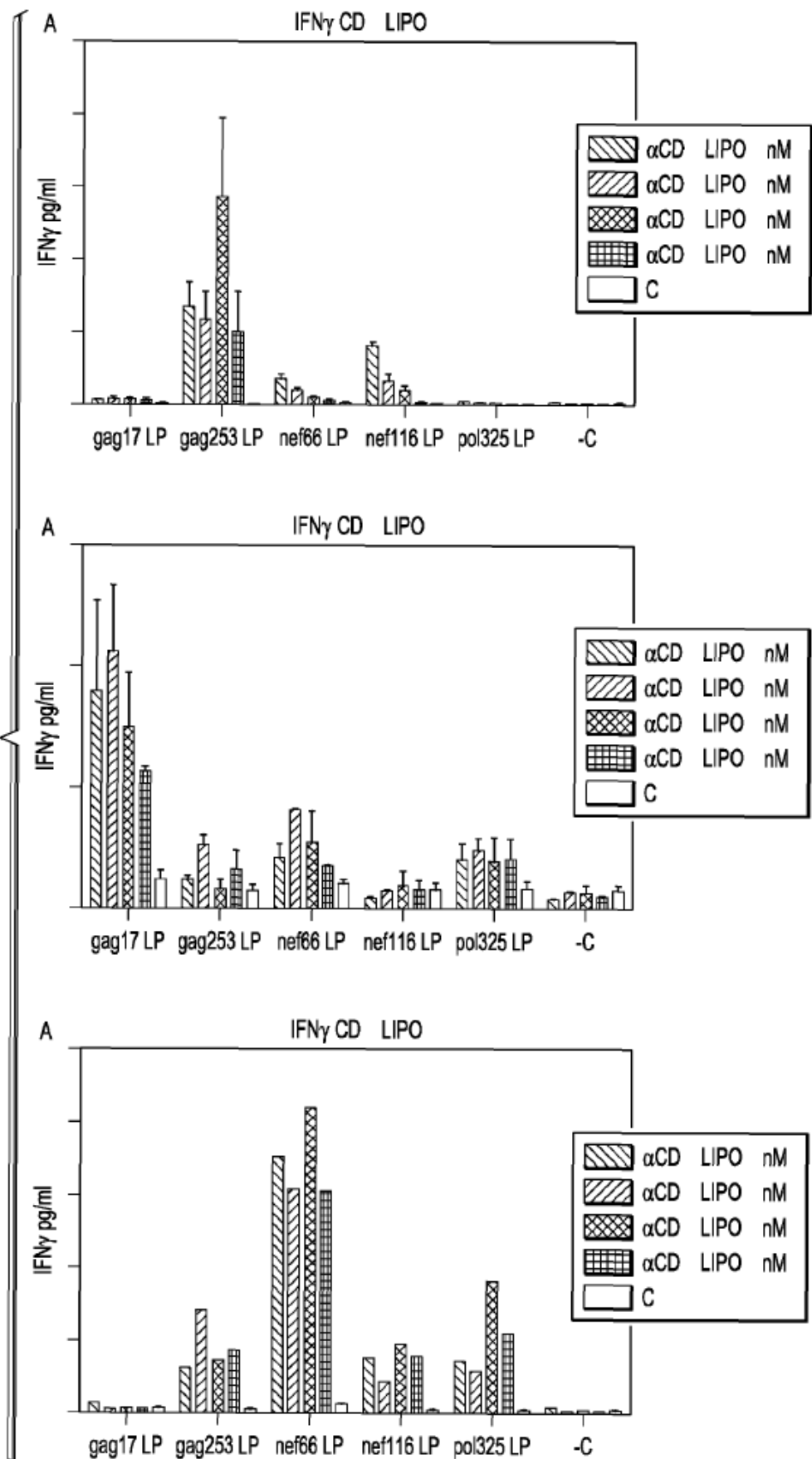
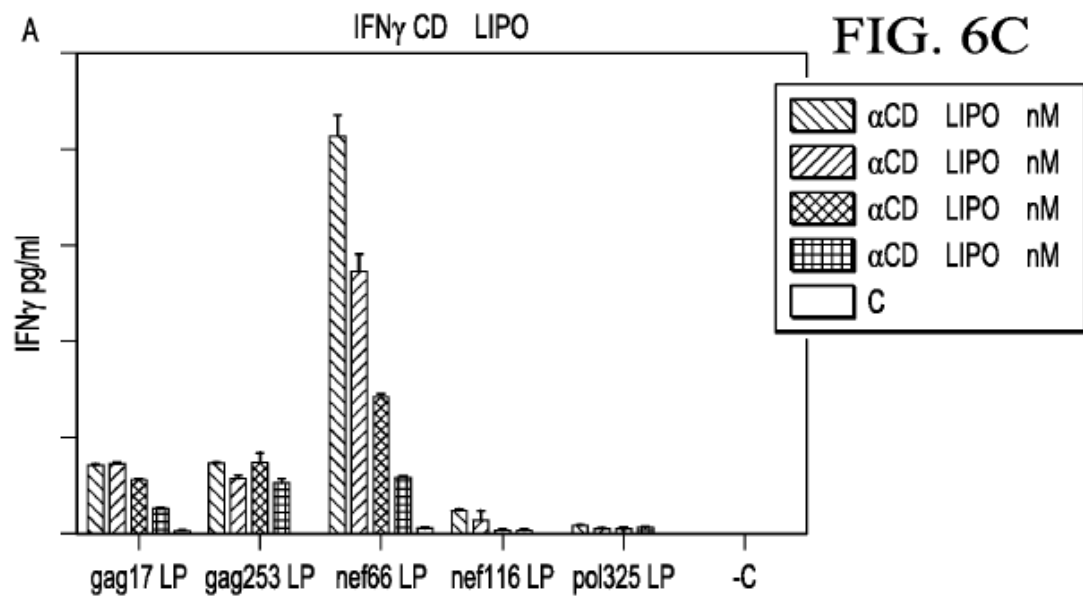


FIG. 6B





	Gag	Gag	Nef	Nef	Pol
A					
A					
A					
A					
A					
A					
A					
A					

RESPUESTA POTENTE
 RESPUESTA MEDIA
 RESPUESTA DÉBIL
 SIN RESPUESTA

FIG. 7

FIG. 8A

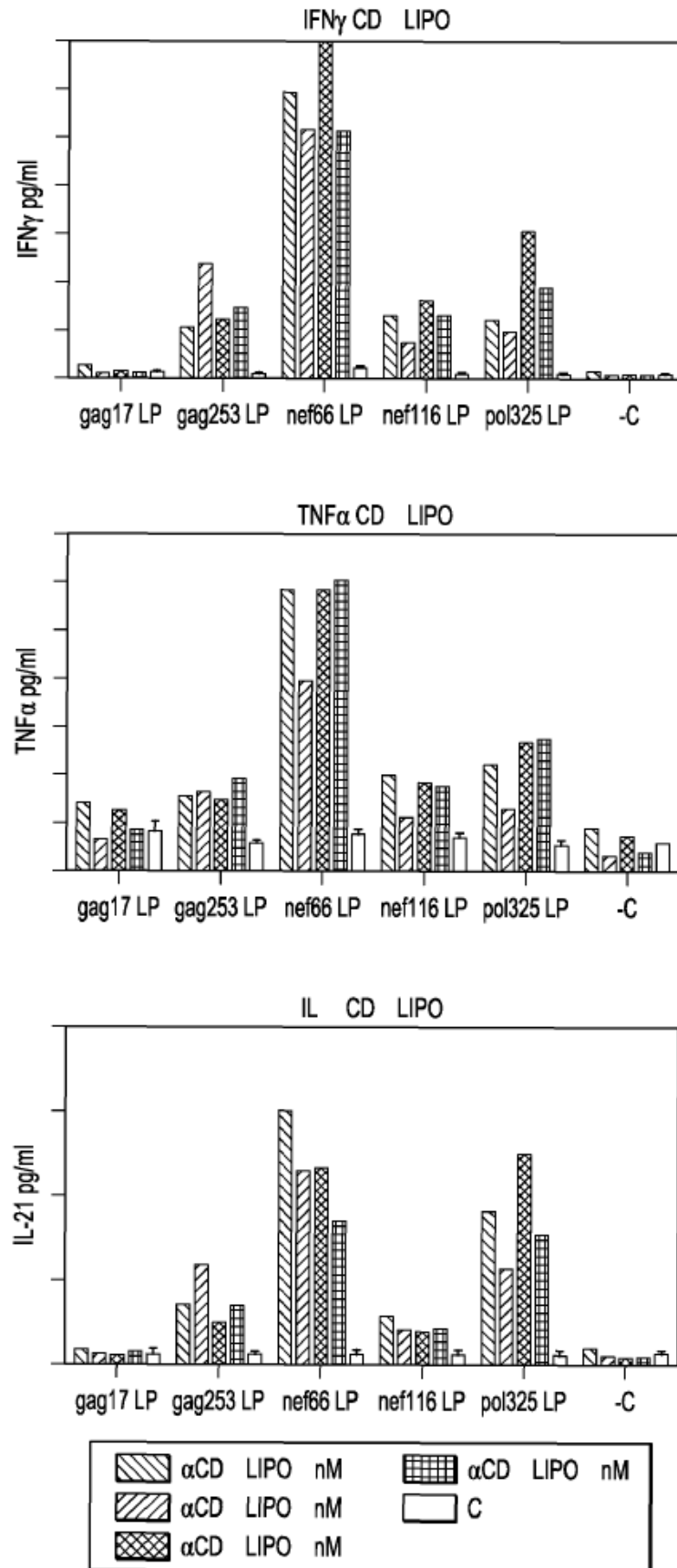
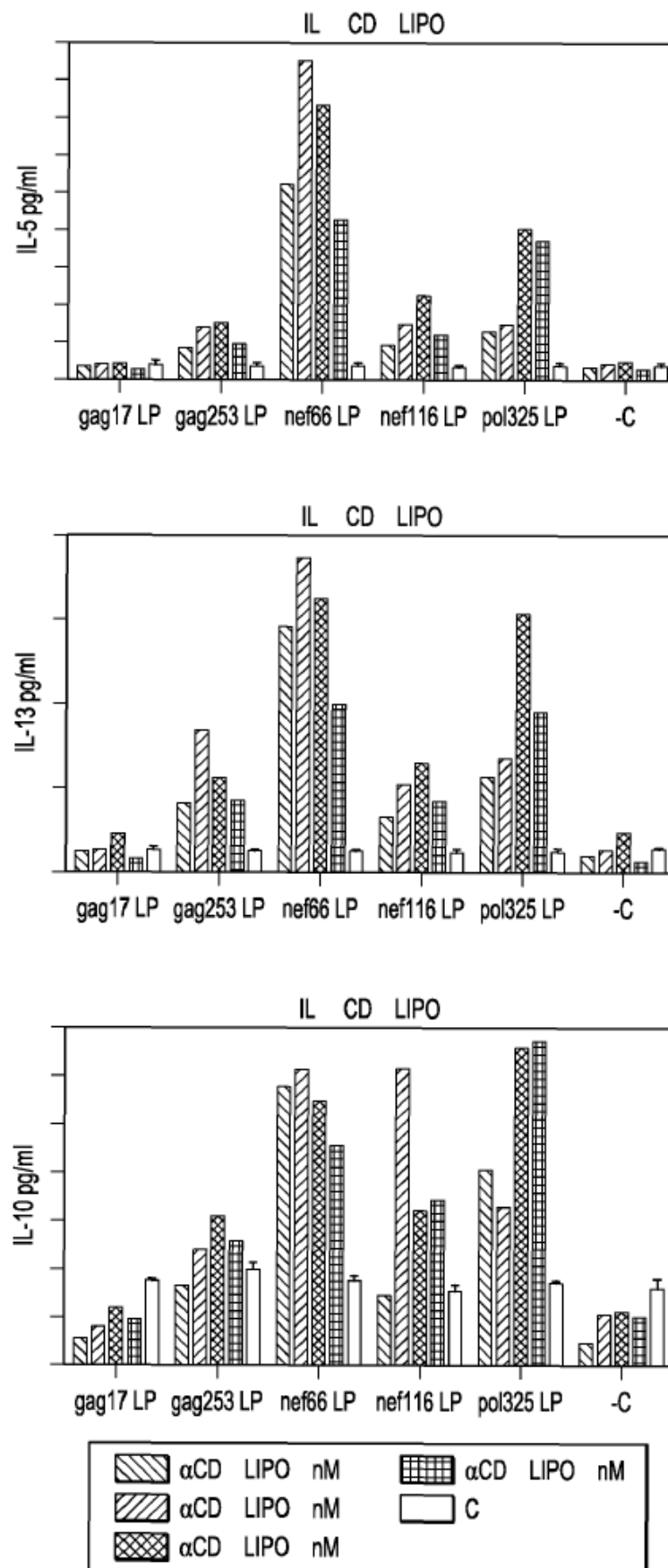


FIG. 8B



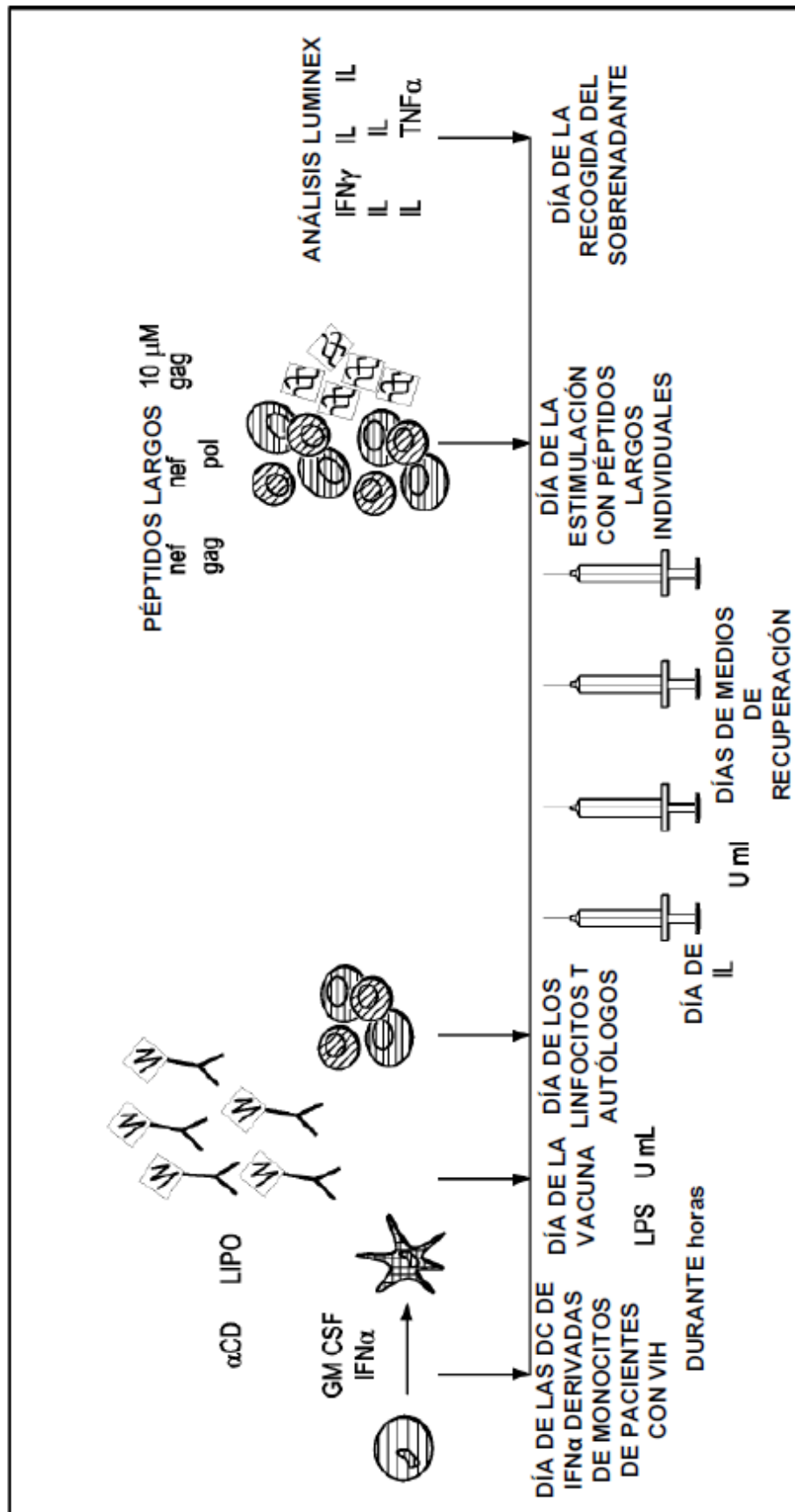


FIG. 9

FIG. 10A

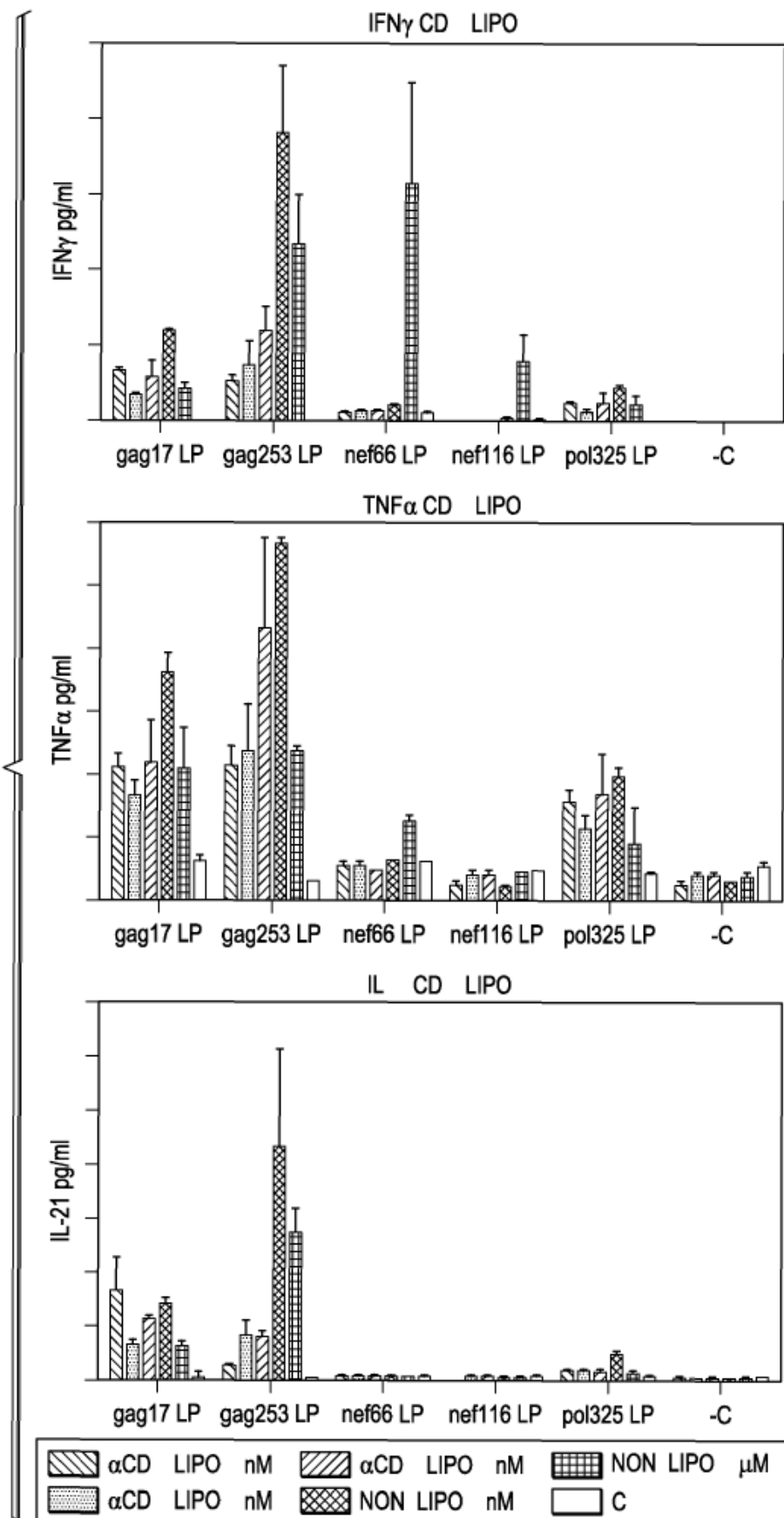


FIG. 10B

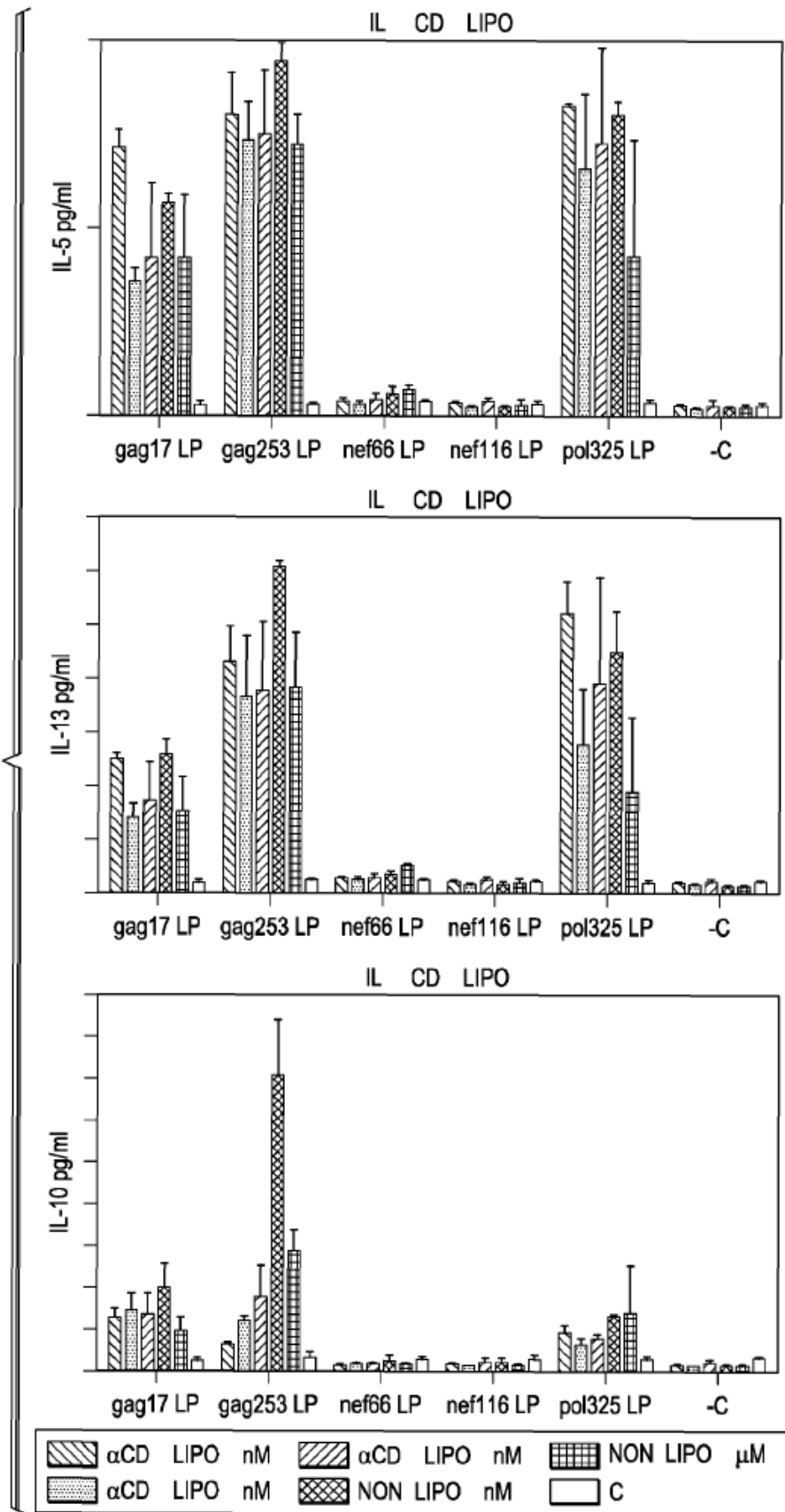


FIG. 11A

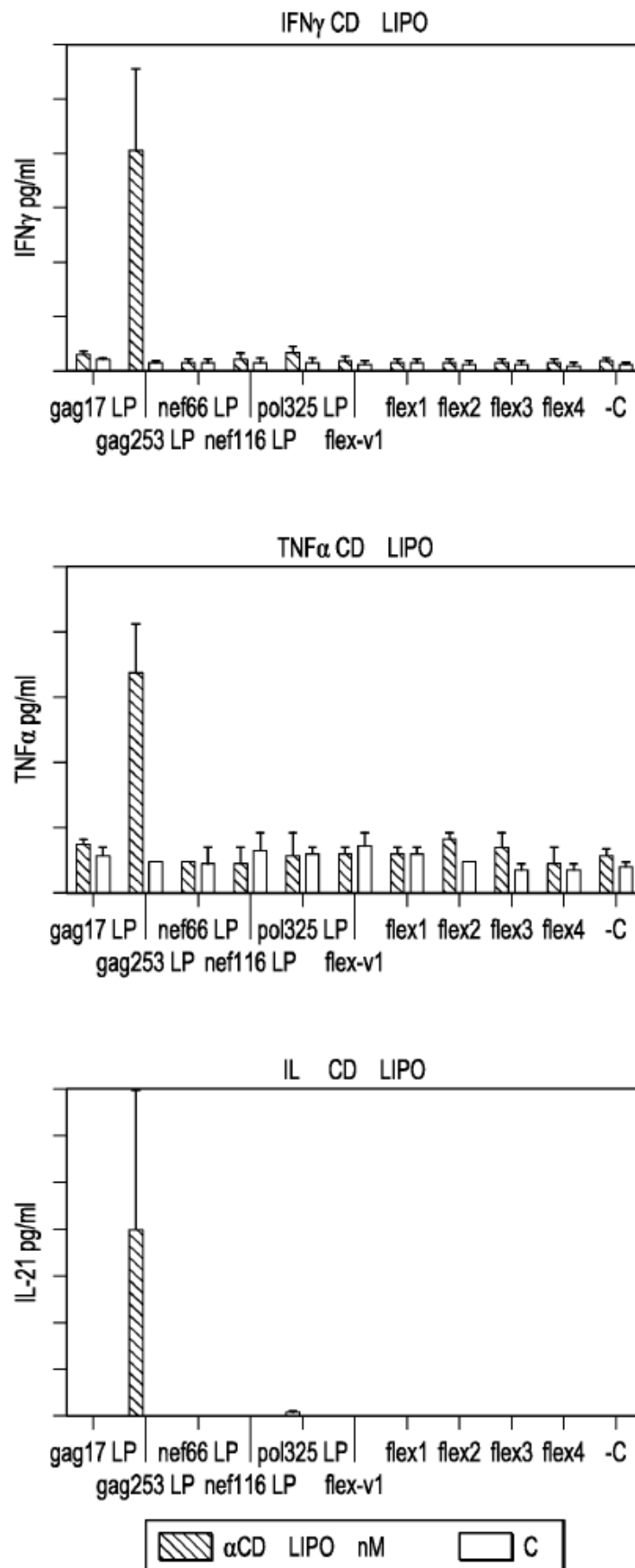
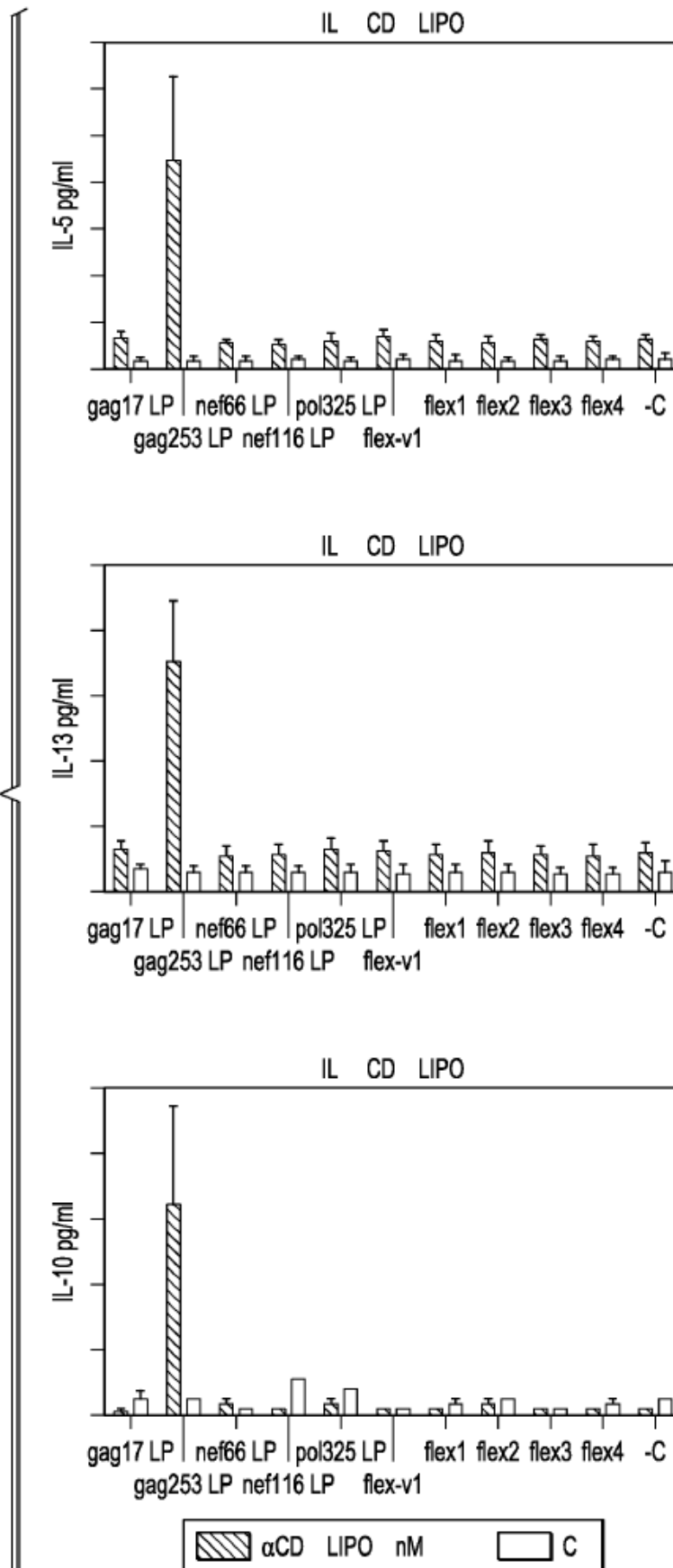
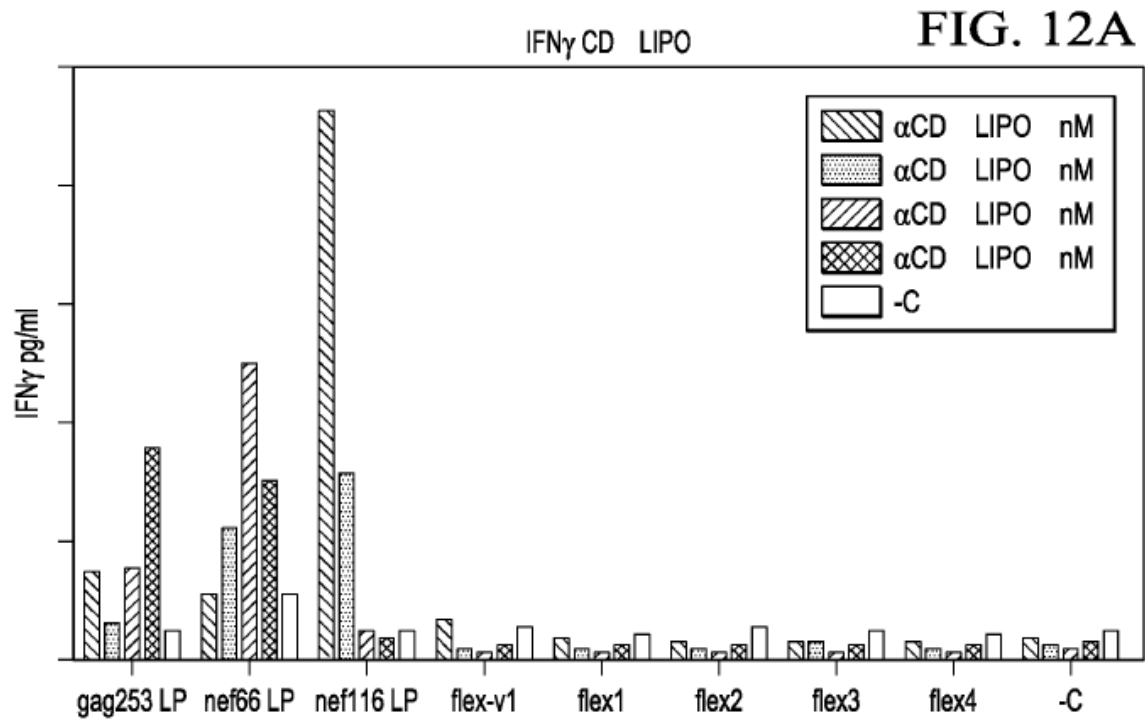


FIG. 11B





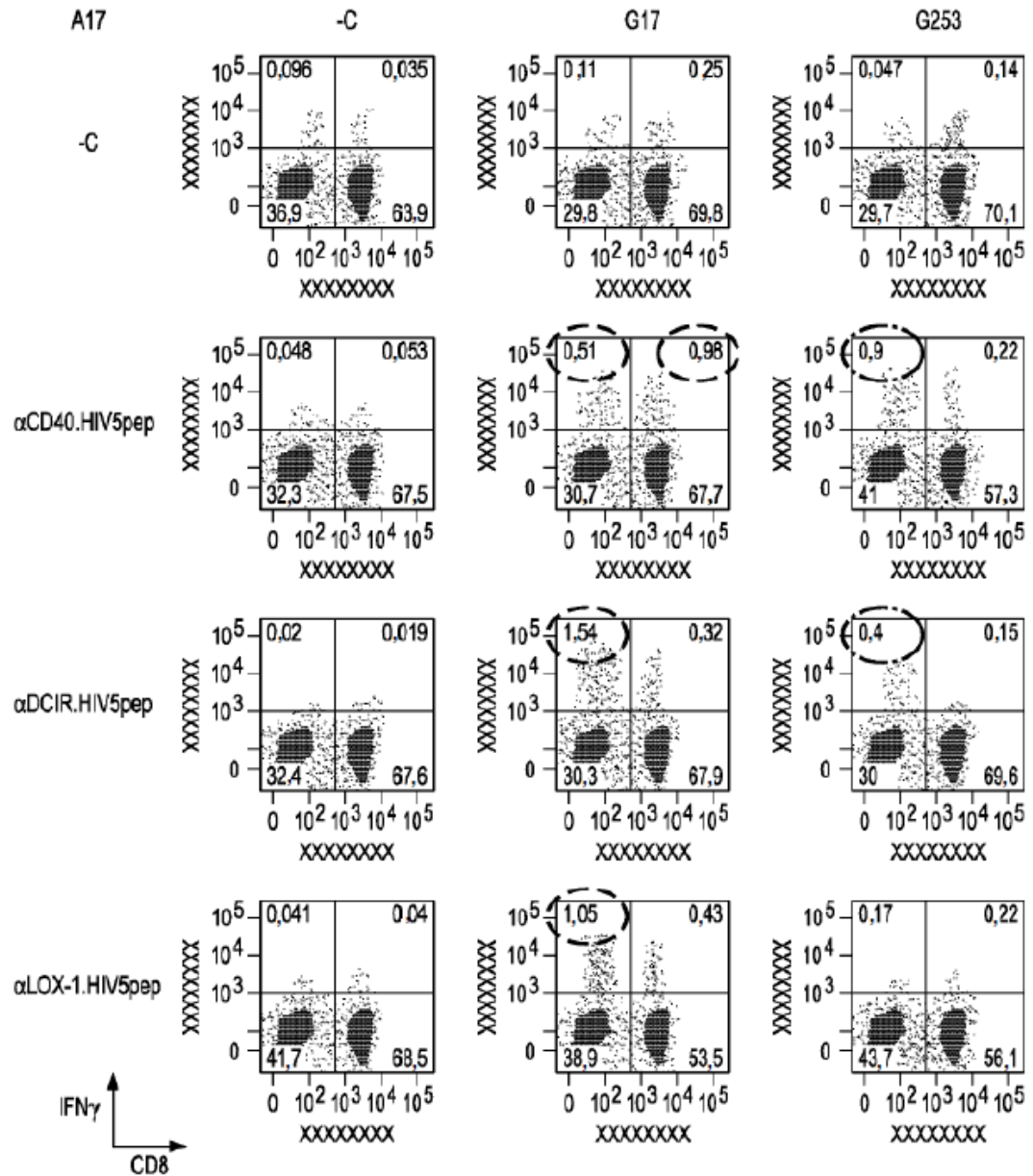


FIG. 12B-1

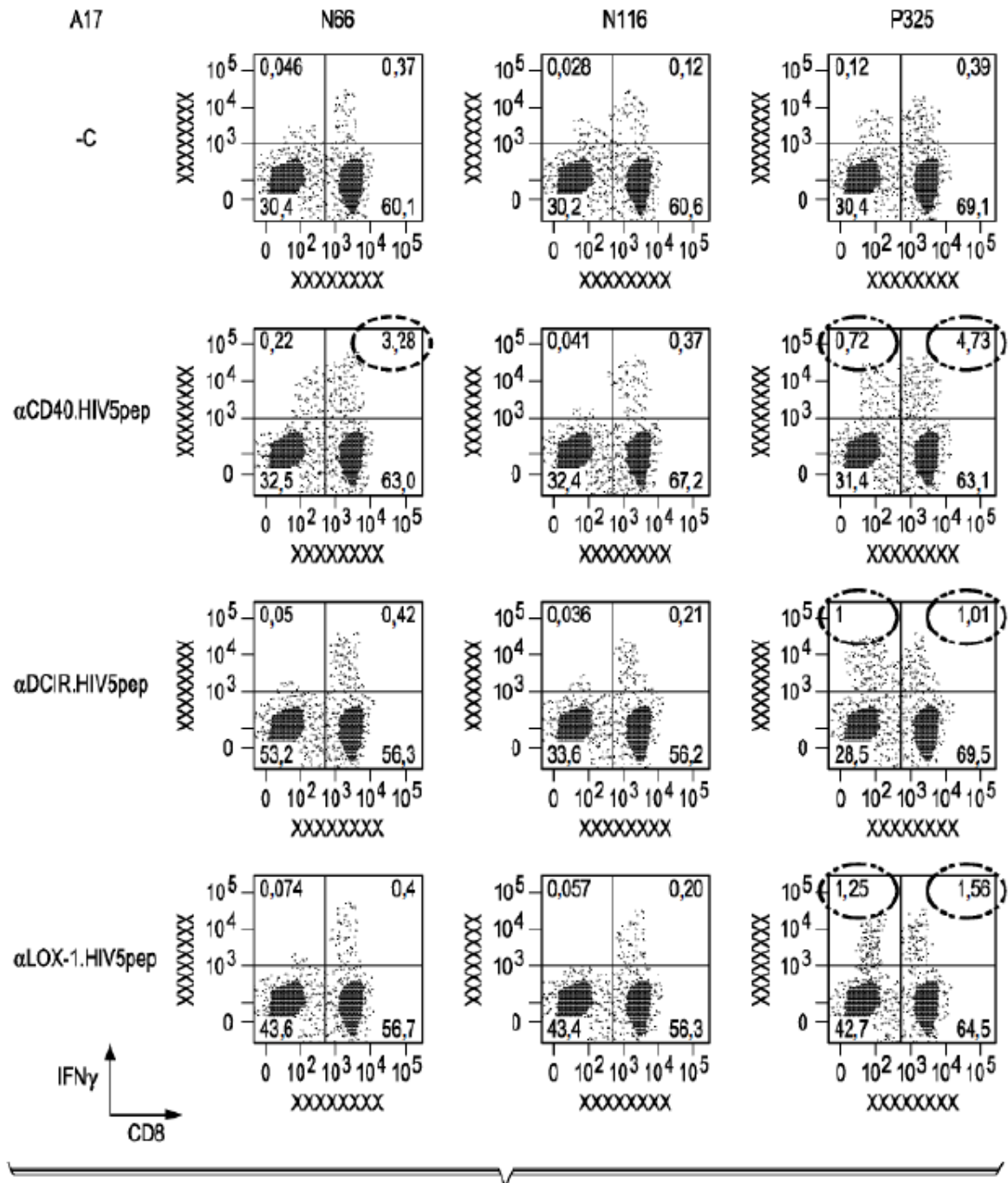


FIG. 12B-2

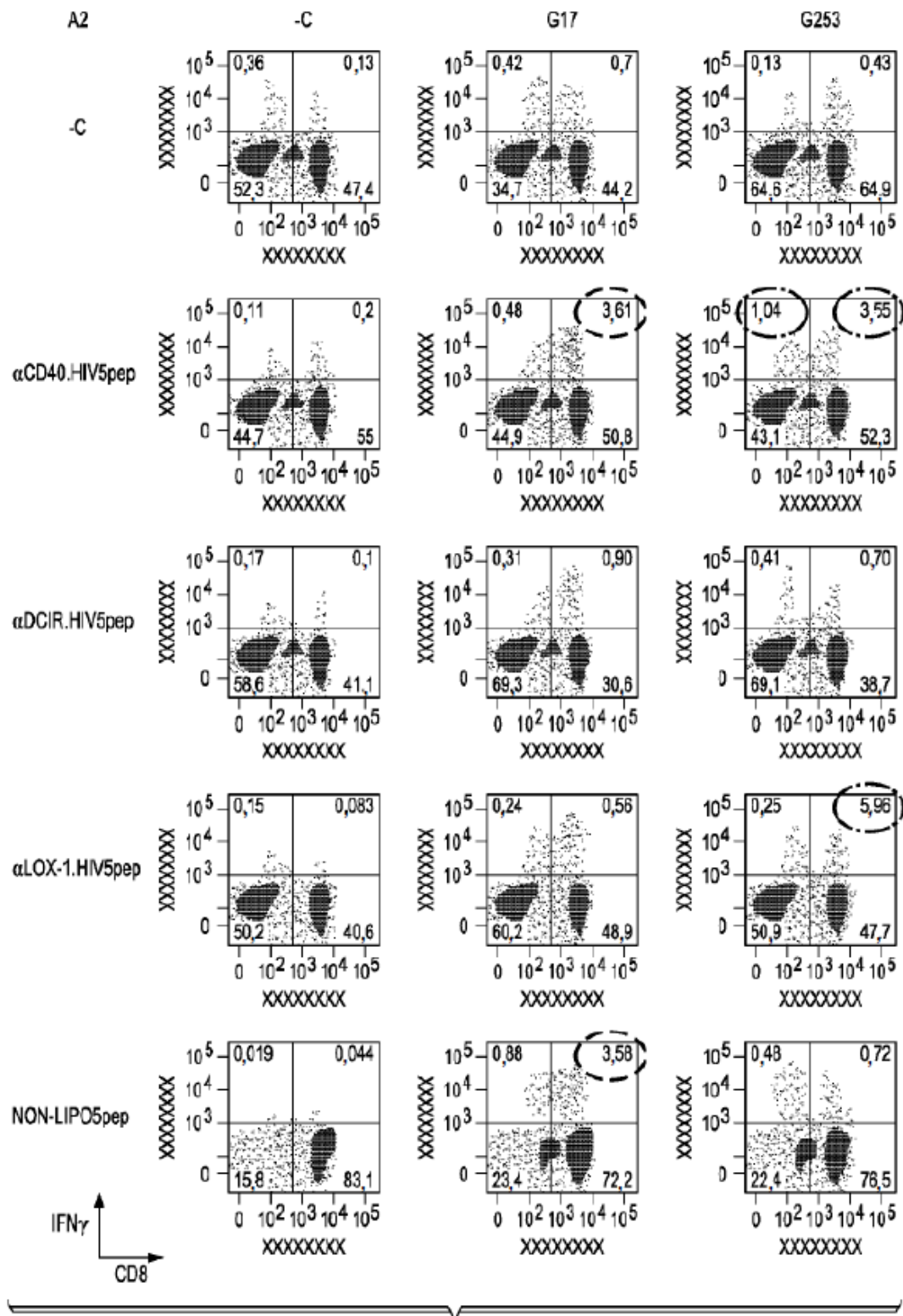


FIG. 12C-1

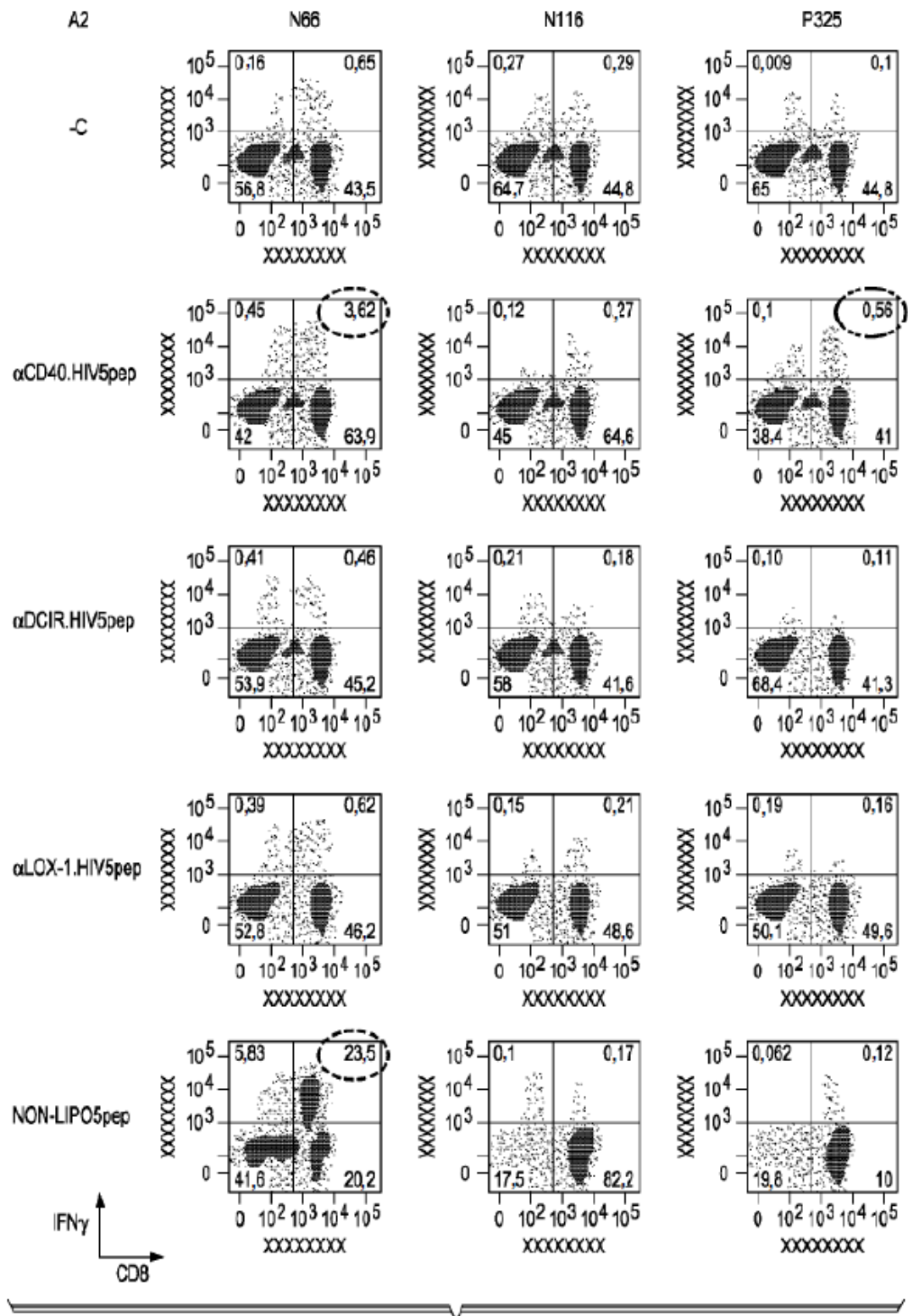


FIG. 12C-2

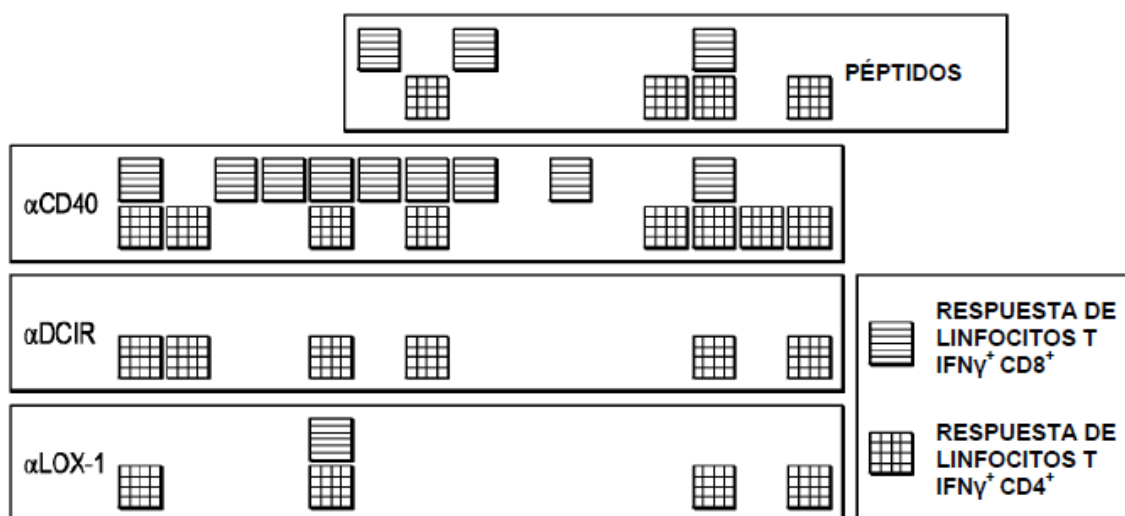


FIG. 12D

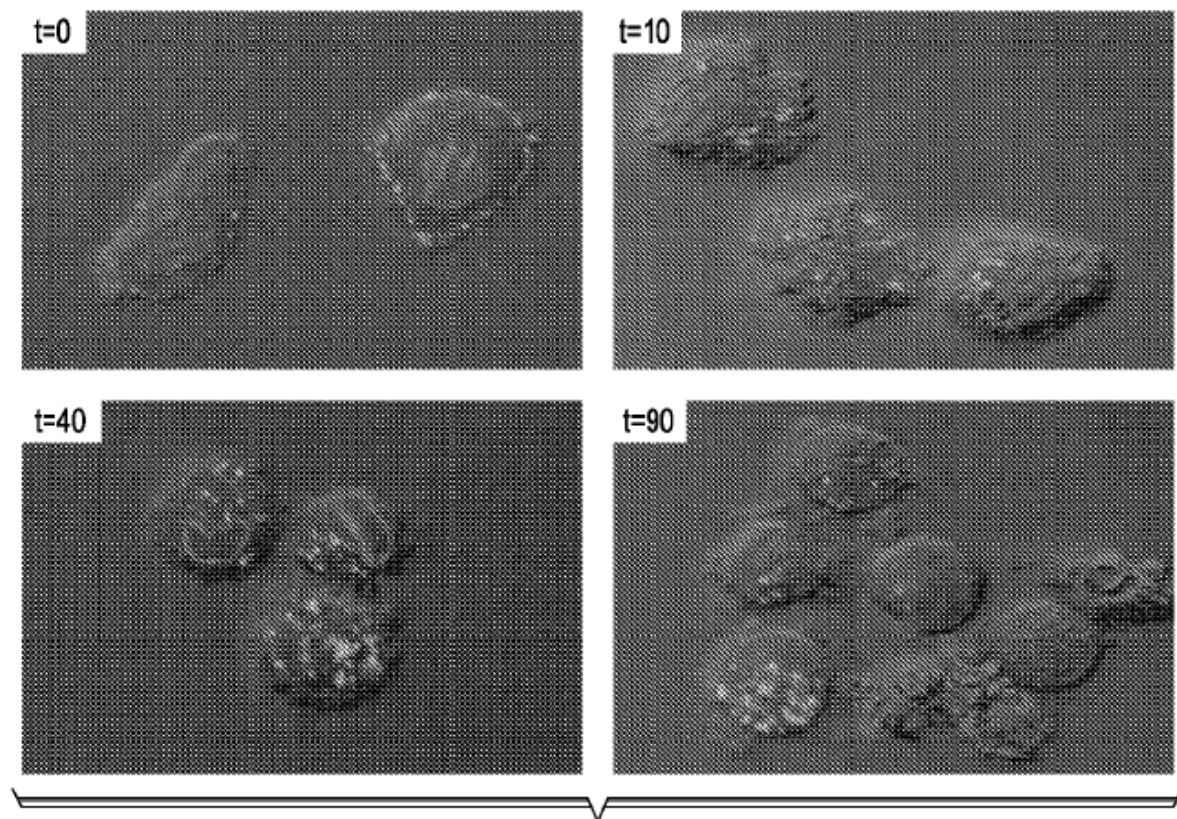
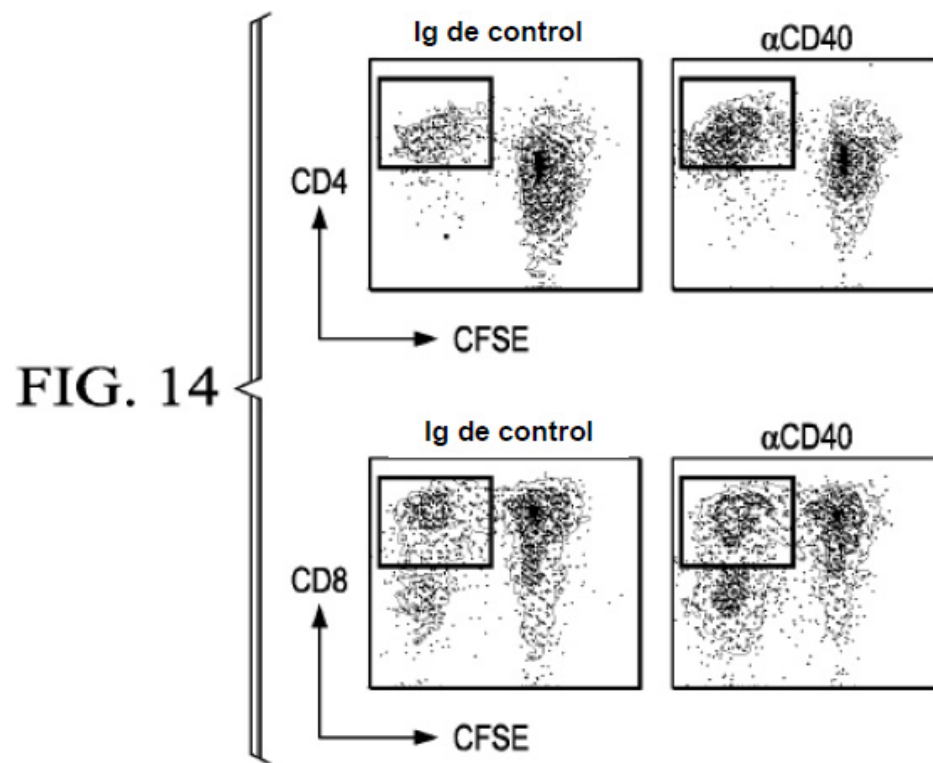
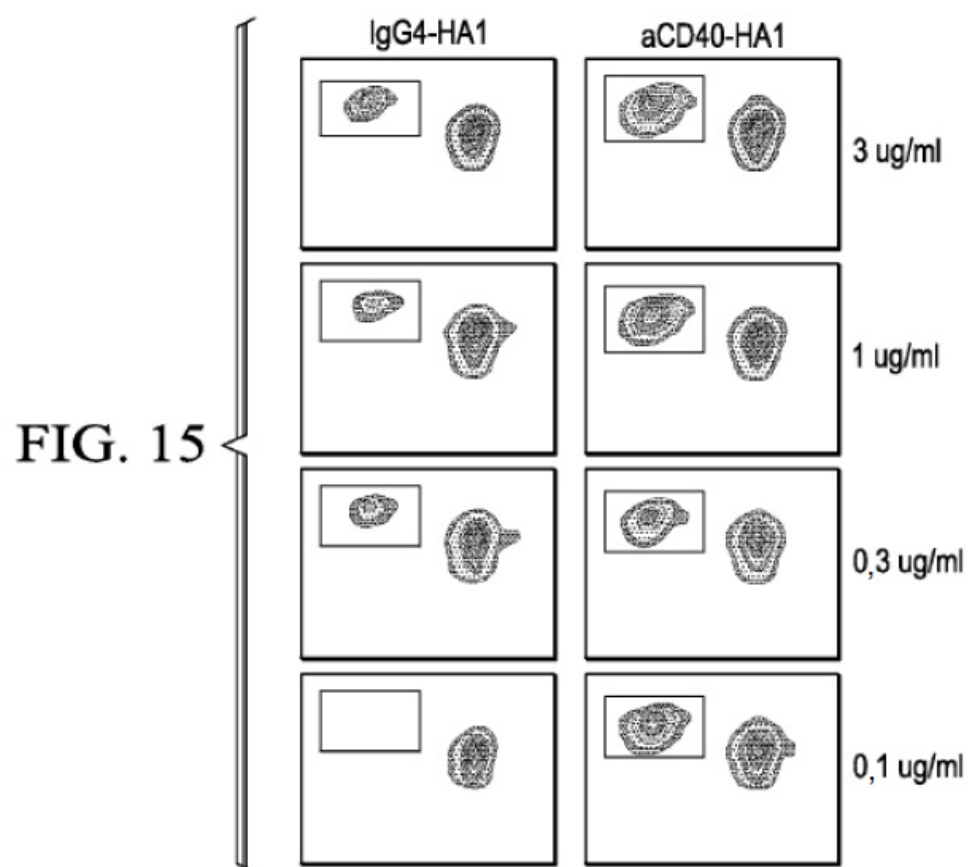


FIG. 13





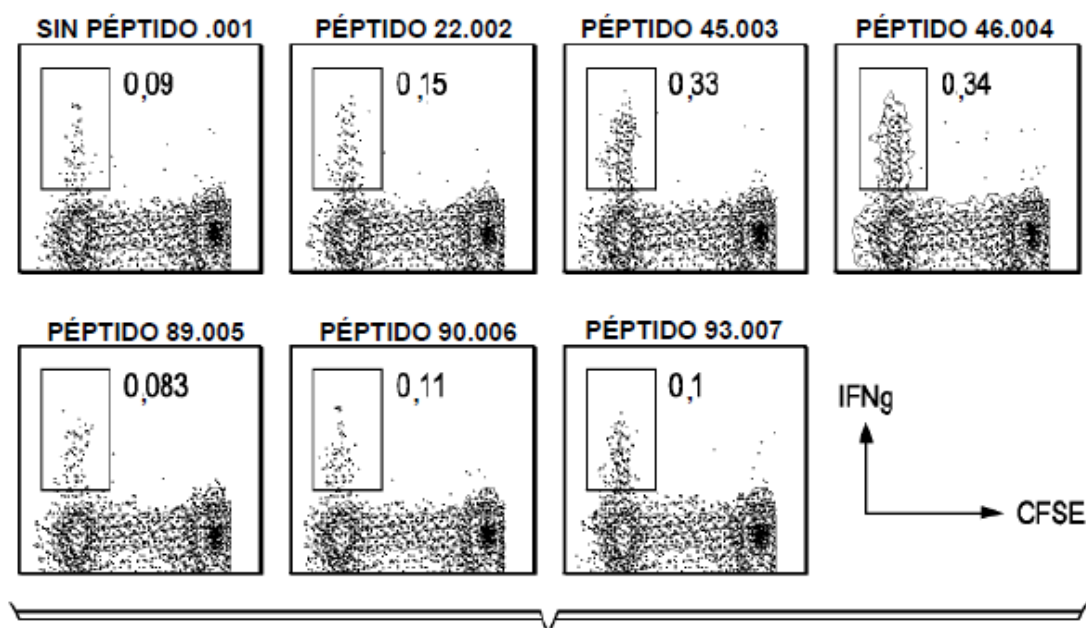
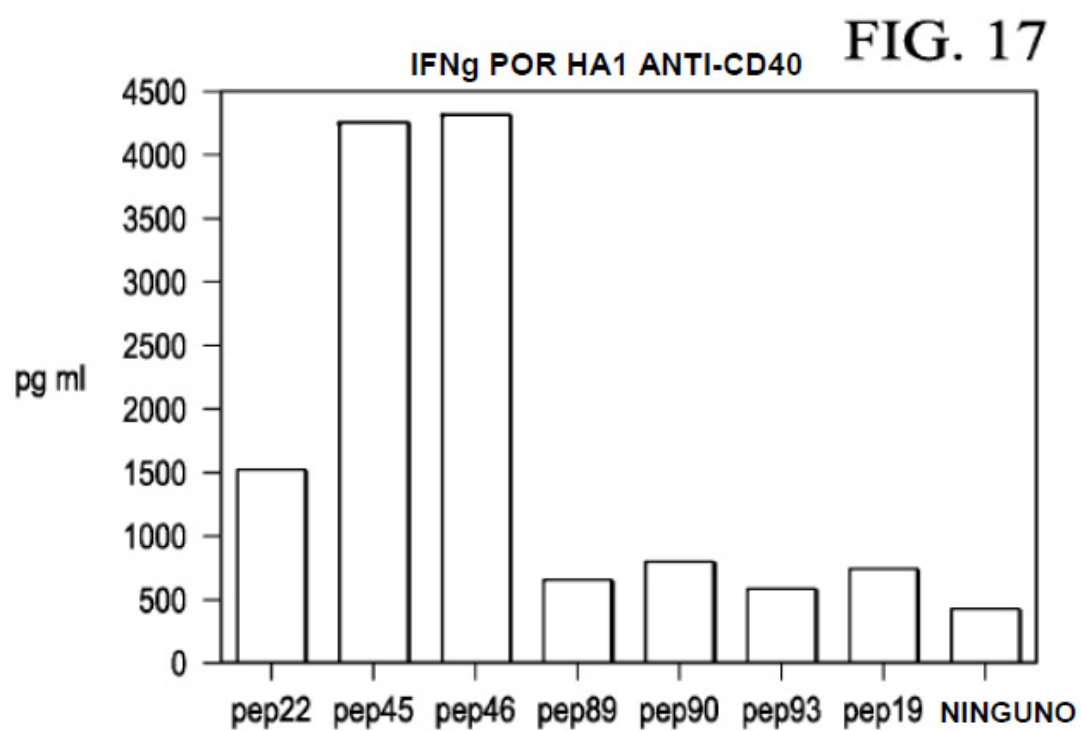


FIG. 16



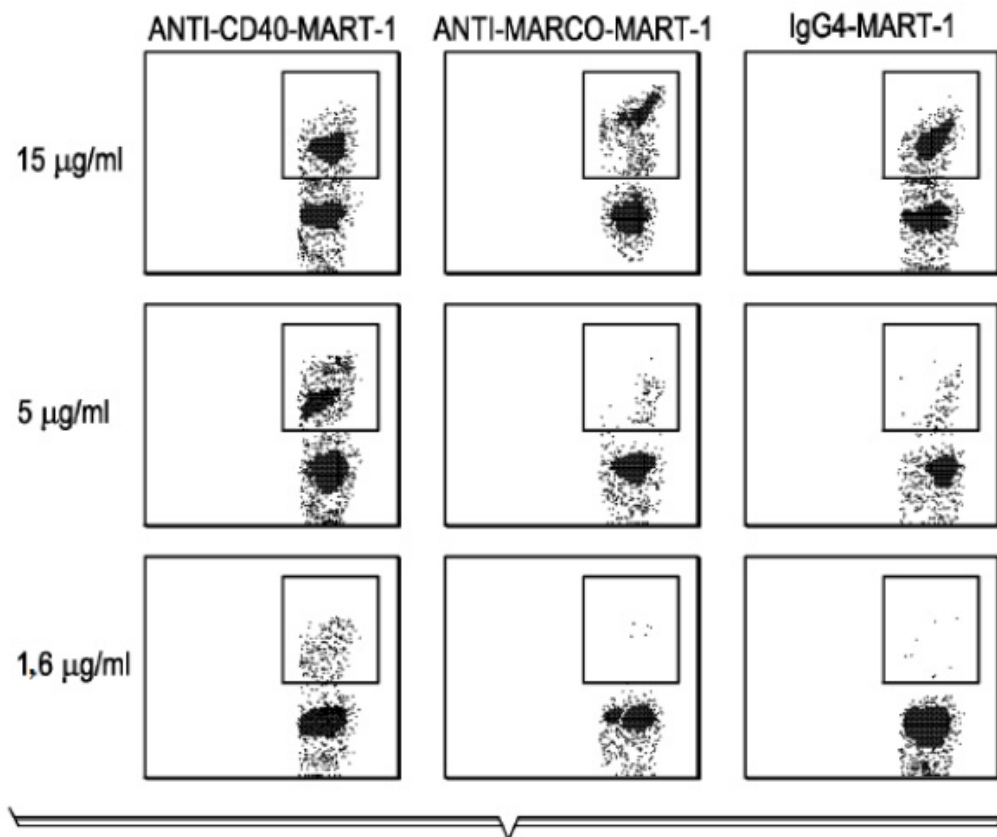


FIG. 18

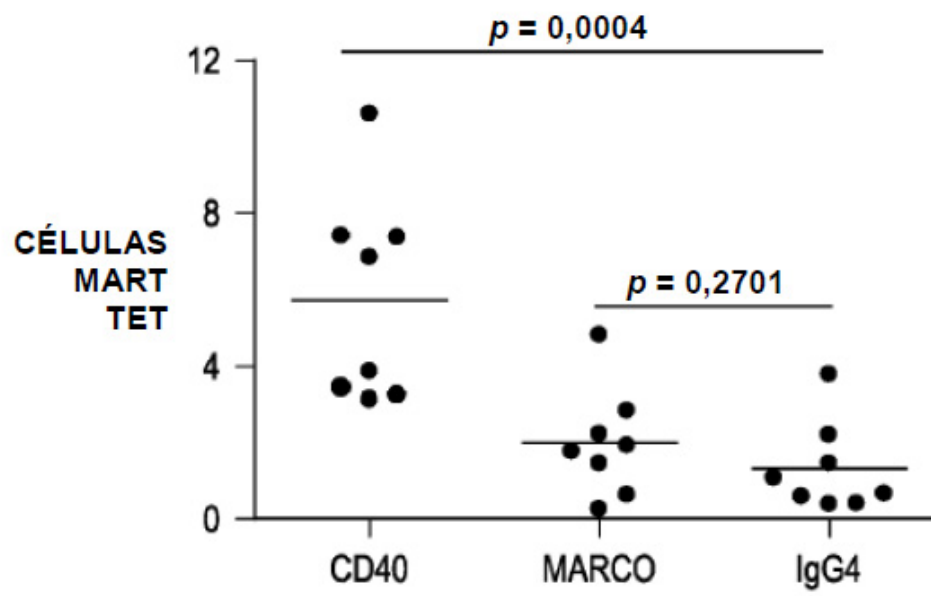


FIG. 19

CÉLULAS DIANA: LINFOCITOS T CARGADOS EN PÉPTIDOS MART

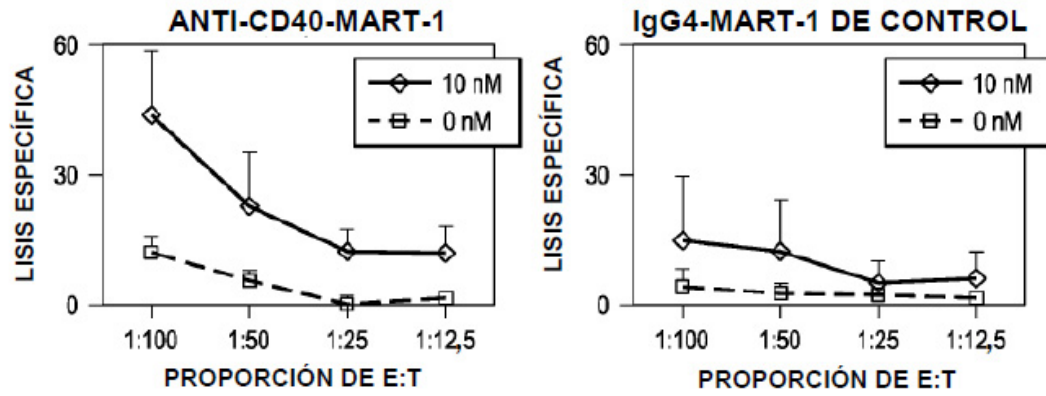


FIG. 20

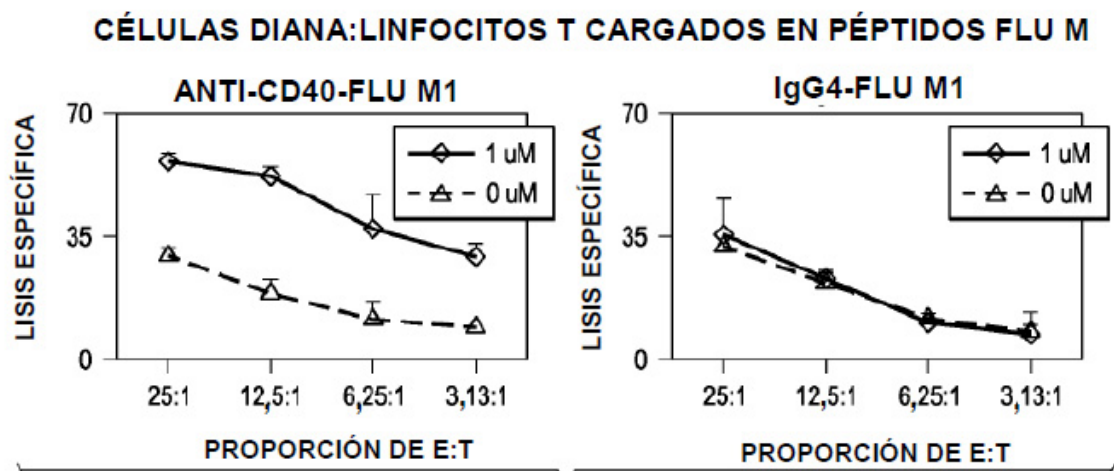


FIG. 21

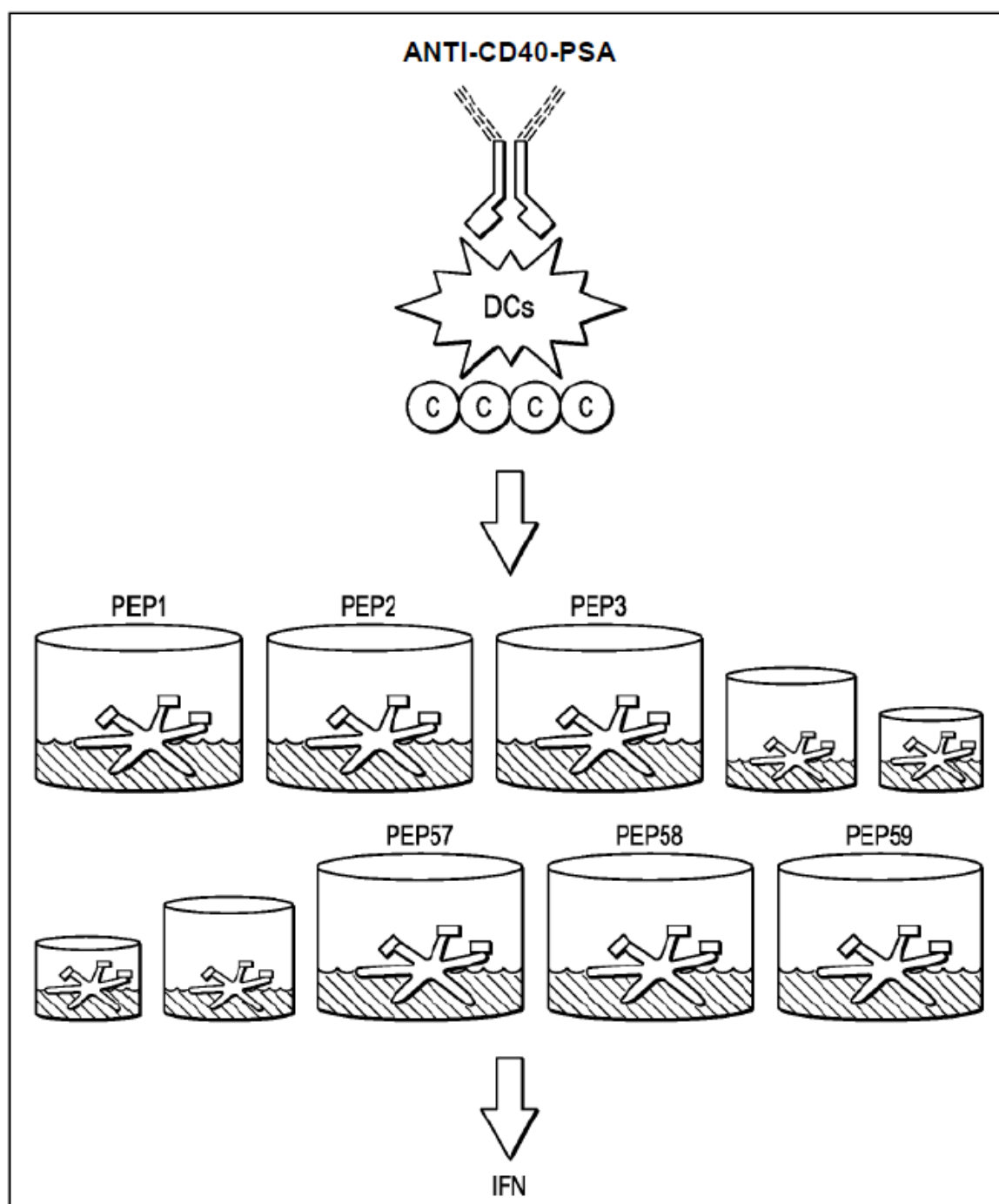
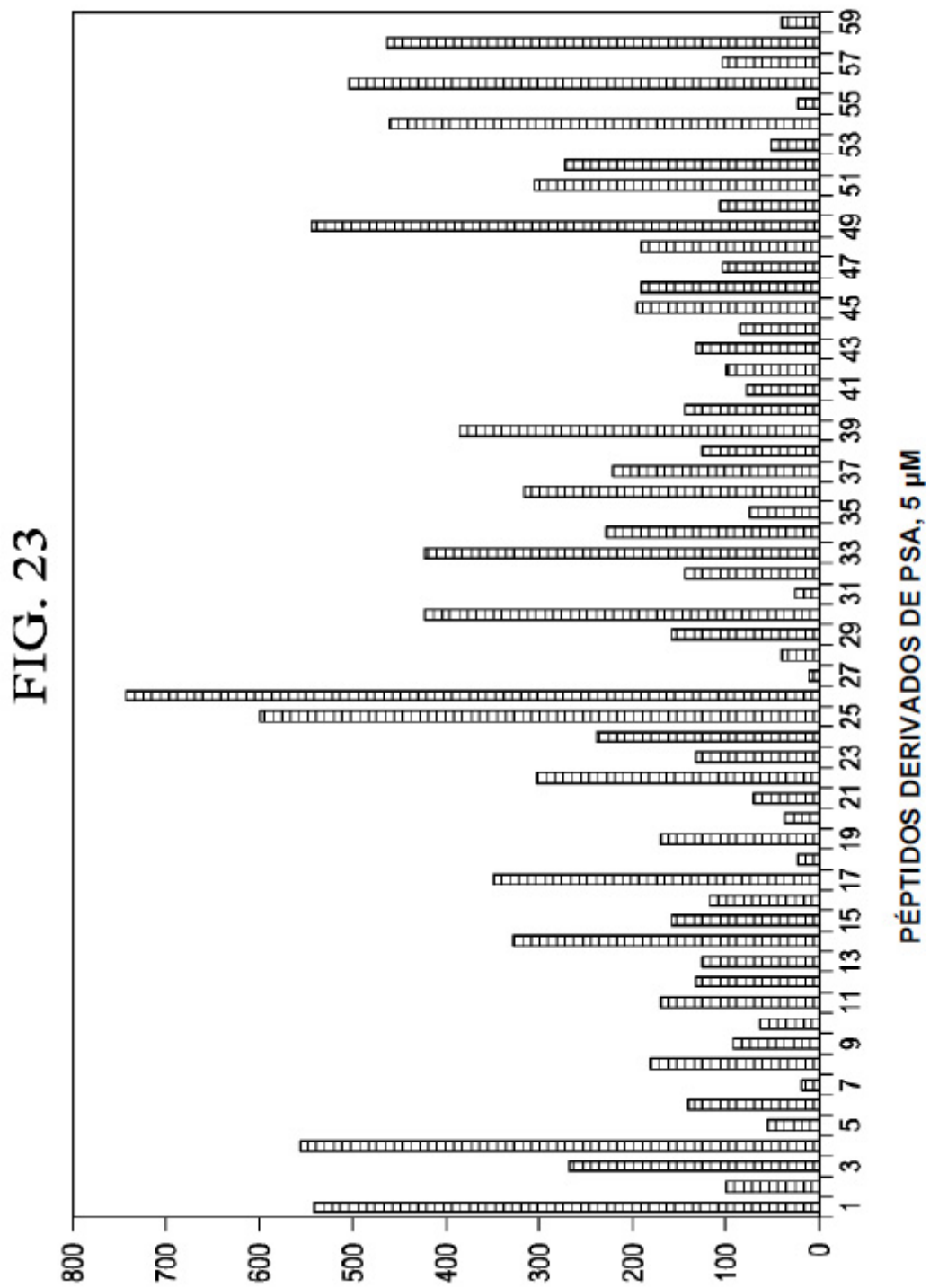


FIG. 22



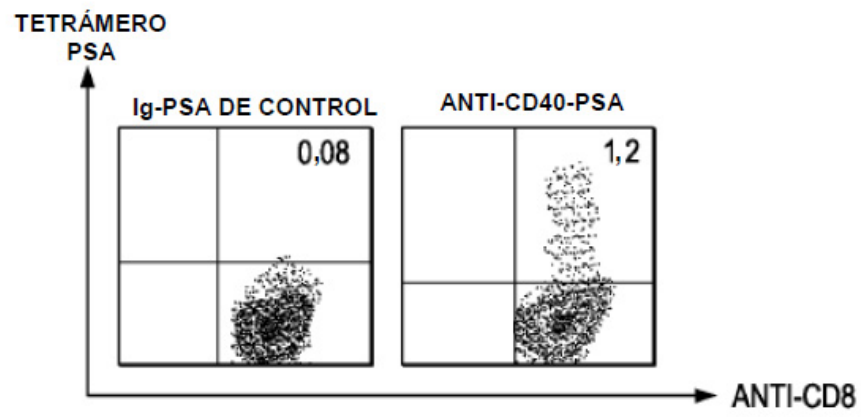
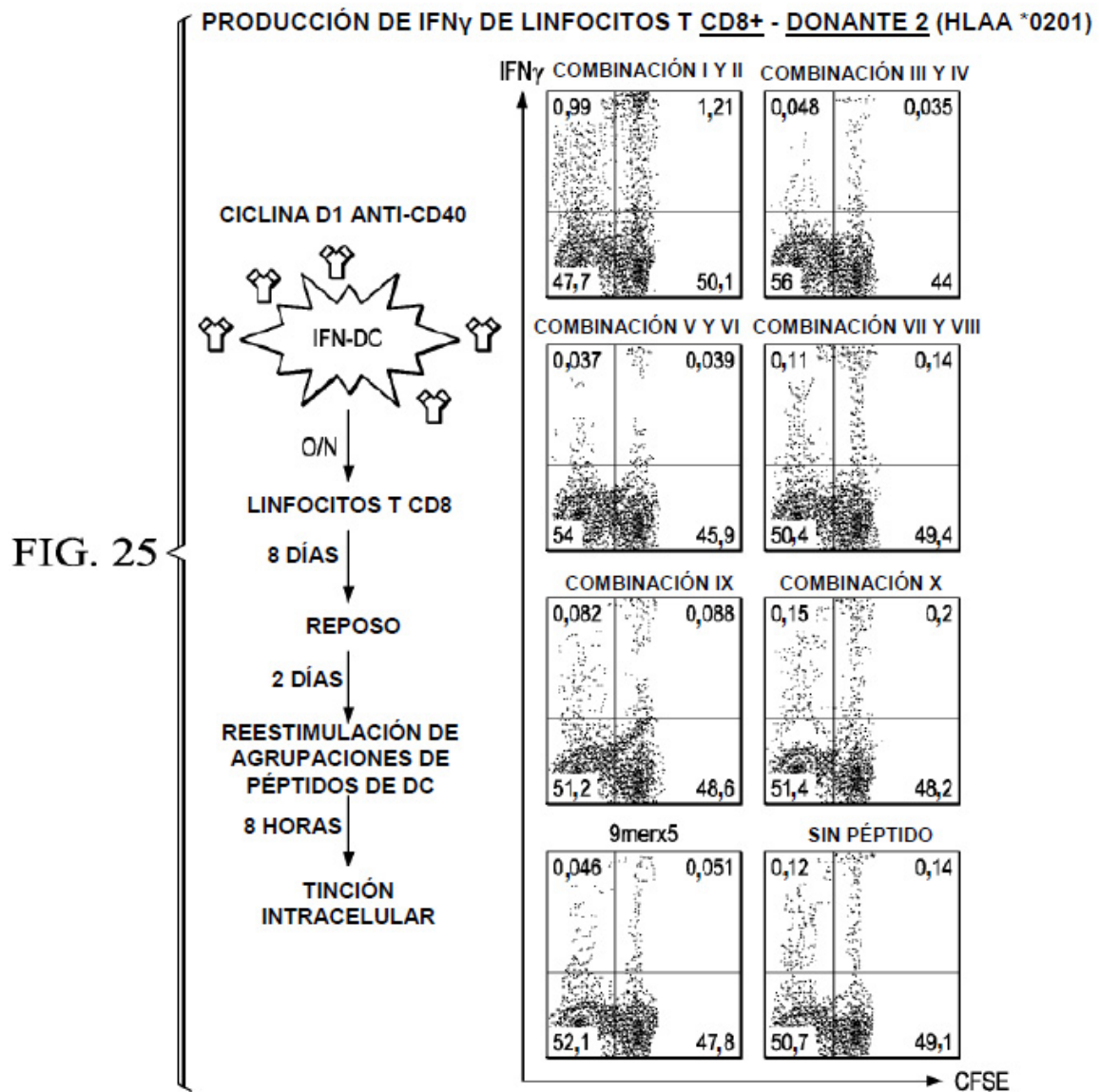


FIG. 24



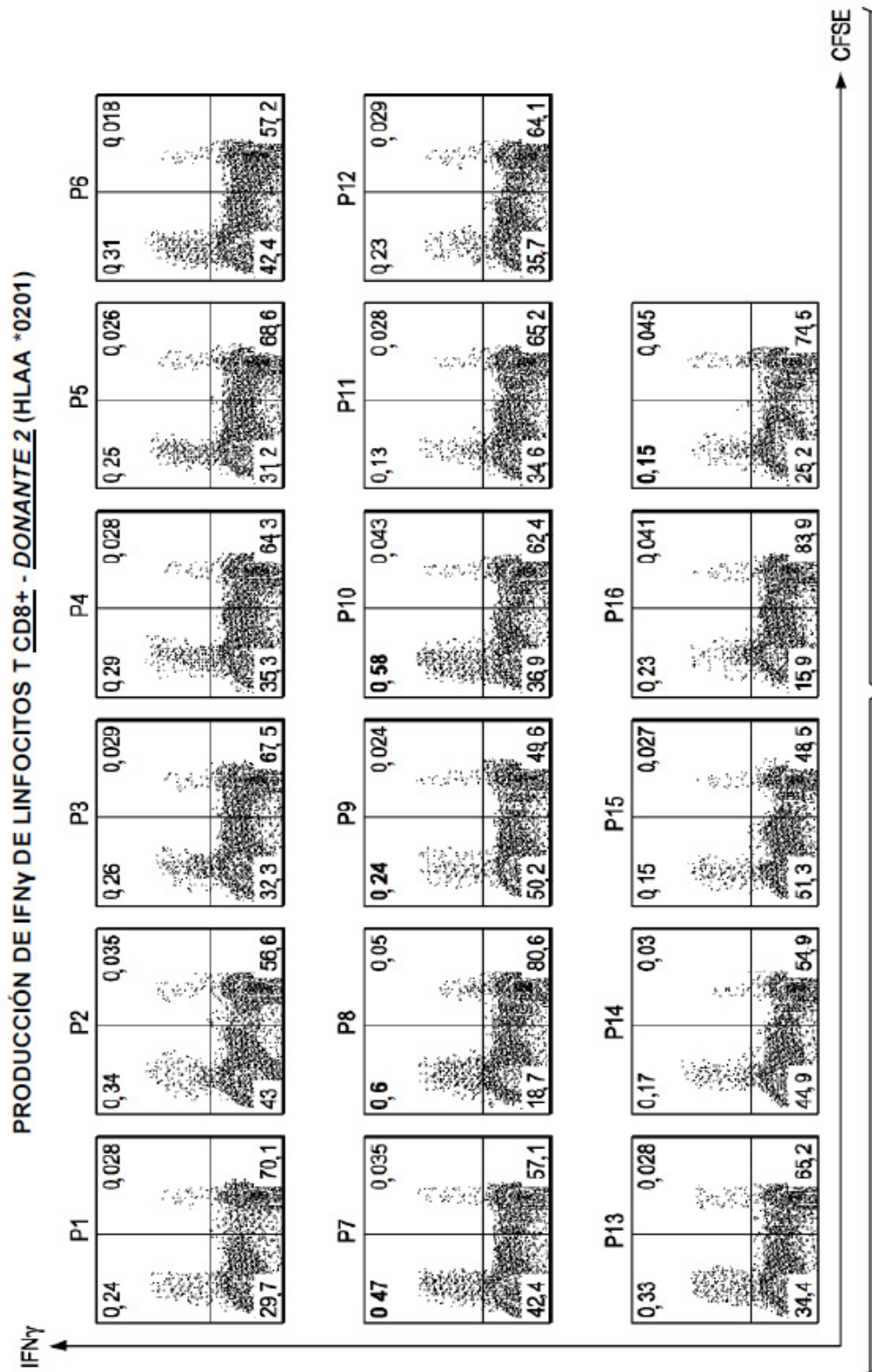
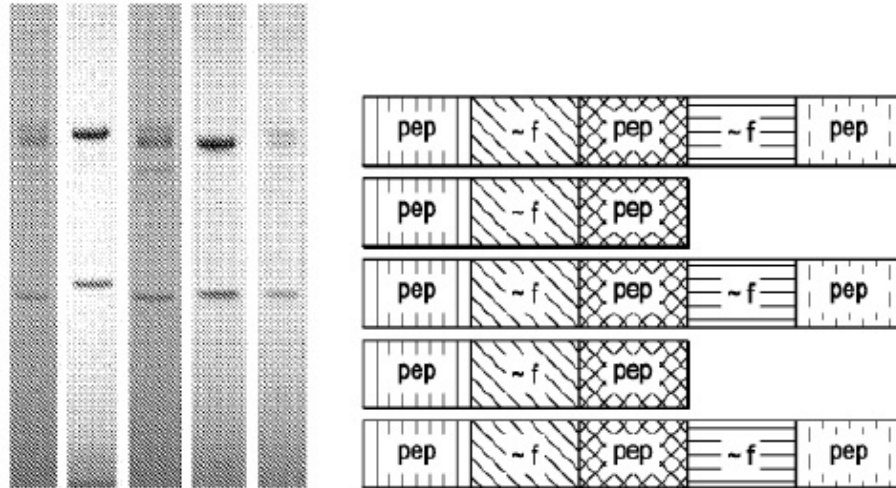


FIG. 26

ANTICUERPOS MART



hlgG H LV hlgG H C Flex v hMART Pep f Pep f Pep
 manti CD _ E F _H LV hlgG H C Flex v hMART Pep f Pep
 manti CD _ E F _H LV hlgG H C Flex v hMART Pep f Pep f Pep
 mAnti DCIR_ E _H LV hlgG H C Flex v hMART Pep f Pep
 mAnti DCIR_ E _H LV hlgG H C Flex v hMART Pep f Pep f Pep

FIG. 27

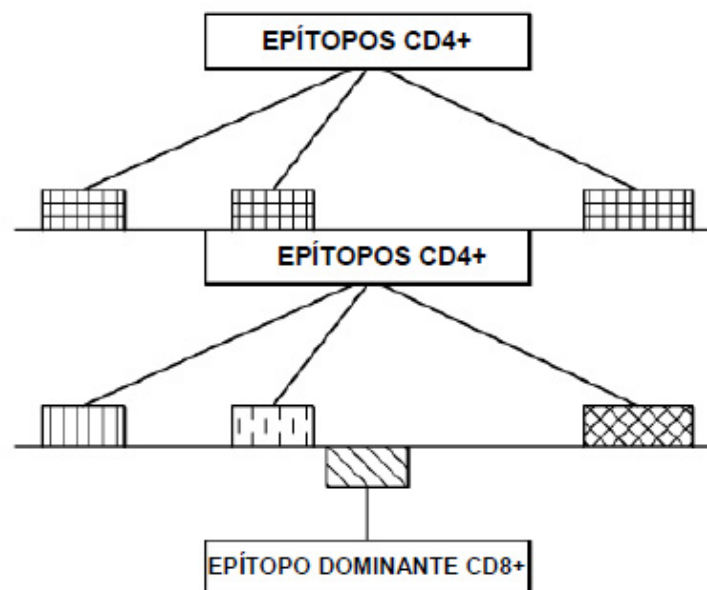


FIG. 28

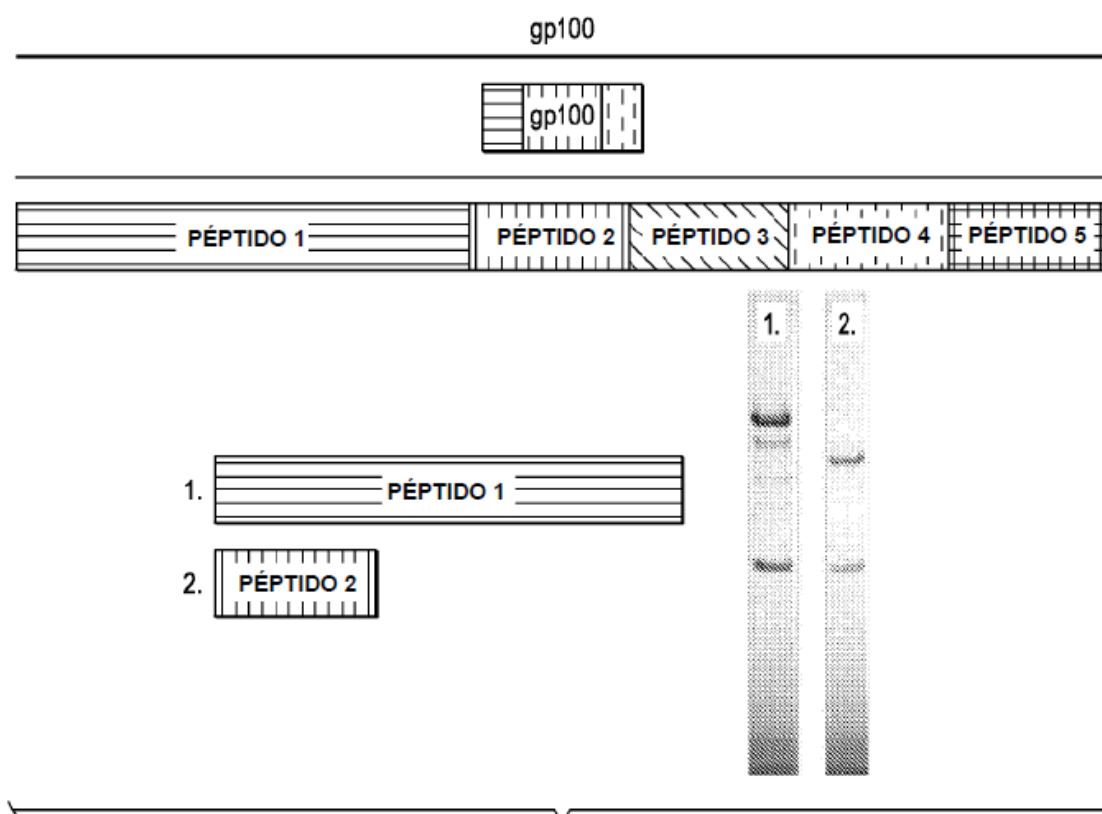


FIG. 29

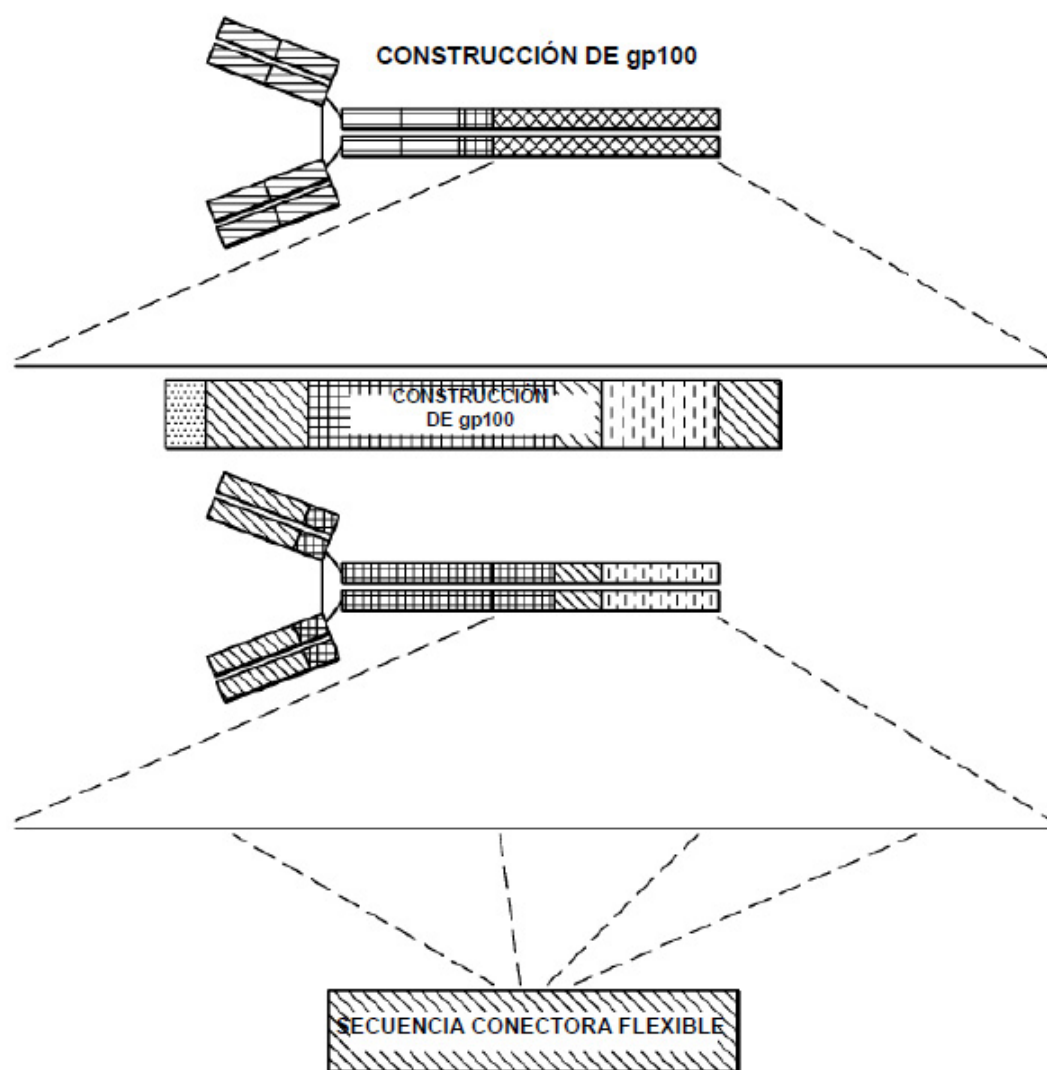


FIG. 30

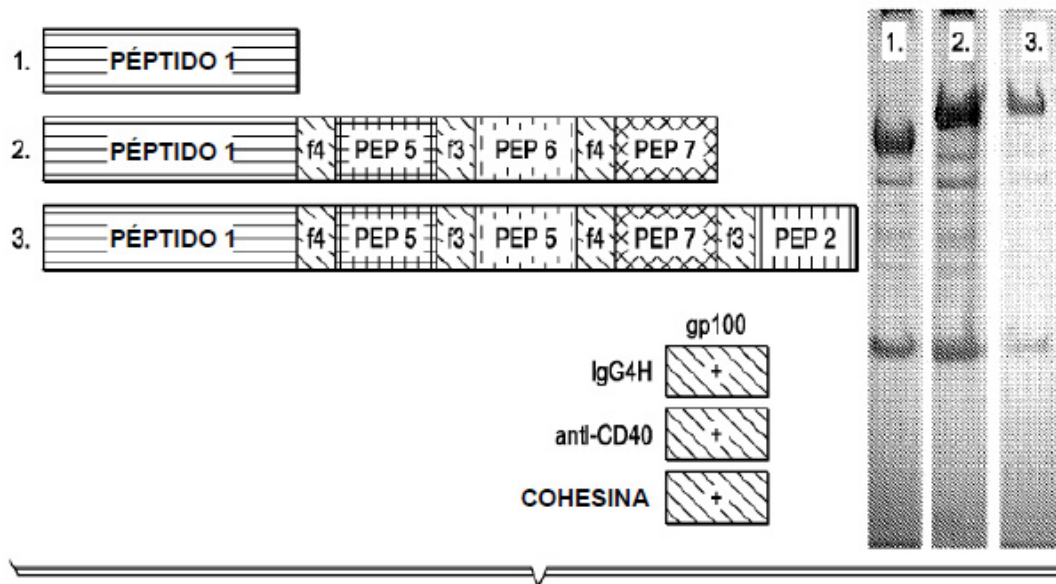


FIG. 31

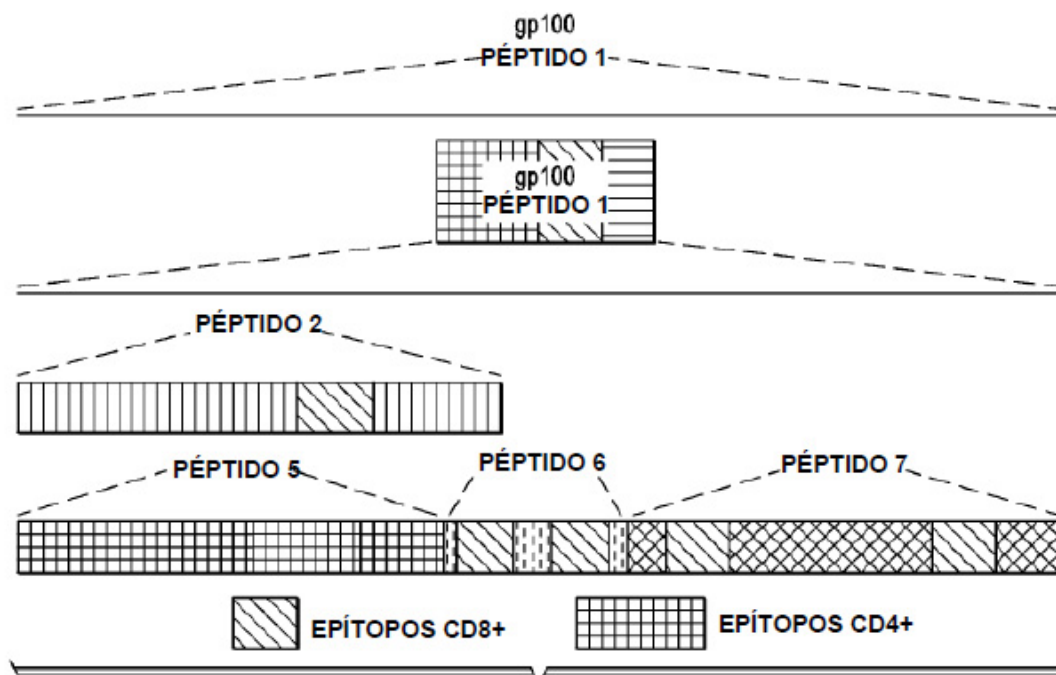


FIG. 32

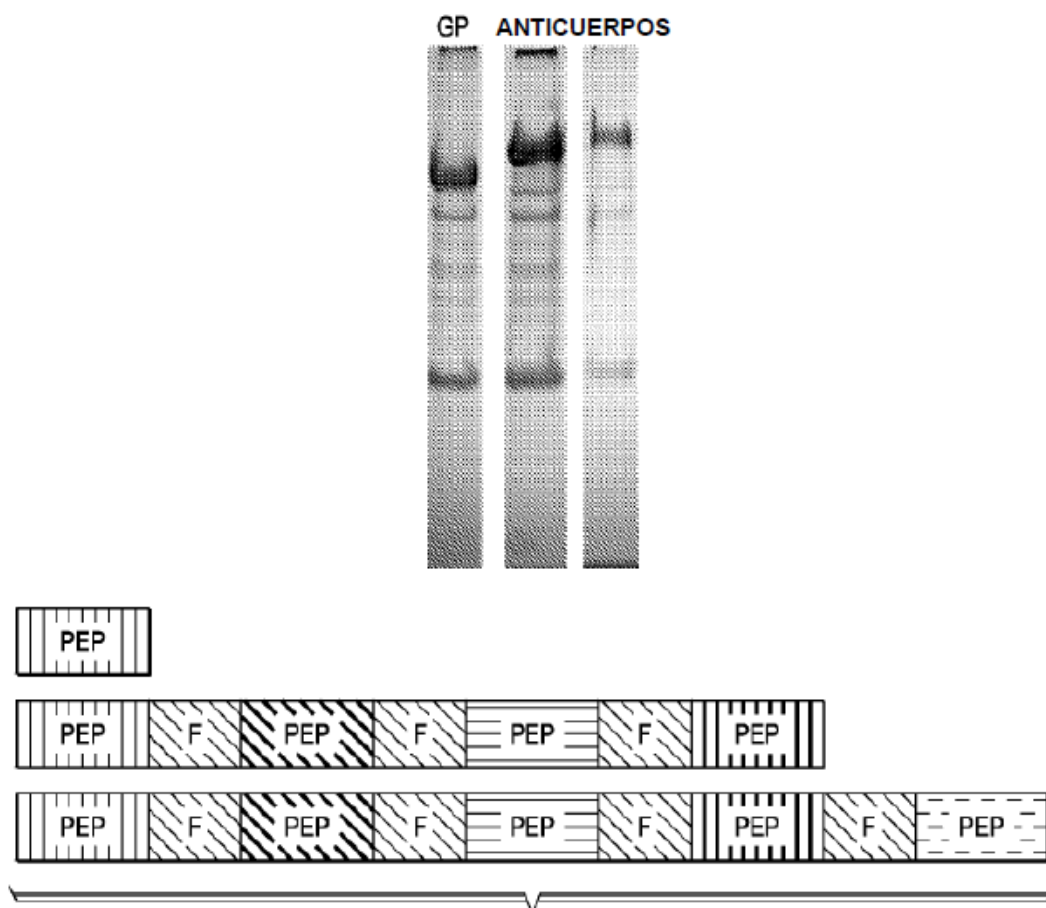


FIG. 33

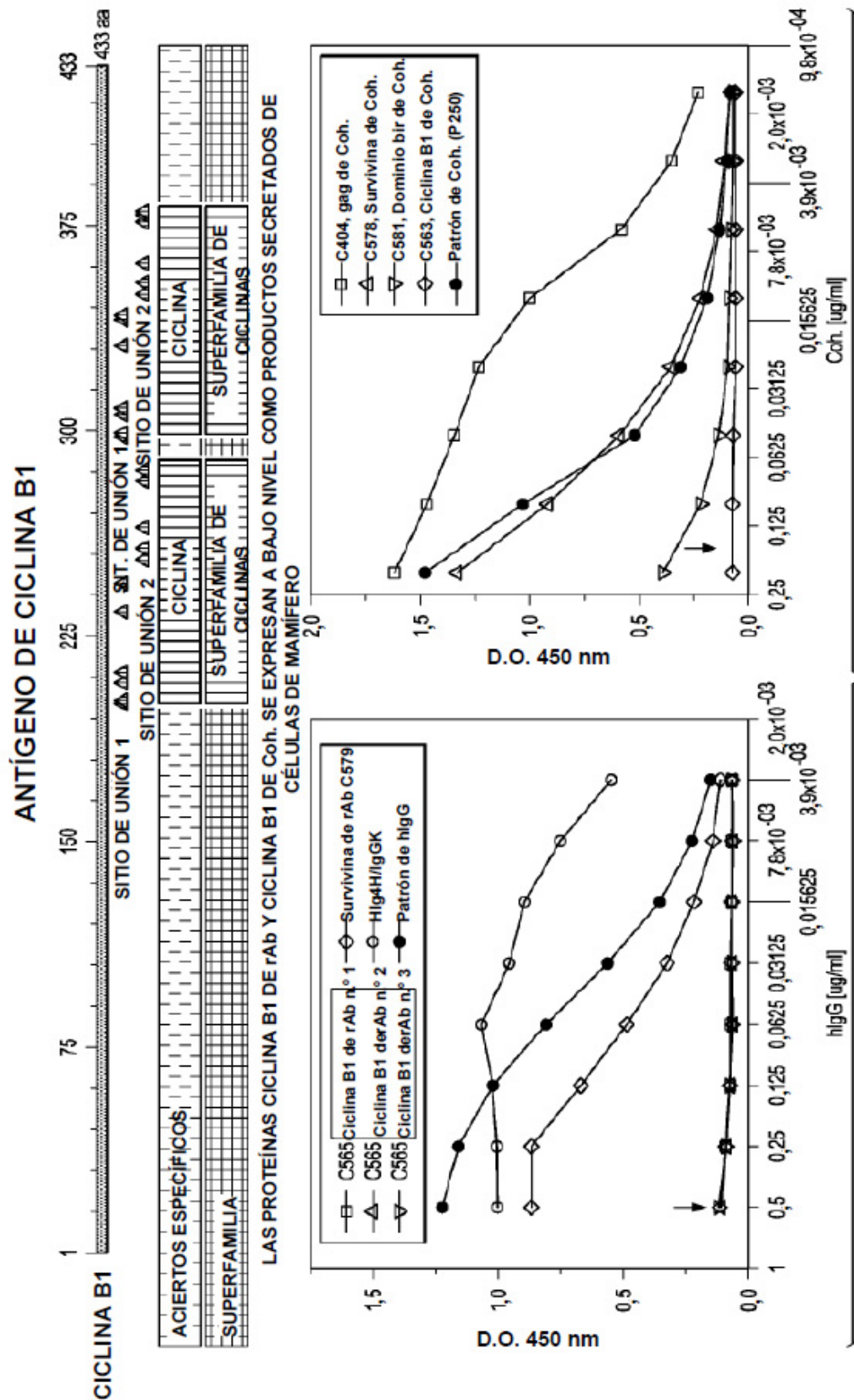
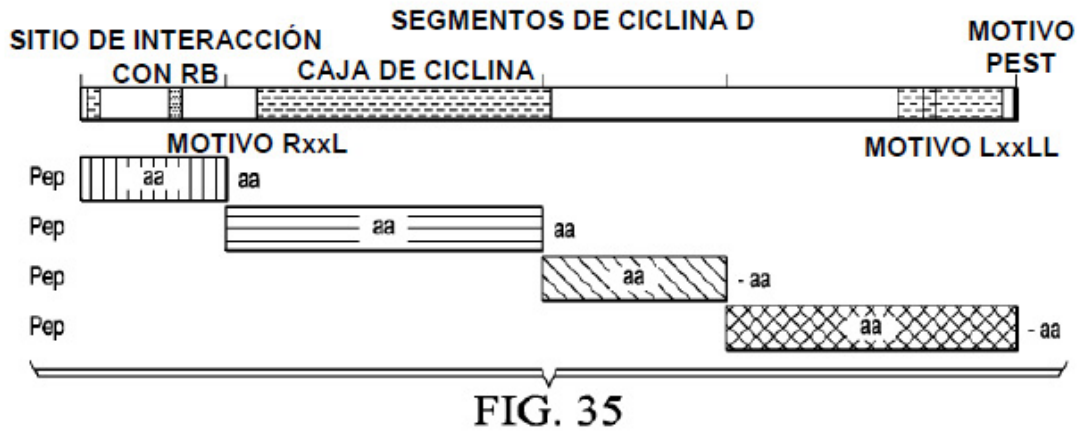


FIG. 34A

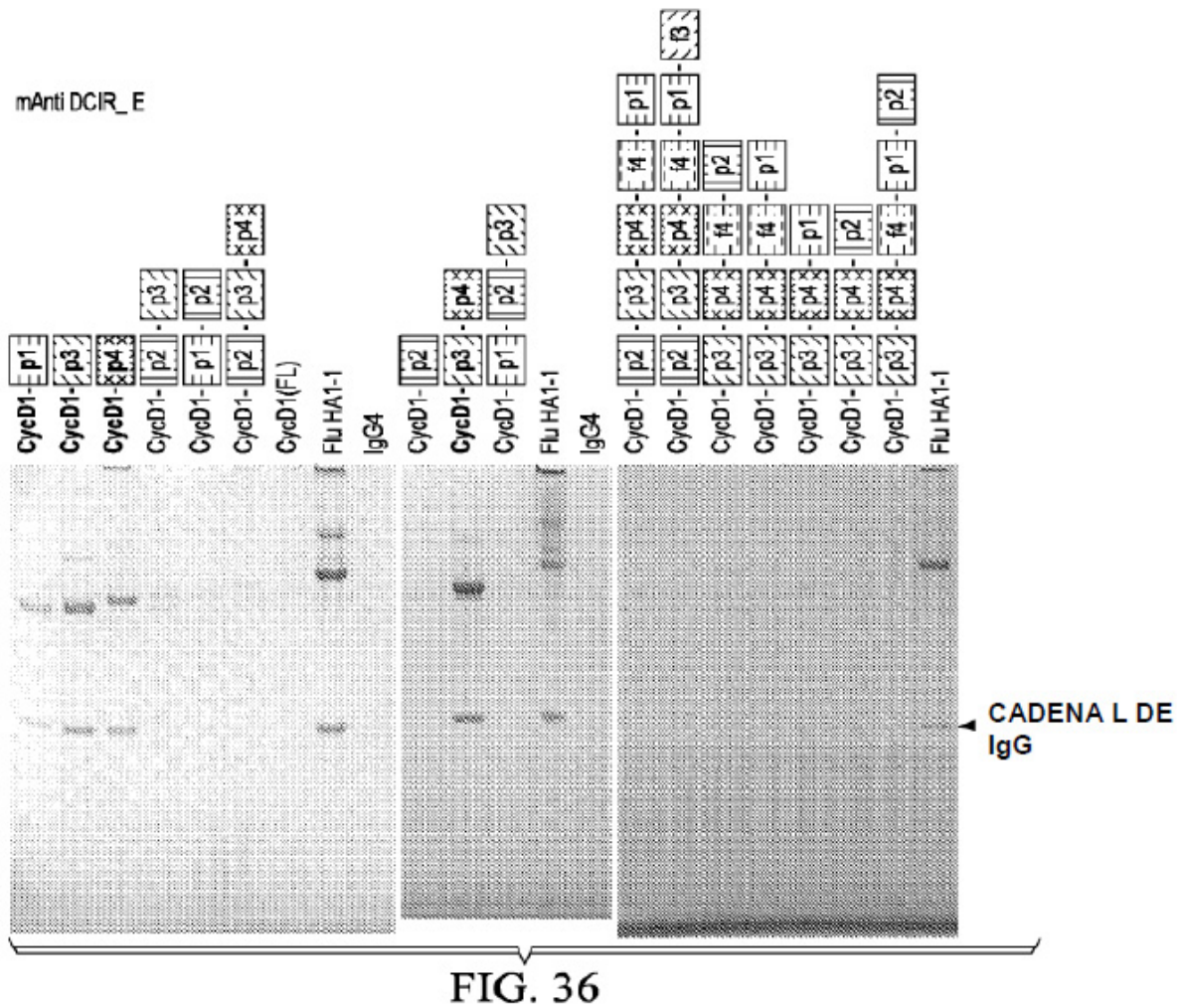
SECRECIÓN DE
293F

C878	rAB-pIRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-	CycB1-p1	±
C895	rAB-pIRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-	CycB1-p1 Flex4	+++
C1124	rAB-pIRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-	CycB1-p2	±
C1139	rAB-pIRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-	CycB1-p2 Flex3	++
C1144	rAB-pIRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-	CycB1-p1 Flex4 CycB1-p2 Flex3	NO
C1145	rAB-pIRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-	CycB1-p2 Flex3 CycB1-p1 Flex4	NO
C1162	rAB-pIRES2[mAnti-DCIR_9E8_H-LV-hlgG4H-C-Flex-v1-	CycB1-p2 CycB1-p1 Flex4	+++

FIG. 34B



SECRECIÓN DE SEGMENTOS DE CICLINA D DE rAb DE CÉLULAS F



mAnti DCIR_E

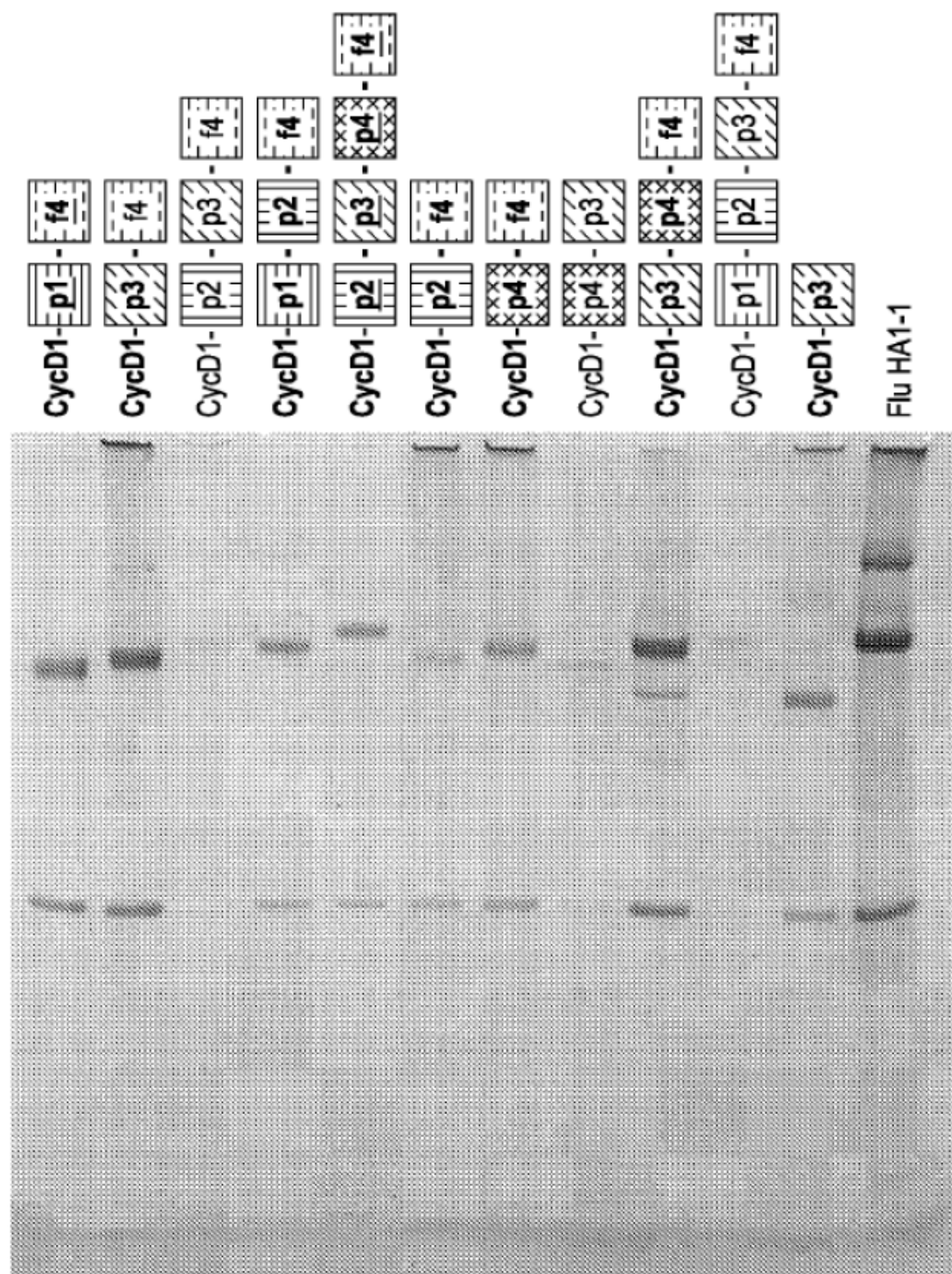


FIG. 37

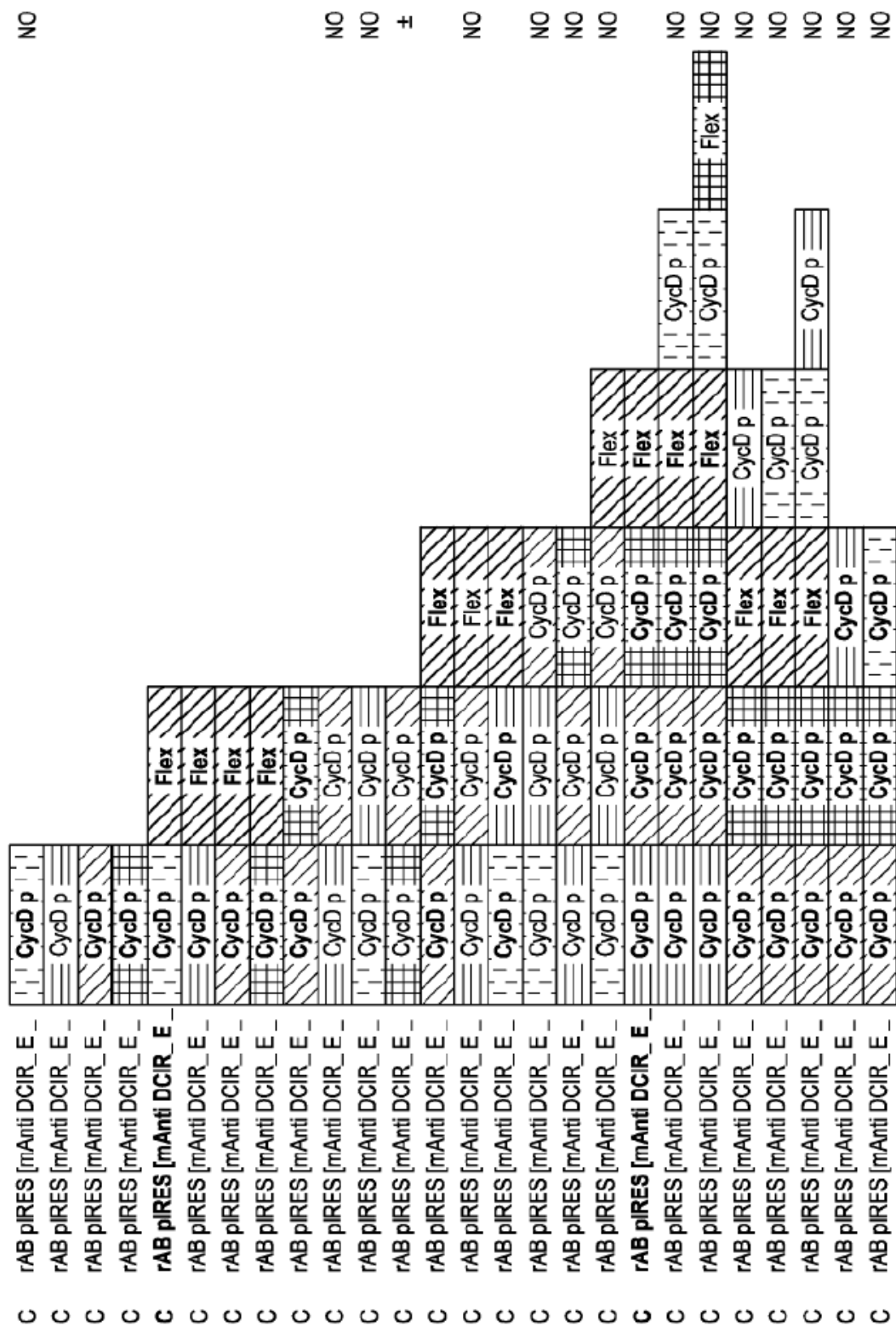


FIG. 38

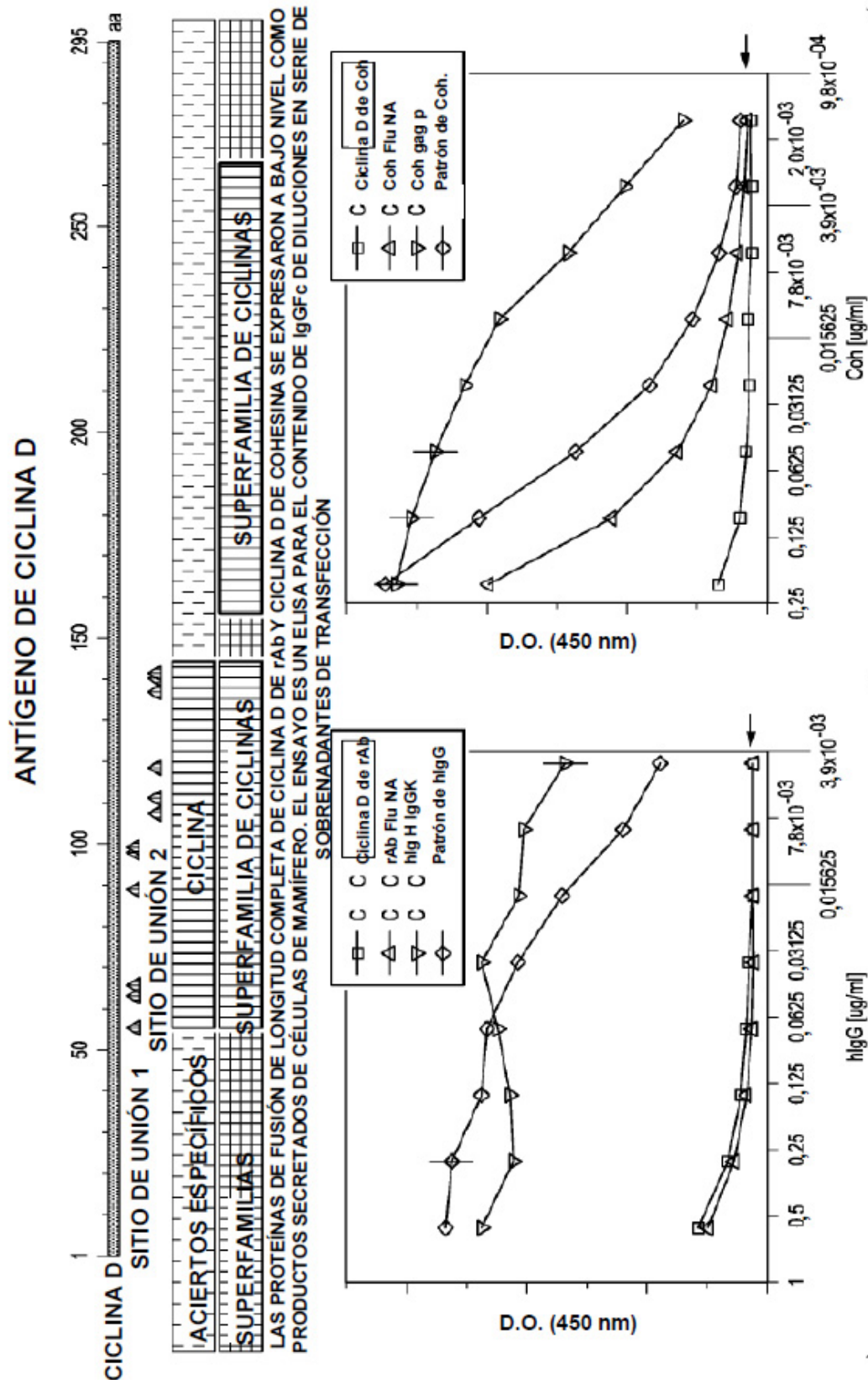


FIG. 39 NÚMERO TOTAL DE HOJAS - 45