

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 050**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/35** (2006.01)

**A61K 39/36** (2006.01)

**C07K 14/415** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2013 PCT/EP2013/057886**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.10.2013 WO13156467**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2013 E 13716305 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.02.2017 EP 2838556**

54 Título: **Polipéptidos profilinas vegetales para su uso en inmunoterapia de alergia inespecífica**

30 Prioridad:

**16.04.2012 EP 12164272**  
**16.04.2012 US 201261624998 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.07.2017**

73 Titular/es:

**ALK-ABELLÓ A/S (100.0%)**  
**Bøge Allé 6-8**  
**2970 Hørsholm, DK**

72 Inventor/es:

**LUND, KAARE;**  
**BRIMNES, JENS;**  
**HENMAR, HELENE;**  
**IPSEN, HANS-HENRIK;**  
**MÆRKEDAHL, LISE LUND;**  
**HANSEN, GITTE NORDSKOV y**  
**MONSALVE CLEMENTE, RAFAEL IGNACIO**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 623 050 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

Polipéptidos profilinas vegetales para su uso en inmunoterapia de alergia inespecífica

### Campo técnico

5 La invención pertenece al campo de las ciencias médicas y la inmunología, más concretamente, al campo de las alergias, la inmunoterapia y la tolerancia presencial.

### Antecedentes

10 La inmunoterapia específica del alérgeno (SIT) es una inmunoterapia de hipersensibilidad introducida en la medicina clínica hace casi un siglo para el tratamiento de las respuestas inmunes de hipersensibilidad de tipo I. La inmunoterapia de hipersensibilidad consiste en administrar repetitivamente uno o varios alérgenos específicos a los que el/los individuo/s está/n sensibilizado/s o administrar un alérgeno de reacción cruzada con los mismos, normalmente bien mediante administración subcutánea o mediante administración sublingual. La administración repetida normalmente se realiza diaria, semanal o mensualmente durante un período más largo, normalmente durante más de un año, para conseguir una clase de tolerancia inmunológica hacia el alérgeno específico con la consiguiente desaparición de los síntomas alérgicos ("Allergens and Allergen Immunotherapy" 4ª Ed, 2008, Ed. por R. Lockey y D. Ledford, Informa healthcare). La inmunoterapia de hiposensibilización normalmente se asocia con la generación de anticuerpos IgG4 específicos y niveles reducidos de IgE específica.

15 Sin embargo, uno de los retos encontrados con la SIT es que es necesario identificar el alérgeno específico y que el riesgo de provocar efectos adversos graves puede limitar la aplicación general de la SIT en el tratamiento de una respuesta inmune de hipersensibilidad.

20 Por lo tanto, existe la necesidad de mejorar el tratamiento de las respuestas inmunes de hipersensibilidad.

El concepto de tratamiento de un individuo con un antígeno en la supresión de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por otro antígeno no relacionado se demostró hace más de 20 años. Miller y col (1991) mostraron que se podría obtener la tolerancia periférica a un antígeno (MBP) (proteína básica de mielina) en ratas no tratadas previamente tratadas repetidamente mediante la administración intragástrica de OVA. Sin embargo, la tolerancia a MBP solo se obtuvo cuando las ratas se expusieron simultáneamente tanto a MPB como a OVA en el momento de la exposición de las ratas a la MBP para que desarrollaran EAE. El concepto ha sido investigado en mayor profundidad por Dahlman-Hoglund y col (1995) y Millington y col (2004), que mostraron que se pudo evitar el desarrollo de una respuesta inmune de hipersensibilidad en ratas no tratadas previamente que recibieron un primer antígeno, provocada por un segundo antígeno al exponer a las ratas tanto al primer antígeno como al segundo antígeno en el momento de la exposición del animal al segunda antígeno. Oliveira C. R. y col (2005) han sugerido que el efecto presencial puede ser un interesante mecanismo para controlar la sensibilización a un nuevo alérgeno en personas ya sensibilizadas a un alérgeno.

25 Las profilinas son polipéptidos de origen natural que normalmente consisten en 125-135 aminoácidos y que se encuentran en todas partes en los organismos desde la levadura al ser humano (Santos y Van Ree 2011). Están presentes a altas concentraciones en el citoplasma de las células de vertebrados, plantas, etc., y se unen específicamente a actina, poli-L-prolina (PLP) y fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP<sub>2</sub>). Las profilinas se pueden dividir en cuatro clases diferentes dependiendo de su fuente a) planta, b) mamíferos, c) virus, d) otros eucariotas. Entre las diferentes clases, la homología de la secuencia de aminoácidos es baja (~0 %), pero la homología dentro de la clase es mucho más alta, tal como del aproximadamente 50 al 90 % (Thorn y col, 1997).

40 Algunas profilinas vegetales se identifican como alérgenos (Martínez A. y col, 2002), pero la frecuencia de pacientes alérgicos sensibilizados a las profilinas vegetales es baja, aunque variable. Por ejemplo, aproximadamente del 5 al 15 % de los pacientes alérgicos a los alérgenos del polen de las gramíneas resultaron ser alérgicos a una profilina del polen de las gramíneas, mientras que aproximadamente el 24 % de los pacientes alérgicos al polen del olivo tiene la IgE que reconoce a una profilina del polen del olivo (Ole e 2).

### Sumario de la invención

45 En contraste con la inmunoterapia de alérgenos específicos, la presente invención se refiere a la inmunoterapia inespecífica para el tratamiento/la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina.

50 Los presentes inventores han proporcionado pruebas de que es posible suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad, tal como el asma, provocada por la exposición a un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina a través de la tolerancia presencial en ratones sin tratamiento previo, así como en ratones sensibilizados tratados por administración sublingual de una profilina del material vegetal que contiene profilina. Además, se demostró que el mismo tratamiento también puede suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por otro material vegetal que contenga profilina, indicando así que es posible reactivar la creación de la tolerancia presencial a un polipéptido profilina mediante otro polipéptido profilina para producir un

episodio inmunológico que, a su vez, regule negativamente una respuesta inmune de hipersensibilidad. De acuerdo con estudios anteriores de tolerancia presencial, la supresión solo se pudo demostrar cuando los ratones en el momento de la exposición al alérgeno distinto de la profilina también se expusieron simultáneamente al polipéptido/profilina.

5 Así pues, los datos proporcionados en el presente documento indican que es posible suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un primer antígeno mediante el tratamiento de un individuo con un segundo antígeno diferente, siempre que el individuo se exponga tanto al primer como al segundo antígeno o a un segundo antígeno alternativo, cuando el individuo se expone al primer antígeno "desencadenante de la enfermedad".

10 Se ha reconocido que la administración repetida de un antígeno que induce tolerancia a un individuo conducirá a la atenuación de una respuesta inmune causada por un antígeno ofensivo y diferente, tal como un alérgeno, siempre que los dos antígenos estén presentes en el momento en que el individuo se expone al antígeno ofensivo. Se prevé que el individuo se hace tolerante al antígeno que induce tolerancia y cuando un material fuente de alérgeno como el polen entra en contacto con la mucosa de las vías respiratorias de ese individuo, el alérgeno y el antígeno que induce tolerancia se liberan al mismo tiempo y en la misma ubicación, y el antígeno que induce tolerancia activará la  
15 respuesta de tolerancia inmunológica inducida previamente que, a su vez, regulará negativamente la respuesta inmune de hipersensibilidad hacia los alérgenos liberados cercanos.

Por lo tanto, la presente terapia comprende la administración de un primer antígeno hacia el que el individuo se vuelve tolerante, y al exponerlo a un material de fuente de alérgeno que contiene tanto el alérgeno desencadenante de la respuesta inmune de hipersensibilidad como el antígeno que induce tolerancia, la respuesta inmune de  
20 hipersensibilidad, que, de lo contrario, se espera que se produzca, se suprimirá bien completa o parcialmente.

Se cree que los linfocitos T como los linfocitos Treg y, probablemente, también los linfocitos Th-2, son importantes en la obtención de esta tolerancia presencial. Por ejemplo, la ubicación conjunta de las células presentadoras de antígeno (APC), los linfocitos Treg y los linfocitos Th-2 en los ganglios linfáticos de drenaje puede ser importante. Las APC y la producción de citocinas reguladoras en el tejido epitelial también pueden contribuir a la inducción de  
25 tolerancia.

Ahora, se ha reconocido que un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de identidad y/o similitud con la profilina de la especie vegetal *Phleum pratense* se puede usar en inmunoterapia para la supresión de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina.

30 Por consiguiente, un primer aspecto de la invención se refiere a un polipéptido para su uso en el tratamiento o en la prevención, tal como mediante inmunoterapia, de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo hacia un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que

dicho polipéptido tiene/consiste en, consiste esencialmente en/comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

35 Preferentemente, el individuo que se va a tratar no es, al menos cuando se administra la primera dosis del polipéptido, alérgico ni sensibilizado a la profilina del material vegetal que contiene profilina y/o al polipéptido. Por lo tanto, dicha respuesta inmune de hipersensibilidad no puede ser causada por una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina. También se prevé que la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina y la secuencia de aminoácidos del polipéptido que se administra tienen una identidad y/o una  
40 similitud al menos del 60 %.

Por lo tanto, en un subaspecto, la invención se refiere a un polipéptido para su uso en el tratamiento o en la prevención, tal como mediante inmunoterapia, de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo hacia un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que:

45 dicho polipéptido tiene/consiste en, consiste esencialmente en/comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;  
dicho individuo no está, al menos cuando se administra la primera dosis del polipéptido, sensibilizado a la profilina del material vegetal que contiene profilina y, preferentemente, tampoco está sensibilizado al polipéptido; preferentemente, la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina tiene una identidad y/o similitud al menos del 60 % con la secuencia de aminoácidos de dicho polipéptido.

50 La invención, por tanto, proporciona un procedimiento de tratamiento o prevención, tal como mediante inmunoterapia, de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo hacia un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un polipéptido que tiene/que consiste en, que consiste esencialmente en/que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; en el que,  
55 preferentemente,

dicho individuo no está sensibilizado a una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina ni/o a dicho

polipéptido; y preferentemente en el que el polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de similitud o identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina.

5 La invención también permite el uso de un polipéptido para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención, tal como mediante inmunoterapia, de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo hacia un alérgeno distinto de la profilina de una material vegetal que contiene profilina, en el que:

10 dicho polipéptido tiene/consiste en, consiste esencialmente en/comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y, preferentemente, dicho individuo no está sensibilizado a la profilina del material vegetal que contiene profilina ni/o a dicho polipéptido; y  
preferentemente, en el que el polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de similitud o identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina.

15 La secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 es uno de los isómeros biológicos de la profilina de Phl p 12 que se encuentra en el polen de gramínea de la especie *Phleum pratense*. Otros isómeros biológicos que tienen una secuencia de aminoácidos con al menos el 95 %, tal como aproximadamente el 98 %, de identidad o similitud con SEQ ID NO: 1 se presentan en el presente documento como SEQ ID NO: 2-10.

20 Un segundo aspecto de la invención se refiere a una variante de sustitución de cisteína de un polipéptido de la presente invención, tal como a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, en la que 1 o 2 restos de cisteína están sustituidos con un aminoácido seleccionado entre A, G y/o S, tal como para un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, en el que el aminoácido cisteína de la posición 13 y/o 115 se ha sustituido con un aminoácido seleccionado del grupo que comprende A (alanina), G (glicina) y S (serina), tal como un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 o 45. En particular, las SEQ ID NO: 1 a 10 y 44 y 45 tienen una metionina como el primer aminoácido en el extremo N-terminal (posición 1), que se puede eliminar mediante degradación enzimática en una célula huésped que produce las secuencias mediante técnicas recombinantes. Por lo tanto, debe entenderse que la variante de sustitución de cisteína tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 y 45, pero en la que el grupo metionina de la posición 1 no está presente. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 y/o 45 no contiene metionina en la posición 1. Además, un segundo aspecto de la misma se refiere también a un ácido nucleico aislado que codifica la proteína de SEQ ID NO: 44 o 45, tal como un ácido nucleico aislado que tiene la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 46 o 47.

30 La obtención de un polipéptido adecuado para su uso en el tratamiento, a través de la tolerancia presencial, de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, puede implicar el aislamiento de un polipéptido inmunogénico de dicho material vegetal que contiene profilina o la producción recombinante de dicho polipéptido inmunogénico, habiéndose identificado dicho polipéptido inmunogénico en y, opcionalmente, aislado de un extracto preparado mediante la suspensión del material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos. Preferentemente, el extracto también contiene un alérgeno distinto de la profilina de dicho material vegetal que contiene profilina, es decir, un alérgeno distinto de la profilina extraído junto con el polipéptido inmunogénico.

40 Un polipéptido adecuado para su uso en el tratamiento, a través de la tolerancia presencial, de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina se puede obtener mediante el aislamiento de un polipéptido inmunogénico a partir de dicho material vegetal que contiene profilina o la producción de forma recombinante de dicho polipéptido inmunogénico, habiéndose identificado dicho polipéptido inmunogénico en y, opcionalmente, aislado de un extracto preparado mediante la suspensión del material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos. Preferentemente, el extracto también contiene un alérgeno distinto de la profilina de dicho material vegetal que contiene profilina, es decir, un alérgeno distinto de la profilina extraído junto con el polipéptido inmunogénico.

A continuación, se presentan realizaciones adicionales de la invención y redacción alternativa de la invención:

50 • Un polipéptido para el uso de la invención en el tratamiento o la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de un orden de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Pinales, Arecales, Asparagales, Poales, Zingiberales, Apiales, Asterales, Brassicales, Curcubitales, Ericales, Fabales, Fagales, Gentianales, Lamiales, Laurales, Malvales, Malpighiales, Myrtales, Proteales, Rosales, Sapindales, Solanales* y *Vitales* o dicho polipéptido es una variante de dicha profilina; y

en el que dicha respuesta inmune de hipersensibilidad es causada por un alérgeno distinto de la profilina de una planta que contiene profilina procedente de un orden de plantas seleccionado del grupo que consiste en

*Pinales, Arecales, Asparagales, Poales, Zingiberales, Apiales, Asterales, Brassicales, Curcubitales, Ericales, Fabales, Fagales, Gentianales, Lamiales, Laurales, Malvales, Malpighiales, Myrtales, Proteales, Rosales, Sapindales, Solanales y Vitales.*

- 5 • Un polipéptido para el uso de la invención en el tratamiento o la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de una familia de plantas seleccionada del grupo que consiste en *Cupressaceae, Arecaceae, Asparagaceae, Iridaceae, Bromeliaceae, Poaceae, Musaceae, Zingiberaceae, Apiaceae, Araliaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae, Cucurbitaceae, Actinidiaceae, Lecythidaceae, Theaceae, Fabaceae, Betulaceae, Fagaceae, Juglandaceae, Myricaceae, Nothofagaceae, Ticodendraceae, Apocynaceae, Rubiaceae, Oleaceae, Pedaliaceae, Plantaginaceae, Lauraceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Lythraceae, Platanaceae, Cannabaceae, Rosaceae, Ulmaceae, Urticaceae, Anacardiaceae, Rutaceae, Sapindaceae, Solanaceae y Vitaceae* o dicho polipéptido es una variante de dicha profilina; y

15 en el que dicha respuesta inmune de hipersensibilidad es causada por un alérgeno distinto de la profilina de una planta que contiene profilina de una familia de plantas seleccionada del grupo que consiste en *Cupressaceae, Arecaceae, Asparagaceae, Iridaceae, Bromeliaceae, Poaceae, Musaceae, Zingiberaceae, Apiaceae, Araliaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae, Cucurbitaceae, Actinidiaceae, Lecythidaceae, Theaceae, Fabaceae, Betulaceae, Fagaceae, Juglandaceae, Myricaceae, Nothofagaceae, Ticodendraceae, Apocynaceae, Rubiaceae, Oleaceae, Pedaliaceae, Plantaginaceae, Lauraceae, Malvaceae, Euphorbiaceae, Lythraceae, Platanaceae, Cannabaceae, Rosaceae, Ulmaceae, Urticaceae, Anacardiaceae, Rutaceae, Sapindaceae, Solanaceae y Vitaceae.*

- 25 • Un polipéptido para el uso de la invención en el tratamiento o la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de un género seleccionado del grupo que consiste en *Chamaecyparis, Cryptomeria, Cupressus, Juniperus, Phoenix, Asparagus, Crocus, Ananas, Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Paspalum, Phalaris, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum, Zea, Musa, Apium, Daucus, Ambrosia, Artemisia, Helianthus, Lactuca, Arabidopsis, Brassica, Sinapis, Amaranthus, Beta, Chenopodium, Fagopyrum, Salsola, Cucumis, Actinidia, Bertholletia, Arachis, Glycine, Lens, Lupinus, Phaseolus, Pisum, Vigna, Alnus, Betula, Carpinus, Carya, Castanea, Corylus, Fagus, Juglans, Ostrya, Quercus, Catharanthus, Coffea, Fraxinus, Ligustrum, Olea, Plantago, Sesamum, Syringa, Persea, Gossypium, Hevea, Manihot, Mercurialis, Populus, Ricinus, Sonneratia, Platanus, Fragaria, Humulus, Malus, Morus, Parietaria, Prunus, Pyrus, Rubus, Ziziphus, Anacardium, Citrus, Litchi, Mangifera, Pistacia, Capsicum, Lycopersicon, Solanum y Vitis* o dicho polipéptido es una variante de dicha profilina; y

35 en el que dicha respuesta inmune de hipersensibilidad es causada por un alérgeno distinto de la profilina de una planta que contiene profilina de un género de plantas seleccionadas del grupo que consiste en *Chamaecyparis, Cryptomeria, Cupressus, Juniperus, Phoenix, Asparagus, Crocus, Ananas, Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Paspalum, Phalaris, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum, Zea, Musa, Apium, Daucus, Ambrosia, Artemisia, Helianthus, Lactuca, Arabidopsis, Brassica, Sinapis, Amaranthus, Beta, Chenopodium, Fagopyrum, Salsola, Cucumis, Actinidia, Bertholletia, Arachis, Glycine, Lens, Lupinus, Phaseolus, Pisum, Vigna, Alnus, Betula, Carpinus, Carya, Castanea, Corylus, Fagus, Juglans, Ostrya, Quercus, Catharanthus, Coffea, Fraxinus, Ligustrum, Olea, Plantago, Sesamum, Syringa, Persea, Gossypium, Hevea, Manihot, Mercurialis, Populus, Ricinus, Sonneratia, Platanus, Fragaria, Humulus, Malus, Morus, Parietaria, Prunus, Pyrus, Rubus, Ziziphus, Anacardium, Citrus, Litchi, Mangifera, Pistacia, Capsicum, Lycopersicon, Solanum y Vitis.*

- 50 • Un polipéptido para el uso de la invención en el tratamiento o la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de un género seleccionado del grupo que consiste en *Chamaecyparis, Cryptomeria, Cupressus, Juniperus, Phoenix, Asparagus, Crocus, Ananas, Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Paspalum, Phalaris, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum, Zea, Musa, Apium, Daucus, Ambrosia, Artemisia, Helianthus, Lactuca, Arabidopsis, Brassica, Sinapis, Amaranthus, Beta, Chenopodium, Fagopyrum, Salsola, Cucumis, Actinidia, Bertholletia, Arachis, Glycine, Lens, Lupinus, Phaseolus, Pisum, Vigna, Alnus, Betula, Carpinus, Carya, Castanea, Corylus, Fagus, Juglans, Ostrya, Quercus, Catharanthus, Coffea, Fraxinus, Ligustrum, Olea, Plantago, Sesamum, Syringa, Persea, Gossypium, Hevea, Manihot, Mercurialis, Populus, Ricinus, Sonneratia, Platanus, Fragaria, Humulus, Malus, Morus, Parietaria, Prunus, Pyrus, Rubus, Ziziphus, Anacardium, Citrus, Litchi, Mangifera, Pistacia, Capsicum, Lycopersicon, Solanum y Vitis* o dicho polipéptido es una variante de dicha profilina; y

60 en el que dicho alérgeno distinto de la profilina se selecciona del grupo que consiste en Cha o 1, Cha o 2, Cry j 1, Cry j 2, Cup a 1, Cup s 1, Cup s 3, Jun a 1, Jun a 2, Jun a 3, Jun o 4, Jun s 1, Jun v 1, Jun v 3, Ana c 2,

Ant o 1, Aspa o 1, Cro s 1, Cro s 2, Cyn d 1, Cyn d 7, Cyn d 15, Cyn d 22w, Cyn d 23, Cyn d 24, Dac g 1, Dac g 2, Dac g 3, Dac g 4, Dac g 5, Fes p 4, Hol l 1, Hol l 5, Hor v 1, Hor v 5, Hor v 12, Hor v 15, Hor v 16, Hor v 17, Hor v 21, Lol p 1, Lol p 2, Lol p 3, Lol p 4, Lol p 5, Lol p 11, Mus a 2, Mus a 3, Mus a 4, Mus a 5, Ory s 1, Ory s 12, Pas n 1, Pha a 1, Pha a 5, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 12, Phl p 13, Pho d 2, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sec c 20, Sor h 1, Tri a 14, Tri a 15, Tri a 18, Tri a 19, Tri a 21, Tri a 25, Tri a 26, Tri a 27, Tri a 28, Tri a 29, Tri a 30, Tri a 31, Tri a 32, Tri a 33, Tri a 34, Tri a 35, Tri a 36, Tri a 37, Zea m 1, Zea m 12, Zea m 14, Zea m 25, Act c 5, Act c 8, Act c 10, Act d 1, Act d 2, Act d 3, Act d 4, Act d 5, Act d 6, Act d 7, Act d 8, Act d 10, Act d 11, Aln g 1, Aln g 4, Amb a 1, Amb a 2, Amb a 3, Amb a 4, Amb a 5, Amb a 6, Amb a 7, Amb a 9, Amb a 10, Amb p 5, Amb t 5, Ana o 1, Ana o 2, Ana o 3, Api g 1, Api g 2, Api g 3, Api g 5, Api g 6, Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 4, Ara h 6, Ara h 7, Ara h 9, Ara h 10, Ara h 11, Art v 1, Art v 2, Art v 3, Art v 5, Art v 6, Ber e 1, Ber e 2, Beta v 1, Bet v 1, Bet v 3, Bet v 4, Bet v 6, Bet v 7, Bra j 1, Bra n 1, Bra o 3, Bra r 1, Bra r 2, Cap a 1w, Car b 1, Car i 1, Car i 4, Cas s 1, Cas s 5, Cas s 8, Cas s 9, Cat r 1, Che a 1, Che a 3, Cit l 3, Cit r 3, Cit s 1, Cit s 3, Cof a 1, Cor a 1, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 10, Cor a 11, Cor a 12, Cor a 13, Cor a 14, Cuc m 1, Cuc m 3, Dau c 1, Fag e 2, Fag t 2, Fag s 1, Fra a 1, Fra a 3, Fra e 1, Gly m 1, Gly m 2, Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6, Hel a 1, Hel a 3, Hev b 1, Hev b 2, Hev b 3, Hev b 4, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 7, Hev b 9, Hev b 10, Hev b 11, Hev b 12, Hev b 13, Hev b 14, Hum j 1, Jug n 1, Jug n 2, Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Lac s 1, Len c 1, Len c 2, Len c 3, Lig v 1, Lup an 1, Lyc e 2, Lyc e 3, Lyc e 4, Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3, Man e 5, Mer a 1, Mor n 3, Ole e 1, Ole e 3, Ole e 4, Ole e 5, Ole e 6, Ole e 7, Ole e 8, Ole e 9, Ole e 10, Ole e 11, Ost c 1, Par j 1, Par j 2, Par j 4, Par o 1, Pers a 1, Pha v 3, Pis v 1, Pis v 2, Pis v 3, Pis v 4, Pis v 5, Pis s 1, Pis s 2, Pla l 1, Pla a 1, Pla a 2, Pla or 1, Pla or 2, Pla or 3, Pru ar 1, Pru ar 3, Pru av 1, Pru av 2, Pru av 3, Pru d 3, Pru du 3, Pru du 5, Pru du 6, Pru p 1, Pru p 2, Pru p 3, Pyr c 1, Pyr c 3, Pyr c 5, Que a 1, Ric c 1, Rub i 1, Rub i 3, Sal k 1, Sal k 2, Sal k 3, Sal k 5, Ses i 1, Ses i 2, Ses i 3, Ses i 4, Ses i 5, Ses i 6, Ses i 7, Sin a 1, Sin a 2, Sin a 3, Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4, Syr v 1, Syr v 3, Vig r 1, Vit v 1 y Ziz m 1.

- Un polipéptido para el uso de la invención en el tratamiento o la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido es una profilina vegetal seleccionada del grupo que consiste en profilina Cry j, Pho d 2, Ana c 1, Cyn d 12, Tri a 12, Mus a 1, Api g 4, Dau c 4, Amb a 8, Art v 4, Hel a 2, Ara t 8, Sin a 4, Ama r 2, Beta v 2, Che e 2, Sal k 4, Act d 9, Cuc m 2, Ara h 5, Gly m 3, Bet v 2, Cor a 2, Ole e 2, Hev b 8, Mer a 12, Pla a 3, Fra a 4, Mal d 4, Par j 3, Pru av 4, Pru du 4, Pru p 4, Pyr c 4, Cit s 2, Lit c 1, Cap a 2 y Lyc e 1 o dicho polipéptido es una variante de dicha profilina; y

en el que dicha respuesta inmune de hipersensibilidad es causada por un alérgeno distinto de la profilina de una planta que contiene profilina de un género seleccionado del grupo que consiste en *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Phoenix*, *Asparagus*, *Crocus*, *Ananas*, *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Musa*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Arabidopsis*, *Brassica*, *Sinapis*, *Amaranthus*, *Beta*, *Chenopodium*, *Fagopyrum*, *Salsola*, *Cucumis*, *Actinidia*, *Bertholletia*, *Arachis*, *Glycine*, *Lens*, *Lupinus*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Vigna*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Carya*, *Castanea*, *Corylus*, *Fagus*, *Juglans*, *Ostrya*, *Quercus*, *Catharanthus*, *Coffea*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Olea*, *Plantago*, *Sesamum*, *Syringa*, *Persea*, *Gossypium*, *Hevea*, *Manihot*, *Mercurialis*, *Populus*, *Ricinus*, *Sonneratia*, *Platanus*, *Frageria*, *Humulus*, *Malus*, *Morus*, *Parietaria*, *Prunus*, *Pyrus*, *Rubus*, *Ziziphus*, *Anacardium*, *Citrus*, *Litchi*, *Mangifera*, *Pistacia*, *Capsicum*, *Lycopersicon*, *Solanum* y *Vitis*.

- Un polipéptido para el uso de la invención en el tratamiento o la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido es una profilina vegetal seleccionada del grupo que consiste en profilina Cry j, Pho d 2, Ana c 1, Cyn d 12, Tri a 12, Mus a 1, Api g 4, Dau c 4, Amb a 8, Art v 4, Hel a 2, Ara t 8, Sin a 4, Ama r 2, Beta v 2, Che e 2, Sal k 4, Act d 9, Cuc m 2, Ara h 5, Gly m 3, Bet v 2, Cor a 2, Ole e 2, Hev b 8, Mer a 12, Pla a 3, Fra a 4, Mal d 4, Par j 3, Pru av 4, Pru du 4, Pru p 4, Pyr c 4, Cit s 2, Lit c 1, Cap a 2 y Lyc e 1 o dicho polipéptido es una variante de dicha profilina; y en el que dicha respuesta inmune de hipersensibilidad es causada por un alérgeno distinto de la profilina seleccionado del grupo que consiste en Cha o 1, Cha o 2, Cry j 1, Cry j 2, Cup a 1, Cup s 1, Cup s 3, Jun a 1, Jun a 2, Jun a 3, Jun o 4, Jun s 1, Jun v 1, Jun v 3, Ana c 2, Ant o 1, Aspa o 1, Cro s 1, Cro s 2, Cyn d 1, Cyn d 7, Cyn d 15, Cyn d 22w, Cyn d 23, Cyn d 24, Dac g 1, Dac g 2, Dac g 3, Dac g 4, Dac g 5, Fes p 4, Hol l 1, Hol l 5, Hor v 1, Hor v 5, Hor v 12, Hor v 15, Hor v 16, Hor v 17, Hor v 21, Lol p 1, Lol p 2, Lol p 3, Lol p 4, Lol p 5, Lol p 11, Mus a 2, Mus a 3, Mus a 4, Mus a 5, Ory s 1, Ory s 12, Pas n 1, Pha a 1, Pha a 5, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 12, Phl p 13, Pho d 2, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sec c 20, Sor h 1, Tri a 14, Tri a 15, Tri a 18, Tri a 19, Tri a 21, Tri a 25, Tri a 26, Tri a 27, Tri a 28, Tri a 29, Tri a 30, Tri a 31, Tri a 32, Tri a 33, Tri a 34, Tri a 35, Tri a 36, Tri a 37, Zea m 1, Zea m 12, Zea m 14, Zea m 25, Act c 5, Act c 8, Act c 10, Act d 1, Act d 2, Act d 3, Act d 4, Act d 5, Act d 6, Act d 7, Act d 8, Act d 10, Act d 11, Aln g 1, Aln g 4, Amb a 1, Amb a 2, Amb a 3, Amb a 4, Amb a 5, Amb a 6, Amb a 7, Amb a 9, Amb a 10, Amb p 5, Amb t 5, Ana o 1, Ana o 2, Ana o 3, Api g 1, Api g 2, Api g 3, Api g 5, Api g 6, Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 4, Ara h 6, Ara h 7, Ara h 9, Ara h 10, Ara h 11, Art v 1, Art v 2, Art v 3, Art v 5, Art v 6, Ber e 1, Ber e 2, Beta v 1, Bet v 1, Bet v 3, Bet v 4, Bet v 6, Bet v 7, Bra j 1, Bra n 1, Bra o 3, Bra r 1, Bra r 2, Cap a 1w, Car b 1, Car i 1, Car i 4, Cas s 1, Cas s 5, Cas s 8, Cas s 9, Cat r 1, Che a 1, Che a 3, Cit l 3, Cit r 3, Cit s 1, Cit s 3, Cof a 1, Cor a 1, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 10, Cor a 11, Cor a 12, Cor a 13, Cor a 14, Cuc m 1, Cuc m 3,

5  
10  
Dau c 1, Fag e 2, Fag t 2, Fag s 1, Fra a 1, Fra a 3, Fra e 1, Gly m 1, Gly m 2, Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6, Hel a 1, Hel a 3, Hev b 1, Hev b 2, Hev b 3, Hev b 4, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 7, Hev b 9, Hev b 10, Hev b 11, Hev b 12, Hev b 13, Hev b 14, Hum j 1, Jug n 1, Jug n 2, Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Lac s 1, Len c 1, Len c 2, Len c 3, Lig v 1, Lup an 1, Lyc e 2, Lyc e 3, Lyc e 4, Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3, Man e 5, Mer a 1, Mor n 3, Ole e 1, Ole e 3, Ole e 4, Ole e 5, Ole e 6, Ole e 7, Ole e 8, Ole e 9, Ole e 10, Ole e 11, Ost c 1, Par j 1, Par j 2, Par j 4, Par o 1, Pers a 1, Pha v 3, Pis v 1, Pis v 2, Pis v 3, Pis v 4, Pis v 5, Pis s 1, Pis s 2, Pla l 1, Pla a 1, Pla a 2, Pla or 1, Pla or 2, Pla or 3, Pru ar 1, Pru ar 3, Pru av 1, Pru av 2, Pru av 3, Pru d 3, Pru du 3, Pru du 5, Pru du 6, Pru p 1, Pru p 2, Pru p 3, Pyr c 1, Pyr c 3, Pyr c 5, Que a 1, Ric c 1, Rub i 1, Rub i 3, Sal k 1, Sal k 2, Sal k 3, Sal k 5, Ses i 1, Ses i 2, Ses i 3, Ses i 4, Ses i 5, Ses i 6, Ses i 7, Sin a 1, Sin a 2, Sin a 3, Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4, Syr v 1, Syr v 3, Vig r 1, Vit v 1 y Ziz m 1.

**Leyendas de las figuras**

- Figura 1. Muestra el porcentaje de eosinófilos aislados de fluido BAL de ratones tratados con Phl p 12 y expuestos a OVA + Phl p 12 o solo OVA.
- 15  
Figura 2. Mismo experimento que en la Figura 1, pero los resultados se muestran con respecto a la proliferación de células del bazo *in vitro* tras la adición de OVA.
- Figura 3. Muestra el porcentaje de eosinófilos aislados de fluido BAL de ratones tratados con Phl p 12 y expuestos a extracto de Phl p que contiene Phl p 12 o extracto de Phl p empobrecido en Phl p 12.
- Figura 4. Mismo experimento que en la Figura 3, pero los resultados se muestran con respecto a la estimulación *in vitro* de células de ganglios linfáticos cervicales tras la adición de extracto de Phl p.
- 20  
Figura 5. Mismo experimento que en la Figura 3, pero los resultados se muestran con respecto a los niveles de citocina IL-5 en células de ganglios linfáticos cervicales tras la adición de extracto de Phl p.
- Figura 6. Muestra el porcentaje de eosinófilos aislados de fluido BAL de ratones sensibilizados a OVA, tratados luego con Phl p 12 y, posteriormente, expuestos a OVA + Phl p 12 o solo OVA.
- Figura 7. Mismo experimento que en la Figura 6, pero los resultados se muestran con respecto a la proliferación de células de bazo *in vitro* tras la adición de OVA.
- 25  
Figura 8. Muestra niveles de citocina IL-5 en cultivo de células de bazo, en los que las células del bazo se aíslan de ratones tratados con Phl p 12, sensibilizados a OVA y expuestos simultáneamente a OVA + Bet v 2.
- Figura 9. Mismo experimento que en la Figura 8, pero los resultados se muestran con respecto a los niveles de citocina IL-13.
- Figura 10. Diagrama de CIE de extractos obtenidos en 20 s (A), 60 s (B) y en 2 min (C) de extracción de polen sin procesar de *Phleum pratense*.
- 30  
Figura 11. Diagrama de CIE de extractos obtenidos en 5 min (A), 10 min (B) y 20 min (C) de extracción de polen sin procesar de *Phleum pratense*.
- Figura 12. Diagrama de RIE de extractos obtenidos en 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min de extracción de polen sin procesar de *Phleum pratense*: A) Phl p 12, B) Phl p 5, C) Phl p 1.
- 35  
Figura 13. Cantidades de Phl p 12, Phl p 1 y Phl p 5 liberadas tras 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min de extracción de polen sin procesar de *Phleum pratense* y analizadas mediante el uso de ELISA.
- Figura 14. Diagrama de CIE de extractos obtenidos en 20 s (A) y 60 s (B) y 2 min (C) de extracción de polen desgrasado de *Phleum pratense*.
- 40  
Figura 15. CIE de extractos obtenidos en 5 min (A), 10 min (B) y 20 min (C) de extracción de polen desgrasado de *Phleum pratense*.
- Figura 16. RIE de extractos obtenidos en 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min de extracción de polen desgrasado (*Phleum pratense*) A) Phl p 12, B) Phl p 5, C) Phl p 1.
- 45  
Figura 17. Cantidades de Phl p 12, Phl p 1 y Phl p 5 liberadas en 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y en 20 min de extracción de polen desgrasado de *Phleum pratense* y analizados por ELISA.
- Figura 18. SDS-PAGE de extractos obtenidos en 20 s, 40 s, 60 s, 2, 5, 10 y 20 min de extracción de A) polen sin procesar y B) polen desgrasado de *Phleum pratense*, respectivamente.
- Figura 19. CIE de extractos obtenidos en 20 s, 60 s y 2 min de extracción de polen desgrasado de *Betula verrucosa*.

Figura 20. CIE de extractos obtenidos en 5 (A), 10 (B) y 20 (B) min de extracción de polen desgrasado de *Betula verrucosa*.

Figura 21. RIE de extractos obtenidos en 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min de extracción de polen desgrasado de *Betula verrucosa* A) Bet v 2 (profilina) y B) Bet v 1 (alérgeno principal).

5 Figura 22. RIE de extractos obtenidos en 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min de extracción de polen desgrasado de *Ambrosia artemisifolia* A) Amb a 8 (profilina) y B) Amb a 1 (alérgeno principal).

10 Figura 23. RIE de extractos de polen de *Ambrosia artemisifolia* (A), *Betula verrucosa* (B), *Corylus avellana* (C) y *Phleum pratense* (E), *Artemisia vulgaris* (F), *Cryptomeria japonica* (G), *Humulus japonicus* (I), y extractos de cuerpos de los ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* (D), extracto de caspa de gato (H) y extracto de *Malus domestica* (manzana) (recién preparado) (J), en el que las placas se tratan con anticuerpos IgG policlonales contra la profilina Bet v 2.

Figura 24. RIE de los mismos extractos que la Figura 23, pero RIE realizado con anticuerpos IgG policlonales contra la profilina de Phl p 2.

15 Figura 25. Muestra la proliferación de células de bazo *in vitro* tras la estimulación con extracto Bet v de células de bazo aisladas de ratones ITSL sin tratamiento previo tratados con Phl p 12 y, posteriormente, sensibilizados a extracto de bet v.

Figura 26. Mismo experimento que el mencionado en la Figura 25, pero que muestra el resultado de la estimulación *in vitro* de células de ganglios linfáticos cervicales tras la estimulación con extracto de Bet v.

20 Figura 27. Muestra la proliferación de células de bazo *in vitro* tras la estimulación con extracto de Bet v de células de bazo aisladas de ratones sensibilizados al extracto bet v y, posteriormente, SLIT tratados con Phl p 12.

Figura 28. Mismo experimento que el mencionado en la Figura 27, pero que muestra el resultado de la estimulación *in vitro* de células de ganglios linfáticos cervicales tras la estimulación con extracto de Bet v.

25 Figura 29. Muestra los niveles de citocina IL-5 liberada de la proliferación de células de bazo *in vitro* tras a estimulación con extracto de Phl p de células de bazo aisladas de ratones ITSL sin tratamiento previo tratados con Ole e 2 y, posteriormente, sensibilizados al extracto de Phl p.

Figura 30. Mismo experimento que el mencionado en la Figura 29, pero que muestra el resultado de la citocina IL-5 liberada de la estimulación *in vitro* de células de los ganglios linfáticos cervicales.

30 Figura 31. Muestra la proliferación *in vitro* de células de bazo tras la estimulación con OVA de células de bazo aisladas de ratones sin tratamiento previo tratados mediante SLIT con Phl p 12 y, posteriormente, sensibilizados a OVA.

Figura 32. Muestra la activación de los linfocitos T inducida por moléculas de profilina evaluadas mediante la incorporación de H3-timidina (cuentas por minuto, CPM, eje X). A y B son líneas de linfocitos T establecidas a partir de dos pacientes alérgicos a las gramíneas. A: rPhl p 12, b: p nPhl 12, g: rOle e 2, d: control del medio. Las barras de error indican las desviaciones típicas de cuatro repeticiones.

## 35 **Descripción detallada**

### **Definiciones**

Los siguientes términos y expresiones tendrán el siguiente significado.

Los términos “un”, “uno” o “una” se refieren a un número indefinido y no deberán interpretarse solo como “uno/a”, sino que también deben interpretarse en el sentido de “algunos/as” o “varios/as”.

40 Los términos "proteína" y "polipéptido", y la expresión "secuencia de aminoácidos" se usan indistintamente en el presente documento. En el presente documento, se usan los códigos convencionales de una letra y de tres letras para los restos de aminoácidos. Los códigos de tres letras para los aminoácidos se definen de acuerdo con la Comisión Conjunta de la IUPAC-IUB sobre Nomenclatura Bioquímica (JCBN).

45 El término "variante" o "variantes" se refiere a polipéptidos que contienen modificaciones/mutaciones en comparación con la "secuencia original". El término "variante" se puede usar indistintamente con el término "mutante".

50 Las expresiones "secuencia precursora" o "polipéptido precursor" pretenden definir un polipéptido en el que se basan cualquiera de los polipéptidos variantes. A menos que se indique lo contrario, SEQ ID NO: 1 o, como alternativa, SEQ ID NO: 2-42, o, como alternativa, cualquier profilina mencionada en las Tablas 1 a 4, se ha de considerar la secuencia precursora. Se ha de entender que las SEQ ID NO: 1 a 42 se muestran con una metionina

- 5 en la posición 1, que, en algunas realizaciones, puede no estar presente, pues la metionina puede eliminarse enzimáticamente, bien de forma natural por la célula huésped en la producción recombinante o *ex vivo*. También se ha de entender que la metionina no se puede eliminar por completo, de modo que aproximadamente el 2 %-10 % de los polipéptidos producidos de manera recombinante contiene metionina en la posición 1. Un "ácido nucleico precursor" significa una secuencia de ácido nucleico que codifica el polipéptido precursor.
- 10 La expresión "identidad de secuencia" pretende definir la fracción de aminoácidos que es la misma entre un par de secuencias tras la alineación de las secuencias. Las alineaciones de secuencia y las comparaciones pueden realizarse a ojo, pero, por lo general, se realizan con la ayuda de programas informáticos de comparación de secuencias fácilmente disponibles, siendo el resultado un porcentaje de identidad calculado por el programa informático.
- 15 La expresión "similitud de secuencia" pretende definir la fracción de aminoácidos que es la misma u homóloga entre un par de secuencias en la alineación de las secuencias. Lo más a menudo, se usa un programa informático para el cálculo, y el resultado es una puntuación que se calcula usando alguna matriz de similitud que forma parte del programa informático.
- La expresión "un alérgeno" deberá interpretarse como uno o más alérgenos.
- El término "alérgeno" pretende designar una sustancia proteica capaz de generar una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo, tal como en un animal, tal como en un ser humano. El alérgeno puede ser un alérgeno sensibilizante o un alérgeno con reacción cruzada.
- 20 La expresión "alérgeno sensibilizante" pretende designar una sustancia proteica capaz de desencadenar la producción de anticuerpos IgE por parte del sistema inmunitario en un individuo.
- 25 La expresión "alérgeno con reacción cruzada" define una sustancia proteica que puede ser reconocida por anticuerpos IgE originalmente creados contra un alérgeno sensibilizante. Es decir, un alérgeno con reacción cruzada es un alérgeno capaz de generar una respuesta inmune de hipersensibilidad cuando es reconocido por y unido a anticuerpos IgE con reacción cruzada inducidos por un alérgeno sensibilizante. Por ejemplo, el alérgeno Mal d 1, que se encuentra en las manzanas, es una proteína homóloga a Bet v 1, que se encuentra en el polen del abedul y que es capaz de generar una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo previamente sensibilizado contra el alérgeno Bet v 1 debido a su capacidad para desencadenar la unión cruzada e inducir la granulación de los mastocitos en los mastocitos cargados con IgE anti-Bet v 1.
- 30 La expresión "alérgeno principal" deberá significar un alérgeno que causa la sensibilización en más del 50 % de una población media (seleccionada aleatoriamente) de pacientes que tienen una respuesta inmune de hipersensibilidad desencadenada por la exposición a un material fuente de alérgenos que comprende dicho alérgeno.
- La expresión "alérgeno minoritario" significará un alérgeno que causa la sensibilización en menos del 50 % de una población media (seleccionada aleatoriamente) de pacientes que tienen una respuesta inmune a la hipersensibilidad desencadenada por la exposición a un material fuente de alérgenos que comprende dicho alérgeno.
- 35 La expresión "supresión presencial" o "tolerancia presencial" significa, en general, que engloba la capacidad de suprimir una reacción inmune en un individuo hacia un antígeno (A) mediante el tratamiento del individuo con otro antígeno no relacionado (B).
- 40 El término "inmunoterapia" pretende englobar la terapia en la que el agente terapéuticamente activo (en el presente documento, el polipéptido) es un antígeno (proteína antigénica) o un péptido inmunogénico. Normalmente, la inmunoterapia engloba la administración repetitiva de una dosis suficiente del antígeno, normalmente en cantidades de microgramos, durante un período de tiempo prolongado, normalmente durante meses o años, en el que el antígeno o péptido inmunogénico se administra diariamente, varias veces a la semana, semanalmente, bisemanalmente o mensualmente.
- 45 La expresión "un individuo" pretende designar a un mamífero que tiene un sistema inmune adaptativo, tal como un ser humano, una mascota, tal como un perro, un gato, un caballo o ganado.
- 50 La expresión "un individuo que lo necesite" pretende englobar un individuo que tenga una respuesta inmune de hipersensibilidad, un individuo sensibilizado contra un alérgeno, así como un individuo que está en riesgo de sensibilizarse contra un alérgeno o que está en riesgo de desarrollar una respuesta inmune de hipersensibilidad. El individuo, puede presentar clínicamente síntomas de una respuesta inmune de hipersensibilidad o el individuo solamente puede sensibilizarse contra un alérgeno y no presentar todavía clínicamente síntomas de una respuesta inmune de hipersensibilidad. Un individuo que está en riesgo de sensibilizarse contra un alérgeno puede identificarse gracias a las enfermedades atópicas de la familia.
- 55 La expresión "tratamiento profiláctico" pretende englobar el tratamiento, tal como inmunoterapia, de un individuo con el objetivo de inducir una respuesta que impida parcial o completamente que el individuo desarrolle una respuesta inmune de hipersensibilidad. El tratamiento profiláctico, tal como inmunoterapia profiláctica, se inicia, por tanto, antes

de que el individuo se haya sensibilizado a un alérgeno. Esto puede realizarse iniciando la inmunoterapia antes de que el individuo haya alcanzado niveles detectables de anticuerpos IgE en suero capaces de unirse específicamente con el alérgeno sensibilizante o antes de que cualquier otro marcador bioquímico, indicativo de una respuesta inmune de hipersensibilidad, se pueda detectar en muestras biológicas aisladas del individuo. Además, la inmunoterapia profiláctica también deberá designar inmunoterapia iniciada antes de que el individuo haya desarrollado síntomas clínicos de la enfermedad, tales como síntomas de rinitis alérgica, asma alérgica o dermatitis atópica.

El término "tratamiento" se refiere a cualquier tipo de tratamiento o prevención que confiere un beneficio a un sujeto que padece una enfermedad o que está en riesgo de desarrollar una respuesta inmune de hipersensibilidad contra un alérgeno de interés, incluyendo la mejoría de la afección del sujeto (por ejemplo, en uno o más síntomas), el retraso de la aparición de los síntomas, la ralentización del avance de los síntomas o la inducción de la modificación de la enfermedad, etc. Como se usa en el presente documento, "tratamiento" no significa necesariamente que implique la curación o la anulación completa de los síntomas, sino que se refiere a cualquier tipo de tratamiento que confiera un beneficio a un paciente.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende designar una cantidad eficaz para un tratamiento, tal como una cantidad suficiente para conseguir el efecto deseable. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz es la dosis total de un antígeno no relacionado que se administra en el transcurso de la inmunoterapia para conseguir la eficacia deseada o la dosis máxima tolerada dentro de un período de tiempo dado. La dosis total se puede dividir en dosis únicas administradas diariamente, dos veces a la semana o más, semanalmente, cada dos o cuatro semanas o mensualmente, dependiendo de la vía de administración. La dosis total puede administrarse a diferentes concentraciones. Se espera que una sola dosis esté en el intervalo de microgramos, tal como en el intervalo de 5 a 500 microgramos dependiendo del antígeno.

La expresión "sensibilizado contra un alérgeno", en general, pretende englobar que el individuo se ha expuesto a un alérgeno de una manera que el sistema inmunoadaptativo del individuo presente memoria contra el alérgeno, de manera que se hayan generado anticuerpos IgE detectables contra el alérgeno o que los linfocitos T estimulados *in vitro* pueden proliferar en presencia del alérgeno sensibilizante.

El término "adyuvante" se refiere a una sustancia que potencia la respuesta inmune contra un antígeno. Dependiendo de la naturaleza del adyuvante, éste puede potenciar una respuesta inmune mediada por células, una respuesta inmune humoral o una mezcla de ambas.

#### *Tratamiento/prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad*

Se ha de entender que un polipéptido de la invención es para su uso en el tratamiento/la prevención de una respuesta inmune de hipersensibilidad. Una respuesta inmune de hipersensibilidad de la presente invención se considera que está asociada con una enfermedad alérgica/respuesta inmune alérgica, tal como, normalmente, una respuesta inmune de hipersensibilidad de tipo 1 o de tipo 4, o mezclas de las mismas, tal como, normalmente, una respuesta inmune habitualmente asociada con la producción de anticuerpos IgE, tal como alergia mediada por IgE. Los ejemplos típicos de enfermedades mediadas por una respuesta inmune de hipersensibilidad son, pero sin limitación, enfermedades alérgicas como la dermatitis atópica, urticaria, dermatitis de contacto, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, asma alérgica, anafilaxis, alergia alimentaria y alergia a medicamentos. Los ejemplos típicos de enfermedades mediadas por una reacción inmune de hipersensibilidad de tipo 1 son, pero sin limitación, enfermedades alérgicas como dermatitis atópica, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, asma alérgica, anafilaxia, alergia alimentaria y la fiebre del heno. Un ejemplo de una enfermedad mediada por una reacción inmune de hipersensibilidad de tipo 4 es la dermatitis de contacto.

El polipéptido se puede administrar por cualquier vía de administración, pero preferentemente se administra en una mucosa o epitelio, por ejemplo, se administra en una mucosa y/o los epitelios de las vías respiratorias, del tracto gastrointestinal y de la cavidad oral. En principio, la administración en la piel, tal como mediante la administración subcutánea, administración epicutánea o administración transdérmica, está dentro del alcance de la administración de un polipéptido de la invención, y se puede usar en algunas realizaciones. Sin embargo, en otras realizaciones de la invención, el polipéptido se administra preferentemente por vía tópica en la piel, por medio transdérmico o por inyección, tal como por vía subcutánea y epicutánea.

Tras la administración del polipéptido en un epitelio y/o mucosa, el polipéptido puede ser captado por una célula presentadora de antígeno y en ausencia de "señales de peligro" como se observa con los alérgenos, el episodio inmunológico predeterminado que tiene lugar en las superficies mucosas en condiciones fisiológicas dará lugar al fenómeno denominado "tolerancia oral", que es una característica normal del sistema inmune de la mucosa, ya que se puede generar a través de la administración oral (incluyendo peroral), nasal, por vías respiratorias y sublingual de un antígeno.

Todavía no se entienden por completo los mecanismos que subyacen a la inducción de la tolerancia oral, excepto que es ampliamente reconocido que los antígenos administrados por vía oral dan lugar a la generación de linfocitos T reguladores específicos del antígeno tras la presentación del antígeno por las APC asociadas al intestino. Dicha

presentación preferentemente induciría a los linfocitos T a secretar citocinas reguladoras tales como el TGF-beta y la IL-10. Estas células reguladoras específicas del antígeno pueden migrar a órganos linfoides, suprimiendo las respuestas inmunes mediante la inhibición de la generación de células efectoras, y a los órganos diana, suprimiendo la enfermedad mediante la liberación de citocinas no específicas del antígeno. Recientemente, se ha sugerido que la

5 generación de células reguladoras en el sistema inmune de la mucosa está mediada por un subconjunto especializado de células dendríticas que expresan el marcador de superficie CD103. También se ha sugerido que la administración oral de antígeno induce la falta de respuesta de los linfocitos T principalmente a través de la anergia o la eliminación. Se considera que los mecanismos, la inducción de linfocitos Treg, la anergia y la eliminación no pueden excluirse entre sí, y se pueden superponer considerablemente.

10 Por lo tanto, se ha de entender que la administración de un antígeno en la mucosa oral a un individuo que preferentemente no está presensibilizado al antígeno puede inducir a linfocitos Treg específicos del antígeno a activarse tras la siguiente exposición al antígeno y a iniciar la producción de citocinas reguladoras inespecíficas, y si el antígeno se expone junto con un alérgeno, las citocinas reguladoras inespecíficas pueden suprimir la respuesta inmune hacia otras especificidades que están en curso en el microambiente, tales como una respuesta inmune de

15 hipersensibilidad.

Así pues, para inducir la tolerancia oral, se ha de entender que un polipéptido de la invención, se administra preferentemente en una mucosa de las vías respiratorias, la cavidad oral y el tracto gastrointestinal. Por lo tanto, en realizaciones preferidas de la invención, el polipéptido se administra por inhalación, administración nasal, administración bucal (administración en las mejillas o la cavidad bucal), administración oral (administración en el tracto gastrointestinal), tal como preferentemente por administración sublingual. Se prevé que la administración en una mucosa de la cavidad oral se puede realizar mediante el suministro por vía tópica del antígeno en la superficie de un epitelio de la cavidad oral desde donde el antígeno es absorbido en la mucosa y la submucosa. Por ejemplo, el antígeno se administra en el epitelio de la parte sublingual, incluyendo el suelo de la boca, de donde el antígeno es absorbido en la mucosa y la submucosa. Mediante administración bucal, se pretende aplicar una formulación farmacéutica adecuada del polipéptido en un epitelio de la cavidad oral, tal como en un epitelio situado en la superficie inferior o superior de la lengua, en la encía o en las mejillas, para permitir que el polipéptido se absorba en la mucosa y la submucosa, no pretendiéndose suministrar el polipéptido en el tracto gastrointestinal. Por lo tanto, en realizaciones más preferibles de la invención, el antígeno se administra en el epitelio y/o la mucosa de la cavidad oral, tal como por administración sublingual, advirtiéndose preferentemente al individuo que no trague antes de un período de al menos 1 minuto tras la administración, tal como, más preferentemente tras 2 minutos, 3 minutos, 4 minutos o 5 minutos de la administración del polipéptido.

20

25

30

El polipéptido se puede administrar repetidamente en dosis suficientes, por lo general, en dosis individuales de cantidades en microgramos, durante un período prolongado de tiempo, en general, durante semanas, meses o años antes de que se alcance el efecto. Normalmente, el polipéptido se administra diariamente, semanalmente, cada dos semanas o mensualmente – dependiendo de la vía de administración, de la formulación y/o del polipéptido específico. Se espera que el polipéptido debe administrarse, de forma continua o interrumpido por uno o más períodos de no administración, durante un período de al menos 4 semanas a aproximadamente 4 a 6 meses, pero que la administración debe continuar durante varios meses o años.

35

En particular, se ha de entender que, lo más probablemente, para lograr la tolerancia presencial, se requiere la creación de tolerancia oral y/o linfocitos Treg específicos. La tolerancia oral se creará, al menos, mediante la administración del polipéptido a una mucosa oral. Sin embargo, los biomarcadores que muestran que se ha obtenido la tolerancia oral (tolerancia de los linfocitos T) no se identifican fácilmente. La tolerancia en pacientes alérgicos sensibilizados suele estar vinculada a la producción de IgG4 y la producción de las citocinas IL-10 e IL-4. Sin embargo, se cree que el examen directo de las respuestas de los linfocitos T hacia el antígeno tolerogénico puede dar lugar a linfocitos Treg productores de IL-10 y/o TGF-b, mientras que se debería observar la falta total de respuesta o respuestas de Th1/Th2 en el grupo de placebo. Para fundamentar aún más esto, los estudios *in vitro* de estimulación simultánea de las linfocitos Treg con el polipéptido tolerogénico y un antígeno de ensayo, por ejemplo, un alérgeno, deberían conducir a la supresión de la respuesta de los linfocitos T específicos del antígeno de ensayo. Como alternativa, el desafío simultáneo en la piel con el polipéptido tolerogénico y un antígeno de ensayo como el toxoide tetánico (TT) podría imitar la estimulación *in vitro* e incluir todos los elementos inmunológicos de una situación *in vivo*. En esta situación, cabría esperar la falta de una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado hacia el TT en presencia del antígeno tolerogénico en el grupo tratado activamente, mientras que la estimulación con el TT sin el antígeno tolerogénico conduciría a una respuesta de la piel.

40

45

50

Además, la obtención de la tolerancia presencial también requiere que el mismo polipéptido o, como alternativa, una modificación del polipéptido, esté presente junto con el alérgeno distinto de la profilina en el órgano diana (por ejemplo, en las vías respiratorias) que está sujeto a la exposición del material vegetal que contiene profilina. Por lo tanto, además de la administración del polipéptido con el fin de lograr la tolerancia oral, los medios para proporcionar la exposición conjunta del polipéptido o un polipéptido modificado del mismo, y el alérgeno distinto de la profilina también son esenciales para lograr la tolerancia presencial.

55

La expresión "exposición conjunta" pretende significar que el polipéptido se presenta/se vuelve disponible al mismo órgano diana al que se ha dirigido el alérgeno distinto de la profilina durante la exposición natural al material vegetal

60

que no contiene profilina, tal como se presenta/se vuelve disponible al mismo órgano diana en un período que coincida al menos parcialmente o completamente con la exposición del individuo a dicho alérgeno distinto de la profilina. Por lo general, el órgano diana de un alérgeno aéreo son las vías respiratorias, el órgano diana de un alérgeno alimentario es el tracto gastrointestinal o la cavidad oral, y los alérgenos aéreos, los alérgenos alimentarios y los alérgenos de contacto se dirigen a la piel.

Así pues, además de administrar el polipéptido varias veces en las vías respiratorias, el tracto gastrointestinal y/o la cavidad bucal (para lograr la tolerancia oral/ inducción de linfocitos Treg), se han de proporcionar medios para garantizar la presencia conjunta/exposición conjunta del polipéptido y el alérgeno distinto de la profilina en el órgano diana en un período parcial o completamente superpuesto con el período de exposición al alérgeno.

Los presentes inventores han descubierto ahora que se puede proporcionar la exposición conjunta mediante la selección como "antígeno que induce tolerancia" de un antígeno expuesto de forma natural al mismo órgano diana que el alérgeno desencadenante de la respuesta inmune de hipersensibilidad. Como tal, el "antígeno que induce tolerancia" alcanza inherentemente el mismo órgano diana que el alérgeno distinto de la profilina "desencadenante" tras la exposición natural al material vegetal que contiene profilina. Ventajosamente, no hay necesidad de proporcionar medios adicionales que garanticen la exposición conjunta al alérgeno desencadenante (alérgeno distinto de la profilina) y al "antígeno que induce tolerancia" (polipéptido).

De acuerdo con la presente invención, la tolerancia presencial se logra mediante la administración de un polipéptido, tal como la profilina Phl p 12, a un individuo que necesita ser tratado de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina. Se considera que la tolerancia presencial se logra, al menos, cuando el polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 %, tal como al menos un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de similitud y/o identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina. Es decir, que el polipéptido no tiene que ser idéntico a la profilina del material vegetal que contiene profilina siempre que exista una cierta identidad y/o similitud entre el polipéptido como se administra y la profilina a la que se realiza la exposición de forma natural.

Sin embargo, cuando el polipéptido de la invención, por algunas razones, no proporciona suficiente tolerancia presencial de una respuesta inmune de hipersensibilidad, el polipéptido también se puede administrar al órgano diana sujeto a la exposición natural de un material vegetal que contiene profilina, tal como se administra en las vías respiratorias, el tracto gastrointestinal o la piel en un período que coincida al menos en parte o en su totalidad con la exposición natural del individuo a dicho material vegetal que contiene profilina.

La expresión "el polipéptido también se administra al órgano diana sujeto a la exposición natural de un material vegetal que contiene profilina en un período que coincida al menos en parte o en su totalidad con la exposición natural del individuo a dicho material vegetal que contiene profilina" pretende significar que el polipéptido se administra al órgano diana al menos durante todo el período de exposición al alérgeno o se puede administrar en una parte de ese período incluyendo un período previo al inicio de la exposición natural.

Se prevé que, en algunas realizaciones de la invención, el polipéptido se administra a un epitelio/mucosa de las vías respiratorias (preferentemente, administración nasal), de la cavidad oral (preferentemente, administración sublingual) o del tracto gastrointestinal, con el objetivo de lograr la tolerancia oral hacia ese polipéptido. Además y preferentemente, una vez lograda la tolerancia oral hacia el polipéptido, el mismo polipéptido o, como alternativa, un polipéptido modificado del mismo, se administra al órgano diana sujeto a la exposición natural al material vegetal que contiene profilina de forma simultánea, de forma contemporánea, por separado o secuencialmente, en cualquier orden, para el período de exposición natural al material vegetal que contiene profilina.

Por ejemplo, cuando el órgano diana es las vías respiratorias, como es lo más relevante para los alérgenos aéreos (polen), el polipéptido se administra repetidamente a la cavidad oral (por ejemplo, por vía sublingual) diaria o semanalmente en un período que varía de 4 semanas a 12 meses o más (para lograr la tolerancia oral/linfocitos Treg), y el mismo polipéptido o un polipéptido modificado del mismo se administra a las vías respiratorias, tal como por administración nasal o por inhalación, en un período que se solapa total o parcialmente con el período de la exposición natural.

Del mismo modo, cuando el órgano diana es el tracto gastrointestinal, como es lo más relevante para los alérgenos alimentarios, el polipéptido se administra de forma repetida (por ejemplo, por vía sublingual), tal como diaria o semanalmente en un período que varía de 4 semanas a 12 meses o más, y el mismo polipéptido o un polipéptido modificado del mismo (variante del mismo) se administra en el tracto gastrointestinal, tal como por ingestión o administración oral, en un período que se solapa total o parcialmente con el período de la exposición natural.

#### *Individuos*

Ya que se espera que la inducción de la tolerancia oral se vea facilitada por la falta de sensibilización alérgica hacia el polipéptido, el individuo que necesita el presente tratamiento preferentemente no está sensibilizado a una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina. Es decir, la respuesta inmune de hipersensibilidad preferentemente no se debe a una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina. Por otra parte, cuando el polipéptido no es idéntico a la profilina del material vegetal que contiene profilina, el individuo preferentemente no está sensibilizado

al polipéptido.

Así pues, en realizaciones preferidas de la invención, el individuo no está, al menos no antes de administrar la primera dosis, sensibilizado a una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina y/o dicho polipéptido, de modo que tampoco está sensibilizado, al menos no antes de administrar la primera dosis, a una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina ni a dicho polipéptido.

Por lo tanto, se puede determinar si la profilina del material vegetal que contiene profilina y/o dicho polipéptido se une a o se asocia de otro modo con los anticuerpos IgE (por ejemplo, anticuerpos IgE en suero) obtenidos del individuo que se va a tratar. Con este fin, se pueden aplicar varios ensayos, cada uno con diversos límites de detección y cuantificación. Por lo tanto, se puede entender que la profilina del material vegetal que contiene profilina y/o dicho polipéptido no se une a o se asocia de otro modo con anticuerpos IgE (por ejemplo, anticuerpos IgE en suero) a niveles detectables y/o niveles cuantificables.

La presencia de anticuerpos IgE específicos hacia la profilina y/o el polipéptido en un individuo se puede analizar mediante procedimientos bien conocidos en la técnica, tales como mediante el uso del ensayo RAST, que es un radioinmunoensayo para detectar anticuerpos IgE específicos a los alérgenos sospechosos o conocidos. En estos ensayos, el alérgeno sospechoso se une a un material insoluble y se añade el suero del paciente u otros fluidos corporales que contengan IgE (por ejemplo, saliva). Si el suero/los fluidos corporales contienen anticuerpos contra el alérgeno, dichos anticuerpos se unirán o se asociarán de otra manera al alérgeno. Se añade anticuerpo anti-IgE humana radiomarcado donde se une o se asocia de otro modo a dichos anticuerpos IgE ya unidos al material insoluble. Los anticuerpos anti-IgE humana no unidos se retiran mediante lavado. La cantidad de radiactividad es proporcional a la IgE en suero para el alérgeno. En los últimos años, se aplica un ensayo superior denominado "análisis sanguíneo de IgE específico ImmunoCAP" con el mismo fin, que en la literatura también se puede describir como: CAP RAST, CAP FEIA (Fluoroenzimoinmunoensayo) y Pharmacia CAP. El límite de detección cuantitativo de dichos ensayos puede ser tan bajo como de aproximadamente 0,1 kU/l. Para el uso en el contexto de la presente invención, el límite de detección cuantitativo puede estar por debajo de 1 kU/l, tal como por debajo de 0,5 kU/l, tal como por debajo de 0,3 kU/l donde se usa el análisis sanguíneo de IgE específico ImmunoCAP® o un ensayo comparable.

Como es evidente, la profilina y/o el polipéptido pueden no inducir una reacción inmune de hipersensibilidad en el individuo que necesita tratamiento. Por ejemplo, la profilina y/o el polipéptido no inician, al menos no antes de administrar la primera dosis de polipéptido, una reacción cutánea inmediata ni/o una reacción cutánea retardada en el individuo que necesita tratamiento en la realización de pruebas de punción cutánea con diversas concentraciones de profilina/polipéptido.

Como alternativa, se puede comprobar si la profilina y/o el polipéptido inducen la liberación de histamina en un ensayo *in vitro* de basófilos/mastocitos usando la sangre del individuo que se vaya a tratar.

Como otra alternativa más, se puede determinar si la profilina y/o el polipéptido no se unen a ni se asocian de otra manera con, al menos no a niveles detectables, los anticuerpos IgG, por ejemplo, anticuerpos de conejo anti-IgG, generados tras la inmunización de un animal, tal como un conejo, con uno o más de los alérgenos distintos de la profilina del material que contiene profilina o con un extracto acuoso del material que contiene profilina.

Se ha de entender que un individuo que necesita el presente tratamiento, puede ser un individuo ya sensibilizado a un alérgeno distinto de la profilina de un material que contiene profilina. Dicho individuo puede presentar clínicamente síntomas de una respuesta inmune de hipersensibilidad o el individuo puede estar solo sensibilizado al alérgeno distinto de la profilina y, sin embargo, no presentar clínicamente síntomas de una respuesta inmune de hipersensibilidad. Además, se ha de entender que un individuo puede beneficiarse de este tratamiento, incluso cuando no esté sensibilizado al alérgeno distinto de la profilina. Dicho individuo puede ser un individuo en riesgo de estar sensibilizado a un alérgeno distinto de la profilina, tal como en riesgo de desarrollar una respuesta inmune de hipersensibilidad al alérgeno distinto de la profilina. Un individuo en riesgo de estar sensibilizado a un alérgeno se puede identificar debido al historial familiar de enfermedades atópicas.

Por lo tanto, la presente invención también se refiere al "tratamiento profiláctico" que se inicia antes de que el individuo haya generado anticuerpos IgE en suero detectables hacia un alérgeno distinto de la profilina del material que contiene profilina o que se inicia antes de que cualquier otro marcador bioquímico indicativo de una respuesta inmune de hipersensibilidad se pueda detectar en muestras biológicas aisladas del individuo. Además, la inmunoterapia profiláctica también puede incluir el tratamiento iniciado antes de que el individuo haya desarrollado los síntomas clínicos de la enfermedad, tales como los síntomas de la rinitis alérgica o asma alérgica.

Como se ha mencionado, el polipéptido de la invención se puede usar en el tratamiento de una respuesta inmune de hipersensibilidad. La pauta de dosificación de relevancia puede ser la aplicada normalmente en el campo de la inmunoterapia específica con alérgenos, por ejemplo, en términos de dosis seleccionada, número de dosis al día, duración del tratamiento y frecuencia de administración. Por lo tanto, se puede prever que el polipéptido se administre frecuentemente durante un período más largo antes de alcanzarse el efecto deseable, tal como administrarse diariamente en la mucosa de la cavidad oral (por ejemplo, la mucosa sublingual) durante un período

de al menos 2 a 6 meses. También se prevé que, cuando la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno estacional, la primera dosis puede administrarse antes de la temporada del alérgeno. También se prevé que el tratamiento se inicia mediante una fase de dosificación creciente, en la que el polipéptido se administra a dosis crecientes durante un día, o con días o semanas hasta que se alcanza una dosis de mantenimiento.

- 5 Se ha de entender que el polipéptido es preferentemente el único principio terapéuticamente activo que se administra. En particular, cabe señalar que el polipéptido se debe administrar en ausencia de alérgenos para evitar mecanismos inmunológicos competitivos, la producción de señales de peligro y/o la inflamación. Por lo tanto, el alérgeno distinto de la profilina al que el individuo tiene anticuerpos IgE específicos no se deberá administrar junto con el polipéptido, al menos no en el periodo de establecimiento de la tolerancia oral al polipéptido. También se ha
- 10 de entender que el polipéptido no se administra junto con un modulador de la vía de señalización de Notch, como un preparado combinado para uso simultáneo, contemporáneo, separado o secuencial para la modulación del sistema inmune como se describe en la solicitud de patente WO 2004/082710.

*Polipéptidos, alérgenos distintos de la profilina y materiales vegetales que contienen profilina*

- 15 Un polipéptido para su uso en la presente invención puede ser la profilina (Phl p 12) de la especie vegetal *Phleum pratense*, que existe en diversas isoformas tales como las que tienen una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 a 10, opcionalmente, en las que la metionina no está presente en la posición 1. En particular, esta profilina se presenta inherentemente de forma concomitante con un alérgeno distinto de la profilina, tal como Phl p 1, 5 o 6, cuando el individuo se expone al polen de gramíneas del orden de plantas *Poales* durante la estación del polen de gramíneas.

- 20 Se ha de entender que los polipéptidos que incluso difieren de la secuencia de aminoácidos de la profilina Phl p 12 pueden reemplazar la Phl p 12 como un antígeno presencial utilizable en la supresión de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de polen de gramínea. Por ejemplo, las profilinas homólogas a Phl p 12, tales como la profilina del polen de abedul, Bet v 2, o la profilina del polen del olivo, Ole e 2, se pueden usar en la supresión de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la
- 25 profilina del polen de gramíneas del orden de plantas *Poales*. También se prevé que debido a la similitud de alto peso molecular, tal como al menos el 60 % de identidad entre las secuencias de aminoácidos de Phl p 12 y Bet v 2 u Ole e 2, se estableció suficiente reactividad cruzada inmunológica entre Phl p 12 y Bet v 2 u Ole e 2, de modo que el tratamiento con Phl p 12 generó una respuesta de tolerancia que puede ser activada por el polipéptido homólogo Bet v 2 u Ole e 2 tras la exposición al polen de abedul o al polen del olivo, conduciendo a una regulación negativa
- 30 concomitante de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de polen de abedul y/o gramíneas. Del mismo modo, el tratamiento de un individuo con la profilina Bet v 2 puede dar lugar a una respuesta de tolerancia que puede activarse por la exposición al polipéptido homólogo Phl p 12 u Ole e 2 tras la exposición al polen de gramínea o de olivo, respectivamente, lo que lleva a la regulación negativa concomitante de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina del polen de abedul y/o
- 35 del polen de gramíneas y/o del polen del olivo.

Por lo tanto, un polipéptido para su uso en la presente invención tiene, consiste en, consiste esencialmente en, comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad y/o similitud de al menos un 60 %, tal como una identidad y/o similitud de al menos 70 %, 75, 80, 85, 90, 95 y 98 % con una secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, opcionalmente, sin metionina en la posición 1 (extremo N-terminal).

- 40 Los ejemplos típicos de polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de identidad y/o similitud de al menos un 60 % con la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 son profilinas de otros materiales vegetales que contienen profilina.

- Las Tablas 1-4 muestran profilinas ilustrativas de un material vegetal que contiene profilina (identificado por su número de UniProt, extraído de <http://uniprot.org> y su porcentaje de identidad con Phl p 12 (SEQ ID N°: 1) en el que
- 45 el porcentaje de identidad en la secuencia de aminoácidos se ha determinado usando alineación con BLAST (Base de datos = UniProtKB, Umbral = 10, Matriz = auto, Filtrado = Ninguno, Hueco = 500, Aciertos = 500). Hay un grado notablemente alto de identidad entre las profilinas de diversas especies vegetales, tal como una identidad de al menos un 60 % entre las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y las profilinas mostradas en la Tabla 4. En particular, el porcentaje de identidad del grupo de las gramíneas y los cereales (orden *Poales*, por ejemplo, género *Cynodon* (grama común), *Hordeum* (cebada), *Oryza* (arroz), *Phleum pratense* (hierba timotea), *Sorghum* (hierba),
- 50 *Triticum* (trigo duro) y *Zea* (maíz) que pertenecen a las clase de plantas monocotiledóneas es alto, tal como superior al 80 %. Además, profilinas de árboles (polen de los árboles) tienen alta identidad con la profilina Phl p 12, tal como en un 70 % a 82 % (Orden *Fagales*, por ejemplo, género *Betula* (abedul), género *Corylus* (avellana); orden *Arecales*, por ejemplo, género *Elaeis* (palmera); orden *Malvales*, por ejemplo, género *Gossypium* (algodonero); orden
- 55 *Malpighiales*, por ejemplo, género *Hevea* (árbol del látex), orden *Mercuriales*, por ejemplo, género *Ricinus*; orden *Lamiales*, por ejemplo, género *Olea* (olivo), género *Populus* (álamo), orden *Myrtales*, por ejemplo, género *Sonneratia*. Las profilinas del polen de las malas hierbas tienen un porcentaje de identidad en un 75 a 81 % (orden *Asterales*, por ejemplo, género *Ambrosia* (ambrosía corta), género *Artemisia* del género *Helianthus* (girasol).

También las frutas, los frutos secos y las legumbres del orden *Apiales*, *Fabales*, *Rosales*, *Solanales* y *Vitales* tienen

- un alto porcentaje de identidad con Phl p 12, tal como en el 70 % al 82 % (orden *Apiales*, por ejemplo, género *Apium* (apio), género *Daucus* (zanahoria), género *Petroselinum* (perejil); orden *Fabales*, por ejemplo, género *Arachis* (cacahuete); orden *Rosales*, por ejemplo, género *Glycine* (soja), género *Fragaria* (fresa), género *Humulus*, género *Malus* (manzana), género *Parietaria*, género *Prunus* (melocotonero, albaricoquero, cerezo, almendro), género *Pyrus* (pera); orden *Solanales*, por ejemplo, género *Capsicum* (chile), género *Nicotiana* (tabaco), género *Lycopersicon* (tomate), género *Solanum* (patata), orden *Vitales*, por ejemplo, género *Vitis* (uva).
- 5 Otros profilinas interesantes son del orden *Brassicales*, por ejemplo, género *Arabidopsis*, *Brassica* (colza), orden *Caryophyllales*, por ejemplo, género *Chenopodium*, orden *Sapindales*, por ejemplo, género *Citrus* (naranja), género *Litchi*, orden *Curcubiales*, por ejemplo, género *Cucumis* (pepino, melón).
- 10 Por lo tanto, los ejemplos típicos de materiales vegetales que contienen profilina que tienen al menos un 80 % de identidad con SEQ ID NO: 1 son de un género de plantas seleccionado de *Amaranthus*, *Ambrosia*, *Brassica*, *Chenopodium*, *Corylus*, *Cynodon*, *Elaeis*, *Helianthus*, *Hevea*, *Hordeum*, *Litchi*, *Mercurialis*, *Nicotiana*, *Olea*, *Oryza*, *Phleum*, *Phoenix*, *Solanum*, *Sonneratia*, *Sorghum*, *Triticum* y *Zea*.
- 15 Los ejemplos típicos de materiales vegetales que contiene profilina que tienen al menos un 70 % de identidad con SEQ ID NO: 1 son de un género de plantas seleccionado de *Amaranthus*, *Ambrosia*, *Ananas*, *Apium*, *Arabidopsis*, *Arachis*, *Artemisia*, *Betula*, *Brassica*, *Capsicum*, *Caryota*, *Chenopodium*, *Citrus*, *Corylus*, *Cucumis*, *Cynodon*, *Elaeis*, *Fragaria*, *Glycine*, *Helianthus*, *Hevea*, *Hordeum*, *Humulus*, *Litchi*, *Malus*, *Mercurialis*, *Musa*, *Nicotiana*, *Olea*, *Oryza*, *Parietaria*, *Petroselinum*, *Phaseolus*, *Phleum*, *Phoenix*, *Picea*, *Pinus*, *Plantago*, *Populus*, *Prunus*, *Pyrus*, *Ricinus*, *Salsola*, *Solanum*, *Sonneratia*, *Sorghum*, *Triticum*, *Vitis* y *Zea*.
- 20 Por lo tanto, parece que hay una alta conservación en las secuencias de aminoácidos de las profilinas de especies vegetales de las clases vegetales *Plantae Pinopsida* (anteriormente conocida como *Coniferopsida*), *Plantae monocotiledoneae* (también conocidas como monocotiledóneas y denominadas anteriormente *Liliopsida*) y *Plantae Magnoliopsida*.
- 25 Por lo tanto, un polipéptido para su uso en la presente invención puede ser una profilina de un material vegetal que contiene profilina de una clase de plantas seleccionada del grupo que comprende *Plantae Pinopsida*, *Plantae monocotiledoneae* y *Plantae Magnoliopsida*, por ejemplo, de un orden de plantas, familia de plantas, género de plantas o especie vegetal que se muestran en las Tablas 1, 2 y 3. Como se describe más adelante, un polipéptido de la invención puede ser, además de los de origen natural, una variante de una profilina natural.
- 30 De acuerdo con el concepto de tolerancia presencial de la presente invención, se deduce que la respuesta inmune de hipersensibilidad es generada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina que bien es de la misma especie vegetal o de otra especie vegetal, género de plantas, orden de plantas o clase de plantas que el material vegetal que contiene profilina del que se deriva la molécula de profilina. Por lo tanto, una respuesta inmune de hipersensibilidad es generada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de una clase de plantas seleccionada del grupo que comprende *Plantae Pinopsida*, *Plantae monocotiledoneae* y *Plantae Magnoliopsida*, por ejemplo, de un orden de plantas, familia de plantas, género de plantas o especie vegetal que se muestran en las Tablas 1, 2 y 3.
- 35 Los ejemplos interesantes típicos de un material vegetal que contiene profilina son de un orden de plantas seleccionado del grupo que comprende *Pinales*, *Arecales*, *Asparagales*, *Poales*, *Zingiberales* *Apiales*, *Asterales*, *Brassicales*, *Curcubiales*, *Ericales*, *Fabales*, *Fagales*, *Gentianales*, *Lamiales*, *Laurales*, *Malvales*, *Malpighiales*, *Myrtales*, *Proteales*, *Rosales*, *Sapindales*, *Solanales* y *Vitales*, preferentemente *Pinales*, *Poales*, *Arecales*, *Apiales*, *Asterales*, *Brassicales*, *Caryophyllales*, *Fabales*, *Fagales*, *Lamiales*, *Malpighiales*, *Proteales*, *Rosales*, *Sapindales* y *Solanales*, más preferentemente, *Pinales*, *Arecales*, *Poales*, *Asterales*, *Brassicales*, *Caryophyllales*, *Fagales*, *Lamiales*, *Rosales* y *Solanales*, lo más preferentemente *Poales*, *Asterales*, *Fagales* y *Lamiales*, incluso más preferentemente *Poales*.
- 40 Más específicamente, un material vegetal que contiene profilina es de una familia de plantas seleccionada del grupo que comprende *Cupressaceae*, *Arecaceae*, *Asparagaceae*, *Iridaceae*, *Bromeliaceae*, *Poaceae*, *Musaceae*, *Zingiberaceae*, *Apiaceae*, *Araliaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae*, *Polygonaceae*, *Cucurbitaceae*, *Actinidiaceae*, *Lecythidaceae*, *Theaceae*, *Fabaceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Juglandaceae*, *Myricaceae*, *Nothofagaceae*, *Ticodendraceae*, *Apocynaceae*, *Rubiaceae*, *Oleaceae*, *Pedaliaceae*, *Plantaginaceae*, *Lauraceae*, *Malvaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lythraceae*, *Platanaceae*, *Cannabaceae*, *Rosaceae*, *Ulmaceae*, *Urticaceae*, *Anacardiaceae*, *Rutaceae*, *Sapindaceae*, *Solanaceae*, *Vitaceae*, preferentemente *Cupressaceae*, *Arecaceae*, *Bromeliaceae*, *Poaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae*, *Fabaceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Oleaceae*, *Euphorbiaceae*, *Platanaceae*, *Cannabaceae*, *Rosaceae* y *Solanaceae*, lo más preferentemente *Poaceae*, *Asteraceae*, *Betulaceae* y *Oleaceae*.
- 45 50 55 Incluso más específicamente, un material vegetal que contiene profilina es de un género de plantas seleccionado del grupo que comprende *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Phoenix*, *Asparagus*, *Crocus*, *Ananas*, *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Musa*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Helianthus*, *Lactuca*,

5 *Arabidopsis, Brassica, Sinapis, Amaranthus, Beta, Chenopodium, Fagopyrum, Salsola, Cucumis, Actinidia, Bertholletia, Arachis, Glycine, Lens, Lupinus, Phaseolus, Pisum, Vigna, Alnus, Betula, Carpinus, Carya, Castanea, Corylus, Fagus, Juglans, Ostrya, Quercus, Catharanthus, Coffea, Fraxinus, Ligustrum, Olea, Plantago, Sesamum, Syringa, Persea, Gossypium, Hevea, Manihot, Mercurialis, Populus, Ricinus, Sonneratia, Platanus, Fragaria,*  
 10 *Humulus, Malus, Morus, Parietaria, Prunus, Pyrus, Rubus, Ziziphus, Anacardium, Citrus, Litchi, Mangifera, Pistacia, Capsicum, Lycopersicon, Solanum y Vitis, más preferentemente Cryptomeria, Ananas, Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Paspalum, Phalaris, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum, Zea, Apium, Daucus, Ambrosia, Artemisia, Helianthus, Chenopodium, Salsola, Arachis, Glycine, Alnus, Betula, Carpinus, Carya, Castanea, Corylus, Fagus, Juglans, Ostrya, Quercus, Fraxinus, Olea,*  
 15 *Plantago, Hevea, Mercurialis, Platanus, Humulus, Malus, Parietaria, Prunus, Pyrus, Rubus, Capsicum, Lycopersicon y Solanum, incluso más preferentemente Cryptomeria, Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum, Zea, Ambrosia, Artemisia, Helianthus, Chenopodium, Salsola, Betula, Corylus, Olea, Parietaria y Solanum.*

15 Todavía más específicamente, un material vegetal que contiene profilina contiene un alérgeno distinto de la profilina seleccionado del grupo que comprende Cha o 1, Cha o 2, Cry j 1, Cry j 2, Cup a 1, Cup s 1, Cup s 3, Jun a 1, Jun a 2, Jun a 3, Jun o 4, Jun s 1, Jun v 1, Jun v 3, Ana c 2, Ant o 1, Aspa o 1, Cro s 1, Cro s 2, Cyn d 1, Cyn d 7, Cyn d 15, Cyn d 22w, Cyn d 23, Cyn d 24, Dac g 1, Dac g 2, Dac g 3, Dac g 4, Dac g 5, Fes p 4, Hol l 1, Hol l 5, Hor v 1, Hor v 5, Hor v 12, Hor v 15, Hor v 16, Hor v 17, Hor v 21, Lol p 1, Lol p 2, Lol p 3, Lol p 4, Lol p 5, Lol p 11, Mus a 2, Mus a 3, Mus a 4, Mus a 5, Ory s 1, Ory s 12, Pas n 1, Pha a 1, Pha a 5, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 13, Pho d 2, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sec c 20, Sor h 1, Tri a 14, Tri a 15, Tri a 18, Tri a 19, Tri a 21, Tri a 25, Tri a 26, Tri a 27, Tri a 28, Tri a 29, Tri a 30, Tri a 31, Tri a 32, Tri a 33, Tri a 34, Tri a 35, Tri a 36, Tri a 37, Zea m 1, Zea m 12, Zea m 14, Zea m 25, Act c 5, Act c 8, Act c 10, Act d 1, Act d 2, Act d 3, Act d 4, Act d 5, Act d 6, Act d 7, Act d 8, Act d 10, Act d 11, Aln g 1, Aln g 4, Amb a 1, Amb a 2, Amb a 3, Amb a 4, Amb a 5, Amb a 6, Amb a 7, Amb a 9, Amb a 10, Amb p 5, Amb t 5, Ana o 1, Ana o 2, Ana o 3, Api g 1, Api g 2, Api g 3, Api g 5, Api g 6, Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 4, Ara h 6, Ara h 7, Ara h 9, Ara h 10, Ara h 11, Art v 1, Art v 2, Art v 3, Art v 5, Art v 6, Ber e 1, Ber e 2, Beta v 1, Bet v 1, Bet v 3, Bet v 4, Bet v 6, Bet v 7, Bra j 1, Bra n 1, Bra o 3, Bra r 1, Bra r 2, Cap a 1 w, Car b 1, Car i 1, Car i 4, Cas s 1, Cas s 5, Cas s 8, Cas s 9, Cat r 1, Che a 1, Che a 3, Cit l 3, Cit r 3, Cit s 1, Cit s 3, Cof a 1, Cor a 1, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 10, Cor a 11, Cor a 12, Cor a 13, Cor a 14, Cuc m 1, Cuc m 3, Dau c 1, Fag e 2, Fag t 2, Fag s 1, Fra a 1, Fra a 3, Fra e 1, Gly m 1, Gly m 2, Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6, Hel a 1, Hel a 3, Hev b 1, Hev b 2, Hev b 3, Hev b 4, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 7, Hev b 9, Hev b 10, Hev b 11, Hev b 12, Hev b 13, Hev b 14, Hum j 1, Jug n 1, Jug n 2, Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Lac s 1, Len c 1, Len c 2, Len c 3, Lig v 1, Lup an 1, Lyc e 2, Lyc e 3, Lyc e 4, Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3, Man e 5, Mer a 1, Mor n 3, Ole e 1, Ole e 3, Ole e 4, Ole e 5, Ole e 6, Ole e 7, Ole e 8, Ole e 9, Ole e 10, Ole e 11, Ost c 1, Par j 1, Par j 2, Par j 4, Par o 1, Pers a 1, Pha v 3, Pis v 1, Pis v 2, Pis v 3, Pis v 4, Pis v 5, Pis s 1, Pis s 2, Pla l 1, Pla a 1, Pla a 2, Pla or 1, Pla or 2, Pla or 3, Pru ar 1, Pru ar 3, Pru av 1, Pru av 2, Pru av 3, Pru d 3, Pru du 3, Pru du 5, Pru du 6, Pru p 1, Pru p 2, Pru p 3, Pyr c 1, Pyr c 3, Pyr c 5, Que a 1, Ric c 1, Rub i 1, Rub i 3, Sal k 1, Sal k 2 Sal k 3, Sal k 5, Ses i 1, Ses i 2, Ses i 3, Ses i 4, Ses i 5, Ses i 6, Ses i 7, Sin a 1, Sin a 2, Sin a 3, Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4, Syr v 1, Syr v 3, Vig r 1, Vit v 1 y Ziz m 1.

40 El alérgeno distinto de la profilina es preferentemente un alérgeno importante, tal como seleccionado del grupo que comprende Cha o 1, Cry j 1, Cry j 2, Cup a 1, Cup s 1, Jun a 1, Jun s 1, Jun v 1, Ana c 1, Ant o 1, Aspa o 1, Cro s 1, Cyn d 1, Dac g 1, Dac g 5, Fes p 4, Hol l 1, Hol l 5, Hor v 1, Hor v 5, Hor v 12, Hor v 15, Hor v 16, Hor v 17, Hor v 21, Lol p 1, Lol p 5, Mus a 1, Ory s 1, Pas n 1, Pha a 1, Pha a 5, Phl p 1, Phl p 5, Phl p 6, Pho d 2, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sor h 1, Tri a 12, Zea m 1, Zea m 12, Zea m 14, Zea m 25, Act c 5, Act d 1, Act d 2, Aln g 1, Aln g 4, Ama r 2, Amb a 1, Amb a 2, Amb p 5, Amb t 5, Ana o 1, Ana o 2, Api g 1, Api g 5, Ara h 1, Art v 1, Ber e 1, Beta v 1, Bet v 1, Bra j 1, Bra n 1, Bra o 3, Bra r 1, Cap a 1w, Cap a 2, Car b 1, Car i 1, Cas s 1, Cat r 1, Che a 1, Cit l 3, Cit r 3, Cit s 1, Cof a 1, Cor a 1, Cor a 2, Cuc m 1, Dau c 1, Fag e 2, Fag t 2, Fag s 1, Fra a 1, Fra e 1, Gly m 1, Gly m 2, Hel a 1, Hel a 3, Hev b 1, Hum j 1, Jug n 1, Jug r 1, Lac s 1, Len c 1, Lig v 1, Lit c 1, Lup an 1, Lyc e 1, Lyc e 2, Mal d 1, Ole e 1, Ole e 2, Ost c 1, Par j 1, Par o 1, Pers a 1, Pha v 3, Pis v 1, Pis s 1, Pla l 1, Pla a 1, Pla a 2, Pla or 1, Pla or 2, Pru ar 1, Pru av 1, Pru p 1, Pyr c 1, Que a 1, Ric c 1, Rub i 1, Sal k 1, Ses i 1, Sin a 1, Sola t 1, Syr v 1, Vig r 1, Vit v 1 and Ziz m 1, tal como, preferentemente, Cry j 1, Cry j 2, Cyn d 1, Dac g 1, Dac g 5, Fes p 4, Hol l 1, Hol l 5, Hor v 1, Hor v 5, Hor v 12, Hor v 15, Hor v 16, Hor v 17, Hor v 21, Lol p 1, Lol p 5, Ory s 1, Pas n 1, Pha a 1, Pha a 5, Phl p 1, Phl p 5, Phl p 6, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sor h 1, Tri a 12, Zea m 1, Zea m 12, Zea m 14, Zea m 25, Aln g 1, Aln g 4, Amb a 1, Amb a 2, Amb p 5, Amb t 5, Api g 1, Api g 5, Ara h 1, Art v 1, Bet v 1, Bra j 1, Bra n 1, Bra o 3, Bra r 1, Cap a 1w, Cap a 2, Car b 1, Car i 1, Cas s 1, Cat r 1, Che a 1, Cor a 1, Cor a 2, Cuc m 1, Dau c 1, Gly m 1, Gly m 2, Hel a 1, Gly m 2, Hel a 3, Hev b 1, Hum j 1, Lit c 1, Lyc e 1, Lyc e 2, Mal d 1, Ole e 1, Ole e 2, Par j 1, Par o 1, Pla l 1, Pla a 1, Pla a 2, Pla or 1, Pla or 2, Pru ar 1, Pru av 1, Pru p 1, Pyr c 1, Que a 1, Ric c 1, Rub i 1, Sal k 1, Sin a 1 y Sola t 1.

60 Por lo general, el material vegetal que contiene profilina es polen, tal como polen de gramínea, de grano, de árbol o de mala hierba, pero también puede ser un alimento o un ingrediente alimentario, como un cereal, un fruto seco, una fruta o un vegetal.

En algunas realizaciones preferidas de la invención, el alérgeno distinto de la profilina es de un polen de un género de plantas seleccionado del grupo que comprende *Cryptomeria, Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Paspalum, Phalaris, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum, Zea, Ambrosia,*

*Artemisia, Alnus, Betula, Carpinus, Carya, Castanea, Corylus, Fagus, Juglans, Ostrya, Quercus, Fraxinus, Ligustrum, Olea, Salsola, Plantago, Platanus, Humulus y Parietaria*, tal como un alérgeno distinto de la profilina seleccionado del grupo que comprende Cry j 1, Cry j 2, Ant o 1, Cyn d 1, Cyn d 7, Cyn d 15, Cyn d 22w, Cyn d 23, Cyn d 2, Dac g 1, Dac g 2, Dac g 3, Dac g 4, Dac g 5, Fes p 4; Hol l 1, Hol l 5, Hor v 1, Hor v 5, Lol p 1, Lol p 2, Lol p 3, Lol p 4, Lol p 5, Lol p 11, Ory s 1, Pas n 1, Pha a 1, Pha a 5, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 13, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sor h 1, Tri a 15, Tri a 21, Tri a 27, Tri a 28, Tri a 29, Tri a 30, Tri a 31, Tri a 32, Tri a 33, Tri a 34, Tri a 35, Zea m 1, Zea m 12, Amb a 1, Amb a 2, Amb a 3, Amb a 4, Amb a 5, Amb a 6, Amb a 7, Amb a 9, Amb a 10, Amb p 5, Amb t 5, Art v 1, Art v 2, Art v 3, Art v 5, Art v 6, Sal k 1, Sal k 2, Sal k 3, Sal k 5, Aln g 1, Aln g 4, Bet v 1, Bet v 3, Bet v 4, Bet v 6, Bet v 7, Car b 1, Car i 1, Car i 4, Cas s 1, Cas s 5, Cas s 8, Cas s 9, Cor a 10, Fag e 2, Fag t 2, Fag s 1, Jug n 1, Jug n 2, Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Ost c 1, Que a 1, Fra e 1, Lig v 1, Ole e 1, Ole e 3, Ole e 4, Ole e 5, Ole e 6, Ole e 7, Ole e 8, Ole e 9, Ole e 10 and Ole e 11, Pla l 1, Pla a 1, Pla a 2, Pla a 3, Pla or 1, Pla or 2, Hum j 1; Par j 1, Par j 2, Par j 4 y Par o 1.

En otras realizaciones preferidas de la invención, el alérgeno distinto de la profilina es de un alimento o ingrediente alimentario de un género de plantas seleccionado del grupo que comprende *Hordeum, Oryza, Secale, Triticum, Zea, Apium, Daucus, Petroselinum, Helianthus, Lactuca, Arabidopsis, Brassica, Sinapsis, Cucumis, Fagopyrum, Actinidia, Betholletim, Glycine, Lens, Lupinus, Phaseolus, Juglans, Fragaria, Malus, Morus, Pyrus, Rubus, Ziziphus, Anacardium, Citrus, Mangifera, Litchi, Pistacia, Capsicum Lycopersicon, Nicotiana, Solanaum y Vitis*. Más específicamente, el material que contiene profilina contiene un alérgeno distinto de la profilina seleccionado del grupo que comprende Hor v 12, Hor v 15, Hor v 16, Hor v 17, Hor v 21, Ory s 12, Sec c 20, Tri a 12, Tri a 14, Tri a 18, Tri a 19, Tri a 21, Tri a 25, Tri a 26, Tri a 36, Zea m 14, Zea m 25, Api g 1, Api g 2, Api g 3, Api g 4, Api g 5, Api g 6, Dau c 1, Dau c 4, Hel a 3, Lac s 1, Bra j 1, Bra n 1, Bra o 3, Bra r 1, Bra r 2, Sin a 1, Sin a 2, Sin a 3, Sin a 4, Cuc m 1, Cuc m 2, Cuc m 3, Fag e 2, Act c 5, Act c 8, Act c 10, Act d 1, Act d 2, Act d 3, Act d 4, Act d 5, Act d 6, Act d 7, Act d 8, Act d 9, Act d 10, Act d 11, Ber e 1, Ber e 2, Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 4, Ara h 5, Ara h 6, Ara h 7, Ara h 8, Ara h 9, Ara h 10, Ara h 11, Gly m 1, Gly m 2, Gly m 3, Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6s Len c 1, Len c 2, Len c 3s Lup an 1 Pha v 3, Pis v 1, Pis v 2, Pis v 3, Pis v 4, Pis v 5, Pis s 1, Pis s 2, Vig r 1, Vig r 6, Cor a 1, Cor a 2, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 11, Cor a 12, Cor a 13 and Cor a 14, Jug n 1 and Jug n 2, Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Pru du 3, Pru du 4, Pru du 5, Pru du 6, Fra a 1, Fra a 3, Fra a 4, Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3, Mal d 4, Mor n 3, Pru ar 1, Pru ar 3, Pru av 1, Pru av 2, Pru av 3, Pru av 4, Pru d 3, Pru p 1, Pru p 2, Pru p 3, Pru p 4, Pyr c 1, Pyr c 3, Pyr c 4, Pyr c 5, Rub i 1, Rub i 3, Ziz m 1, Ana o 1, Ana o 2, Ana o 3, Cit l 3, Cit r 3, Cit s 1, Cit s 2, Cit s 3, Lit c 1, Man e 5, Pis v 1, Pis v 2, Pis v 3, Pis v 4, Pis v 5, Cap a 1w, Cap a 2, Lyc e 1, Lyc e 2, Lyc e 3, Lyc e 4, Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4 y Vit v 1.

Los ejemplos típicos de polen de gramíneas son del orden *Poales*, tal como, en particular, de la familia de plantas *Poaceae*, tales como, en particular, de un género de plantas de *Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Paspalum, Phalaris, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum* y *Zea*. Por lo general, el polen de las malas hierbas deriva del orden de plantas *Asterales*, tal como de la familia *Asteraceae*, tal como del género *Ambrosia* y *Artemisia*. Por lo general, el polen de los árboles deriva del orden de plantas *Fagales* (tal como de las familias *Betulaceae* (*Betula, Alnus, Carpinus, Corylus, Ostrya*), *Fagaceae* (*Fagus, Quercus, Castanea*) y *Juglandaceae* (*Juglans y Carya*); del orden de plantas *Lamiales* (tal como de la familia *Oleaceae*, tal como del género *Olea*); del orden de plantas *Pinales* (tal como de la familia *Cupressaceae*, tal como del género *Juniperus*).

Los alimentos o ingredientes alimentarios derivan normalmente del orden de plantas *Apiales* (tal como, por ejemplo, de la familia *Apiaceae*, tal como del género *Apium* y *Daucus*); *Fabales* (tal como la familia *Fabaceae* comúnmente conocida como familia de las leguminosas, de los guisante o de los frijoles), incluyendo entre otros *Glycine max* (soja) y *Arachis hypogaea* (cacahuete); *Rosales* (tal como la familia *Rosaceae* que incluye, entre otras, manzanos, albaricoqueros, ciruelos, cerezos, melocotoneros, perales, frambueso y fresón); *Poales* (tal como la familia *Poaceae*, que, entre otros, incluye cebada, maíz, mijo, arroz y trigo).

Por otra parte, el material vegetal que contiene profilina puede derivar del género de plantas *Hevea* (familia de látex), que es relevante en el tratamiento de una respuesta inmune de hipersensibilidad hacia un alérgeno distinto de la profilina de látex o cualquier material que contenga látex.

Como se ha de entender, se considera que cualquier polipéptido que tenga una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 60 % de identidad y/o similitud, tal como al menos un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad y/o similitud con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 se puede usar para el tratamiento de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material que contiene profilina mencionado en las Tablas 1, 2 o 3. Sin embargo, para garantizar la reactividad cruzada inmunológica en el momento de la exposición al material vegetal que contiene profilina, es deseable que el polipéptido usado en la fase de tratamiento (tal como el usado como un antígeno que induce tolerancia) tenga una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina presente en el material que contiene profilina al que está expuesto el individuo y que contiene el alérgeno distinto de la profilina causante de la respuesta inmune de hipersensibilidad. Por lo tanto, un polipéptido de la invención también puede tener una secuencia de aminoácidos que tenga una identidad y/o similitud de al menos el 60 %, tal como una identidad y/o similitud de al menos el 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % con la secuencia de aminoácidos de la

profilina a la que el individuo se expone al exponerlo al alérgeno distinto de la profilina del material vegetal que contiene profilina.

5 Así pues, en realizaciones preferidas de la invención, el material vegetal que contiene profilina es de una familia de plantas seleccionada del grupo que comprende *Poaceae*, *Asteraceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Juglandaceae*, *Oleaceae*, *Apiaceae*, *Rosaceae* y *Euphorbiaceae* o una variante de las mismas, preferentemente teniendo la variante y la profilina una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina.

10 Por lo tanto, el polipéptido es una profilina de una especie vegetal de una familia de plantas seleccionada del grupo que comprende *Poaceae*, *Asteraceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Juglandaceae*, *Oleaceae*, *Apiaceae*, *Rosaceae* y *Euphorbiaceae* o una variante de las mismas, preferentemente teniendo la variante y la profilina una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina, y preferentemente estando la respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de una especie vegetal de una familia de plantas seleccionada del grupo que comprende *Poaceae*, *Asteraceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Juglandaceae*, *Oleaceae*, *Apiaceae*, *Rosaceae* y *Euphorbiaceae*.

15 Más concretamente, en realizaciones preferidas de la invención, el polipéptido es una profilina de una especie vegetal de un género de plantas seleccionado del grupo que comprende *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Arachis*, *Glycine*, *Alnus*, *Betula*, *Corylus*, *Fagus*, *Quercus*, *Olea*, *Plantago*, *Malus*, *Parietaria*, *Prunus*, *Lycopersicon* y *Solanum*, o una variante de las mismas, preferentemente teniendo la variante y la profilina una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina, y preferentemente estando la respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de una especie vegetal de un género de plantas seleccionado del grupo que comprende de *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Arachis*, *Glycine*, *Alnus*, *Betula*, *Corylus*, *Fagus*, *Quercus*, *Olea*, *Plantago*, *Malus*, *Parietaria*, *Prunus*, *Lycopersicon* y *Solanum*.

20 Incluso más concretamente, en realizaciones preferidas de la invención, el polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que comprende SEQ ID NO: 11 a 43, que son secuencias de aminoácidos ilustrativas de las profilinas del orden *Poales* (SEQ ID NO: 11 -15, 40), del orden *Lamiales* (SEQ ID NO: 16), del orden *Fagales* (SEQ ID NO: 17), del orden *Fagales* (SEQ ID NO: 17-18), del orden *Fabales* (SEQ ID NO: 19-20), del orden *Asterales* (SEQ ID NO: 21-23), del orden *Malpighiales* (SEQ ID NO: 24), del orden *Rosales* (SEQ ID NO: 25-23), del orden *Asterales* (SEQ ID NO: 21-23), del orden *Asterales* (SEQ ID NO: 24-31), del orden *Arecales* (SEQ ID NO: 32), del orden *Caryophyllales* (SEQ ID NO: 33-35), del orden *Apiales* (SEQ ID NO: 36-37), del orden *Cucurbitales* (SEQ ID NO: 38), del orden *Solanales* (SEQ ID NO: 39), del orden *Asparagales* (SEQ ID NO: 41), del orden *Zingiberales* (SEQ ID NO: 42) o siendo el polipéptido una variante de dicha profilina, como se define en mayor profundidad más adelante.

25 En particular, las SEQ ID NO: 1-42 tienen una metionina como el primer aminoácido en el extremo N-terminal (posición 1), que se puede eliminar mediante degradación enzimática en una célula huésped productora de las secuencias mediante técnicas recombinantes. Por lo tanto, se ha de entender que, en cualquiera de las secuencias de aminoácidos mencionadas en el presente documento (SEQ ID NO: 1-42), el grupo metionina de la posición 1 no está presente. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-42 no contienen metionina en la posición 1.

30 Un polipéptido también se puede seleccionar de profilinas conocidas, tales como profilinas seleccionadas del grupo que comprende profilina Cry j, Pho d 2, Ana c 1, Cyn d 12, Tri a 12, Mus a 1, Api g 4, Dau c 4, Amb a 8, Art v 4, Hel a 2, Ara t 8, Sin a 4, Ama r 2, Beta v 2, Che e 2, Sal k 4, Act d 9, Cuc m 2, Ara h 5, Gly m 3, Bet v 2, Cor a 2, Ole e 2, Hev b 8, Mer a 12, Pla a 3, Fra a 4, Mal d 4, Par j 3, Pru av 4, Pru du 4, Pru p 4, Pyr c 4, Cit s 2, Lit c 1, Cap a 2, Lyc e 1 o una variante de la misma.

35 Por otra parte, en realizaciones preferidas de la invención, el polipéptido tiene una alta similitud con cualquiera de las profilinas que se muestran en SEQ ID NO: 1-42, de modo que al menos un 60 %, tal como al menos un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % y 95 % de la secuencia de aminoácidos se solapa con la secuencia de aminoácidos de una profilina seleccionada del grupo de SEQ ID NO: 1-42.

40 El polipéptido se puede usar en su forma de origen natural incluyendo o excluyendo diversas isoformas, se puede extraer/aislar de un material vegetal que contiene profilina o se puede reproducir mediante el uso de procedimientos biológicos (por ejemplo, técnicas recombinantes) o procedimientos sintéticos como es bien conocido en la técnica.

45 Por lo tanto, en algunas realizaciones, un polipéptido usado en la presente invención está en una forma purificada y/o forma aislada, mientras que, en otras realizaciones, un polipéptido de la invención puede ser una variante de una profilina natural de un material vegetal que contiene profilina mencionado en el presente documento. Por ejemplo, el

polipéptido precursor (el polipéptido de origen natural) se puede modificar por razones de solubilidad inadecuada, biodisponibilidad, seguridad, toxicología o estabilidad, tal como mediante cualquier procedimiento químico y/o biológico.

5 Los ejemplos típicos de modificaciones químicas son glicosilación ligada a N o a O, o derivatización del extremo N-terminal o de los grupos tiol. Los ejemplos típicos de modificaciones biológicas son modificaciones posteriores a la traducción tales como, por ejemplo; glicosilación, acetilación, alquilación (metilación, etilación), biotinylación, glutaminylación, glicilación, isoprenilación, lipoylación, fosfopanteteinylación, fosforilación, sulfatación, selenación y amidación C-terminal. El polipéptido también se puede modificar mediante el tratamiento con formaldehído o glutaraldehído.

10 En general, se ha de entender que el término "variante" o "variantes" se refiere a polipéptidos que contienen modificaciones/mutaciones en comparación con la secuencia de aminoácidos del "polipéptido precursor", que se considera que es una proflina natural de un material vegetal que contiene proflina mencionado en el presente documento o al menos un polipéptido que tiene/que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o, como alternativa, SEQ ID NO: 2-42.

15 Por lo tanto, la presente invención engloba el uso de variantes polipeptídicas y derivados de cualquier secuencia de aminoácidos de un polipéptido como se define en el presente documento, en particular, las de SEQ ID NO: 1 a 10 o las de SEQ ID NO: 11 a 42 como se define a continuación.

20 Las variantes polipeptídicas de la invención pueden tener modificaciones/mutaciones tales como inserciones, sustituciones, eliminaciones, duplicaciones, inserción-eliminación, cambios de fase, transversiones, truncamientos y/o inversiones en uno o más lugares del polipéptido precursor, tales como donde un aminoácido o varios aminoácidos, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 aminoácidos del polipéptido precursor se han sometido a sustitución, eliminación, duplicación, inserción-eliminación, cambio de fase, transversiones, truncamientos y/o inversiones, preferentemente en el que el número de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de la variante polipeptídica está en el intervalo del 50 % al 150 %, tal como en el intervalo del 75 % al 25 125 % del número de aminoácidos del polipéptido precursor.

30 Las proflinas nativas normalmente contienen una longitud de cadena de aminoácidos de aproximadamente 120 a 170 aminoácidos, normalmente de aproximadamente 130 a 135 aminoácidos. El peso molecular es normalmente de aproximadamente 14 a 16 kDa. Se considera que un polipéptido (precursor, así como una variante del mismo) tiene una longitud de cadena de aminoácidos que varía entre 65 y 195 aminoácidos, tal como entre 70 y 190; 75 y 185; 80 y 180; 85 y 175; 90 y 170; 95 y 165; 100 y 160; 105 y 155; 110 y 150; 115 y 145; 120 y 140 aminoácidos.

35 Por lo tanto, las variantes polipeptídicas ilustrativas pueden ser variantes de sustitución, variantes de eliminación, variantes de duplicación, variantes de inserción, variantes de inserción-eliminación, variantes de cambio de fase, variantes de transversión, variantes de truncamiento y/o variantes de inversión o cualquier otras variantes adecuadas, preferentemente en las que el número de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de la variante polipeptídica está en el intervalo del 50 % al 150 %, tal como en el intervalo del 55 % al 145 %, del 60 % al 140 %, del 65 % al 135 %, del 70 % al 130 %, del 75 % al 125 %, del 80 % al 120 %, del 85 % al 115 % o del 90 % al 110 % o del 95 % al 105 % en comparación con el número de aminoácidos del polipéptido precursor.

40 La variante polipeptídica puede ser un polipéptido que tenga un cierto porcentaje de identidad y/o similitud, por ejemplo, un 60 %, 65 %, 66 %, 68 %, 70 %, 72 %, 74 %, 76 %, 78 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos con SEQ ID NO: 1 o, como alternativa, SEQ ID NO: 2-42.

45 La alineación de secuencias es una manera de organizar las secuencias de ADN, ARN o proteína mediante lo que las secuencias se pueden comparar. Por lo tanto, es posible identificar regiones de identidad, similitud u homología. La identidad, similitud u homología puede ser una consecuencia de las relaciones funcionales, estructurales o evolutivas entre las secuencias o puede ser una coincidencia.

50 Los programas informáticos disponibles en el mercado para determinar la identidad de secuencia usan algoritmos complejos de comparación para alinear dos o más secuencias que reflejen mejor los eventos evolutivos que podrían haber llevado a la/s diferencia/s entre las dos o más secuencias. Por lo tanto, estos algoritmos funcionan con un sistema de puntuación que recompensa la alineación de aminoácidos idénticos o similares y penaliza la inserción de huecos, extensiones de hueco y alineación de aminoácidos no similares. El sistema de puntuación de los algoritmos de comparación incluye: i) la asignación de una puntuación de penalización cada vez que se inserta un hueco (puntuación de penalización por hueco); ii) la asignación de una puntuación de penalización cada vez que se amplía un vacío existente con una posición adicional (puntuación de penalización por extensión); iii) la asignación de puntuaciones altas tras la alineación de aminoácidos idénticos; e iv) la asignación de puntuaciones variables tras la 55 alineación de aminoácidos no idénticos.

La mayoría de los programas de alineación permiten la modificación de las penalizaciones por hueco. Sin embargo, se prefieren usar los valores por defecto cuando se usa dicho software para las comparaciones de secuencias. Las puntuaciones dadas para la alineación de los aminoácidos no idénticos se asignan de acuerdo con una matriz de

puntuación también denominada matriz de sustitución. Las puntuaciones previstas en dichas matrices de sustitución reflejan el hecho de que la probabilidad de un aminoácido sustituido con otro durante la evolución varía y depende de la naturaleza física/química del aminoácido que se va a sustituir. Por ejemplo, la probabilidad de un aminoácido polar que está sustituido con otro aminoácido polar es mayor en comparación con la sustitución con un aminoácido hidrófobo. Por lo tanto, la matriz de puntuación asignará la puntuación más alta de los aminoácidos idénticos, una puntuación inferior para los aminoácidos no idénticos, pero similares, e incluso una puntuación más baja para los aminoácidos no idénticos y no similares. Los programas se pueden encontrar en <http://ncbi.nlm.nih.gov>.

Una vez que el software ha producido una alineación, se puede calcular la similitud de secuencias y la identidad de secuencias. Por lo general, el software hace esto como parte de la comparación de secuencias, y genera un resultado numérico. Al comparar las secuencias a simple vista, se puede usar un diagrama de Venn. El diagrama ilustra qué aminoácidos pertenecen a qué conjunto o subconjunto teniendo, por lo tanto, una o más propiedades similares (estructurales o químicas). Preferentemente, la identidad y la similitud de aminoácidos se calculan a través de la secuencia de aminoácidos de longitud completa o para el ácido nucleico con un polinucleótido correspondiente que codifica la respectiva secuencia de aminoácidos de longitud completa.

Por ejemplo, la identidad y la similitud de secuencias se pueden determinar mediante la comparación de dos secuencias de aminoácidos alineadas en una ventana de comparación, comparándose preferentemente secuencias de aminoácidos de longitud completa, pudiendo comprender la variante polipeptídica adiciones o eliminaciones (por ejemplo, huecos o salientes) en comparación con el polipéptido precursor para la alineación óptima de las dos secuencias. El porcentaje de identidad se calcula determinando el número de posiciones en las que tiene lugar el resto de aminoácido idéntico en ambas secuencias, proporcionando el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes entre el número total de aminoácidos en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100, proporcionando el porcentaje de identidad de secuencias. La alineación óptima de secuencias para la comparación puede realizarse mediante implementaciones informatizadas de algoritmos (GAP, BESTFIT, BLAST, PASTA y TFASTA) o por inspección. Dado que dos secuencias se han identificado para la comparación, GAP y BESTFIT se emplean preferentemente para determinar su alineación óptima. Por lo general, se usan los valores por defecto de 5,00 para el peso de hueco y 0,30 para la longitud del peso del hueco.

Cuando la modificación/mutación es una sustitución (variante de sustitución), la sustitución puede ser conservativa (dentro del mismo conjunto o subconjunto) o pueden ser no conservativas (entre conjuntos o subconjuntos). Las sustituciones pueden producir un cambio silencioso y dar como resultado un polipéptido funcionalmente equivalente. Las sustituciones de aminoácidos deliberadas pueden realizarse basándose en la similitud, es decir, sustitución de similar con similar, tal como de base con base, de ácido con ácido, polar con polar, etc.

La sustitución no conservativa también puede ocurrir, es decir, a partir de un conjunto o subconjunto de restos a otro, como alternativa, implicando la inclusión de aminoácidos no naturales tales como ornitina (denominada de aquí en adelante Z), ornitina del ácido diaminobutírico (denominada de aquí en adelante B), ornitina de norleucina (denominada de aquí en adelante O), pirilalanina, tienilalanina, naftilalanina y fenilglicina.

En cuanto a las sustituciones conservativas y similares, en la Tabla 6, se encuentra una tabla basada en el diagrama de Venn, que agrupa los aminoácidos de acuerdo con su similitud en las características estructurales y funcionales en conjuntos (polar/hidrófobo/pequeño) y subconjuntos (aromático/alifático/carga/diminuto o no). Las sustituciones se consideran conservativas si el cambio es entre los aminoácidos del mismo conjunto, y similares si el cambio es entre los aminoácidos del mismo subconjunto (pero no el mismo conjunto) como se especifica en la Tabla 7. El hecho de que la sustitución tiene que estar dentro de un conjunto o solo dentro de un subconjunto para ser una sustitución conservativa o similar depende de la ubicación en la estructura de la proteína. Depende de si el aminoácido específico está en una región o posición de particular importancia o no, por ejemplo, plegamiento, sitio de unión, sitio activo. El experto en la materia podría considerar el uso de las guías de sustitución mostradas en la Tabla 7 como primera opción y aplicar la orientación proporcionada por la Tabla 8 en un nuevo intento.

A continuación, se enumeran la/s posición/es y sustituciones con referencia a SEQ ID NO: 1 a menos que se indique lo contrario. Se pueden encontrar posiciones equivalentes en otra secuencia mediante la alineación de esta secuencia con SEQ ID NO: 1 para encontrar una alineación con el mayor porcentaje de identidad y, posteriormente, determinar qué aminoácido se alinea con y/o se corresponde con un aminoácido de una posición específica de SEQ ID NO: 1. Dicha alineación y el uso de una secuencia como una primera referencia es simplemente una cuestión de rutina para el experto habitual en la materia, y no deben limitar el alcance de la invención.

Los presentes inventores han descubierto que las profilinas vegetales conocidas tienen un alto grado de identidad de secuencia en las posiciones correspondientes a las posiciones 71-127 de SEQ ID NO: 1. Para facilitar la referencia, esta secuencia se conoce como SEQ ID NO: 43. Por consiguiente, un polipéptido de acuerdo con la invención tiene al menos un 60 %, preferentemente al menos un 65 %, 70 %, 75 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1 y al menos un 80 %, preferentemente un 85 %, 90 %, más preferentemente al menos un 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 43.

En una realización, una variante polipeptídica de la invención incluye variantes en las que uno y hasta 25 aminoácidos se ha/n añadido o eliminado con respecto a SEQ ID NO: 1.

- En algunas realizaciones, la variante polipeptídica de la invención tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que se ha sustituido cualquier número en el intervalo de 1 y 25 aminoácidos.
- En algunas realizaciones, la variante polipeptídica de la invención tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que se ha sustituido cualquier número en el intervalo de 1 y 12 aminoácidos.
- 5 En algunas realizaciones, la variante polipeptídica de la invención tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en la que se ha sustituido cualquier número en el intervalo de 3 y 9 aminoácidos.
- En realizaciones adicionales de las mismas, se han sustituido al menos dos, tal como al menos tres, tal como al menos cinco aminoácidos de SEQ ID NO: 1.
- 10 Se han analizado y se han comparado profilinas de tres fuentes distintas (plantas, mamíferos, eucariotas inferiores) en el artículo "the crystal structure of a major allergen from plants" de Thorn y col. (1997), se identificaron 18 aminoácidos que estaban conservados en el 80 % de las 35 secuencias de profilina analizadas. Con referencia a SEQ ID NO: 1, los aminoácidos K87 y G113 participan en la unión a la actina, los aminoácidos W3, Y6, I25, G27, W33, A34, Y125 y L126 participan en la unión a poli-L-Prolina (PLP), y los aminoácidos A23, A24, E46, G64, G69 y T97 participan en la conservación del pliegue.
- 15 Por consiguiente, en una realización de la invención, la variante polipeptídica de la invención tiene al menos un 60 %, preferentemente al menos un 65 % o 70 %, y más preferentemente al menos un 75 %, 80 %, 85 % y 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, y comprende los aminoácidos correspondientes a K87 y G113 de SEQ ID NO: 1. Una ventaja de dichas variantes es que el sitio de unión a la actina se puede usar en la purificación de la variante polipeptídica.
- 20 En otra realización, la variante polipeptídica de la invención tiene al menos un 60 %, preferentemente al menos un 65 % o 70 %, y más preferentemente al menos un 75 %, 80 %, 85 % y 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, y comprende los aminoácidos que corresponden a W3, Y6, I25, G27, W33, A34, Y125 y L126 de SEQ ID NO: 1. Una ventaja de dichas variantes es que el sitio de unión a PLP se puede usar en la purificación de la variante polipeptídica.
- 25 En otra realización más, la variante polipeptídica de la invención tiene al menos un 60 %, preferentemente al menos un 65 % o 70 %, y más preferentemente al menos un 75 %, 80 %, 85 % y 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, y comprende los aminoácidos que corresponden a A23, A24, E46, G64, G69 y T97 de SEQ ID NO: 1. Una ventaja de dichas variantes es que se conserva el plegamiento.
- 30 En una realización de la invención, la variante polipeptídica de la invención tiene al menos un 60 %, preferentemente al menos un 65 % o 70 %, y más preferentemente al menos un 75 %, 80 %, 85 % y 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, y comprende un aminoácido seleccionado de A, G o S (aminoácidos diminutos) en una posición correspondiente a la posición 13 y/o 115 de SEQ ID NO: 1. Un variante polipeptídica preferida de la invención comprende A en una posición correspondiente a la posición 13 y/o 115 de SEQ ID NO: 1. Otro variante polipeptídica preferida de la invención comprende S en una posición correspondiente a la posición 13 y/o 115 de SEQ ID NO: 1.
- 35 En otra realización de la invención, la variante polipeptídica de la invención tiene al menos un 60 %, preferentemente al menos un 65 % o 70 %, y más preferentemente al menos un 75 %, 80 %, 85 % y 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, y tiene todos los restos de cisteína del polipéptido precursor sustituidos con uno de los otros aminoácidos diminutos A, G o S.
- 40 Se sabe que la sustitución de triptófano (W) suele tener una gran influencia en la proteína. Por consiguiente, una variante polipeptídica preferida de la invención tiene al menos un 60 %, preferentemente al menos un 65 % o 70 %, y más preferentemente al menos un 75 %, 80 %, 85 % y 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, y comprende los aminoácidos que corresponden a W3 y W33 de SEQ ID NO: 1. Cabe destacar que el presencia de triptófano es importante, pues dichos polipéptidos pueden tener fluorescencia, facilitando el trabajo analítico.
- 45 Cuando se alinean las secuencias de SEQ ID NO: 1 a 42 de la invención usando, por ejemplo, el programa BLAST, se pueden observar algunas sustituciones conservativas específicas entre las diversas profilinas. Los ejemplos típicos de las posiciones con referencia a SEQ ID NO: 1 que se pueden someter a variación de los aminoácidos se muestran en la Tabla 5. Por lo tanto, cualquier aminoácido mencionado en la columna de "variación de aminoácido" constituye un ejemplo típico de aminoácidos que pueden sustituir un aminoácido del polipéptido precursor (SEQ ID NO: 1) con el fin de hacer una de sus variantes.
- 50 Un segundo aspecto de la invención se refiere a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, en el que 1 o 2 restos de cisteína está/n sustituido/s con un aminoácido seleccionado de A, G o S, ya sea el mismo aminoácido reemplazando ambas cisteínas o diferentes. Dichas variantes pueden ser menos susceptibles a la oxidación y, por lo tanto, menos propensas a la dimerización, polimerización o a formar agregados. Dichos polipéptidos se pueden producir de forma recombinante o sintetizarse de forma alternativa.
- 55

En particular, se proporciona una variante de un polipéptido de SEQ ID NO: 1 o, como alternativa, SEQ ID NO: 2-10 en la que al menos 1, 2 o todos los restos de cisteína han sido sustituidos con un aminoácido seleccionado de A, G o S. En particular, esta variante polipeptídica tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, pero en la que el aminoácido cisteína de la posición 13 y/o 115 se ha sustituido con un aminoácido seleccionado del grupo que comprende A (alanina), G (glicina) y S (serina), para producir las variantes C13A, C115A, C13G, C115G, C13S, C115S y mezclas de las mismas, tales como C13A y C115S. Un ejemplo típico de dicha variante tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 (dos sustitutos de cisteína con serina, es decir, C13S, C115S) o 45 (dos sustitutos de cisteína con alanina, es decir, C13A, C115A), preferentemente en la que la metionina no está presente en la posición 1, o al menos solo está presente en el 5 % de los polipéptidos producidos de manera recombinante.

Ventajosamente, dichos polipéptidos de SEQ ID NO: 44 y 45 son estables, en particular, con respecto a la autooxidación y la agregación. Además, dichos polipéptidos pueden unirse a actina humana hasta un menor grado que la Phl p 12 nativa.

Además, la estructura terciaria del polipéptido que tiene la SEQ ID NO: 45 era más estable que el polipéptido que tiene la SEQ ID NO: 44. Por lo tanto, la sustitución con alanina de la cisteína estabiliza la estructura molecular de más de la sustitución con serina.

Se prevé que la variante de sustitución de cisteína de SEQ ID NO: 44 y 45, además de usarse en la inmunoterapia no específica (la tolerancia presencal) también se puede usar en la inmunoterapia específica del alérgeno, en la que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por una profilina alérgica de un material vegetal que contiene profilina, o un alérgeno de reacción cruzada con los anticuerpos IgE específicos de dicha profilina. Cabe destacar que, en dichas realizaciones, el individuo, en general, está sensibilizado a la profilina.

Como antígeno proteico, el polipéptido puede poseer propiedades inmunogénicas y puede ser reconocido por el sistema inmunológico del individuo como foráneo. Por lo tanto, un polipéptido de la invención es un polipéptido inmunogénico. Puede inducir anticuerpos IgG específicos o anticuerpos IgM o IgA capaces de unirse a, formar complejos con o asociarse de otro modo con el polipéptido.

Una profilina se caracteriza, en general, por la capacidad para unirse a poli-L-prolina. Por ejemplo, esta propiedad se usa de manera ventajosa en la purificación/el aislamiento de profilinas de materiales que contienen profilina de manera que uno de sus extractos, por ejemplo, un extracto acuoso, se añade a la perla de cromatografía de afinidad de poli-L-Pro, tal como poli-L-prolina inmovilizada sobre perlas de agarosa. La asociación es fuerte y, por lo general, se requiere al menos 6 M de urea para eluir la profilina unida de la columna. Por lo general, una profilina se eluye de la columna con urea 6-8 M, se renaturaliza mediante diálisis contra un tampón de baja fuerza iónica sin urea y, opcionalmente, se separa más de otros componentes del extracto por cromatografía de intercambio catiónico/aniónico y/o filtración en gel (Amnuaycheewa y Gonzalez de Mejia, 2010 y Vidali y col, 1995). El mismo procedimiento se puede usar en la purificación de un polipéptido de la invención producido mediante técnicas recombinantes.

Una profilina se puede caracterizar además por su capacidad para unirse a una actina. La profilina se une a la actina monomérica (actina G), ocupando de esta manera un sitio de contacto actina-actina, siendo el efecto el secuestro de la actina G de la agrupación de actina monomérica y la subsiguiente prevención de la polimerización de la actina (para formar actina F). Por lo tanto, en una mezcla de actina, profilina y nucleótidos (ADP y ATP), la actina se polimerizará en cierta medida, que se puede estimar por la ley de acción de masas. La capacidad de un polipéptido para asociarse con la actina, tal como actina humana o vegetal, se puede ensayar mediante el estudio de la incorporación de la actina G (preferentemente marcada con fluorescencia) en el polipéptido en presencia de la actina F en tanto en cuanto la mezcla de actina F y la mezcla de actina G se pueden separar por centrifugación. Hay kits comerciales para ensayar la unión a la actina en Cytoskeleton Inc. Como alternativa, el polipéptido se puede unir a perlas de sefarosa y poli-L-prolina e incubarse con actina G, y se puede determinar la concentración de la actina G no unida en el sobrenadante. Se pueden encontrar más detalles sobre los ensayos de unión a la actina en los documentos científicos de Lu y Pollard (2001) y Fechheimer y Zigmond (1993). Un polipéptido de la invención se une preferentemente a o se asocia con una actina vegetal, pero no con una actina humana.

Un polipéptido para su uso en la presente invención, incluyendo una variante polipeptídica, se puede producir mediante técnicas de ADN recombinante de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica. Como células huésped se puede usar cualquier célula modificada genéticamente que comprenda bien una secuencia de nucleótidos que codifique un polipéptido de la invención o un vector de expresión, tal como una célula genéticamente modificada de una célula eucariota (tal como la levadura *Pichia*) o no eucariota (por ejemplo, *E. coli*). En una realización, la célula huésped es una célula bacteriana, preferentemente *E. coli*. Una ventaja de usar las células bacterianas es que las células bacterianas no producen profilinas de forma nativa. La profilina es, por lo tanto, heteróloga a las células bacterianas. En particular, es heteróloga con respecto a *E. coli*. Por lo tanto, la purificación/el aislamiento del polipéptido recombinante no es complicado al interferir proteínas nativas.

Las cepas de *E. coli* ilustrativas adecuadas para producir el polipéptido de la invención son BL21 (DE3), BL21 (DE3)pLysS o Rosetta(DE3)pLysS (todas disponibles en el mercado en Novagen) o BL21(DE3)gold (disponible en el

mercado en Agilent Technologies).

Tras haberse producido el polipéptido en una célula huésped usando los plásmidos y los ADNc apropiados, el polipéptido se aísla mediante la separación de la/s célula/s del caldo durante o tras la fermentación de manera que el polipéptido permanece en el caldo. El polipéptido se puede purificar adicionalmente a partir del caldo de manera que quede esencialmente exento de otros componentes del medio de cultivo en el que se produce por cualquier procedimiento adecuado, preferentemente procedimientos cromatográficos (por ejemplo, cromatografía de afinidad, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, opcionalmente en combinación con diálisis).

*Procedimiento de detección/suministro de un polipéptido de la invención*

Para detectar los polipéptidos que más probablemente estarán presentes en el órgano diana de manera concomitante con el alérgeno distinto de la profilina, un procedimiento de exploración para un polipéptido (por ejemplo, una profilina) adecuado para su uso en la presente invención implica:

i) extraer un material vegetal que contenga profilina en una solución acuosa que tenga un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos; ii) explorar el extracto para determinar el contenido de un alérgeno distinto de la profilina y de una profilina; iii) opcionalmente, aislar la profilina; e iv) opcionalmente, identificar la profilina; de modo que cuando el extracto contenga tanto un alérgeno distinto de la profilina como una profilina, dicha profilina se pueda seleccionar como el polipéptido para su uso de acuerdo con la presente invención.

Tras haber identificado la profilina, la profilina o una variante tal como se define en el presente documento pueden producirse mediante técnicas recombinantes bien conocidas en la materia.

La obtención de un polipéptido (por ejemplo, profilina) que se pueda usar en la presente invención puede implicar:

i) extraer un material vegetal que contenga profilina en una solución acuosa que tenga un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos; ii) explorar el extracto para determinar el contenido de un alérgeno distinto de la profilina y de una profilina; iii) identificar la profilina, opcionalmente, de modo que la profilina se aísle; y vi) producir, opcionalmente, el polipéptido o una variante del mismo mediante técnicas recombinantes, de modo que cuando el extracto contenga tanto un alérgeno distinto de la profilina como una profilina, dicha profilina se pueda seleccionar como el polipéptido para su uso de acuerdo con la presente invención y dicha profilina se pueda modificar además para la obtención de una de sus variantes.

Un procedimiento de obtención de un polipéptido (por ejemplo, una profilina), adecuado para su uso en el tratamiento a través de la tolerancia presencial a una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina comprende el aislamiento de un polipéptido inmunogénico de dicho material vegetal que contiene profilina o la producción recombinante de dicho polipéptido inmunogénico, en el que

dicho polipéptido inmunogénico se ha identificado en y, opcionalmente, aislado de un extracto preparado mediante la suspensión del material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos. Preferentemente, el extracto también contiene un alérgeno distinto de la profilina de dicho material vegetal que contiene profilina, es decir, un alérgeno distinto de la profilina extraído junto con el polipéptido inmunogénico.

Un polipéptido (por ejemplo, una profilina) adecuado para su uso en el tratamiento a través de la tolerancia presencial a una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina se puede obtener mediante el aislamiento de un polipéptido inmunogénico de dicho material vegetal que contiene profilina o la producción recombinante de dicho polipéptido inmunogénico, en el que

dicho polipéptido inmunogénico se ha identificado en y, opcionalmente, aislado de un extracto preparado mediante la suspensión del material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos. Preferentemente, el extracto también contiene un alérgeno distinto de la profilina de dicho material vegetal que contiene profilina, es decir, un alérgeno distinto de la profilina extraído junto con el polipéptido inmunogénico.

Es decir, un polipéptido de la invención (por ejemplo, una profilina) se puede extraer junto con un alérgeno distinto de la profilina del material vegetal que contiene profilina al extraer el material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos. Además, se hace hincapié en que el polipéptido de la invención (por ejemplo, una profilina) se puede obtener mediante un procedimiento que comprende aislar una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina o la producción recombinante de dicha profilina, en el que dicha profilina se ha identificado en un extracto preparado mediante la suspensión del material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos.

La extracción se puede llevar a cabo en condiciones que simulan las condiciones fisiológicas del órgano diana, tales como en las condiciones fisiológicas presentes en el fluido nasal. Por lo tanto, la solución de extracción es esencialmente una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 5,5 a 8,5, tal como en el intervalo de 6 a 8, preferentemente aproximadamente a pH 7, y la osmolalidad corresponde preferentemente a la de una solución de 0,90 % p/v de NaCl que tiene aproximadamente 300 mOsm/l. La temperatura de extracción está preferentemente en el intervalo de 20 °C a 400 °C. La solución acuosa comprende preferentemente al menos un 60 % de agua, tal como preferentemente al menos un 70, 75, 80, 85, 90 y 95 % de agua. Además, la solución acuosa puede contener líquidos miscibles en agua no acuosos, tales como alcanoles inferiores (por ejemplo, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono tales como etanol, propanol), arilalcanoles (por ejemplo, que tienen de 5 a 10 átomos de carbono en los anillos tal como alcohol bencílico), polioles (por ejemplo, que tienen de 2 a 6 átomos de carbono, tales como glicerol, propilenglicol o sorbitol), n-metilpirrolidona, polialquilenglicoles (por ejemplo, polietilenglicol, propilenglicol y similares), poliglicerina, triacetina, dimetilacetimida y sulfóxido de dimetilo.

Para controlar el pH, la solución acuosa se puede tamponar, tal como mediante la adición de un agente/sistema tampón como el ácido ascórbico, ácido cítrico, sistemas portadores de tampón de fosfato, TRIS (tris(hidroxiometil)aminometano), carbonato de amonio, y en el que el pH deseado se consigue opcionalmente mediante la adición de unas cuantas gotas de HCl o NaOH. Por lo tanto, la solución acuosa puede comprender un agente tampón, tal como ácido ascórbico, ácido cítrico, sistemas portadores de tampón de fosfato, TRIS, sistema tampón de carbonato de amonio/bicarbonato de amonio.

Para controlar la osmolalidad/fuerza iónica, se pueden añadir vehículos isotónicos a la solución acuosa, tal como para lograr una osmolalidad correspondiente a la de las condiciones fisiológicas del órgano diana. Por lo tanto, la solución acuosa puede comprender además un agente que proporciona osmolalidad, tal como ácido bórico, cloruro de sodio, cloruro de potasio, citrato de sodio, acetato de sodio y similares. Por lo general, la fuerza iónica está en el intervalo de 10 mM a 1.000 mM, tal como preferentemente en el intervalo de 20 a 800 mM, tal como de 20 mM a 500 mM, tal como de 50 mM a 500 mM, tal como de 20 mM a 400 mM, tal como de 50 mM a 400 mM, tal como de 20 mM a 300 mM, tal como de 50 mM a 300 mM. Más preferentemente, la fuerza iónica está en el intervalo de 150 a 180 mM, tal como de aproximadamente 160 a 170 mM. Preferentemente, la osmolalidad se encuentra en el intervalo de 50 a 600 mOsm/l, tal como en el intervalo de 50 a 500 mOsm/l, tal como en el intervalo de 100 a 400 mOsm/l, tal como aproximadamente 300 mOsm/l.

Además, la viscosidad puede ajustarse mediante la adición de agentes gelificantes tales como materiales de alquicelulosa (por ejemplo carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etc.), carbopol, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y miristato de isopropilo.

Un ejemplo típico de una solución acuosa tamponada es el tampón de PBS, que tiene un pH de 7,2 y una fuerza iónica ( $\mu$ ) de 165,8 mM ( $\approx 0,17$  M) y que consiste en cloruro de sodio (NaCl) en una cantidad de 8 g/l (137 mM), cloruro de potasio (KCl) en una cantidad de 0,2 g/l (2,7 mM), hidrogenofosfato de dinatrio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) en una cantidad de 1,44 g/l (8,2 mM), dihidrógeno fosfato de potasio en una cantidad de 0,2 g/l (1,5 mM), el pH resultante es 7,2 y la fuerza iónica total resultante ( $\mu$ ) es de 165,8 mM ( $\approx 0,17$  M).

Se considera probable que una profilina capaz de ser extraída junto con un alérgeno distinto de la profilina en un corto período de tiempo de extracción se pueda usar como el polipéptido de la invención, ya que esto indica que el polipéptido puede eluir junto con el alérgeno distinto de la profilina en el órgano diana. Dado que el material vegetal que contiene profilina solo puede residir brevemente en el epitelio/la mucosa del órgano diana en un corto período de tiempo antes de ser eliminado mediante procesos fisiológicos, se considera aún más predictivo aplicar un tiempo de extracción inferior a 30 minutos, tal como inferior a 20 minutos, más preferentemente inferior a 15, 10, 8, 7, 6, 5, 3 y 2 minutos. Por otra parte, la extracción puede llevarse a cabo a temperaturas en el intervalo de 15 a 45 °C, más preferentemente en el intervalo de 18 a 37 °C, tal como a una temperatura fisiológica o inferior, tal como a temperatura ambiente. Sin embargo, si hay problemas de estabilidad, la extracción puede llevarse a cabo a temperaturas más bajas, tales como inferiores a 100°C, tal como aproximadamente 3-5 °C.

Una vez completada la extracción, se explora el extracto para determinar el contenido de un alérgeno distinto de la profilina y una profilina mediante procedimientos bien conocidos en la técnica. Por lo general, se producen varios extractos que tienen diferentes duraciones del tiempo de extracción (por ejemplo, 2, 5, 10 y 20 minutos) o, como alternativa, se toman varias muestras de la misma solución de extracción en diferentes puntos (por ejemplo, 2, 5, 10 y 20 minutos), y esas muestras se someten a procedimientos inmunológicos como CIE (inmunolectroforesis cruzada), RIE (inmunolectroforesis Rocket), SDS-PAGE (electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio y poli(acrilamida)), ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) y/o EM (espectrometría de masas).

Además, la profilina se puede reconocer por su capacidad para unirse a la actina y/o PLP. Las profilinas inmunogénicas se pueden encontrar mediante la realización de un CIE con anticuerpos policlonales generados en conejos contra un extracto purificado del material vegetal que contiene profilina. Además, el CIE se puede realizar usando anticuerpos policlonales generados contra una profilina conocida mencionada en el presente documento, tal como Phl p 12 (SEQ ID NO: 1-10), para identificar polipéptidos inmunogénicos que reaccionen con anticuerpos específicos contra la profilina conocida y, por lo tanto, un polipéptido inmunogénico cualificado como un polipéptido con reactividad cruzada inmunológica contra la profilina conocida. Los alérgenos se pueden detectar mediante la

realización de un CIE con suero de un individuo alérgico/sensibilizado a un alérgeno distinto de la profilina de dicho material vegetal que contiene profilina. Las descripciones y los protocolos detallados de los procedimientos de CIE y otros procedimientos inmunológicos se pueden encontrar en el capítulo 13 (“Immuno-electrophoresis for the characterisation of allergen extracts”, autores Gitte Nordskov Hansen y Jørgen Nedergaard Larsen) del libro “Allergy Methods and Protocols” (*Methods in Molecular Medicine*) de Penny Lympny (2008); ISBN: 9780896038967.

Por lo tanto, un polipéptido de la invención es capaz de unirse a anticuerpos dirigidos contra una profilina seleccionada de profilina Cry j, Pho d 2, Ana c 1, Cyn d 12, Tri a 12, Mus a 1, Api g 4, Dau c 4, Amb a 8, Art v 4, Hel a 2, Ara t 8, Sin a 4, Ama r 2, Beta v 2, Che e 2, Sal k 4, Act d 9, Cuc m 2, Ara h 5, Gly m 3, Bet v 2, Cor a 2, Ole e 2, Hev b 8, Mer a 12, Pla a 3, Fra a 4, Mal d 4, Par j 3, Pru av 4, Pru du 4, Pru p 4, Pyr c 4, Cit s 2, Lit c 1, Cap a 2 y Lyc e 1, tal como generados contra un polipéptido que tiene la SEQ ID NO: 1 o, como alternativa, SEQ ID NO: 2-42. Los anticuerpos pueden ser policlonales o monoclonales y, normalmente, se generan en conejos.

Una vez identificada la profilina que se puede extraer junto con un alérgeno distinto de la profilina, tal como preferentemente un alérgeno principal que no sea profilina, la profilina puede caracterizarse además ya sea directamente en el mismo extracto o tras el aislamiento y, opcionalmente, la purificación de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica.

Por ejemplo, la profilina se puede aislar mediante el uso de poli-L-prolina, por ejemplo, una perla de cromatografía de afinidad de poli-L-Pro, tal como poli-L-prolina inmovilizada sobre perlas de agarosa o mediante otros procedimientos cromatográficos conocidos en la técnica, entre otros, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía de fase inversa, cromatografía de intercambio aniónico/catiónico o combinaciones de las mismas.

Una vez aislada la profilina, se puede analizar adicionalmente para dilucidar la secuencia de aminoácidos mediante procedimientos conocidos en la técnica, tales como la secuenciación de aminoácidos y/o mediante espectrometría de masas, opcionalmente, tras la digestión del polipéptido por enzimas proteolíticas tales como la tripsina.

Por último, una vez identificada la profilina de origen natural, la secuencia de aminoácidos puede modificarse para obtenerse una variante de la misma (una variante polipeptídica como se ha descrito anteriormente) tal como una variante de reemplazo de cisteína de la misma, y producirse la variante o la profilina precursora (natural) mediante técnicas recombinantes bien conocidas en la materia.

#### *Formulaciones*

Cuando el polipéptido presenta una mala estabilidad en los jugos gástricos, el polipéptido se administra preferentemente en una forma que evite el contacto con los jugos gástricos, tal como en una forma que impida la degradación del antígeno no relacionado en los jugos gástricos. Esto se puede realizar mediante la incorporación del antígeno no relacionado en formulaciones farmacéuticas resistentes a los jugos gástricos o mediante la incorporación de otras técnicas de administración farmacéutica capaz de evitar la degradación de proteínas en los jugos gástricos.

El polipéptido de la invención se puede formular junto con los ingredientes terapéuticamente inactivos y/o agentes inmunomodificadores como adyuvantes. Por lo general, la formulación es una forma de dosificación sólida, tal como un comprimido de disgregación rápida o un líquido que incluye una solución, una suspensión, una dispersión, un líquido gelificado. Como alternativa, la formulación es una emulsión, o un polvo, granulado o liofilizado resoluble, que se pueda disolver para formar un líquido antes de su administración.

Los excipientes para su uso en formulaciones son bien conocidos por el experto en la materia, e incluyen disolventes, emulsionantes, agentes humectantes, plastificantes, sustancias colorantes, cargas, conservantes, agentes de ajuste de la viscosidad, agentes tampón, agentes de ajuste del pH, agentes de ajuste de la isotonicidad, sustancias mucoadhesivas y similares. Los ejemplos de estrategias de formulación son bien conocidos por el experto en la materia.

El adyuvante puede ser cualquier adyuvante convencional, incluyendo sales de metales que contienen oxígeno, por ejemplo, hidróxido de aluminio, quitosano, enterotoxina lábil al calor (LT), toxina del cólera (CT), subunidad B de la toxina del cólera (CTB), liposomas polimerizados, toxinas mutantes, por ejemplo, LTK63 y LTR72, microcápsulas, interleucinas (por ejemplo, IL-1 BETA, IL-2, IL-7, IL-12, INFGAMMA), GM-CSF, derivados de MDF, oligonucleótidos CpG, LPS, MPL, fosfofacenos, Adju-Phos(R), glucano, formulación de antígeno, liposomas, DDE, DHEA, DMPC, DMPG, Complejo de DOC/Alum, adyuvante incompleto de Freund, ISCOM(R), adyuvante oral LT, dipéptido de muramilo, lípido A de monofosforilo, péptido de muramilo y fosfatidiletanolamina.

Las realizaciones de la invención, que se pueden combinar en cualquier orden, son:

- un polipéptido para su uso en el tratamiento de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido tiene/consiste en/consiste esencialmente en/comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, en el que, opcionalmente, la metionina no está presente en la secuencia de aminoácidos en el extremo N-terminal; y

- 5
  - en el que dicho polipéptido, como alternativa, tiene/consiste en/consiste esencialmente en/comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % (tal como al menos un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %) de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2-10;
- 10
  - en el que el polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % (tal como al menos un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %) de identidad con la secuencia de aminoácidos de la profilina del material vegetal que contiene profilina;
- 15
  - en el que el polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de una clase de plantas seleccionada del grupo que consiste en *Plantae Pinopsida*, *Plantae monocotiledoneae* y *Plantae Magnoliopsida* o es una variante de dicha profilina;
- 20
  - en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de una clase de plantas seleccionada del grupo que consiste en *Plantae Pinopsida*, *Plantae monocotiledoneae* y *Plantae Magnoliopsida*;
- 25
  - en el que el polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de un orden de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Pinales*, *Arecales*, *Asparagales*, *Poales*, *Zingiberales* *Apiales*, *Asterales*, *Brassicales*, *Curcubitales*, *Ericales*, *Fabales*, *Fagales*, *Gentianales*, *Lamiales*, *Laurales*, *Malvales*, *Malpighiales*, *Myrtales*, *Proteales*, *Rosales*, *Sapindales*, *Solanales* y *Vitales* o es una variante de dicha profilina;
- 30
  - en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de un orden de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Pinales*, *Arecales*, *Asparagales*, *Poales*, *Zingiberales*, *Apiales*, *Asterales*, *Brassicales*, *Curcubitales*, *Ericales*, *Fabales*, *Fagales*, *Gentianales*, *Lamiales*, *Laurales*, *Malvales*, *Malpighiales*, *Myrtales*, *Proteales*, *Rosales*, *Sapindales*, *Solanales* y *Vitales*;
- 35
  - en el que el polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de una familia de plantas seleccionada del grupo que consiste en *Cupressaceae*, *Arecaceae*, *Asparagaceae*, *Iridaceae*, *Bromeliaceae*, *Poaceae*, *Musaceae*, *Zingiberaceae*, *Apiaceae*, *Araliaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae*, *Polygonaceae*, *Cucurbitaceae*, *Actinidiaceae*, *Lecythidaceae*, *Theaceae*, *Fabaceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Juglandaceae*, *Myricaceae*, *Nothofagaceae*, *Ticodendraceae*, *Apocynaceae*, *Rubiaceae*, *Oleaceae*, *Pedaliaceae*, *Plantaginaceae*, *Lauraceae*, *Malvaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lythraceae*, *Platanaceae*, *Cannabaceae*, *Rosaceae*, *Ulmaceae*, *Urticaceae*, *Anacardiaceae*, *Rutaceae*, *Sapindaceae*, *Solanaceae* y *Vitaceae* o es una variante de dicha profilina;
- 40
  - en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de una familia de plantas seleccionada del grupo que consiste en *Cupressaceae*, *Arecaceae*, *Asparagaceae*, *Iridaceae*, *Bromeliaceae*, *Poaceae*, *Musaceae*, *Zingiberaceae*, *Apiaceae*, *Araliaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae*, *Polygonaceae*, *Cucurbitaceae*, *Actinidiaceae*, *Lecythidaceae*, *Theaceae*, *Fabaceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Juglandaceae*, *Myricaceae*, *Nothofagaceae*, *Ticodendraceae*, *Apocynaceae*, *Rubiaceae*, *Oleaceae*, *Pedaliaceae*, *Plantaginaceae*, *Lauraceae*, *Malvaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lythraceae*, *Platanaceae*, *Cannabaceae*, *Rosaceae*, *Ulmaceae*, *Urticaceae*, *Anacardiaceae*, *Rutaceae*, *Sapindaceae*, *Solanaceae* y *Vitaceae*;
- 45
  - en el que el polipéptido es una profilina de un material vegetal que contiene profilina de un género de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Phoenix*, *Asparagus*, *Crocus*, *Ananas*, *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Musa*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Arabidopsis*, *Brassica*, *Sinapis*, *Amaranthus*, *Beta*, *Chenopodium*, *Fagopyrum*, *Salsola*, *Cucumis*, *Actinidia*, *Bertholletia*, *Arachis*, *Glycine*, *Lens*, *Lupinus*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Vigna*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Carya*, *Castanea*, *Corylus*, *Fagus*, *Juglans*, *Ostrya*, *Quercus*, *Catharanthus*, *Coffea*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Olea*, *Plantago*, *Sesamum*, *Syringa*, *Persea*, *Gossypium*, *Hevea*, *Manihot*, *Mercurialis*, *Populus*, *Ricinus*, *Sonneratia*, *Platanus*, *Fragaria*, *Humulus*, *Malus*, *Morus*, *Parietaria*, *Prunus*, *Pyrus*, *Rubus*, *Ziziphus*, *Anacardium*, *Citrus*, *Litchi*, *Mangifera*, *Pistacia*, *Capsicum*, *Lycopersicon*, *Solanum* y *Vitis* o es una variante de dicha profilina;
- 50
  - en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de un género de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Phoenix*, *Asparagus*, *Crocus*, *Ananas*, *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Musa*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Arabidopsis*, *Brassica*, *Sinapis*, *Amaranthus*, *Beta*, *Chenopodium*, *Fagopyrum*, *Salsola*, *Cucumis*, *Actinidia*, *Bertholletia*, *Arachis*, *Glycine*, *Lens*, *Lupinus*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Vigna*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Carya*, *Castanea*, *Corylus*, *Fagus*,
- 60
  - en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de un género de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Phoenix*, *Asparagus*, *Crocus*, *Ananas*, *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Musa*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Arabidopsis*, *Brassica*, *Sinapis*, *Amaranthus*, *Beta*, *Chenopodium*, *Fagopyrum*, *Salsola*, *Cucumis*, *Actinidia*, *Bertholletia*, *Arachis*, *Glycine*, *Lens*, *Lupinus*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Vigna*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Carya*, *Castanea*, *Corylus*, *Fagus*,
- 65
  - en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina de un género de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Phoenix*, *Asparagus*, *Crocus*, *Ananas*, *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea*, *Musa*, *Apium*, *Daucus*, *Ambrosia*, *Artemisia*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Arabidopsis*, *Brassica*, *Sinapis*, *Amaranthus*, *Beta*, *Chenopodium*, *Fagopyrum*, *Salsola*, *Cucumis*, *Actinidia*, *Bertholletia*, *Arachis*, *Glycine*, *Lens*, *Lupinus*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Vigna*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Carya*, *Castanea*, *Corylus*, *Fagus*,

*Juglans, Ostrya, Quercus, Catharanthus, Coffea, Fraxinus, Ligustrum, Olea, Plantago, Sesamum, Syringa, Persea, Gossypium, Hevea, Manihot, Mercurialis, Populus, Ricinus, Sonneratia, Platanus, Fragaria, Humulus, Malus, Morus, Parietaria, Prunus, Pyrus, Rubus, Ziziphus, Anacardium, Citrus, Litchi, Mangifera, Pistacia, Capsicum, Lycopersicon, Solanum y Vitis*, en el que el polipéptido es una profilina que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1-42 o una variante de dicha profilina;

- 5
- en el que las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-42 no contienen metionina en la posición 1 del extremo N-terminal;
- 10
- en el que el polipéptido es una profilina seleccionada del grupo que consiste en profilina Cry j, Pho d 2, Ana c 1, Cyn d 12, Tri a 12, Mus a 1, Api g 4, Dau c 4, Amb a 8, Art v 4, Hel a 2, Ara t 8, Sin a 4, Ama r 2, Beta v 2, Che e 2, Sal k 4, Act d 9, Cuc m 2, Ara h 5, Gly m 3, Bet v 2, Cor a 2, Ole e 2, Hev b 8, Mer a 12, Pla a 3, Fra a 4, Mal d 4, Par j 3, Pru av 4, Pru du 4, Pru p 4, Pyr c 4, Cit s 2, Lit c 1, Cap a 2 y Lyc e 1 o una variante de dicha profilina;
- 15
- en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina seleccionado del grupo que consiste en Cha o 1, Cha o 2, Cry j 1, Cry j 2, Cup a 1, Cup s 1, Cup s 3, Jun a 1, Jun a 2, Jun a 3, Jun o 4, Jun s 1, Jun v 1, Jun v 3, Ana c 2, Ant o 1, Aspa o 1, Cro s 1, Cro s 2, Cyn d 1, Cyn d 7, Cyn d 15, Cyn d 22w, Cyn d 23, Cyn d 24, Dac g 1, Dac g 2, Dac g 3, Dac g 4, Dac g 5, Fes p 4, Hol l 1, Hol l 5, Hor v 1, Hor v 5, Hor v 12, Hor v 15, Hor v 16, Hor v 17, Hor v 21, Lol p 1, Lol p 2, Lol p 3, Lol p 4, Lol p 5, Lol p 11, Mus a 2, Mus a 3, Mus a 4, Mus a 5, Ory s 1, Ory s 12, Pas n 1, Pha a 1, Pha a 5, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 6, Phl p 7, Phl p 11, Phl p 13, Pho d 2, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sec c 20, Sor h 1, Tri a 14, Tri a 15, Tri a 18, Tri a 19, Tri a 21, Tri a 25, Tri a 26, Tri a 27, Tri a 28, Tri a 29, Tri a 30, Tri a 31, Tri a 32, Tri a 33, Tri a 34, Tri a 35, Tri a 36, Tri a 37, Zea m 1, Zea m 12, Zea m 14, Zea m 25, Act c 5, Act c 8, Act c 10, Act d 1, Act d 2, Act d 3, Act d 4, Act d 5, Act d 6, Act d 7, Act d 8, Act d 10, Act d 11, Aln g 1, Aln g 4, Amb a 1, Amb a 2, Amb a 3, Amb a 4, Amb a 5, Amb a 6, Amb a 7, Amb a 9, Amb a 10, Amb p 5, Amb t 5, Ana o 1, Ana o 2, Ana o 3, Api g 1, Api g 2, Api g 3, Api g 5, Api g 6, Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 4, Ara h 6, Ara h 7, Ara h 9, Ara h 10, Ara h 11, Art v 1, Art v 2, Art v 3, Art v 5, Art v 6, Ber e 1, Ber e 2, Beta v 1, Bet v 1, Bet v 3, Bet v 4, Bet v 6, Bet v 7, Bra j 1, Bra n 1, Bra o 3, Bra r 1, Bra r 2, Cap a lw, Car b 1, Car i 1, Car i 4, Cas s 1, Cas s 5, Cas s 8, Cas s 9, Cat r 1, Che a 1, Che a 3, Cit l 3, Cit r 3, Cit s 1, Cit s 3, Cof a 1, Cor a 1, Cor a 8, Cor a 9, Cor a 10, Cor a 11, Cor a 12, Cor a 13, Cor a 14, Cuc m 1, Cuc m 3, Dau c 1, Fag e 2, Fag t 2, Fag s 1, Fra a 1, Fra a 3, Fra e 1, Gly m 1, Gly m 2, Gly m 4, Gly m 5, Gly m 6, Hel a 1, Hel a 3, Hev b 1, Hev b 2, Hev b 3, Hev b 4, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 7, Hev b 9, Hev b 10, Hev b 11, Hev b 12, Hev b 13, Hev b 14, Hum j 1, Jug n 1, Jug n 2, Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3, Jug r 4, Lac s 1, Len c 1, Len c 2, Len c 3, Lig v 1, Lup an 1, Lyc e 2, Lyc e 3, Lyc e 4, Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3, Man e 5, Mer a 1, Mor n 3, Ole e 1, Ole e 3, Ole e 4, Ole e 5, Ole e 6, Ole e 7, Ole e 8, Ole e 9, Ole e 10, Ole e 11, Ost c 1, Par j 1, Par j 2, Par j 4, Par o 1, Pers a 1, Pha v 3, Pis v 1, Pis v 2, Pis v 3, Pis v 4, Pis v 5, Pis s 1, Pis s 2, Pla l 1, Pla a 1, Pla a 2, Pla or 1, Pla or 2, Pla or 3, Pru ar 1, Pru ar 3, Pru av 1, Pru av 2, Pru av 3, Pru d 3, Pru du 3, Pru du 5, Pru du 6, Pru p 1, Pru p 2, Pru p 3, Pyr c 1, Pyr c 3, Pyr c 5, Que a 1, Ric c 1, Rub i 1, Rub i 3, Sal k 1, Sal k 2, Sal k 3, Sal k 5, Ses i 1, Ses i 2, Ses i 3, Ses i 4, Ses i 5, Ses i 6, Ses i 7, Sin a 1, Sin a 2, Sin a 3, Sola t 1, Sola t 2, Sola t 3, Sola t 4, Syr v 1, Syr v 3, Vig r 1, Vit v 1 y Ziz m 1;
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- en el que la variante de profilina tiene inserciones, sustituciones, eliminaciones, duplicaciones, inserción-eliminación, cambios de fase, transversiones, truncamientos y/o inversiones en uno o más lugares en comparación con una profilina de origen natural de una cualquiera de las realizaciones precedentes;
- 45
- en el que la variante de profilina se hace a partir de dicha profilina de origen natural sometiendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 aminoácidos de la profilina de origen natural de una cualquiera de las realizaciones precedentes a sustitución, eliminación, duplicación, inserción-eliminación, cambio de fase, transversiones, truncamientos y/o inversiones;
- 50
- en el que la variante de profilina de una cualquiera de las realizaciones mencionadas en el presente documento tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % de identidad de secuencia, tal como al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1 o, como alternativa, SEQ ID NO: 2-42;
- 55
- en el que el polipéptido o la variante del mismo (variante de profilina) comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43;
- en el que el polipéptido o la variante del mismo (variante de profilina) comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 y tiene al menos un 60 % de identidad de secuencia, tal como al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1;
- 60
- en el que la variante es una variante de SEQ ID NO: 1-42 o cualquier otra profilina de origen natural mencionada en el presente documento, en la que se añaden o se eliminan 1 y hasta 25 aminoácidos en comparación con la secuencia de aminoácidos precursora de SEQ ID NO: 1-42 o dicha profilina de origen natural;
- 65

## ES 2 623 050 T3

- en el que la variante es una variante de SEQ ID NO: 1-42 o cualquier otra profilina de origen natural mencionada en el presente documento, en el que 1 y hasta 25 aminoácidos están sustituidos con otro aminoácido en comparación con la secuencia de aminoácidos precursora de SEQ ID NO: 1-42 o dicha profilina de origen natural;
- 5 • en el que la variante tiene al menos un 60 % de identidad de secuencia, tal como al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia, con la SEQ ID NO: 1, y comprende los aminoácidos correspondientes a K87 y G113 de SEQ ID NO: 1;
- 10 • en el que la variante tiene al menos un 60 % de identidad de secuencia, tal como al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia, con SEQ ID NO: 1, y comprende los aminoácidos que corresponden a W3, Y6, I25, G27, W33, A34, Y125 y L126 de SEQ ID NO: 1;
- 15 • en el que la variante polipeptídica tiene al menos un 60 % de identidad de secuencia, tal como al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia, con la SEQ ID NO: 1, y comprende los aminoácidos correspondientes a A23, A24, E46, G64, G69 y T97 de SEQ ID NO: 1;
- 20 • en el que la variante polipeptídica tiene al menos un 60 % de identidad de secuencia, tal como al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia, con la SEQ ID NO: 1, y comprende un aminoácido seleccionado entre A, G o S en una posición correspondiente a la posición 13 y/o 115 de SEQ ID NO: 1;
- 25 • en el que la variante polipeptídica tiene al menos un 60 % de identidad de secuencia, tal como al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia, con la SEQ ID NO: 1, y tiene todos los restos de cisteína del polipéptido precursor sustituidos con un aminoácido seleccionado entre A, G y/o S;
- en el que el polipéptido o la variante del mismo tiene una longitud de cadena de aminoácidos que varía entre 65 y 195 aminoácidos;
- 30 • en el que el número de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de la variante está en el intervalo del 50 % al 150 % en comparación con el número de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos precursora de SEQ ID NO: 1-42 o una profilina de origen natural mencionada en el presente documento;
- 35 • en el que el polipéptido o la variante del mismo se modifica por glicosilación, acetilación, alquilación, biotilación, glutamilación, glicilación, isoprenilación, lipoilación, fosfopanteteinilación, fosforilación, sulfatación, selenación, amidación C-terminal y derivatización de grupo tiol;
- en el que el polipéptido o la variante del mismo es un polipéptido inmunogénico;
- 40 • en el que el polipéptido o la variante del mismo se une a o forma complejos con la poli-L-prolina;
- en el que el polipéptido o la variante del mismo se une a o forma complejos con la actina;
- 45 • en el que el polipéptido o la variante del mismo no se une ni forma complejos con la actina humana;
- en el que el polipéptido se puede extraer junto con un alérgeno distinto de la profilina del material vegetal que contiene profilina al extraer el material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 durante un período que varía de 1 a 30 minutos;
- 50 • en el que el polipéptido se puede obtener mediante un procedimiento que comprende aislar una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina o producir de forma recombinante dicha profilina, en el que dicha profilina se ha identificado en un extracto fabricado mediante la suspensión del material vegetal que contiene profilina en una solución acuosa que tiene un pH en el intervalo de 6 a 8 para un período que varía de 1 a 30 minutos;
- 55 • en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad es una respuesta inmune de hipersensibilidad de tipo 1;
- en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad se selecciona del grupo que consiste en dermatitis atópica, urticaria, dermatitis de contacto, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, asma alérgica, anafilaxia y alergia alimentaria;
- 60 • en el que el polipéptido se administra en una mucosa o un epitelio seleccionado del grupo que consiste en una mucosa o un epitelio de las vías respiratorias, del tracto gastrointestinal y de la cavidad oral;
- 65 • en el que el polipéptido se administra por inhalación, administración nasal, administración bucal, administración oral, administración sublingual;

- en el que la primera dosis de dicho polipéptido se administra por inhalación, administración nasal, administración bucal, administración oral, administración sublingual;
- 5
- en el que el polipéptido se administra por inhalación, administración nasal, administración bucal, administración oral, administración sublingual en un período de tiempo suficiente para establecer la tolerancia oral a dicho polipéptido;
- 10
- en el que el polipéptido se administra además en el órgano diana sujeto a la exposición natural de un material vegetal que contiene profilina, en el que el órgano diana se selecciona del grupo que consiste en las vías respiratorias, el tracto gastrointestinal y la piel, en un período que coincida al menos en parte o en su totalidad con la exposición natural del individuo a dicho material vegetal que contiene profilina;
- 15
- en el que el polipéptido se administra por administración sublingual en un período de tiempo suficiente para establecer la tolerancia oral a dicho polipéptido y en el que el polipéptido o una variante del mismo se administra posteriormente en la cavidad nasal, en el tracto gastrointestinal y/o en la piel en un período de forma simultánea, de forma contemporánea, por separado o secuencialmente, en cualquier orden, con respecto al período de exposición al material vegetal que contiene profilina;
- 20
- en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad no está causada por una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina;
- 25
- en el que el individuo está, al menos no antes de administrar la primera dosis de dicho polipéptido, sensibilizado a una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina y/o dicho polipéptido;
  - en el que el individuo no está, al menos no antes de administrar la primera dosis de dicho polipéptido, sensibilizado a una profilina de dicho material vegetal que contiene profilina ni a dicho polipéptido;
- 30
- en el que el polipéptido o la profilina del material vegetal que contiene profilina no induce una respuesta inmune de hipersensibilidad en el individuo, al menos no antes de administrar la primera dosis de polipéptido;
- 35
- en el que el polipéptido o la profilina del material vegetal que contiene profilina no induce, al menos no antes de administrar la primera dosis de polipéptido, una reacción cutánea inmediata ni/o una reacción cutánea retardada en el individuo tras la realización de las pruebas cutáneas con diversas concentraciones de la profilina del material vegetal que contiene profilina y/o dicho polipéptido;
- 40
- en el que el polipéptido o la profilina del material vegetal que contiene profilina no induce, al menos no antes de administrar la primera dosis de polipéptido, la liberación de histamina en un ensayo *in vitro* de basófilos/mastocitos usando la sangre del individuo que se vaya a tratar;
  - en el que el individuo se ha expuesto a un material vegetal que contiene profilina antes de la administración de la primera dosis de dicho polipéptido;
- 45
- en el que el individuo no está sensibilizado a un alérgeno distinto de la profilina del material vegetal que contiene profilina, al menos no antes de la administración de la primera dosis de dicho polipéptido;
  - en el que el individuo no tiene anticuerpos IgE en suero detectables capaces de unirse a o asociarse de otro modo con un alérgeno distinto de la profilina del material que contiene profilina, al menos no antes de administrar la primera dosis de dicho polipéptido;
- 50
- en el que el individuo no tiene síntomas clínicos de una respuesta inmune de hipersensibilidad cuando se expone a un material vegetal que contiene profilina, al menos no antes de administrar la primera dosis de dicho polipéptido;
- 55
- en el que el polipéptido es el único polipéptido administrado;
  - en el que el polipéptido no se administra junto con un alérgeno distinto de la profilina.
- 60
- Un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, en el que 1 o 2 restos de cisteína están sustituidos con un aminoácido seleccionado de A (alanina), G (glicina) y S (serina).
  - Un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, en el que el aminoácido cisteína de la posición 13 y/o 115 se ha sustituido con un aminoácido seleccionado del grupo que comprende A, G y/o S.
- 65

- Un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 o 45, en el que, opcionalmente, la secuencia de aminoácidos no contiene metionina en la posición 1.
  - Un ácido nucleico aislado que codifica la proteína de SEQ ID NO: 44 o 45;
- 5 en el que el ácido nucleico aislado que tiene las SEQ ID NO: 46 o 47.

**Listado de tablas**

**Tabla 1**  
*Plantae Pinopsida*

Orden [Familia]	Género	Especies [nombre de profilina]
<i>Pinales [Cupressaceae y Pinaceae]</i>	<i>Chamaecyparis, Cryptomeria, Cupressus, Juniperus Picea Pinus</i>	<i>Chamaecyparis obtusa</i> (ciprés japonés), <i>Cryptomeria japonica</i> (cedro japonés [profilina Cry ]), <i>Cupressus arizonica</i> (ciprés), <i>Cupressus sempervirens</i> (ciprés común), <i>Juniperus ashei</i> (cedro de la montaña), <i>Juniperus oxycedrus</i> (enebro), <i>Juniperus sabinoides</i> (cedro de la montaña) y <i>Juniperus virginiana</i> (cedro rojo oriental), <i>Picea sitchencis</i> (pino), <i>Pinus sylvestris</i> (pino)

**Tabla 2**  
*Plantas Monocotyledoneae*

Orden [Familia]	Género	Especies [nombre de profilina]
<i>Arecales [Arecaceae]</i>	<i>Elais, Phoenix</i>	<i>Elais guineensis</i> (palmera); <i>Phoenix dactylifera</i> (palmera datilera) [ <i>Pho d 2</i> ]
<i>Asparagales [Asparagaceae e Iridaceae]</i>	<i>Asparagus Crocus</i>	<i>Asparagus officinalis</i> (espárrago) <i>Crocus sativus (Saffron crocus)</i> [ <i>Cro s 2</i> ]
<i>Poales [Bromeliaceae y Poaceae]</i>	<i>Ananas, Anthoxanthum, Cynodon, Dactylis, Festuca, Holcus, Hordeum, Lolium, Oryza, Paspalum,</i>	<i>Ananas comosus</i> (piña) [ <i>Ana c 1</i> ], <i>Anthoxanthum odoratum</i> (pasto vernal dulce), <i>Cynodon dactylon</i> (grama común) [ <i>Cyn d 12</i> ], <i>Dactylis glomerata</i> (pasto ovillo), <i>Festuca pratensis</i> (festuca de los prados), <i>Holcus lanatus</i> (saboya), <i>Hordeum vulgare</i> (cebada), <i>Lolium perenne</i> (rye-grass), <i>Oryza sativa</i> (arroz), <i>Paspalum notatum</i> (pasto Bahía), <i>Phalaris aquatica</i> (alpiste),
	<i>Phalaris, Phleum, Poa, Secale, Sorghum, Triticum, Zea</i>	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea) [ <i>Phl p 12</i> ], <i>Poa pratensis</i> (pasto azul de Kentucky), <i>Secale cereale</i> (rye), <i>Sorghum halepense</i> (hierba Johnson), <i>Triticum aestivum</i> (trigo) [ <i>Tri a 12</i> ], <i>Zea mays</i> (maíz)
<i>Zingiberales [Musaceae y Zingiberaceae]</i>	<i>Musa</i>	<i>Musa acuminata</i> (plátano) [ <i>Mus a 1</i> ], <i>Musa x paradisiaca</i> (plátano) [ <i>Mus xp 1</i> ].

10

**Tabla 3**  
*Plantae Magnoliopsida*

Orden [Familia]	Género	Especies [nombre de profilina]
Apiales [Apiaceae y [Araliaceae]	<i>Apium, Daucus</i>	<i>Apium graveolens</i> (apio) [Api g 4], <i>Daucus carota</i> (zanahoria) [Dau c 4], <i>Petroselinum crispum</i> (perejil)
Asterales [Asteraceae]	<i>Ambrosia, Artemisia Helianthus, Lactuca</i>	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (estafiate) [Amb a 8], <i>Ambrosia psilostachya</i> (ambrosia occidental), <i>Artemisia vulgaris</i> (artemisa) [Art v 4], <i>Ambrosia trifida</i> (ambrosia gigante), <i>Helianthus annuus</i> (girasol) [Hel a 2], <i>Lactuca sativa</i> (lechuga cultivada)
Brassicales [Brassicaceae, pueden incluir Cleomaceae y Caricaceae]	<i>Arabidopsis, Brassica, Sinapis</i>	<i>Arabidopsis Lyrata, Arabidopsis thaliana</i> [Ara t 8], <i>Brassica juncea</i> (mostaza castaña), <i>Brassica napus</i> (semilla de colza), <i>Brassica oleracea</i> (col y otras), <i>Brassica rapa</i> (nabo) y <i>Sinapis alba</i> (mostaza blanca) [Sin a 4]
Caryophyllales [Amaranthaceae, Caryophyllaceae y Polygonaceae]	<i>Amaranthus, Beta, Chenopodium, Fagopyrum Salsola</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i> (abredujo) [Ama r 2], <i>Beta vulgaris</i> (remolacha azucarera) [Beta v 2], <i>Chenopodium album</i> (cenizo) [Che e 2], <i>Fagopyrum esculentum</i> (trigo sarraceno común), <i>Fagopyrum tataricum</i> (trigo sarraceno tártaro), <i>Salsola kali</i> (cardo ruso) [Sal k 4]
Curcubitales [Cucurbitaceae]	<i>Cucumis</i>	<i>Cucumis melo</i> (melón) [Cuc m 2]
Order Ericales [Actinidiaceae, Lecythidaceae, y Theaceae]	<i>Actinidia, Betholletia</i>	<i>Actinidia chinensis</i> (kiwi dorado), <i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi) [Act d 9], <i>Bertholletia excelsa</i> (castaña)
Fabales [Fabaceae, Quillajaceae, Polygalaceae y Surianaceae]	<i>Arachis, Glycine, Lens, Lupinus, Phaseolus</i>	<i>Arachis hypogaea</i> (cacahuete) [Ara h 5] <i>Glycine max</i> (soja) [Gly m 3], <i>Lens culinaris</i> (lenteja), <i>Lupinus angustifolius</i> (altramuz azul de hoja estrecha), <i>Phaseolus vulgaris</i> (frijol verde, habichuela), <i>Pisum sativum</i> (guisante) <i>Vigna radiata</i> (frijol mungo)
Fagales [Betulaceae, Fagaceae, Juglandaceae, Myricaceae, Nothofagaceae y Ticodendraceae]	<i>Alnus, Betula, Carpinus, Carya, Castanea, Corylus, Fagus, Juglans, Ostrya Quercus</i>	<i>Alnus glutinosa</i> (aliso), <i>Betula verrucosa</i> (abedul) [Bet v 2], <i>Carpinus betulus</i> (carpe), <i>Carya illinoensis</i> (pacana), <i>Castanea sativa</i> (castaña), <i>Corylus avellana</i> (avellano) [Cor a 2], <i>Fagus sylvatica</i> (haya europea), <i>Juglans nigra</i> (nogal negro), <i>Juglans regia</i> (nogal inglés), <i>Ostrya carpinifolia</i> (carpe negro), <i>Quercus alba</i> (roble blanco)
Gentianales [Apocynaceae y Rubiaceae]	<i>Catharanthus, Coffea</i>	<i>Catharanthus roseus</i> (vinca de Madagascar), <i>Coffea arabica</i> (café arábigo)
Lamiales [Oleaceae, Pedaliaceae y Plantaginaceae]	<i>Fraxinus, Ligustrum, Olea, Plantago, Sesamum Syringa,</i>	<i>Fraxinus excelsior</i> (fresno común), <i>Ligustrum vulgare</i> (aligustre), <i>Olea europea</i> (olivo) [Ole e 2], <i>Plantago lanceolata</i> (llantén menor), <i>Sesamum indicum</i> (sésamo), <i>Syringa vulgaris</i> (lilo)
Lurales [Lauraceae]	<i>Persea</i>	<i>Persea americana</i> (aguacate)
Malvales [Malvaceae]	<i>Gossypium</i>	<i>Gossypium arboretum, Gossypium barbadense, Gossypium darwinii, Gossypium herbaceum, Gossypium hirsutum, Gossypium raimondii</i>
Malpighiales [Euphorbiaceae]	<i>Hevea, Manihot, Mercurialis, Populus, Ricinus</i>	<i>Hevea brasiliensis</i> (árbol del caucho (látex) [Hev b 8], <i>Manihot esculenta</i> (yuca, mandioca), <i>Mercurialis annua</i> (mercurial) [Mer a 1], <i>Populus trichocarpa</i> (álamo) <i>Ricinus communis</i> (ricino) <i>Sonneratia alba, Sonneratia caseolaris</i>
Myrtales [Lythraceae]	<i>Sonneratia</i>	<i>Platanus orientalis</i> (plátano oriental), <i>Platanus acerifolia</i> (acerifolia) [Pla a 3]
Proteales [Platanaceae]	<i>Platanus</i>	

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Orden [Familia]	Género	Especies [nombre de profilina]
Rosales [ <i>Cannabaceae</i> , <i>Rosaceae</i> , <i>Ulmaceae</i> y <i>Urticaceae</i> ]	<i>Fragaria</i> , <i>Humulus</i> , <i>Malus</i> , <i>Morus</i> , <i>Parietaria</i> , <i>Prunus</i> , <i>Pyrus</i> , <i>Rubus</i> , <i>Ziziphus</i>	<i>Fragaria ananassa</i> (fresa) [Fra a 4], <i>Humulus japonicus</i> (lúpulo japonés), <i>Malus domestica</i> (manzano) [Mal d 4], <i>Morus nigra</i> (morera), <i>Parietaria judaica</i> (pelosilla) [Par j 3], <i>Parietaria officinalis</i> (albahaca de culebra), <i>Prunus armeniaca</i> (albaricoquero), <i>Prunus avium</i> (cerezo dulce) [Pru av 4], <i>Prunus domestica</i> (ciruelo europeo), <i>Prunus dulcis</i> (almendro) [Pru du 4], <i>Prunus persica</i> (melocotenero) [Pru p 4], <i>Pyrus communis</i> (Pear) [Pyr c 4], <i>Rubus idaeus</i> (frambueso), <i>Ziziphus mauritiana</i> (dátil chino)
Sapindales [ <i>Anacardiaceae</i> , <i>Rutaceae</i> and <i>Sapindaceae</i> ]	<i>Anacardium</i> , <i>Citrus</i> , <i>Litchi</i> , <i>Mangifera</i> , <i>Pistacia</i>	<i>Anacardium occidentale</i> (anacardo), <i>Citrus limon</i> (limonero), <i>Citrus reticulata</i> (mandarino), <i>Citrus sinensis</i> (naranja dulce) [Cit s 2], <i>Litchi chinensis</i> (lichi) [Lit c 1], <i>Mangifera indica</i> , <i>Pistacia vera</i> (pistacho)
Solanales [ <i>Solanaceae</i> ]	<i>Capsicum</i> , <i>Lycopersicon</i> , <i>Solanum</i>	<i>Capsicum annuum</i> (chile) [Cap a 2], <i>Lycopersicon esculentum</i> (tomatera) [Lyc e 1], <i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco de Virginia), <i>Solanum tuberosum</i> (patata)
Orden Vitales, [ <i>Vitaceae</i> ]	<i>Vitis</i>	<i>Vitis vinifera</i> (uva)

Tabla 4

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
Q68HB4	PROF2_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	100,00 %	3,00E-72
F4Q4X7	PROF1_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	99,00 %	1,00E-71
F0ZIL9	PROF3_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	97,00 %	2,00E-70
B7SA43	A4KA31_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	96,00 %	1,00E-69
B6EF35	A4KA32_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	96,00 %	3,00E-70
A8IJA8	A4KA33_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	96,00 %	2,00E-70
Q5VMJ3	A4KA34_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	96,00 %	3,00E-70
P83647	A4KA36_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	96,00 %	7,00E-70
Q84WD4	A4KA37_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	96,00 %	1,00E-69
D0PRB5	A4KA38_PHLPR	<i>Phleum pratense</i> (hierba timotea)	96,00 %	2,00E-69
A4KA61	A4KA49_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	96,00 %	1,00E-69
A4KA54	A4KA50_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	96,00 %	6,00E-70
Q9M7M8	A4KA52_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	96,00 %	1,00E-69
Q2PQ57	A4KA53_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	96,00 %	6,00E-70
G9B5Q4	G9I6G4_9POAL	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> x <i>Secale cereale</i>	96,00 %	6,00E-70
Q9XF10	F2EK80_HORVD	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>distichum</i> (cebada de dos hileras)	95,00 %	8,00E-69
B4FTX3	A4GFC3_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	94,00 %	3,00E-67
P49233	A4KA43_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (Avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	94,00 %	2,00E-68
A1KXK1	A4KA51_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	94,00 %	2,00E-68
D6BRE6	A4GFC0_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	93,00 %	3,00E-67
022655	A4GFB8_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	90,00 %	3,00E-64
Q9SNW5	F2CT70_HORVD	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>distichum</i> (cebada de dos hileras)	90,00 %	6,00E-66
A4KA37	A2Z5Y9_ORYSI	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>indica</i> (arroz)	89,00 %	4,00E-65

ES 2 623 050 T3

(Continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
A4KA31	A3C3I5_ORYSJ	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>japonica</i> (arroz)	89,00 %	4,00E-65
F5HFQ1	PROFA_ORYSJ	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>japonica</i> (arroz)	89,00 %	4,00E-65
Q5EF31	C5XJ77_SORBI	<i>Sorghum bicolor</i> (Sorgo) ( <i>Sorghum vulgare</i> )	87,00 %	1,00E-64
Q9ST98	C5Z1D7_SORBI	<i>Sorghum bicolor</i> (Sorgo) ( <i>Sorghum vulgare</i> )	87,00 %	4,00E-65
A4GDU2	B4FCP0_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	86,00 %	7,00E-63
B0D663	Q6RG01_CAPAN	<i>Capsicum annuum</i> (chile)	86,00 %	2,00E-19
A8IJ92	A4KA58_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	85,00 %	2,00E-62
C6SVT2	A5HNY4_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	85,00 %	3,00E-62
Q93YI9	B6T699_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	85,00 %	7,00E-63
A1BQK7	PROF3_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	85,00 %	7,00E-63
A8IJA4	A4KA55_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	84,00 %	2,00E-62
A8IJA0	A4KA56_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	84,00 %	6,00E-62
P0C0Y3	A4KA59_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	84,00 %	4,00E-62
Q3BCT0	B6TEN9_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	84,00 %	7,00E-62
Q9XG85	F2E5Q1_HORVD	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>distichum</i> (cebada de dos hileras)	84,00 %	3,00E-62
Q9FE63	G7KQH7_MEDTR	<i>Medicago truncatula</i> (trébol barril) ( <i>Medicago tribuloides</i> )	84,00 %	2,00E-61
ABIJB6	A4KA54_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	83,00 %	5,00E-60
Q84V37	A4KA60_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	83,00 %	5,00E-61
P49231	A4KA61_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	83,00 %	5,00E-60
Q9XF40	B6T6Y5_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	83,00 %	6,00E-62
A4GCS1	E2GJB9_WHEAT	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	83,00 %	7,00E-62
G9B5Q0	G9I6G5_9POAL	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> x <i>Secale cereale</i>	83,00 %	3,00E-62
B3H795	PROF_CYNDA	<i>Cynodon dactylon</i> (grama común) ( <i>Panicum dactylon</i> )	83,00 %	1,00E-62
A8PUB8	PROF1_HORVU	<i>Hordeum vulgare</i> (cebada)	83,00 %	5,00E-61
Q29PL9	PROF1_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	83,00 %	5,00E-63
B4JC19	PROF2_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	83,00 %	6,00E-62
C5P4B7	Q38HU3_SOLTU	<i>Solanum tuberosum</i> (patata)	83,00 %	1,00E-61
B8RIF3	Q38M47_SOLTU	<i>Solanum tuberosum</i> (patata)	83,00 %	3,00E-62
A8IJ96	A4KA57_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	82,00 %	5,00E-61
A4GFC4	A4ZX86_BRACM	<i>Brassica campestris</i> (nabo silvestre)	82,00 %	3,00E-61
D3K177	A5H0M3_NICBE	<i>Nicotiana benthamiana</i>	82,00 %	1,00E-46
Q41344	A8IJ88_RAPSA	<i>Raphanus sativus</i> (rábano)	82,00 %	2,00E-61
081982	A8IJB2_BRAJU	<i>Brassica juncea</i> var. <i>Multiceps</i>	82,00 %	2,00E-61
A4GD57	C0PNL3_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	82,00 %	4,00E-62
A9XNJ7	PROF_HELAN	<i>Helianthus annuus</i> (girasol común)	82,00 %	3,00E-59

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
A9XNJ5	PROF_MERAN	<i>Mercurialis annua</i> (mercurial)	82,00 %	1,00E-61
Q4Q5N1	Q9SMC0_TOBAC	<i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco de Virginia)	82,00 %	1,00E-60
024650	A0MEN1_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	81,00 %	1,00E-61
A4KA32	A1KXK0_ELAGV	<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>tenera</i> (palma aceitera)	81,00 %	9,00E-60
G9I6G4	A1KXK1_ELAGV	<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>tenera</i> (palma aceitera)	81,00 %	5,00E-60
Q8L5D8	A4KA44_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	81,00 %	8,00E-59
A5A5J9	B7FGT8_MEDTR	<i>Medicago truncatula</i> (trébol barril) ( <i>Medicago tribuloides</i> )	81,00 %	1,00E-59
024171	C5Z4B6_SORBI	<i>Sorghum bicolor</i> (sorgo) ( <i>Sorghum vulgare</i> )	81,00 %	5,00E-59
A4GDS0	DOPRB5_WHEAT	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	81,00 %	3,00E-60
G7L7E2	PROF_BRANA	<i>Brassica napus</i> (colza)	81,00 %	2,00E-60
B4NZS9	PROF1_SOLLC	<i>Solanum lycopersicum</i> (tomatera) ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	81,00 %	3,00E-59
B4I1N3	PROF1_TOBAC	<i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco de Virginia)	81,00 %	2,00E-59
C3YHE9	PROF3_AMBAR	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (estafiate)	81,00 %	2,00E-59
Q94KS3	PROF3_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	81,00 %	1,00E-60
C1BUS4	PROF3_HEVBR	<i>Hevea brasiliensis</i> (árbol del caucho) ( <i>Siphonia brasiliensis</i> )	81,00 %	1,00E-62
A5J297	PROF4_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	81,00 %	1,00E-61
D3BLB6	Q1PF40_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	81,00 %	1,00E-61
F8QBC0	Q29PU0_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	81,00 %	1,00E-60
A4KA34	A1KXJ9_ELAGV	<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>tenera</i> (palma aceitera)	80,00 %	6,00E-59
B6T699	A4GDQ6_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	80,00 %	8,00E-59
Q38M47	A4GDR8_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	80,00 %	5,00E-59
A9PHX4	A4GFC4_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	80,00 %	9,00E-60
B7E355	A4KA39_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	80,00 %	2,00E-58
P49232	A4KA40_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	80,00 %	2,00E-58
B6T7X9	A4KA45_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	80,00 %	6,00E-59
Q9AXH4	A8IJ92_BRAOC	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> (col)	80,00 %	7,00E-60
Q5EEP6	A8IJ96_BRARA	<i>Brassica rapa</i> (nabo)	80,00 %	7,00E-60
G7L7D9	A8IJA0_BRAOA	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>alboglabra</i> (brécol chino) ( <i>Brassica alboglabra</i> )	80,00 %	7,00E-60
B4FV68	A8IJA8_BRARC	<i>Brassica rapa</i> var. <i>Purpuraria</i>	80,00 %	2,00E-60
Q64LH2	A8IJB6_BRANA	<i>Brassica napus</i> (colza)	80,00 %	7,00E-60
Q5EEP8	A9XNJ4_9MYRT	<i>Sonneratia alba</i>	80,00 %	1,00E-26

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
A4KA44	A9XNJ5_9MYRT	<i>Sonneratia caseolaris</i>	80,00 %	1,00E-26
A4GDQ6	A9XNJ6_9MYRT	<i>Sonneratia ovate</i>	80,00 %	1,00E-26
Q9M7M9	A9XNJ7_9MYRT	<i>Sonneratia apetala</i>	80,00 %	1,00E-26
A4GDQ9	B4FTX3_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	80,00 %	2,00E-60
A4GDR7	B6EF35_WHEAT	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	80,00 %	2,00E-60
Q5EEP7	B6T7X9_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	80,00 %	5,00E-60
C9E9Z7	B7E355_ORYSJ	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>japonica</i> (arroz)	80,00 %	3,00E-60
A4GE44	B7SA43_BRANI	<i>Brassica nigra</i> (mostaza negra) ( <i>Sinapis nigra</i> )	80,00 %	2,00E-60
A4GE47	C3W2Q7_AMARE	<i>Amaranthus retroflexus</i> (amaranto) (abredujo)	80,00 %	9,00E-58
A4GDT9	D7L6H0_ARALL	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i> (berro de hoja en forma de lira)	80,00 %	3,00E-61
A4GCR5	D7MCM9_ARALL	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i> (berro de hoja en forma de lira)	80,00 %	2,00E-60
G9B5S5	PROF_CHEAL	<i>Chenopodium album</i> (cenizo)	80,00 %	9,00E-60
A9XNJ6	PROF_LITCN	<i>Litchi chinensis</i> (lichi)	80,00 %	5,00E-60
P25843	PROF1_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	80,00 %	1,00E-58
E2APZ9	PROF1_WHEAT	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	80,00 %	4,00E-60
B4MUZ7	PROF2_AMBAR	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (estafiate)	80,00 %	3,00E-59
F4PC86	PROF2_SOLLC	<i>Solanum lycopersicum</i> (tomatera) ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	80,00 %	6,00E-59
Q6QEJ7	PROF2_TOBAC	<i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco de Virginia)	80,00 %	1,00E-58
E9H2U7	PROF2_WHEAT	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	80,00 %	5,00E-60
E7A2J9	PROF4_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	80,00 %	2,00E-60
P68696	PROFX_ORYSI	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>indica</i> (arroz)	80,00 %	3,00E-60
D3B642	PROFX_ORYSJ	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>japonica</i> (arroz)	80,00 %	3,00E-60
Q013H6	Q2LD52_CINCA	<i>Cinnamomum camphora</i> (alcanforero) ( <i>Laurus camphora</i> )	80,00 %	1,00E-60
HOEVP8	Q2PQ57_LITCN	<i>Litchi chinensis</i> (lichi)	80,00 %	7,00E-60
B9W8I5	Q84WD4_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	80,00 %	3,00E-60
C3Z897	Q8L5D8_PHODC	<i>Phoenix dactylifera</i> (palmera datilera)	80,00 %	5,00E-60
A3LQH2	Q8VWR0_SOLLC	<i>Solanum lycopersicum</i> (tomatera) ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	80,00 %	2,00E-59
G2Q4F1	Q9ZTM2_PETHY	<i>Petunia hybrida</i> (petunia)	80,00 %	2,00E-53
F2EK80	A4GCR3_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	7,00E-58
A4KA43	A4GCR6_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	1,00E-57
C5Z1D7	A4GD52_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-58
A3C3I5	A4GD53_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	7,00E-58
A2Z5Y9	A4GD54_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	4,00E-58

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
P35081	A4GD57_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	7,00E-58
B4FCP0	A4GDQ8_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	1,00E-57
Q9M7N0	A4GDQ9_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-58
A4KA55	A4GDR4_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	1,00E-57
A5HNY4	A4GDR7_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	3,00E-58
C0PNL3	A4GDSO_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-57
A4KA59	A4GDS6_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	3,00E-58
P35082	A4GDS7_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	5,00E-58
B6T6Y5	A4GDS9_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	3,00E-57
E2GJB9	A4GDT1_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-58
A0MEN1	A4GDU2_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-58
ABIJB2	A4GDU5_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	1,00E-57
P52184	A4GE42_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	1,00E-57
A4KA60	A4GE44_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	4,00E-58
Q38904	A4GE47_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	1,00E-57
Q2LD52	A4GE50_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	3,00E-58
Q29PU0	A4GE53_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	3,00E-58
A5ASF9	A4GE54_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	1,00E-57
Q9SNW7	A4GE55_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-58
Q9FUB8	A4GFB7_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	6,00E-59
B9RKF5	A4GFC2_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-60
D7MCM9	A4K9Z8_BETPN	<i>Betula pendula</i> (abedul europeo) ( <i>Betula verrucosa</i> )	79,00 %	1,00E-58
Q941H7	A4KA41_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	79,00 %	2,00E-59
A1KXK0	A5A5J7_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	2,00E-57
B7FGT8	A5A5J9_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	4,00E-58
B6CQV0	A5AQ89_VITVI	<i>Vitis vinifera</i> (uva)	79,00 %	2,00E-58
Q64LH0	A5ASF9_VITVI	<i>Vitis vinifera</i> (uva)	79,00 %	1,00E-60
P41372	A5BLM8_VITVI	<i>Vitis vinifera</i> (uva)	79,00 %	2,00E-58
B9RKF4	A8IJA4_BRARP	<i>Brassica rapa subsp. pekinensis</i> (col china) ( <i>Brassica pekinensis</i> )	79,00 %	7,00E-60
A4KA45	A9PHX4_POPTR	<i>Populus trichocarpa</i> (álamo) ( <i>Populus balsamifera subsp. trichocarpa</i> )	79,00 %	2,00E-60
P49234	A9XNJ8_9MYRT	<i>Sonneratia alba</i>	79,00 %	2,00E-25
Q9ST99	A9XNJ9_9MYRT	<i>Sonneratia caseolaris</i>	79,00 %	1,00E-25
A4K9Z8	A9XNK0_9MYRT	<i>Sonneratia ovata</i>	79,00 %	1,00E-25
Q5FX67	B9RKF5_RICCO	<i>Ricinus communis</i> (ricino)	79,00 %	2,00E-60
A9P8K3	C6SVT2_SOYBN	<i>Glycine max</i> (soja) ( <i>Glycine hispida</i> )	79,00 %	2,00E-59
A4GDT5	D3K177_ARAHY	<i>Arachis hypogaea</i> (cacahuete)	79,00 %	2,00E-59

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
A4GE48	D6BRE6_9ROSI	<i>Jatropha curcas</i>	79,00 %	2,00E-60
A4GDU3	E4MXD3_THEHA	<i>Thellungiella halophila</i> (berro de agua salada)	79,00 %	5,00E-58
Q8H2C7	G7L7D9_MEDTR	<i>Medicago truncatula</i> (trébol barril) ( <i>Medicago tribuloides</i> )	79,00 %	3,00E-59
Q8H123	G7L7E2_MEDTR	<i>Medicago truncatula</i> (trébol barril) ( <i>Medicago tribuloides</i> )	79,00 %	6,00E-35
G9B5S6	PROF_CAPAN	<i>Capsicum annuum</i> (chile)	79,00 %	4,00E-58
Q3LVF0	PROF_FRAAN	<i>Fragaria ananassa</i> (fresón)	79,00 %	9,00E-60
P26199	PROF1_AMBAR	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (estafiate)	79,00 %	2,00E-58
E0VF14	PROF1_LILLO	<i>Lilium longiflorum</i> (azucena blanca)	79,00 %	1,00E-60
B3N5A1	PROF1_PHAVU	<i>Phaseolus vulgaris</i> (frijol verde) (habichuela)	79,00 %	9,00E-60
Q3YMV5	PROF1_RICCO	<i>Ricinus communis</i> (ricino)	79,00 %	2,00E-60
D3B3P0	PROF2_HEVBR	<i>Hevea brasiliensis</i> (árbol del caucho) ( <i>Siphonia brasiliensis</i> )	79,00 %	2,00E-59
D3TQD6	PROF2_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	79,00 %	7,00E-58
P26200	PROF3_TOBAC	<i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco de Virginia)	79,00 %	2,00E-57
E9C081	PROF3_WHEAT	<i>Triticum aestivum</i> (trigo)	79,00 %	1,00E-58
C5MCP8	Q2KN24_AMBAR	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (estafiate)	79,00 %	6,00E-57
A4KA51	A4GCR5_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	3,00E-57
A4GFC3	A4GCR7_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-57
A4GFC0	A4GCR8_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-57
F2CT70	A4GCS1_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	6,00E-57
C5XJ77	A4GD55_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	6,00E-57
A4GFB8	A4GD56_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	3,00E-57
004725	A4GDR1_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-57
F2E5Q1	A4GDR6_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	4,00E-57
G9I6G5	A4GDR9_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-57
A4KA56	A4GDT0_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	9,00E-58
B6TEN9	A4GDT3_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	6,00E-57
049894	A4GDT5_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-57
Q38905	A4GDT9_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	3,00E-57
Q1PF40	A4GDU0_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	6,00E-57
A8IJ88	A4GDU6_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	6,00E-57
D7L6H0	A4GE38_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	9,00E-58
A4ZX86	A4GE39_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	1,00E-57
A4KA57	A4GE45_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-57

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
Q9SMC0	A4GE48_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	3,00E-57
082572	A4GFB9_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-59
Q9LEI8	A7XZJ9_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	8,00E-56
Q9XF38	A9P7F0_GOSHI	<i>Gossypium hirsutum</i> (algodonero de tierras altas) ( <i>Gossypium mexicanum</i> )	78,00 %	2,00E-58
Q3BCS8	A9PBI2_POPTR	<i>Populus trichocarpa</i> (álamo) ( <i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> )	78,00 %	2,00E-59
Q9XF41	B0B0M7_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	78,00 %	9,00E-60
A4GD52	B4FV68_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	78,00 %	3,00E-59
A4GDS6	B6CQV0_9ROSA	<i>Prunus dulcis</i> x <i>Prunus persica</i>	78,00 %	1,00E-59
Q5EEP5	B7VFP6_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	78,00 %	2,00E-48
A4GDS7	B9RKF4_RICCO	<i>Ricinus communis</i> (ricino)	78,00 %	3,00E-59
024170	B9RQD3_RICCO	<i>Ricinus communis</i> (ricino)	78,00 %	1,00E-58
A5A5J7	C9E9Z7_9MAGN	<i>Akebia trifoliata</i>	78,00 %	4,00E-58
A4GCR7	D3U1G2_GOSRA	<i>Gossypium raimondii</i> (algodonero del nuevo mundo)	78,00 %	2,00E-58
Q27HX6	D3U1G3_GOSAR	<i>Gossypium arboreum</i> (algodonero arbóreo) ( <i>Gossypium nanking</i> )	78,00 %	2,00E-58
B6CQU8	E6Y2MO_SINAL	<i>Sinapis alba</i> (mostaza blanca) ( <i>Brassica hirta</i> )	78,00 %	6,00E-57
D7MCM8	F4YF99_CAMSI	<i>Camellia sinensis</i> (planta del té)	78,00 %	5,00E-58
G9B5S9	PROF_BETPN	<i>Betula pendula</i> (abedul europeo) ( <i>Betula verrucosa</i> )	78,00 %	1,00E-57
A9UR87	PROF1_HEVBR	<i>Hevea brasiliensis</i> (árbol del caucho) ( <i>Siphonia brasiliensis</i> )	78,00 %	7,00E-58
B4KGG2	PROF2_LILLO	<i>Lilium longiflorum</i> (azucena blanca)	78,00 %	2,00E-57
F8QWX6	PROF3_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	78,00 %	2,00E-57
B3RIX1	PROF5_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	78,00 %	3,00E-59
B8RIF9	QOPPS3_SOYBN	<i>Glycine max</i> (soja) ( <i>Glycine hispida</i> )	78,00 %	2,00E-58
F8P9Y4	Q2KN23_AMBAR	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (estafiate)	78,00 %	4,00E-56
E9D690	Q2XPH2_MANIN	<i>Mangifera indica</i> (mango)	78,00 %	5,00E-58
G0N7P8	Q5EEP5_PETCR	<i>Petroselinum crispum</i> (perejil) ( <i>Petroselinum hortense</i> )	78,00 %	5,00E-58
F9X7B2	Q5EEP7_PETCR	<i>Petroselinum crispum</i> (perejil) ( <i>Petroselinum hortense</i> )	78,00 %	4,00E-58
C7Z4J3	Q5XXQ5_ARAHY	<i>Arachis hypogaea</i> (cacahuete)	78,00 %	2,00E-55
F0ZJC6	Q64LH3_HUMSC	<i>Humulus scandens</i> (lúpulo japonés) ( <i>Humulopsis scandens</i> )	78,00 %	1,00E-60
Q9FUD1	A4GD50_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	77,00 %	4,00E-57
P35083	A4GD58_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	77,00 %	2,00E-56

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
A4KA58	A4GDR3_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	77,00 %	2,00E-56
Q38HU3	A4GDT4_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	77,00 %	2,00E-56
G7KQH7	A4GDU3_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	77,00 %	7,00E-57
Q64LH3	A4GE49_OLEEU	<i>Olea europaea</i> (olivo común)	77,00 %	3,00E-56
A4GFB9	A7XZJ7_SOYBN	<i>Glycine max</i> (soja) ( <i>Glycine hispida</i> )	77,00 %	2,00E-58
Q84RR7	A8VT60_AMAVI	<i>Amaranthus viridis</i> (amaranto verde)	77,00 %	2,00E-57
Q9AXH5	A9P8N4_POPTR	<i>Populus trichocarpa</i> (álamo) ( <i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> )	77,00 %	4,00E-57
024169	B0B0N5_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	2,00E-57
B9RQD3	B0B0N6_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	1,00E-56
A4GE53	B6CAT2_GERHY	<i>Gerbera hybrida</i> (margarita)	77,00 %	5,00E-58
A4GD54	B7VFP4_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	5,00E-58
Q84RR5	C6JT04_9MYRT	<i>Sonneratia alba</i>	77,00 %	1,00E-29
A4GE45	D3GC01_9ROSI	<i>Jatropha curcas</i>	77,00 %	2,00E-58
A4GDS9	D7L6H1_ARALL	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i> (berro de hoja en forma de lira)	77,00 %	3,00E-54
E6Y2M0	E0XJL2_GOSHI	<i>Gossypium hirsutum</i> (algodonero de tierras altas) ( <i>Gossypium mexicanum</i> )	77,00 %	4,00E-58
G9B5V1	G9B5U3_GOSRA	<i>Gossypium raimondii</i> (algodonero del nuevo mundo)	77,00 %	5,00E-37
G9B5U3	G9B5U8_GOSAR	<i>Gossypium arboreum</i> (algodonero arbóreo) ( <i>Gossypium nanking</i> )	77,00 %	5,00E-37
G9B617	G9B5U9_GOSHE	<i>Gossypium herbaceum</i> (algodonero herbáceo) (algodonero árabe)	77,00 %	5,00E-37
G9B615	G9B5V0_GOSHE	<i>Gossypium herbaceum</i> subsp. <i>africanum</i>	77,00 %	5,00E-37
G9B613	G9B5V1_GOSBA	<i>Gossypium barbadense</i> (algodonero de islas marinas) (algodonero egipcio)	77,00 %	5,00E-37
G9B612	G9B5V2_GOSDA	<i>Gossypium darwinii</i> (algodonero de Darwin)	77,00 %	5,00E-37
G9B611	G9B5V4_GOSHI	<i>Gossypium hirsutum</i> (algodonero de tierras altas) ( <i>Gossypium mexicanum</i> )	77,00 %	5,00E-37
G9B5P7	PROF_ANACO	<i>Ananas comosus</i> (piña) ( <i>Ananas ananas</i> )	77,00 %	7,00E-58
E1ZQQ4	PROF_CROSA	<i>Crocus sativus</i> (azafrán)	77,00 %	2,00E-57
C0Z2Z0	PROF_CUCME	<i>Cucumis melo</i> (melón)	77,00 %	7,00E-58
A9XNJ9	PROF_PRUPE	<i>Prunus persica</i> (melocotonero) ( <i>Amygdalus persica</i> )	77,00 %	5,00E-59
A9XNJ8	PROF_PYRCO	<i>Pyrus communis</i> (peral) ( <i>Pyrus domestica</i> )	77,00 %	6,00E-59
D8U668	PROF1_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	77,00 %	9,00E-55
A1YQX7	PROF1_ARTVU	<i>Artemisia vulgaris</i> (artemisa)	77,00 %	7,00E-55
C1BP76	PROF1_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	4,00E-58
B4LR73	PROF1_SOYBN	<i>Glycine max</i> (soja) ( <i>Glycine hispida</i> )	77,00 %	3,00E-58
D5ABJ3	PROF2_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	1,00E-58

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
D3TKT4	PROF2_PARJU	<i>Parietaria judaica</i> (pelosilla) ( <i>Parietaria diffusa</i> )	77,00 %	4,00E-55
Q8T938	PROF2_SOYBN	<i>Glycine max</i> (soja) ( <i>Glycine hispida</i> )	77,00 %	5,00E-58
C1DYP0	PROF3_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	2,00E-57
Q95VF7	PROF4_HEVBR	<i>Hevea brasiliensis</i> (árbol del caucho) ( <i>Siphonia brasiliensis</i> )	77,00 %	1,00E-58
B3MMQ1	PROF5_HEVBR	<i>Hevea brasiliensis</i> (árbol del caucho) ( <i>Siphonia brasiliensis</i> )	77,00 %	7,00E-60
F4RL03	Q27HX6_MANIN	<i>Mangifera indica</i> (mango)	77,00 %	3,00E-57
D2D5E4	Q3BCS2_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	2,00E-57
B2ZRT3	Q3BCS4_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	5,00E-59
B4G6L5	Q3BCS6_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	3,00E-59
A7XZK1	Q3BCS8_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	6,00E-59
F1LBX8	Q3BCT0_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	4,00E-58
Q6CPT8	Q5XWE1_CITLA	<i>Citrullus lanatus</i> (sandía) ( <i>Citrullus vulgaris</i> )	77,00 %	8,00E-59
E4V5P8	Q84MM5_CUCMN	<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i> (melón) ( <i>Cucumis melo</i> var. <i>reticulatus</i> )	77,00 %	2,00E-58
A5DT33	Q84RR5_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	2,00E-57
B8RIF7	Q84RR6_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	2,00E-58
G8BA18	Q84RR7_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	77,00 %	5,00E-59
C5FGJ6	Q9AXH4_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	77,00 %	3,00E-59
Q86RQ5	Q9AXH5_CORAV	<i>Corylus avellana</i> (avellano europeo) ( <i>Corylus maxima</i> )	77,00 %	6,00E-59
A4KA36	A1Z292_COCNU	<i>Cocos nucifera</i> (coco)	76,00 %	2,00E-57
A4KA49	A1Z294_CARMI	<i>Caryota mitis</i> (palmera de cola de pez)	76,00 %	3,00E-57
A7XZJ7	B3TLV2_ELAGV	<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>tenera</i> (palma aceitera)	76,00 %	3,00E-57
Q2XPH2	B8BG75_ORYSI	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>indica</i> (arroz)	76,00 %	9,00E-52
B0B0N5	C6JWH0_SALKA	<i>Salsola kali</i> (cardo ruso)	76,00 %	3,00E-55
A4GD56	D7MCM8_ARALL	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i> (berro de hoja en forma de lira)	76,00 %	4,00E-55
A1Z294	D7MLU1_ARALL	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i> (berro de hoja en forma de lira)	76,00 %	7,00E-55
A9P8N4	D7TBE7_VITVI	<i>Vitis vinifera</i> (uva)	76,00 %	7,00E-57
A7XZJ9	F2EGC6 HORVD	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>distichum</i> (cebada de dos hileras)	76,00 %	1,00E-56
G9B603	PROF_APIGR	<i>Apium graveolens</i> (apio)	76,00 %	2,00E-58
G9B5Z9	PROF_ARAHY	<i>Arachis hypogaea</i> (cacahuete)	76,00 %	9,00E-57
C6JT04	PROF_DAUCA	<i>Daucus carota</i> (zanahoria)	76,00 %	8,00E-59
A9XNJ4	PROF_MUSAC	<i>Musa acuminata</i> (plátano) ( <i>Musa cavendishii</i> )	76,00 %	2,00E-55
B8RIF1	PROF1_PARJU	<i>Parietaria judaica</i> (pelosilla) ( <i>Parietaria diffusa</i> )	76,00 %	5,00E-56
P19984	PROF3_LILLO	<i>Lilium longiflorum</i> (azucena blanca)	76,00 %	5,00E-56

ES 2 623 050 T3

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
Q5KNQ6	PROF6_HEVBR	<i>Hevea brasiliensis</i> (árbol del caucho) ( <i>Siphonia brasiliensis</i> )	76,00 %	3,00E-59
D2DSN5	Q5EEP6_PETCR	<i>Petroselinum crispum</i> (perejil) ( <i>Petroselinum hortense</i> )	76,00 %	3,00E-59
E9E950	Q5EEP8_PETCR	<i>Petroselinum crispum</i> (perejil)	76,00 %	8,00E-59
		( <i>Petroselinum hortense</i> )		
P53696	Q7E369_CUCMN	<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i> (melón) ( <i>Cucumis melo</i> var. <i>reticulatus</i> )	76,00 %	1,00E-57
A4HK30	Q9XF10_9ASPA	Variedad cultivada híbrida <i>Phalaenopsis</i>	76,00 %	2,00E-55
P35079	A1BQK7_CUCSA	<i>Cucumis sativus</i> (pepino)	75,00 %	5,00E-18
A4KA52	A1Z293_ROYRE	<i>Roystonea regia</i> (palmera real)	75,00 %	3,00E-56
A4GE50	B6CQU8_9ROSA	<i>Prunus dulcis</i> x <i>Prunus persica</i>	75,00 %	9,00E-57
A4GCR3	C0Z3G0_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	75,00 %	9,00E-55
A9XNK0	PROF_PRUDU	<i>Prunus dulcis</i> (almendro) ( <i>Prunus amygdalus</i> )	75,00 %	9,00E-57
B0W2U6	PROF2_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	75,00 %	9,00E-55
Q6RG01	PROF2_ARTVU	<i>Artemisia vulgaris</i> (artemisa)	75,00 %	1,00E-53
P39825	Q5EEP4_PETCR	<i>Petroselinum crispum</i> (perejil) ( <i>Petroselinum hortense</i> )	75,00 %	5,00E-55
E7D158	Q64LH4_HUMSC	<i>Humulus scandens</i> (lúpulo japonés) ( <i>Humulopsis scandens</i> )	75,00 %	2,00E-57
A7S5R6	Q8GT40_PRUPE	<i>Prunus persica</i> (melocotenero) ( <i>Amygdalus persica</i> )	75,00 %	7,00E-57
Q93YG7	A9P8K3_POPTR	<i>Populus trichocarpa</i> (álamo) ( <i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> )	74,00 %	2,00E-57
A4GDT1	B4FK52_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	74,00 %	6,00E-35
E0XJL2	B6TJ90_MAIZE	<i>Zea mays</i> (maíz)	74,00 %	2,00E-36
B7VFP5	PROF_PRUAV	<i>Prunus avium</i> (cerezo)	74,00 %	4,00E-56
P18322	PROF5_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	74,00 %	6,00E-53
A1KYY2	Q7X9Q0_CUCME	<i>Cucumis melo</i> (melón)	74,00 %	2,00E-55
A1KXJ2	Q7Y253_GOSHI	<i>Gossypium hirsutum</i> (algodonero de tierras altas) ( <i>Gossypium mexicanum</i> )	74,00 %	2,00E-56
Q5A786	Q8H123_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	74,00 %	6,00E-53
C4YDM2	Q8H2C7_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	74,00 %	6,00E-53
F1A3K2	Q8LCJ1_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	74,00 %	4,00E-54
Q8GT39	A8VT57_AMAVI	<i>Amaranthus viridis</i> (amaranto verde)	73,00 %	3,00E-54
Q3BCS4	A9NMR7_PICSI	<i>Picea sitchensis</i> (píceas de Sitka) ( <i>Pinus sitchensis</i> )	73,00 %	3,00E-51
P22271	PROF1_CITSI	<i>Citrus sinensis</i> (naranja dulce) ( <i>Citrus aurantium</i> var. <i>sinensis</i> )	73,00 %	1,00E-54
D3U1G3	B3H795_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	72,00 %	9,00E-31
F4YF99	B8RIF1_PINSY	<i>Pinus sylvestris</i> (pino silvestre)	72,00 %	2,00E-20
E4MXD3	B8RIF3_PINSY	<i>Pinus sylvestris</i> (pino silvestre)	72,00 %	8,00E-14

(continuación)

Entrada	Nombre de la entrada	Planta	Identidad	Valor E
B6CAT2	B8RIF9_PINSY	<i>Pinus sylvestris</i> (pino silvestre)	72,00 %	6,00E-16
A4GD53	C0Z2Z0_ARATH	<i>Arabidopsis thaliana</i> (oreja de ratón)	72,00 %	9,00E-31
A4GE54	C5J3U0_CHEAL	<i>Chenopodium album</i> (cenizo)	72,00 %	3,00E-50
A4GD55	E2D0Y9_SALKA	<i>Salsola kali</i> (cardo ruso)	72,00 %	4,00E-52
D2XTC1	Q3LVF0_TAROF	<i>Taraxacum officinale</i> (achicoria amarga) ( <i>Leontodon taraxacum</i> )	72,00 %	1,00E-26
065810	B7VFP5_MALDO	<i>Malus domestica</i> (manzano) ( <i>Pyrus malus</i> )	70,00 %	2,00E-26
A4S1F7	Q1EMQ3_PLAMJ	<i>Plantago major</i> (llantén mayor)	70,00 %	6,00E-53
C5Z4B6	A9NNS7_PICSI	<i>Picea sitchensis</i> (píceas de Sitka) ( <i>Pinus sitchensis</i> )	68,00 %	6,00E-51
A4GDR8	A9P2A1_PICSI	<i>Picea sitchensis</i> (píceas de Sitka) ( <i>Pinus sitchensis</i> )	68,00 %	2,00E-50
B3TLV2	D5ABJ3_PICSI	<i>Picea sitchensis</i> (píceas de Sitka) ( <i>Pinus sitchensis</i> )	67,00 %	3,00E-19
Q9STB6	A5AW47_VITVI	<i>Vitis vinifera</i> (uva)	65,00 %	2,00E-24

Tabla 5

Posición	Variación de aminoácidos	Posición	Variación de aminoácidos
5	T o A	59	H o Y o T o F o S
8	D o Y o N	63	T o I
9	D o E	65	M o L
12	M o C o L	66	F o L o I o H o Y
14	E o D	67	V o I o L
15	I o V	68	A o G
16	E o D	69	G o A o T o S o P
18	H o L o Q o N	70	A o T
19	HQ	81	A o R o V
20	LH	83	I o T
21	A o S o T o G	89	A o S o T o P
22	S o A	92	I o V
23	A o T	94	L o I o V
26	F o L o I o V o A	98	G o N
28	H o Q	99	Q o M
29	D o G o A	100	A o S
31	T o A o S	101	L o M
32	V o T o A	102	V o I
37	A o T o P o S	103	L o I o V
38	D o A o T o N	105	I o V
41	Q o S o E o A o L	107	D o E
43	K o A o G	110	M o L

(continuación)

Posición	Variación de aminoácidos	Posición	Variación de aminoácidos
44	P o T o A	116	N o S o D
45	E o A o N	117	M o L
46	E o D	118	V o I
47	I o M o V	119	V o I
48	T o A o S	120	E o G
49	G o N o A	121	R o K
50	I o V	127	V o L o M
51	M o I	128	E o K
52	K o N	131	M o L o Q o F
55	D o A		

**Tabla 6**

CONJUNTO		SUBCONJUNTO	
Hidrófobo	FWYHKMILVTAGC	Aromático	FWYH
Polar	WYHKREDCSTNQ	Alifático	ILV
		Cargado	HKRED
		Cargado positivamente	HKR
		Cargado negativamente	ED
Pequeño	VCAGSPTND	Diminuto	AGCS

**Tabla 7**

His (H)	aromático, polar, hidrófilo, cargado (+)	(Arg, Lys)
Thr (T)	polar, hidrófilo, neutro, pequeño	Ser, Cys
Ile (I)	alifático, hidrófobo, neutro	Leu, Val
His (H)	aromático, polar, hidrófilo, cargado (+)	(Arg, Lys)
Val (V)	alifático, hidrófobo, neutro	Leu, Ile
Lys (K)	polar, hidrófilo, cargado (+)	Arg
Trp (W)	aromático, polar, hidrófobo, neutro	Tyr, Phe
Leu (L)	alifático, hidrófobo, neutro	Ile, Val
Tyr (Y)	aromático, polar, hidrófobo	Trp, Phe

**Tabla 8**

Códigos de aminoácidos	Propiedades (físicas, químicas, estructurales)	Sustituciones conservativas adecuadas
Ala (A)	alifático, hidrófobo, neutro, pequeño	-
Met (M)	hidrófobo, neutro	-
Cys (C)	polar, hidrófobo, neutro, pequeño	Ser, Thr
Asn (N)	polar, hidrófilo, neutro, pequeño	Gln
Asp (D)	polar, hidrófilo, cargado (-)	Glu
Pro (P)	hidrófobo, neutro, pequeño	(Thr)
Glu (E)	polar, hidrófilo, cargado (-)	Asp

(continuación)

Códigos de aminoácidos	Propiedades (físicas, químicas, estructurales)	Sustituciones conservativas adecuadas
Gln (Q)	polar, hidrófilo, neutro	Asn
Phe (F)	aromático, hidrófobo, neutro	Tyr, Trp
Arg (R)	polar, hidrófilo, cargado (+)	Lys
Gly (G)	alifático, hidrófobo, neutro, pequeño	-
Ser (S)	polar, hidrófilo, neutro, pequeño	Thr, Cys
His (H)	aromático, polar, hidrófilo, cargado (+)	(Arg, Lys)
Thr (T)	polar, hidrófilo, neutro, pequeño	Ser, Cys
Ile (I)	alifático, hidrófobo, neutro	Leu, Val
Val (V)	alifático, hidrófobo, neutro	Leu, Ile
Lys (K)	polar, hidrófilo, cargado (+)	Arg
Trp (W)	aromático, polar, hidrófobo, neutro	Tyr, Phe
Leu (L)	alifático, hidrófobo, neutro	Ile, Val
Tyr (Y)	aromático, polar, hidrófobo	Trp, Phe

**Listado de secuencias**

SEQ ID NO: 1: >sp|024650|PROF2\_PHLPR Profilina-2/4 OS = *Phleum pratense* GN = PRO2 PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAG  
AKYMVIQGEPGAVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLVEQGM

5 SEQ ID NO: 2: >sp|024282|PROF3\_PHLPR Profilina-3 OS = *Phleum pratense* GN = PRO3 PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCEIEGHHLASAAIFGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDLDEPGHLAPTGMFVAA  
AKYMVIQGEPGAVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLVEQGM

SEQ ID NO: 3: >sp|P35079|PROF1\_PHLPR Profilina-1 OS = *Phleum pratense* GN = PRO1 PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAG  
AKYMVIQGEPRVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLVEQGM

SEQ ID NO: 4: >tr|A4KA31|A4KA31\_PHLPR Profilina OS = *Phleum pratense* PE = 2 SV = 1

MSWQAYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAT  
AKYMVIQGEPRVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLLKQGL

10

SEQ ID NO: 5: >tr|A4KA32|A4KA32\_PHLPR Profilina OS = *Phleum pratense* PE = 2 SV = 1

MSWQAYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAA  
AKYMVIQGEPRVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLVKQGL

SEQ ID NO: 6: >tr|A4KA33|A4KA33\_PHLPR Profilina OS = *Phleum pratense* PE = 2 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAA  
AKYMVIQGEPEGAVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLLKQGL.

SEQ ID NO: 7: >tr|A4KA34|A4KA34\_PHLPR Profilina OS = *Phleum pratense* PE = 2 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAT  
AKYMVIQGEPEGAVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLLKQGL

SEQ ID NO: 8: >tr|A4KA36|A4KA36\_PHLPR Profilina OS = *Phleum pratense* PE = 2 SV = 1

MSWQAYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAA  
AKYMVIQGEPEGAVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLLKQGL

5

SEQ ID NO: 9: >tr|A4KA37|A4KA37\_PHLPR Profilina OS = *Phleum pratense* PE = 2 SV = 1

MSWQAYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAA  
AKYMVIQGEPEGAVTRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLVKQGL

SEQ ID NO: 10: >tr|A4KA38|A4KA38\_PHLPR Profilina OS = *Phleum pratense* PE = 2 SV = 1

MSWQAYVDEHLMCEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAT  
AKYMVIQGEPEGAVIRGKKGAGGITIKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCSMVVERLGDYLVKQGL

10

SEQ ID NO: 11: Tri a 12.0101 (4 isoformas en allergen.org) (Trigo, (*Poales*) >sp|P49232|PROF1\_WHEAT  
Profilina-1 (Fragmento) OS = *Triticum aestivum* GN = PRO1 PE = 2 SV = 1

MSWQTYVDDHLCCEIDGQHLSAAILGHDGTVWTESPNFPKFKPEEIAGIVKDFEEPGHLAPTGLFLGGT  
KYMVIQGEPEGVIRGKKGTGGITIKKTGMALILGIYDEPMTPGQCNLVVERLGDYLIDQGYWVPSSNS

SEQ ID NO: 12: Hor v 12.0101 (Cebada (*Poales*)) >sp|P52184|PROF1\_HORVU Profilina-1 OS = *Hordeum  
vulgare* GN = PRO1 PE = 2 SV = 1

MSWQTYVDDHLCCEIDGQHLSAAILGHDGRVWVQSPNFPQFKPEEIAGIIKDFDEPGHLAPTGLFLGGT  
KYMVIQGEPEGVIRGKKGTGGITIKKTGMPLILGIYDEPMTPGQCNLVVERLGDYLVEQGF

15

SEQ ID NO: 13: Ory s 12.0101 (Arroz (*Poales*)) >sp|Q9FUD1|PROFA\_ORYSJ Profilina-A OS = *Oryza sativa*  
subsp. *japonica* GN = Os10g0323600 PE = 2 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCEIEGHHLSAAIVGHDGTVWAQSAAFPQFKPEEMTNIMKDFDEPGFLAPTGLFLGP  
TKYMVIQGEPEGAVIRGKKGSGGITVKKTGQALVVGIIYDEPMTPGQCNMVVERLGDYLVEQGL

20

SEQ ID NO: 14: *Zea m* 12.0101 (Maiz (*Poales*))) >sp|P35081|PROF1\_MAIZE Profilina-1 OS = *Zea mays* GN =  
PRO1 PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCEIEGHHLSAAIVGHDGATWAQSTAFPEFKPEEMAAIMKDFDEPGHLAPTGLILGG  
TKYMVIQGEPEGAVIRGKKGSGGITVKKTGQSLIIGIYDEPMTPGQCNLVVERLGDYLLEQGM

SEQ ID NO: 15: Cyn d 12.0101 (Gramma común (*Poales*)) >sp|004725|PROF\_CYNDA Profilina OS = *Cynodon  
dactylon* GN = PRO1 PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCEIEGHHLTSAAIIGHDGTVWAQSAAFPAPKPEEMANIMKDFDEPGFLAPTGLFLGPT  
KYMVIQGEPEGAVIRGKKKGSGGVTVKKTGQALVIGIYDEPMTPGQCNMVEIKLGDYLIQGM

SEQ ID NO: 16: Ole e 2.0101 (Olivo (*Lamiales*)) >sp|024169|PROF1-OLEEU Profilina-1 OS = *Olea europea* GN = PRO1 PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCDIEGHEDHRLTAAAIVGHGDSVWAQSATFPQFKPEEMNGIMTDFNEPGHLAPTGL  
HLGGTKYMVIQGEAGAVIRGKKKGSGGITIKKTGQALVFGIYEETVTPGQCNMVVERLGDYLVEQGM

5 SEQ ID NO: 17: Cor a 2.0101 (Avellano europeo (*Fagales*)) >tr|Q9AXH5|Q9AXH5\_CORAV Profilina OS = *Corylus avellana* PE = 2 SV = 1

MSWQTYGDEHLMCEIEGNRLAAAAIIGHDGSVWAQSSTFPQLKPEEITGVMNDFNEPGSLAPTGLYLGG  
TKYMVIQGEPEGAVIRRRKKGPGGVTVKKTSQALIIGIYDEPMTPGQCNMIVERLGDYLIDQGL

SEQ ID NO: 18: Bet v 2.0101 (*Fagales*) >sp|P25816|PROF\_BETPN Profilina OS = *Betula pendula* GN = BETVII PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCDIDGQASNSLASAIVGHGDSVWAQSSSFPQFKPQEITGIMKDFEETPGHLAPTGLHL  
GGIKYMVIQGEAGAVIRGKKKGSGGITIKKTGQALVFGIYEETVTPGQCNMVVERLGDYLIDQGL

10 SEQ ID NO: 19: Ara h 5.0101 (cacahuete (*Fabales*)) >sp|Q9SQI9|PROF\_ARAHY Profilina OS = *Arachis hypogaea* PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDNHLCEIEGDHLSSAAILGQDGGVWAQSSHFQFKPEEITAIMNDFAEPSLAPTGLYLGGT  
KYMVIQGEPGAIIIPGKKGPGGVTIEKTNQALIIGIYDKPMTPGQCNMIVERLGDYLIDTGL

15 SEQ ID NO: 20: Gly m 3.0101 (soja (*Fabales*)) >sp|065809|PROF1\_SOYBN Profilina-1 OS = *Glycine max* GN = PRO1 PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDDHLLCDIEGNHLTHAAIIGQDGSVWAQSTDFPQFKPEEITAIMNDFNEPSLAPTGLYLGGT  
KYMVIQGEPEGAVIRGKKKGPGGVTVKKTGAALIIGIYDEPMTPGQCNMVVERPGDYLDQGY

SEQ ID NO: 21: Amb a 8.0101 (estafiate (*Asterales*)) >tr|Q2KN24|Q2KN24\_AMBAR Profilina OS = *Ambrosia artemisiifolia* PE = 2 SV = 1

MSWQTYVDEHLMCDIEGTGQHLASAAIFGTDGNVWAKSSSFPEFKPDEINAIIEFSEPGALAPTGLFLA  
GAKYMVIQGEPEGAVIRGKKGAGGICIKKTGQAMVFGIYEETVTPGQCNMVVERLGDYLDQGM

20 SEQ ID NO: 22: Hel a 2.0101 (girasol (*Asterales*)) >sp|081982|PROF\_HELAN Profilina OS = *Helianthus annuus* PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDEHLMCDIEGTGQHLTSAAILGLDGTVWAQSAKFPQFKPEEMKGIIEFDEAGTLAPTGMFIA  
GAKYMLVQGEPEGAVIRGKKGAGGICIKKTGQAMIMGIYDEPVAPGQCNMVVERLGDYLLEQGM

SEQ ID NO: 23: Art v 4.0101 (*Asterales*)) >sp|Q8H2C9|PROF1\_ARTVU Profilina-1 OS = *Artemisia vulgaris* PE = 1 SV = 3

MSWQTYVDDHLMCDIEGTGQHLTSAAIIFGTDGTVWAKSASFPEFKPNEIDAIIEFNEAGQLAPTGLFLG  
GAKYMVIQGEAGAVIRGKKGAGGICIKKTGQAMVFGIYDEPVAPGQCNMVVERLGDYLLDQGM

25

ES 2 623 050 T3

SEQ ID NO: 24: Hev b 8.0101 (*Malpighiales*) >sp|065812|PROF1\_HEVBR Profilina-1 OS = *Hevea brasiliensis* PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDERLMCEIEGNHLTAAAIIGQDGSVWAQSSNFPQFKSEEITAIMSDFDEPGTLAPTGLHLGGT  
KYMVIQGEAGAVIRGKKGGPGGVTVRKTNQUALIIGIYDEPMTPGQCNMIVERLGDYLLQGM

SEQ ID NO: 25: Fra a 4 (*Rosales*) >sp|P0C0Y3|PROF\_FRAAN Profilina OS = *Fragaria ananassa* PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDDHLMCEIEGNHLSAAAIIIGQDGSVWAQSATFPQLKPEEVTGIVRDFDEPGTLAPTGLYLGG  
TKYMVIQGEPEGAVIRGKKGGPGGVTVKKTLLALLIGIYDEPMTPGQCNMIVERLGDYLVEQGL

5

SEQ ID NO: 26: Mal d 4.0101 (*Rosales*) >sp|Q9XF42|PROF3\_MALDO Profilina-3 OS = *Malus domestica* PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCDIDGNRLTAAAILGQDGSVWSQSASFPAFKPEEIAAILKDFDQPGTLAPTGLFLGG  
TKYMVIQGEPEGAVIRGKKGSGGITIKKTSQALLIGIYDEPVTGQCNIVVERLGDYLIEQGL

SEQ ID NO: 27: Pru av 4.0101 (*Cerezo (Rosales)*) >sp|Q9XF39|PROF\_PRUAV Profilina OS = *Prunus avium* PE = 1 SV = 1

10

MSWQAYVDDHLMCDIDGNRLTAAAILGQDGSVWSQSATFPFAFKPEEIAAILKDLDPGTLAPTGLFLGGT  
KYMVIQGEAGAVIRGKKGSGGITVKKTNQUALIIGIYDEPLTPGQCNMIVERLGDYLIEQGL

SEQ ID NO: 28: Pru du 4.0101 (*almendro (Rosales)*) >sp|Q8GSL5|PROF\_PRUDU Profilina OS = *Prunus dulcis*  
PE = 1 SV = 1

MSWQQYVDDHLMCDIDGNRLTAAAILGQDGSVWSQSATFPFAFKPEEIAAILKDFDQPGTLAPTGLFLGG  
TKYMVIQGEAGAVIRGKKGSGGITVKKTNQUALIIGIYDEPLTPGQCNMIVERLGDYLIEQGL

15

SEQ ID NO: 29: Pru p 4.0101 (*melocotonero, (Rosales)*) >tr|Q8GT40|Q8GT40\_PRUPE Profilina OS = *Prunus persica* PE = 2 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCDIDGNRLTAAAILGQDGSVWSQSATFPFAFKPEEIAAILKDFDQPGTLAPTGLFLGGT  
KYMVIQGEAGAVIRGKKGSGGITVKKTNQUALIIGIYDEPLTPGQCNMIVERLGDYLIEQGL

SEQ ID NO: 30: Pyr c 4.0101 (*peral (Rosales)*) >sp|Q9XF38|PROF\_PYRCO Profilina OS = *Pyrus communis* PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCDIDGHHLTAAAILGHDGSVWAQSSSTFPKFKPEEITAIMKDFDEPGSLAPTGLHLGG  
TKYMVIQGEAGAVIRGKKGSGGVTVKKTSQLVFGIYEEPLTPGQCNMIVERLGDYLIDQGL

20

SEQ ID NO: 31: Par j 3.0101) >sp|Q9XG85|PROF1\_PARJU Profilina-1 OS = *Parietaria judaica* GN = PRO1 PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCDVGDGNTPASAAIIGHDGSVWAQSANFPQLKPEEVTGIMNDFNEAGFLAPTGLFL  
GGTKYMVIQGESGAVIRGKKGSGGATLKKTGQAIVIGIYDEPMTPGQCNLVVERLGDYLLQGL

SEQ ID NO: 32: Pho d 2.0101 (*palmera datilera (Arecales)*) >tr|Q8L5D8|Q8L5D8\_PHODC Profilina OS = *Phoenix dactylifera* GN = pro PE = 2 SV = 1

25

MSWQAYVDEHLMCEIDGHHLTAAAILGHDGSVWAQSSSFPQFKSEEITNIMNDFNEPGSLAPTGLYLGS  
TKYMVIQGEPEGAVIRGKKGSGGVTVKKTNQUALIFGIYEEPMTPGQCNMVVERLGDYLIEQGM

ES 2 623 050 T3

SEQ ID NO: 33: Che a 2.0101 (*Caryophyllales*) >sp|Q84V37|PROF\_CHEAL Profilina OS = *Chenopodium album*  
PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDDHLMCDIEGNHLSSAAILGHDGTVWAQSPSPFQPKPEEVSAIMKDFNEPGLAPTGLHLGG  
TKYMVIQGEPPGAVIRGKKKGGPGGVTIKKTNQALIIGIYGEPMTPGQCNMIVERLGDYLVQGM

5 SEQ ID NO: 34: Sal k 4.0101 (*Caryophyllales*) >tr|C6JWH0|C6JWH0\_SALKA Profilina (Fragmento) OS = *Salsola kali*  
PE = 2 SV = 1

MSWQTYVDDHLMCEIEGTNNHLTAAAILGVDGSVWAQSANFPQFKPDEISAVVKEFDEAGTLAPTGLHL  
GGTKYMVIQGEAGQVIRGKKKGGPGGICVKKTGQALIFGIYDEPVTGQCNMIVERLGDYLVQGM

SEQ ID NO: 35: Ama r 2.0101 (abredujo (*Caryophyllales*)) >tr|C3W2Q7|C3W2Q7\_AMARE Profilina (Fragmento)  
OS = *Amaranthus retroflexus* PE = 2 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCEIEGTTNHLTGAAILGLDGSVWAQSADFPQFKPDEIAAIVEDFDEPGLAPTGLHLG  
GTKYMVIQGEPPGAVIRGKKKGGAGGICVKKTGQALVMGIYDEPVTGQCNMIVERLGDYLIEQGY

10 SEQ ID NO: 36: Dau c 4.0101 (Zanohoria, (*Apiales*)) >sp|Q8SAE6|PROF\_DAUCA Profilina OS = *Daucus carota*  
PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDDHLMCEVDGNPGQQLSAAAIIGHDGSVWAQSSTFPKFKPEEITGIMKNFDEPGHLAPTGLY  
LGGTKYMVIQGEPIAVIRGKKKGGSGGVTIKKTGQALVFGVYDEPVTGQCNLIVERLGDYLIEQGL

SEQ ID NO: 37: Api g 4.0101 (Apio, (*Apiales*)) >sp|Q9XF37|PROF\_APIGR Profilina OS = *Apium graveolens* PE =  
1 SV = 1

15 MSWQAYVDDHLMCEVEGNPGQTLTAAAIIGHDGSVWAQSSTFPQIKPEEITAGIMKDFDEPGHLAPTGLY  
LGGAKYMVIQGEPPNAVIRGKKKGGSGGVTIKKTGQALVFGVYDEPVTGQCNVIVERLGDYLIDQGL

SEQ ID NO: 38: Cuc m 2.0101 (melón, Cucurbitales) >sp|Q5FX67|PROF\_CUCME Profilina OS = *Cucumis melo*  
PE = 1 SV = 1

MSWQVYVDEHLMCEIEGNHLTSAAIIGQDGSVWAQSQNFPQPKPEEVAGIVGDFADPGTLAPTGLYIGG  
TKYMVIQGEPPGAVIRGKKKGGGATVKKTGALVIGIYDEPMTPGQCNMIVERLGDYLIDQGL

20 SEQ ID NO: 39: Cap a 2.0101 (chile, *Solanales*) >sp|Q93YI9|PROF\_CAPAN Profilina OS = *Capsicum annuum*  
PE = 1 SV = 1

MSWQTYVDDHLMCEIEGNRLTSAAIIGQDGSVWAQSATFPQFKPEEITAIMNDFAEPTLAPTGLYLGTT  
KYMVIQGEAGAVIRGKKKGGGIVKKTNQALIIGIYDEPMTPGQCNMIVERLGDYLIEQSL

SEQ ID NO: 40: Ana c 1.0101 (piña, *Poales*) >sp|Q94JN2|PROF\_ANACO Profilina OS = *Ananas comosus* PE =  
1 SV = 1

MSWQAYVDDHLMCEIDGQHLSSAAILGHDSTVWAQSPNFPQFKPEEISAILNDFENPGLAPTGLYLGTT  
KYMVIQGEPPGVVIRGKKKGGITVKKTNLALIIGVYDEPMTPGQCNMIVERLGDYLLEQGF

25 SEQ ID NO: 41: Cro s 2. (*Asparagales*)) >sp|Q5EF31|PROF\_CROSA Profilina OS = *Crocus sativus* PE = 1 SV =  
1

MSWQTYVDEHLMCDMDGHVLTSAAILGHDGSVWAQSAGFPELKPAETAILNDFNEPGSLAPTGM YING  
AKYMVIQGEPEGVIRGKKKSGGVTIKKS NMALIFGLYDEPMT PGQCNLVVERLGDYLIEQGY

SEQ ID NO: 42: Mus a 1.0101 (Plátano (Zingiberales)) >sp|Q94N3|PROF\_MUSAC Profilina OS = *Musa acuminata* PE = 1 SV = 1

MSWQAYVDDHLLCDIDGQCLTAAAVGHGDSVWAQSDAFPQCKPEEIAAIMKDFDEPGSLAPTGLYLGG  
TKYMVIQGEPEGAVIRGKKKSGGVTIKKNLALIIIGIYNEPMT PGQCNM VVERLGDYLF DQGF

5 SEQ ID NO: 43: Recombinante (posiciones 71-127 de SEQ ID NO: 1)  
Y MVIQGEPEGAVIRGKKK GAGGITIKKTGQALVVG IYDEPMT PGQCNM VVERLGDYLV

SEQ ID NO: 44: Recombinante (SEQ ID NO 1 con sustituciones C13S y C115S)

SEQ ID NO: 45: Recombinante (SEQ ID NO 1 con sustituciones C13A y C115A)

MSWQTYVDEHLMSEIEGHHLASAAILGHDGTVWAQSADFPQFKPEEITGIMKDFDEPGHLAPTGMFVAG  
AKYMVIQGEPEGAVIRGKKK GAGGITIKKTGQALVVG IYDEPMT PGQSNM VVERLGDYLVEQGM

10 SEQ ID NO: 46: secuencia de nucleótidos para producir SEQ ID NO 44: > V1rPhl p 12\_ALK\_IP1002

atgagctggcaaacgtatgtc gatgaacacctgatgagc gaaattgaaggtcaccacctggcgtcggcggtattctgggtcacgat  
ggcaccgtttgggcacagagcgtgattttccgcaattcaaaccggaagaaattaccggcatcatgaaggattttgacgaaccgggt  
catctggcaccgacgggcatgttcgctgcagggtccaaatatatggtgattcagggtgaaccgggtgcagtcacccgtggcaaaaa  
gggtgccggcggtattaccatcaaaaagacgggccaagccctggtggtgatttaccgacgaaccgatgacgccgggtcaagc  
aacatggtggtggaacgtctgggagactatctggtggaacagggtatgTAG

SEQ ID NO: 47: secuencia de nucleótidos para producir SEQ ID NO: 45: > V2rPhl p 12\_ALK\_IP1003

atgtcctggcaaacgtatgtc gatgaacacctgatggc gaaattgaaggtcaccacctggcgtcggcagcgattctgggtcacgat  
ggcaccgtttgggcacagagcgtgattttccgcaattcaaaccggaagaaattaccggcatcatgaaggattttgacgaaccgggt  
catctggcaccgacgggcatgttcgctgcagggtccaaatatatggtgattcagggtgaaccgggtgcagtcacccgtggcaaaaa

gggtgccggcggtattaccatcaaaaagacgggccaagccctggtggtgatttaccgacgaaccgatgacgccgggtcaagca  
aacatggtggtggaacgtctgggtgattatctggtggaacagggtatgTAG

**Listado de referencias**

15 Amnuaycheewa P y Gonzalez de Mejia E. "Purification, characterisation, and quantification of the soy allergen profilin (Gly m 3) in soy products", *Food Chemistry* 119, 1671-1680, 2010.

Dahlmann-Hoglund y col., "Bystander suppression of the immune response to human serum albumin in rats", *Immunology* 86, 128-133, 1995.

20 Fechheimer M y Zigmond S. H., "Focusing on Unpolymerized Actin", *The Journal of Cell Biology*, Volumen 123, n.º 1, 1-5, 1993.

Lockey R y Ledford D. "Allergens and Allergen Immunotherapy", 4ª Ed, 2008, Ed por R Lockey y D Ledford, Informa healthcare).

25 Lu J. y Pollard T, "Profilin Binding to Poly-L-Proline and Actin Monomers along with Ability to Catalyze Actin Nucleotide Exchange Is Required for Viability of Fission Yeast", *Molecular Biology of the Cell*, Vol. 12, 1161-1175, 2001.

Martinez A y col, "The allergenic relevance of profilin (Ole e 2) from *Olea europaea* pollen", *Allergy*, 57, supl. 71,

17-23, 2002.

Miller y col. "Antigen-driven Bystander Suppression after Oral Administration of Antigens", *J. Exp. Med.* 174, 791-798, 1991.

5 Millington y col., "Induction of Bystander Suppression by Feeding Antigen Occurs despite Normal Clonal Expansion of the Bystander T Cell Population". *Immunology*, 173: 6059-6064, 2004.

Oliveira C. R. y col. "Bystander effect in synergy to anergy in oral tolerance of Blomia Tropicalis/Ovalbumin Murine Co-Immunization model". *J Clin Immunol*, 25, 153-161, 2005.

Santos A y Van Ree R., "Profilins: Mimickers of Allergy or Relevant Allergens?" *Int Arch Allergy Immunol*, 155, 191-204, 2011.

10 Thorn y col, "Crystal structure of a major allergen from plants", *Structure*, vol 5, n.º 1, 1997.

Vidali L, H. E. Perez, V. V. Lopez, R. Noguez, F. Zamudio and F. Sanchez, "Purification, Characterization, and cDNA Cloning of Profilin from Phaseolus vulgaris", *Plant Physiology*, vol. 108, n.º 1, 115-123, 1995.

**Ejemplos**

15 Los Ejemplos 1 (Fig. 1 y 2), 2 (Fig. 3, 4 y 5), 4 (Fig. 8 y 9), 8 (Fig. 25 y 26), 10 (Fig. 29 y 30) y 11 (Fig. 31) se refieren a la investigación de supresión presencial en un modelo de tratamiento profiláctico con ratones no sensibilizados. En resumen, se tratan los ratones diariamente mediante administración sublingual con un polipéptido de la invención durante un período (normalmente dos semanas) con el fin de inducir tolerancia frente al polipéptido. Posteriormente, se sensibilizan los ratones hacia un antígeno mediante administración i.p. para inducir una respuesta inmune de hipersensibilidad y, opcionalmente, se exponen también a los ratones al antígeno sensibilizante mediante administración intranasal para inducir la inflamación alérgica en las vías respiratorias. Por último, se sacrifican los ratones, y se extraen sangre, líquido broncoalveolar (BAL) y el bazo para su análisis. A continuación, se determina la supresión presencial mediante la comparación de la fracción de eosinófilos en el fluido BAL de ratones expuestos tanto al antígeno que induce tolerancia como al antígeno sensibilizante con la fracción de eosinófilos de ratones solo expuesta al antígeno sensibilizante. Como alternativa, o además, las células del bazo y/o los ganglios linfáticos cervicales se aíslan, se cultivan y se estimulan con el alérgeno sensibilizante. Se miden la proliferación celular o la producción de citocinas (IL-5, IL-13), y se determina la supresión presencial comparando la proliferación celular o la producción de citocinas de las muestras tomadas de ratones expuestos tanto al antígeno inductor de tolerancia como al antígeno sensibilizante con la proliferación celular o la producción de citocinas de las muestras de los ratones solo expuestos al antígeno sensibilizante.

30 Los Ejemplos 3 (Fig. 6 y 7) y 9 (Fig. 27 y 28) se refieren a la investigación de la supresión presencial en un modelo de tratamiento terapéutico con los ratones sensibilizados. En resumen, la configuración experimental es ligeramente diferente al modelo profiláctico en tanto en cuanto los ratones se sensibilizan inicialmente mediante administración i.p. con el alérgeno sensibilizante y los ratones se tratan posteriormente con el antígeno inductor de tolerancia (polipéptido para SLIT). Todas las etapas subsiguientes son similares al modelo profiláctico.

35 A continuación, se da una visión general de los ejemplos que se refiere a los datos de ratones sobre la supresión presencial, (P) se refiere al modelo profiláctico y (T) al modelo terapéutico:

Ejemplo	Polipéptido para el tratamiento SLIT (antígeno inductor de la tolerancia)	Antígeno para la sensibilización mediante administración i.p.	Antígeno para la exposición nasal
1 (P)	Phl p 12	OVA OVA + Phl p 12	OVA
2 (P)	Phl p 12	Extracto de Phl p (sin y con Phl p 12)	Extracto de Phl p con Phl p 12)
3 (T)	Phl p 12	OVA	OVA Phl p 12
4 (P)	Phl p 12	OVA	OVA OVA + Bet v2
8 (P)	Phl p 12	Extracto de Bet v	Extracto de Bet v
9 (T)	Phl p 12	Extracto de Bet v	Extracto de Bet v
10 (P)	Ole e 2	Extracto de Phl p	Ninguno

(continuación)

Ejemplo	Polipéptido para el tratamiento SLIT (antígeno inductor de la tolerancia)	Antígeno para la sensibilización mediante administración i.p.	Antígeno para la exposición nasal
11 (P)	Phl p 12	OVA + Phl p 12 OVA + Bet v 2 OVA	Ninguno

**Ejemplo 1**

Supresión presencal de una respuesta inmune de hipersensibilidad (asma) causada por el antígeno OVA en ratones sin tratamiento previo tratados con Phl p 12.

- 5 Procedimientos: se aisló Phl p 12 de extractos acuosos de polen de *Phleum pratense* mediante el uso de agarosa PLP o se produjo de forma recombinante basándose en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

Animales: se criaron internamente ratones BALB/cJ de 6-10 semanas de vida, hembras, y se mantuvieron en una dieta definida que no contenía componentes de reacción cruzada con antisueros de conejo para *Phleum pratense* (Phl p). Cada grupo experimental consistía en 7-8 animales.

- 10 Experimentos con animales: se trataron los ratones sin tratamiento previo 5 días a la semana mediante inmunoterapia sublingual (SLIT) con 50 o 200 µg de Phl p 12 durante 2 semanas (fase de tratamiento), seguidas de dos inyecciones i.p. semanales de una mezcla de 10 µg de OVA y 10 µg de Phl p 12 o 10 µg de OVA sola adsorbida en hidróxido de aluminio (fase de exposición para sensibilizar a los ratones). Posteriormente, se expusieron los ratones por vía intranasal con 50 µg de OVA durante cuatro días (inducción de la respuesta inmune de hipersensibilidad tal como asma). Se sacrificaron los ratones un día después de la última exposición, y se extrajeron sangre, fluido broncoalveolar (BAL) y el bazo para su análisis.

- 15 Recuento diferencial de fluido BAL: se centrifugó el fluido BAL y se eliminó el sobrenadante. Se volvió a suspender el sedimento en PBS y se determinó la fracción de eosinófilos mediante un contador de células automatizado (Sysmex).

- 20 Ensayo de proliferación de linfocitos T: se hilacharon los bazos en suspensión de células individuales y se lavaron tres veces en medio. Se contaron las células y se añadieron  $3 \times 10^5$  células a cada pocillo de una placa de cultivo de 96 pocillos, de fondo plano, y se estimularon mediante 0, 5, 25 y 125 µg/ml de OVA. Se cultivaron las células durante 6 días a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 %. Se midió la proliferación mediante la adición de 0,5 µCi de 3H-timidina a cada pocillo durante las últimas 18 horas del período de cultivo, seguido de la recogida de las células y el recuento del radiomarcador incorporado.

- 25 Resultados:

- En este experimento, se examinó si se podía prevenir en ratones no sensibilizados tratados mediante un polipéptido de la invención (por ejemplo, Profilina Phl p 12) el desarrollo de una respuesta inmune de hipersensibilidad inducida por un alérgeno distinto de la profilina (OVA) o si, al menos, se podía suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad (por ejemplo, asma) inducida por un alérgeno distinto de la profilina (OVA), por ejemplo, si se podía suprimir/evitar una respuesta inmune de hipersensibilidad como la inducida por OVA por medio de la supresión presencal lograda mediante la administración de un antígeno no relacionado; la profilina Phl p 12. La Figura 1 muestra que los ratones tratados con Phl p 12 presentaron una fracción reducida de eosinófilos en el fluido BAL en comparación con los ratones tratados con tampón, pero solo cuando los ratones se expusieron/sensibilizaron tanto a OVA como a Phl p 12, y no solo a OVA. La Figura 2 indica los mismos hallazgos que en la Figura 1, pero con respecto a la proliferación *in vitro* de células de bazo; la proliferación *in vitro* específica de OVA de células de bazo se regula negativamente en ratones tratados con Phl p 12, pero solo en los ratones expuestos/ sensibilizados simultáneamente tanto a Phl p 12 como a OVA, y no solo a OVA.

**Ejemplo 2**

- 40 Supresión presencal de una respuesta inmune de hipersensibilidad (asma) causada por alérgenos distintos de la profilina de polen de *Phleum pratense* mediante el tratamiento de ratones sin tratamiento previo con Phl p 12.

- Experimentos con animales: la Phl p 12 se obtuvo como en el Ejemplo 1 y se usaron animales similares. Se trataron los ratones sin tratamiento previo mediante inmunoterapia sublingual (SLIT) con 50 o 100 µg de Phl p 12 durante 2 semanas (fase de tratamiento), seguidas de tres inyecciones i.p. semanales bien de 8 µg de extracto de Phl p u 8 µg de extracto de Phl p agotado para Phlp 12, ambos adsorbidos en hidróxido de aluminio (fase de exposición para sensibilizar a los ratones). Posteriormente, se expusieron los ratones por vía intranasal bien a 8 µg de extracto de Phl p o a la misma dosis de extracto agotado para Phl p12 (inducción de la respuesta inmune de hipersensibilidad tal como asma). Se sacrificaron los ratones un día después de la última exposición, y se extrajeron sangre, fluido broncoalveolar (BAL) y los ganglios linfáticos cervicales para su análisis.

Recuento diferencial de fluido BAL: mismo procedimiento que se presenta en el Ejemplo 1.

Ensayo de proliferación de linfocitos T: mismo procedimiento que se presenta en el Ejemplo 1, pero se contaron las células y se ajustaron a  $1,67 \times 10^6$  células/ml, y se añadieron  $3 \times 10^5$  células a cada pocillo de una placa de cultivo de fondo plano, de 96 pocillos, y las células se estimularon mediante 0, 5 y 40  $\mu\text{g/ml}$  de extracto de Phl p. Los sobrenadantes de cultivo de células para el análisis de citocinas se recogieron el quinto día.

Resultados:

En este experimento, se examinó si se podía prevenir en ratones no sensibilizados tratados mediante un polipéptido de la invención (por ejemplo, Profilina Phl p 12) el desarrollo de una respuesta inmune de hipersensibilidad inducida por alérgenos distintos de la profilina de *Phleum pratense* (por ejemplo, alérgenos Phl p 1, Phl p 5, Phl p 6) o si, al menos, se podía suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad (por ejemplo, asma) inducida por dichos alérgenos distintos de la profilina, por ejemplo, si se podía suprimir/evitar una respuesta inmune de hipersensibilidad como la inducida por alérgenos distintos de la profilina de polen de *Phleum pratense*, por medio de la tolerancia presencial lograda mediante la administración de un antígeno no relacionado; la profilina Phl p 12. Esto se realizó mediante el tratamiento SLIT de ratones sin tratamiento previo con Phl p 12 o tampón. Tras el tratamiento SLIT, se indujo asma alérgica mediante la sensibilización IP (extracto de p Phl con y sin Phl p 12), seguido de la exposición intranasal con extracto de polen de gramínea de *Phleum pratense* (extracto de Phl p que contiene al menos los alérgenos Phl p 1, 5 y 6 y la profilina de Phl p 12) o extracto de polen de gramínea con el contenido de la profilina agotado (extracto de Phl p agotado en Phl p 12). Como se ve en la Figura 3, los ratones tratados con Phl p 12 tienen un número reducido de eosinófilos en el fluido BAL en comparación con los ratones tratados con tampón, y este efecto solo se logra cuando los ratones se exponen tanto a los alérgenos distintos de la profilina como a Phl p 12 (extracto de Phl p que contiene Phl p 12), pero no cuando los ratones se expusieron al extracto de Phl p agotado en Phl p 12. Estos resultados fueron confirmados por la estimulación *in vitro* de células de ganglios linfáticos cervicales. Aunque las diferencias no fueron significativas, las Figuras 4 y 5 muestran que la proliferación y la producción de la citocina asociada a Th2 IL-5, respectivamente, se regulan negativamente en los ratones tratados con Phl p 12 de la misma manera que se ha descrito anteriormente.

### Ejemplo 3

Supresión presencial de una respuesta inmune de hipersensibilidad (asma) en ratones sensibilizados con OVA tratados con Phl p 12.

Experimentos con animales: la Phl p 12 se obtuvo como en el Ejemplo 1, y se usaron animales similares. Se sensibilizaron los ratones mediante dos inyecciones i.p. semanalmente de 10  $\mu\text{g}$  de OVA adsorbida en hidróxido de aluminio (fase de sensibilización). Tras ellos, se trataron los ratones con SLIT con 0, 50 o 150  $\mu\text{g}$  de Phl p 12 durante 6 semanas (fase de tratamiento) y posteriormente se expusieron por vía intranasal durante 4 días con 40  $\mu\text{g}$  de OVA junto con 40  $\mu\text{g}$  de Phl p o solo con OVA (fase de exposición). Los ratones se sacrificaron un día después de la última exposición, y se extrajeron sangre, fluido broncoalveolar (BAL), el bazo y los ganglios linfáticos cervicales para su análisis.

Recuento diferencial de fluido BAL: el mismo procedimiento que se presenta en el Ejemplo 1

Ensayo de proliferación de linfocitos T: el mismo procedimiento que se presenta en el Ejemplo 1.

Resultados:

En este conjunto de experimentos, se investigó si se podía evitar en ratones sensibilizados con OVA tratados con Phl p 12 el desarrollo o la supresión de los signos clínicos e inmunológicos del asma alérgica tras la exposición al alérgeno OVA "desencadenante". Como se muestra en la Figura 6, se redujo significativamente la fracción de eosinófilos del fluido BAL en ratones sensibilizados a OVA tratados con Phl p 12 en comparación con los ratones sensibilizados a OVA tratados con tampón tras exponerlos al alérgeno distinto de la profilina (OVA) por vía intranasal (exposición a las vías respiratorias). En particular, esta regulación negativa de los eosinófilos no se pudo observar al exponer a los ratones solo a OVA, es decir, sin la exposición junto con Phl p 12. Además, como se ve en la Figura 7, la proliferación *in vitro* específica de OVA de células de bazo se regula negativamente en ratones tratados con Phl p 12, pero solo en los ratones expuestos/sensibilizados simultáneamente tanto a Phl p 12 como a OVA, y no solo a OVA.

### Ejemplo 4

Supresión presencial de una respuesta inmune de hipersensibilidad (asma) causada por un alérgeno distinto de la profilina (OVA) mediante el tratamiento de ratones sin tratamiento previo con Phl p 12 y la exposición de los ratones a OVA y a una profilina Bet v 2 diferente.

Procedimientos: la Phl p 12 se obtuvo como se ha descrito anteriormente y Bet v 2 se aisló de extracto de polen de *Betula verrucosa*.

Experimentos con animales: se trataron ratones sin tratamiento previo (del mismo tipo que en el Ejemplo 1) 5 días a la semana mediante inmunoterapia sublingual (SLIT) con 75 µg de Phl p 12 durante 2 semanas (fase de tratamiento), seguidos de dos inyecciones i.p. semanales de bien una mezcla de 10 µg de OVA y 10 µg de Bet v 2 o 10 µg de solo OVA adsorbida en hidróxido de aluminio (fase de exposición para sensibilizar a los ratones).  
 5 Posteriormente, se expusieron los ratones por vía intranasal con 40 µg de OVA durante 4 días (inducción de la respuesta inmune de hipersensibilidad tal como asma). Se sacrificaron los ratones un día después de la última exposición, y se extrajo sangre, fluido broncoalveolar (BAL) y el bazo para su análisis.

Ensayo de activación de linfocitos T: se hilacharon los bazos en una suspensión unicelular y se lavaron tres veces en el medio. Las células se contaron y, a cada pocillo de una placa de cultivo de fondo plano de 96 pocillos, se añadieron 3 x 10<sup>5</sup> células, y las células se estimularon con 0, 5, 25 y 125 µg/ml de OVA. Las células se cultivaron durante 5 días a 37 °C y con CO<sub>2</sub> al 5 %. Los sobrenadantes de cultivo de células para el análisis de citocinas se recogieron el quinto día.

**Resultados:**

En este experimento, se examinó si se podría evitar en ratones no sensibilizados tratados con un polipéptido de la invención (por ejemplo, profilina Phl p 12) el desarrollo de una respuesta inmune de hipersensibilidad inducida por un alérgeno distinto de la profilina (OVA) o si al menos se podría suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad (por ejemplo, asma) inducida por un alérgeno distinto de la profilina (OVA). Por otra parte, y además del Ejemplo 1, se ensayó si la exposición conjunta a OVA y a Bet v 2 (profilina que tiene aproximadamente un 78 % de identidad de secuencia de aminoácidos con Phl p 12) podría sustituir a la exposición conjunta a OVA y a Phl p 12, para investigar si la profilina de otro material vegetal que contenía profilina puede reactivar los linfocitos Treg que son específicos de Phl p 12 para producir citocinas reguladoras no específicas y, por lo tanto, suprimir una respuesta alérgica causada por OVA.

Como se muestra en las Figuras 8 y 9, el tratamiento con Phl p 12 es capaz de regular negativamente la producción de las citocinas asociadas a Th2 IL-5 e IL-13, respectivamente, en comparación con los ratones tratados con tampón. Sin embargo, esta regulación negativa solo se observó cuando los ratones se expusieron simultáneamente a Bet v 2 y a OVA en el momento de la sensibilización y la exposición intranasal. Por lo tanto, los datos indican que se podría evitar una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por alérgenos de otro material vegetal que contiene profilina (Phl p que contiene Phl p 12) tras la exposición de los ratones tanto al alérgeno desencadenante (OVA) como a Bet v 2 en ratones tratados con Phl p 12.

**Ejemplo 5**

Detección de polipéptidos extraídos simultáneamente y alérgenos distintos de la profilina en materiales vegetales que contienen profilina.

Materiales para la extracción:

- polen de gramínea en bruto de la especie *Phleum pratense* (congelado justo tras la cosecha), polen desgrasado de la especie *Phleum pratense*, *Betula verrucosa*, *Ambrosia artemisifolia*, *Corylus avellana*, *Artemisia vulgaris*, *Cryptomeria japonica*, *Humulus japonicas*, caspa de gato, cuerpos de ácaros y heces de *Dermatophagoides pteronyssinus* y manzanas;
- botes de vidrio (100 ml) para la extracción;
- columnas PD-10 con soporte de lecho de PE combinado con jeringa de 10 ml con tubo de silicona;
- unidades de filtración (Millex 5 µm + Millex 0,8 µm);
- tubos de ensayo;
- baño de hielo, pipetas, rotadores de muestras, cilindro de medición, cronómetro;
- tampón PBS, pH 7,2, que contiene las siguientes sales:

Sal		PM <sub>p</sub> (g/mol)	Conc. g/l	Conc. mM
Cloruro de sodio	NaCl	58,44	8,0	137
Cloruro de potasio	KCl	74,55	0,2	2,7
Fosfato de Na	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ,	2H <sub>2</sub> O 175,98	1,44	8,2
Fosfato de K	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	0,2	1,5
Conc. de fosfato	8,2 + 1,5 = fosfato 9,7 mM			
NaCl:	$\mu = \frac{1}{2} * (137 * 12 + 137 * 12) = 137 \text{ mM}$			
KCl:	$\mu = \frac{1}{2} * (2,7 * 12 + 2,7 * 12) = 2,7 \text{ mM}$			
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> :	$\mu = \frac{1}{2} * ((8,2 * 2 * 12) + (8,2 * 22)) = 24,6 \text{ mM}$			
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> :	$\mu = \frac{1}{2} * ((1,5 * 12) + (1,5 * 12)) = 1,5 \text{ mM}$			

(continuación)

Fuerza iónica total:  $\mu = 165,8 \text{ mM} \approx 0,17 \text{ M}$ *Procedimiento de extracción (a temperatura ambiente, 21-24 °C):*

5 Se pesan 50,0 g de polen/cuerpos de ácaros/heces del ácaro/caspa de gato en un frasco de vidrio, y se añaden 50 ml de PBS, y se hace girar la botella de inmediato, los 5 primeros minutos con la mano y, posteriormente, se hace girar en un rotador de muestras durante toda la extracción.

10 Se retiran 5 ml de suspensión tras 20 s, se transfieren a una columna con un filtro de lecho y se arrastran a través del filtro con una jeringa. Se transfiere la jeringa de inmediato a una unidad de filtración y se empuja el extracto a través de los filtros combinados en un tubo de ensayo etiquetado. Se almacena el tubo en un baño de hielo hasta que la muestra se pipetea en alícuotas para su posterior análisis y se congela. Se retiran 5,2 ml de la suspensión en los puntos de tiempo de 40 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min. Se exprimen las manzanas, y se analiza el zumo resultante de inmediato por CIE/RIE.

*Determinación de alérgeno distinto de la profilina y de profilina eluidos/extraídos simultáneamente*

15 Se analizan las muestras para determinar el contenido de alérgenos distintos de la profilina y de profilina mediante el uso de uno más de los procedimientos de CIE (inmunolectroforesis cruzada), RIE (inmunolectroforesis Rocket), SDS PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida y dodecilsulfato de sodio), ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas) y/o EM (espectrometría de masas).

CIE (inmunolectroforesis cruzada)

## Materiales para CIE/ RIE

- 20 • Aparato de electroforesis (2 vasos de tamponamiento, 2 electrodos, superficie refrigerada, cámara).
- Placas de vidrio (tamaños convencionales, por ejemplo, 5 x 5, 5 x 7, 10 x 7 cm).
- Tampón para los recipientes de electrodos y gel de agarosa (fuerza iónica de 0,02, pH 8,6) ácido 5.5-dietilbarbitúrico (Veronal) 112,1 g; Tris (Sigma 7-9) 221,5 g; lactato de calcio (purum) 2,7 g; agua purificada hasta 5 l. Diluir 1 + 4 antes de su uso.
- 25 • Placas de agarosa: se prepara agarosa Litex de tipo HSA al 1 % (p/v) ( $M_r = -0,13$ ), usando el "tampón de gel de agarosa", la agarosa se calienta bajo agitación y se hierve durante dos minutos, y se mantiene líquida en un baño de agua a 56 °C. A continuación, se aplica el gel en placas (aproximadamente 5 ml).
- Solución de tinción: azul brillante de Coomassie R-250 5 g, 450 ml de etanol al 96 %, 500 ml de agua purificada, 50 ml de ácido glacial ácido. Se disuelve durante la noche por agitación y se filtra.
- Solución decolorante: 450 ml de etanol al 96 %, 500 ml de agua purificada, 50 ml de ácido glacial ácido.
- 30 • Anticuerpos policlonales de conejo. Se inmunizan los conejos repetidamente con el polipéptido, por ejemplo, extracto acuoso que contiene profilina del material vegetal que contiene profilina, tal como PhI p nativo 12, en los días 0, 2, 4, 6, 10, 14 y 18, y se recoge la sangre en los días 8, 12, 16, 20 y 24. Se obtiene la fracción de IgG tras la precipitación con sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ( $\approx 1,75 \text{ M}$ ) y se lavó en  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,75 M. Se purificó además mediante diálisis frente a agua purificada y tampón de acetato a pH 5,0. Se almacenó a +5 °C en NaCl al 0,9 % con  $\text{NaN}_3$  al 0,09 % e inhibidor de la proteasa (Trasylol) para su conservación.
- 35

40 Procedimiento: se perforan los pocillos de las placas de gel de agarosa y se añade la muestra de extracción. La electroforesis se realiza durante 25-30 minutos en un aparato que funcionaba a 150 °C y a 10 V/cm. Se retira el gel, y se vierte el gel de agarosa bien mezclado con los anticuerpos policlonales sobre el lado catódico y el lado anódico. Se realiza la electroforesis durante la noche a tensión de 2 V/cm. A continuación, se lavan los pocillos con agua destilada y con NaCl 0,1 M durante 15-30 minutos y, a continuación, se secan las placas en una corriente de aire caliente. Se tiñen las placas durante aproximadamente 5 minutos en solución de tinción azul brillante de Coomassie, después se lavan en agua destilada durante unos segundos, se destiñen y, finalmente, se secan en aire caliente.

45 Los polipéptidos reconocidos por los anticuerpos se ven como bandas intensas azules en la placa de CIE. Para identificar adicionalmente los polipéptidos, las bandas se pueden cortar de la placa de CIE y analizar por espectrometría de masas y/u otros procedimientos inmunoquímicos y/o análisis de aminoácidos.

RIE

50 Se preparan placas de gel de agarosa que contienen los anticuerpos policlonales pertinentes sobre placas de vidrio. Se perforan los pocillos a aproximadamente 1,5 cm del borde inferior de la placa, se colocan las placas en un aparato de electroforesis, se añaden muestras de extracción y se prosigue con la electroforesis durante una noche a la tensión de 2 V/cm. Se lavan las placas/se presionan y se tiñen con solución de tinción de azul brillante de Coomassie como se ha descrito anteriormente para CIE.

SDS-PAGE:

Materiales: tampón de muestra (x4) NuPage®; Invitrogen NP0007, SDS-PAGE de Bis-Tris al 10 % NuPAGE®; Invitrogen NP0302, tampón de migración de MES SDS NuPAGE® (x20); Invitrogen NP0002 02, Marcador: patrón Plus2Prestained SeeBlue®; Invitrogen LC5925.

- 5 SDS-PAGE (en condiciones reducidas o no reducidas) se realizó de acuerdo con la información general y los protocolos de la Guía Técnica NuPAGE® para el uso del sistema de electroforesis NuPAGE® con fecha de revisión: 29 de octubre de 2010; Parte del Manual n.º IM-1001.

Como alternativa, la electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio se puede usar de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica.

- 10 Tras la electroforesis, se puede teñir el gel (lo más comúnmente con azul brillante de Coomassie R-250 o tinción de plata), lo que permite la visualización de las proteínas separadas o procesadas adicionalmente (por ejemplo, transferencia Western). Tras la tinción, las diferentes proteínas aparecerán como bandas distintas dentro del gel. Se puede añadir un marcador del tamaño de peso molecular de peso molecular conocido en un carril separado en el gel, con el fin de calibrar el gel y determinar la masa molecular aproximada de proteínas desconocidas mediante la comparación de la distancia recorrida en relación con el marcador.
- 15

ELISA

- Materiales: los anticuerpos monoclonales (mAb) se obtienen mediante la inmunización de conejos repetidamente con un solo polipéptido sin contenido de isómeros en los días 0, 2, 4, 6, 10, 14 y 18, y la sangre se recoge en los días 8, 12, 16, 20 y 24. Se obtiene la fracción de IgG tras la precipitación con sulfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ≈ 1,75 M) y se lava en (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,75 M. Se purifica adicionalmente mediante diálisis frente a agua purificada y tampón de acetato a pH 5,0. Se almacena a +5 °C en NaCl al 0,9 % con NaN<sub>3</sub> al 0,09 % e inhibidor de la proteasa (Trasyolol) para su conservación.
- 20

- Determinación de los antígenos individuales: Phl p 12: se recubrieron placas con 2,5 ug/ml de anticuerpos monoclonales (mAb) de Pho d 2 (profilina de palmera datilera) durante la noche a 4 °C. Tras la saturación durante 30 minutos a temperatura ambiente, se purificó nPhl p 12 (patrón de referencia) y se diluyeron las muestras de extracción con el fin de obtener las curvas sigmoideas completas (dilución en serie 1/3, 8 puntos) y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Tras el lavado, se detectó la Phl p 12 unida por incubación con anticuerpo policlonal de conejo anti-Pho d 2 en dilución/4.000 durante 1 hora a temperatura ambiente. Tras lavados, se añadió anticuerpo anti-IgG de conejo policlonal de cabra conjugado con peroxidasa durante 1 hora a TA y, entonces, se reveló la señal mediante la adición de OPD junto con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Tras 30 minutos, se detuvo la reacción con HCl 2 N y se leyeron las placas a 490 nm.
- 25
- 30

- Determinación de los antígenos individuales: Phl p 5: se recubrieron placas con mAb contra Phl p 5 y Lol p 5 durante la noche a 40 °C, se saturaron y se secaron. El día de la cuantificación, se rehidrataron las placas y se diluyeron muestras de extracción en consecuencia con el fin de obtener las curvas sigmoideas completas (dilución en serie 1/3), y se incubaron en las placas durante 1 hora a TA. Tras los lavados, se detectó la Phl p 5 unida tras la incubación durante 1 hora a TA con un anticuerpo policlonal de conejo dirigido contra una mezcla de polen de gramínea a 1/10.000. Tras los lavados, se añadió anticuerpo anti-IgG de conejo policlonal de cabra conjugado con peroxidasa durante 1 hora a TA y, a continuación, se reveló la señal mediante la adición de OPD junto con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Tras 30 minutos, se detuvo la reacción con HCl 2 N y se leyeron las placas a 490 nm.
- 35

- Determinación de los antígenos individuales: Phl p 1: se recubrieron placas con 2,5 ug/ml de mAb contra Phl p 1, 5 ug/ml de mAb contra Phl p 1 y 5 ug/ml de mAb contra Phl p 1 durante la noche a 40 °C. Tras la saturación durante 30 minutos a TA, se diluyeron las muestras de extracción en consecuencia con el fin de obtener las curvas sigmoideas completas (dilución en serie 1/3), y se incubaron en las placas durante 1 hora a TA. Tras los lavados, se detectó la Phl p 1 unida mediante la incubación con un anticuerpo policlonal de conejo anti-*P. pratense* a 1/10.000 durante 1 hora a TA. Tras los lavados, se añadió anticuerpo anti-IgG de conejo policlonal de cabra conjugado con peroxidasa durante 1 hora a TA y, a continuación, se reveló la señal mediante la adición de OPD junto con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Tras 30 minutos, se detuvo la reacción con HCl 2 N y se leyeron las placas a 490 nm.
- 40
- 45

Espectrometría de masas

Tampones/soluciones para la reducción, alquilación y digestión de la muestra:

Tampón de muestra:	urea 8 M en NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 0,4 M
DTT (45 mM):	se prepara nuevo a partir de la reserva congelada 1,0 M: 45 µl de DTT 1 M + 955 µl de agua
Yodoacetamida (IAA):	se prepara una nueva solución, yodoacetamida 100 mM,
Tripsina:	Sigma T6567, se disuelve un vial en 20 µl de HCl 1 mM. Estos resultados en una solución que contiene 1 µg/µl de tripsina. Tras la reconstitución en HCl 1 mM, se pueden almacenar alícuotas congeladas durante hasta 4 semanas.

5 Digestión enzimática con tripsina en solución de espectrometría de masas: se diluye la muestra seca en 5 µl de agua, se añaden 15 µl de tampón de muestra (urea 8 M en NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 0,4 M), se añaden 5 µl de TDT 45 mM, se incuban a 56 °C durante 15 minutos, se enfría hasta la temperatura ambiente, se añaden 5 µl de yodoacetamida 100 mM, se incuban a oscuras a temperatura ambiente durante 15 minutos, se añaden 90 µl de agua para disminuir la concentración de urea < 1-2 M, se añade 1 µg de tripsina, se incuban a 37 °C durante la noche.

10 Cromatografía: la cromatografía de fase inversa (Ultimate 3000 HPLC, Dionex) se realizó con una columna preanalítica y analítica C18. Se pulverizaron los péptidos de elución directamente en un espectrómetro de masas ESI-QTOF (MaXis, Bruker). Tras lavar la columna de la trampa con ácido fórmico al 0,05 % v/v durante 5 minutos con un caudal de 30 µl/min, se eluyeron los péptidos con un gradiente de acetonitrilo a un caudal de 2 µl/min usando disolvente A: ácido fórmico al 0,05 % v/v y disolvente B: acetonitrilo al 80 % v/v/ácido fórmico al 0,04 % v/v, y el gradiente: B al 4-50 % en 200 minutos; B al 50-80 % en 10 minutos; B al 100 % en 10 min, B al 4 % en 5 min.

Los espectros se adquirieron en el intervalo de masas 50 a 2.599 m/z y una tasa espectral de 1,5 Hz. El instrumento se ajustó y se calibró usando mezcla de ajuste a baja concentración ESI-L de Agilent Technology.

15 La adquisición de datos y el control instrumental se llevaron a cabo con Bruker Compass HyStar 3.2. El procesamiento de datos se realizó mediante DataAnalysis 4.0 (Bruker). La identificación de proteínas se realizó usando el programa Biotoools3.2 (Bruker) y dos bases de datos diferentes, es decir, Swiss prot y NCBI nr. Los conjuntos de datos de EM/EM para la digestión triptica se analizaron usando los siguientes parámetros; tolerancia al péptido 10 ppm y tolerancia a fragmento de 0,05 Da.

20 Procedimiento: se evaporaron todas las muestras de extracción (50 µl) y se volvieron a suspender en 5 µl de agua. A continuación, se redujo la muestra, se sometió a alquilación y se digirió con tripsina. Los péptidos resultantes se separan y se identifican mediante cromatografía en fase inversa seguida de EM/EM.

Resultados:

Los resultados relativos a la extracción del polen en bruto de *Phleum pratense* se muestran en:

- 25 • Figura 10 (CIE de extractos de 20 s, 60 s y 2 min usando anticuerpos policlonales generados contra el extracto de polen de *Phleum pratense*).
- Figura 11 (CIE de extractos de 5, 10 y 20 min usando anticuerpos policlonales generados contra el extracto de polen de *Phleum pratense*).
- Figura 12 (RIE de extractos de 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min usando anticuerpos policlonales contra Phl p 12 (A), Phl p 5 (B) y Phl p 1 (C) purificadas).
- 30 • Figura 13 (cantidades de Phl p 12, Phl p 1 y Phl p 5 liberadas tras los tiempos de extracción de 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min, y se analizaron mediante el uso de ELISA).

35 Todos los resultados indican que la profilina Phl p 12, de hecho, se extrae junto con los alérgenos principales de *Phleum pratense* (Phl p 1 y Phl p 5) en la misma franja de tiempo e incluso en los 10 primeros minutos de extracción, lo que indica que la profilina se presentará al órgano diana en la misma franja de tiempo que los alérgenos principales que causan la respuesta inmune de hipersensibilidad tras la exposición de los individuos a un material vegetal que contiene profilina. Los extractos también se analizaron mediante análisis de espectrometría de masas, y se pudo demostrar que Phl p 12 se extrajo junto con una serie de proteínas, entre otras, los alérgenos Phl p 1, 5 y 6.

Los resultados relativos a la extracción de polen desgrasado de *Phleum pratense* se muestran en las figuras:

- 40 • Figura 14 (CIE de extractos de 20 s, 60 s y 2 min usando anticuerpos policlonales generados contra el extracto de polen de *Phleum pratense*).
- Figura 15 (CIE de extractos de 5, 10 y 20 min usando anticuerpos policlonales generados contra el extracto de polen de *Phleum pratense*).
- Figura 16 (RIE de extractos de 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min usando anticuerpos policlonales contra Phl p 12 (A), Phl p 5 (B) y Phl p 1 (C) purificadas).
- 45 • Figura 17 (cantidades de Phl p 12, Phl p 1 y Phl p 5 liberadas tras los tiempos de extracción de 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min, y se analizaron mediante el uso de ELISA mediante el uso de anticuerpos monoclonales generados en conejos contra Phl p 12, Phl p 1 y Phl p 5).
- Figura 18 (SDS-PAGE de los extractos de A) polen en bruto y B) polen desgrasado, se muestran de izquierda a derecha extractos obtenidos en extracciones de 20 s, 40 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min).

50 Todos los resultados indican que se puede usar polen desgrasado en lugar de polen en bruto en la detección de profilina y alérgenos distintos de la profilina extraídos simultáneamente de un material vegetal que contiene profilina.

Los resultados relativos a la extracción del polen desgrasado de *Betula verrucosa* se muestran en las figuras:

- Figura 19 (CIE de extractos de 20 s, 60 s y 2 min usando anticuerpos policlonales generados contra el extracto de polen de *Betula verrucosa*).
- 5 • Figura 20 (CIE de extractos de 5, 10 y 20 min usando anticuerpos policlonales generados contra el extracto de polen de *Betula verrucosa*).
- Figura 21 (RIE de extractos de 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min usando los anticuerpos policlonales contra Bet v 2 (profilina) (A) y Bet v 1 (alérgeno principal) (B) purificados).

Los resultados indican que Bet v 2 (profilina) se extrae junto con el alérgeno principal (Bet v 1) del polen de abedul tan pronto como 1 minuto después de iniciarse la extracción.

- 10 Los resultados relativos a la extracción de polen desgrasado de *Ambrosia artemisifolia* se muestran en la Figura 22, que muestra RIE de extractos de 20 s, 60 s, 2 min, 5 min, 10 min y 20 min usando anticuerpos policlonales contra Amb a 8 (profilina) (A) y Amb a 1 (alérgeno principal) (B) purificados. Los resultados indican que Amb a 8 se extrae junto con el alérgeno principal Amb a 1 tan pronto como 1 minuto después de iniciarse la extracción.

- 15 Se estudió la capacidad de diversas profilinas vegetales para reconocer anticuerpos generados contra las profilinas Bet v 2 y Phl p 12 mediante RIE usando extractos de polen de *Ambrosia artemisifolia*, *Betula verrucosa*, *Corylus avellana*, *Phleum pratense*, *Artemisia vulgaris*, *Cryptomeria japonica*, *Humulus japonicus*, caspa de gato, cuerpos de ácaros y jugo de manzana recién preparado y anticuerpos policlonales de conejo generados contra Phl p 12 y Bet v 2 purificadas, respectivamente.

- 20 Los resultados (Figuras 23 y 24) indican que las profilinas de plantas de otras especies que no sean *Phleum pratense* y *Betula verrucosa* son capaces de unirse a anticuerpos IgG específicos de Phl p 12 y Bet v 2, lo que indica que el tratamiento de un individuo con Phl p 12 o Bet v 2 puede suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina que no contiene Phl p 12 o Bet v 1, pero al menos la profilina del género *Ambrosia*, *Corylus*, *Cryptomeria*, *Humulus* y *Malus*.

### Ejemplo 6

- 25 *Producción recombinante de un polipéptido de acuerdo con la invención*

En el presente ejemplo, se produjo una variante polipeptídica que tenía las variaciones C13A y C115A en comparación con SEQ ID NO: 1. La secuencia completa se da en la SEQ ID NO: 44.

- 30 Materiales: plásmido: p-RSETB (disponible en el mercado en Invitrogen - Life Technologies); cepa de *E. coli*: BL21(DE3), disponible en NOVAGEN; tampón de lisis: tampón de fosfato 10 mM, NaCl 30 mM, EDTA 10 mM, benzamidina 1 mM, 10 µg/ml de SBTI (inhibidor de tripsina de soja), PMSF 3 mM (fenilmetanosulfonilfluoruro), y azida de sodio al 0,02 % p/p; medio LB: triptona al 1 %, extracto de levadura al 0,5 %, NaCl al 0,5 %, pH 7,0; tampón de equilibrado de la columna: PBS a pH 7,2; columna de PLP-Sefarosa: la columna se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante de la Sefarosa 4B activada con CNBr (GE Healthcare, ref 17-0430-01), y usando poli-L Prolina (Sigma, ref. P2129) como el ligando; columna Superdex75: columna preenvasada de GE Healthcare; membrana de diálisis: membrana MWCO de 3.500 Da.

- 35 Procedimiento: se sintetizó un ADNc de SEQ ID NO: 46 codificante de un polipéptido de SEQ ID NO: 44 y el codón se optimizó en función de la preferencia de *E. coli* (selección de nucleótidos correspondientes a los ARNt presentes de manera más regular y abundante en *E. coli*); se introdujo el ADNc en el plásmido-RSETB cortado por NdeI/PstI, que es inducible por IPTG (isopropil-beta-D-tiogalactopiranosido); el plásmido se transformó en la cepa de *E. coli* BL21(DE3); se cultivaron las células recién transformadas a 37 °C en 1 l de medio LB que contenía ampicilina en matraces de cultivo agitados a 250 rpm, hasta que se alcanzó una DO600 de 0,6, y luego se indujeron a 18 °C; el cultivo celular se indujo mediante la adición de IPTG a una concentración de 0,3 mM y se dejó durante aproximadamente 16 horas a 18 °C (como alternativa, la inducción se puede realizar a temperaturas más altas, por ejemplo, a 37 °C, induciendo durante 3-4 horas, a partir de una DO600 de 0,4); se mantuvo el cultivo de *E. coli* en un baño de agua con hielo durante al menos 5 minutos antes de la cosecha por centrifugación (por ejemplo, 12.000 rpm a 40 °C durante 20 min); se volvieron a suspender las células así sedimentadas, inducidas, en 50 ml de tampón de lisis y después se rompieron por sonicación; la fracción soluble que contenía el producto citoplasmático soluble se recogió por centrifugación (12.000 rpm a 40 °C durante 20 min) y se aclaró el sobrenadante y luego se sometió a diálisis frente a PBS (pH 7,2).

- 50 Se purificó el polipéptido recombinante en dos etapas cromatográficas mediante: cromatografía de afinidad en columna de PLP-sefarosa equilibrada con tampón de equilibrado de la columna; elución con urea 6 M, que se debe eliminar de inmediato por diálisis a través de la membrana de diálisis a PBS (el tampón de equilibrado de la columna), y luego cromatografía de exclusión por tamaño en una columna Superdex 75 equilibrada con tampón de equilibrado de la columna con el fin de obtener el producto polipeptídico recombinante monomérico que consiste en aproximadamente 99 % de proteína (peso/peso de materia seca).
- 55

La identidad del polipéptido recombinante se determinó por SDS-PAGE (reducido y no reducido; tinción de plata y tinción de Coomassie), la secuenciación N-terminal y el análisis de aminoácidos, así como el análisis de EM (para analizar las impurezas y confirmar su identidad mediante identificación genética).

5 Se confirmó que el polipéptido recombinante producido tenía la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44. La metionina N-terminal pareció eliminarse en aproximadamente el 95 % del producto polipeptídico producido. Solo aproximadamente el 5 % del polipéptido producido parecía aún llevar a la metionina N-terminal.

10 A continuación, se sometió el polipéptido a análisis de dicroísmo circular (DC) con el fin de explorar el plegamiento de la proteína recombinante. El procedimiento será capaz de verificar que la mayoría de la proteína se pliega correctamente. Los espectros de DC (260 a 184 nm) se determinaron en un espectropolarímetro OLIS DSM-10 usando cubetas cuadradas de longitud de la trayectoria de luz de 0,1 cm a 15 °C. Todos los espectros se obtuvieron en tampón de fosfato de sodio 10 mM pH 7,2 y cada muestra se exploró cinco veces. Se recogió el espectro de datos en bruto para la absorción de tampón y todos los espectros se normalizaron a  $DC_{\text{señal}}_{\lambda 260} = 0$ . Se convirtieron los datos en bruto (mDeg) en valores de  $\Delta\epsilon$  (elipticidad) usando las siguientes ecuaciones ( $m\text{Deg} = 32980 * \Delta A$ ;  $\Delta\epsilon = \Delta A / (c * l)$ ), donde "c" es las concentraciones molares de la muestra y "l" es la longitud de la trayectoria de la luz en cm.

15 Además de los experimentos 15 °C, también se realizó un experimento de calentamiento con la muestra escaneada a diferentes temperaturas con intervalos de 5 °C de 15 a 90 °C. Este análisis se realizó con el fin de examinar la estabilidad/desplegamiento de la proteína.

20 El polipéptido que tiene las sustituciones C13A y C115A mostró sorprendentemente una estabilidad de plegamiento superior a la del péptido precursor (el 50 % del polipéptido de SEQ ID NO: 44 se había desplegado a aproximadamente 61 °C, mientras que el 50 % del polipéptido de SEQ ID NO: 1 se había desplegado a aproximadamente 51 °C).

### Ejemplo 7

25 En el presente ejemplo, se produjo un variante polipeptídica que tenía las variaciones C13S y C115S en comparación con SEQ ID NO: 1. La secuencia completa se da en SEQ ID NO: 45.

Esta variante polipeptídica se produjo como se describe en el ejemplo A, a excepción de que el ADNc usado tenía la SEQ ID NO: 47 codificante del polipéptido de SEQ ID NO: 45.

30 Se confirmó que el polipéptido recombinante producido tenía la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45. La metionina N-terminal parecía estar eliminada en aproximadamente el 95 % del producto polipeptídico producido. Solo aproximadamente el 5 % del polipéptido producido parecía portar todavía la metionina N-terminal.

El polipéptido que tiene las sustituciones C13S y C115S mostró aproximadamente la misma estabilidad de plegamiento que el péptido precursor (el 50 % del polipéptido de SEQ ID NO: 45 se había desplegado a aproximadamente 51 °C).

35 También se determinó el punto de fusión de nPhl 12, rPhlp 12 y las dos variantes V1 (C13S y C115S) y V2 (C13A y C115A), respectivamente. Se descubrió que el punto de fusión de la variante de alanina (V2) era significativamente superior (61 °C) al punto de fusión de nPhl 12 (54 °C), rPhlp 12 (58 °C) y la variante V1 (51 °C), respectivamente.

### Ejemplo 8

Supresión presencial de una respuesta inmune de hipersensibilidad (asma) causada por el extracto de Bet v (extracto de polen de *Betula verrucosa*) en ratones sin tratamiento previo tratados con Phl p 12.

40 Los procedimientos y los materiales son los mismos que en el Ejemplo 1, excepto que el extracto de Phl p se reemplaza con extracto de Bet v. Además, el agotamiento de Phl p 12 no está incluido en este estudio.

Los resultados (Figuras 25 y 26) indican que una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por alérgenos de abedul se suprime en los ratones sin tratamiento previo tratados por vía sublingual con la profilina de Phl p 12.

### Ejemplo 9

45 Supresión presencial de una respuesta inmune de hipersensibilidad (asma) causada por el extracto de Bet v (extracto de polen de *Betula verrucosa*) en ratones sensibilizados tratados con Phl p 12.

Los procedimientos y los materiales son los mismos que en los Ejemplos 3 y 8. Los ratones se sensibilizaron hacia el extracto de Bet v (alérgenos de abedul) agotados en profilina Bet v 2 en lugar de OVA y, posteriormente, tratados con Phl p 12.

50 Los resultados (Figuras 27 y 28) indican que una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por alérgenos de abedul se suprime en los ratones sensibilizados tratados por vía sublingual con la profilina de Phl p 12.

**Ejemplo 10**

Supresión presencial de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por el extracto de Phl p (extracto de polen de *Phleum pratense*) en ratones sin tratamiento previo tratados con Ole e 2 producida de forma recombinante (profilina del polen del olivo).

- 5 Los procedimientos y los materiales son similares a los del Ejemplo 2. Los ratones se trataron por vía sublingual con Ole e 2 y los ratones se sensibilizaron posteriormente hacia los alérgenos del polen de gramínea (extracto de Phl p 12). Los resultados (Figuras 29 y 30) muestran que se puede suprimir una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por alérgenos de gramíneas en ratones sin tratamiento previo tratados por vía sublingual con la profilina Ole e 2.

**10 Ejemplo 11**

Supresión presencial de una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por OVA (exposición conjunta, ya sea con Phl p 12 o Bet v 2) en ratones sin tratamiento previo tratados con Phl p 12.

- 15 Los procedimientos y materiales son similares a los del Ejemplo 1. Los ratones se tratan por vía sublingual con Phl p 12 y, posteriormente, se sensibilizan hacia OVA, OVA bajo exposición conjunta a Phl p 12 o a OVA bajo exposición conjunta a Bet v 2.

20 El resultado (Figura 31) indica que se suprime una respuesta inmune de hipersensibilidad causada por OVA en los ratones sin tratamiento previo tratados por vía sublingual con la profilina Phl p 12, cuando los ratones también se exponen simultáneamente a Phl p 12 o a Bet v 2. El resultado también muestra que la tolerancia a una profilina (Phl p 12) es suficiente para suprimir una respuesta inmune hacia un antígeno no relacionado (OVA), incluso cuando se proporciona la exposición conjunta mediante otra molécula de profilina distinta de Phl p 12 (en el presente documento, Bet v 2).

**Ejemplo 12**

Examen del reconocimiento de los linfocitos T de diversas profilinas en líneas de linfocitos T específicas de Phl p 12 establecidas a partir de PBMC de individuos alérgicos a las gramíneas.

- 25 Se aislaron PBMC de individuos alérgicos a los alérgenos del polen de gramíneas de *Phleum pratense* (individuos que tienen reactividad de IgE hacia los extractos de polen de *Phleum pratense*).

30 A continuación, se establecieron líneas de linfocitos T reactivas hacia Phl p 12 por incubación durante dos semanas, seguida de la reestimulación de PBMC recién aisladas con Phl p 12 de tipo silvestre (wt) recombinante (SEQ ID NO: 1). Se estimularon las líneas de linfocitos T establecidas posteriormente con (a) Phlp12 wt recombinante; (b) Phl p 12 purificada natural; (c) Ole e 2 recombinante (un homólogo de profilina de Phl p 12) que se encuentra en el polen del olivo (SEQ ID NO: 16); y (d) el medio de crecimiento como control. Se midió la magnitud de la activación de los linfocitos T en respuesta a la estimulación con las profilinas de gramíneas y olivo mediante la incorporación de H<sup>3</sup>. Las Figuras A y B representan las líneas de linfocitos T establecidas a partir de PBMC de dos individuos diferentes, respectivamente.

- 35 Los datos muestran (Figura 32) que los linfocitos T humanos de individuos alérgicos a las gramíneas, como era de esperar, se activan tras la exposición al antígeno afín (Phl p 12), pero también se activan tras la exposición a la proteína homóloga Ole e 2. Esto demuestra claramente la posibilidad de una amplia reactividad cruzada inmunológica a nivel de linfocitos T entre las proteínas homólogas, pero no idénticas, de especies filogenéticamente distantes. Además, este hallazgo constituye la base esencial para la selección de proteínas y variantes proteicas con potencial inmunomodulador hacia diversas especies y especies distantes, lo que, a su vez, permite el desarrollo de nuevas terapias para enfermedades atópicas, incluyendo la alergia y el asma, con indicaciones menos restringidas a la especie, más amplias.

**LISTADO DE SECUENCIAS**

- 45 <110> ALK-Abello A/S  
<120> Polipéptidos profilinas vegetales para su uso en inmunoterapia de alergia inespecífica  
<130> 19190PCT00  
50 <160> 47  
<170> PatentIn versión 3.5  
55 <210> 1  
<211> 131

ES 2 623 050 T3

<212> PRT  
 <213> *Phleum pratense*

<400> 1

5

```

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu
1          5          10          15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val
          20          25          30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr
          35          40          45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly
          50          55          60

Met Phe Val Ala Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly
65          70          75          80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys
          85          90          95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro
          100          105          110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu
          115          120          125

Gln Gly Met
          130
    
```

<210> 2  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Phleum pratense*

10

<400> 2

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

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

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Leu Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Met Phe Val Ala Ala Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
 115 120 125

Gln Gly Met  
 130

<210> 3  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Phleum pratense*

5

<400> 3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Met Phe Val Ala Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

10

ES 2 623 050 T3

Arg Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
115 120 125

Gln Gly Met  
130

5 <210> 4  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Phleum pratense*

<400> 4

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Met Phe Val Ala Thr Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Leu Lys  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

10  
15 <210> 5  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Phleum pratense*

ES 2 623 050 T3

<400> 5

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Met Phe Val Ala Ala Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Lys  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

5 <210> 6  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Phleum pratense*

10 <400> 6

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Met Phe Val Ala Ala Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly

65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Leu Lys  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

<210> 7  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Phleum pratense*

5

<400> 7

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Met Phe Val Ala Thr Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Leu Lys  
 115 120 125

Gln Gly Leu  
 130

- <210> 8
- <211> 131
- <212> PRT
- <213> *Phleum pratense*
- <400> 8

5

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Met Phe Val Ala Ala Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Leu Lys  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

<210> 9  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Phleum pratense*

5

<400> 9

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

10

ES 2 623 050 T3

Met Phe Val Ala Ala Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

Ala Val Thr Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Lys  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

- <210> 10
- <211> 131
- <212> PRT
- <213> *Phleum pratense*
- <400> 10

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Met Phe Val Ala Thr Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Ser Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Lys  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

ES 2 623 050 T3

<210> 11  
 <211> 138  
 <212> PRT  
 <213> *Triticum aestivum*

5

<400> 11

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

10 <210> 12  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Hordeum vulgare*

15 <400> 12

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asp His Leu Cys Cys Glu Ile Asp  
 1 5 10 15  
 Gly Gln His Leu Thr Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Arg Val  
 20 25 30  
 Trp Val Gln Ser Pro Asn Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Ala  
 35 40 45

ES 2 623 050 T3

Gly Ile Ile Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Phe Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Val Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Thr Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Met Pro Leu Ile Leu Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Leu Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
 115 120 125

Gln Gly Phe  
 130

- 5
- <210> 13
  - <211> 131
  - <212> PRT
  - <213> *Oryza sativa subsp. japonica*
  - <400> 13

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly His His Leu Thr Ser Ala Ala Ile Val Gly His Asp Gly Thr Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Ala Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Met Thr  
 35 40 45

Asn Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly Phe Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Phe Leu Gly Pro Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ile Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
 115 120 125

ES 2 623 050 T3

Gln Gly Leu  
130

5  
<210> 14  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Zea mays*  
  
<400> 14

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

10  
Gln Gly Met  
130  
  
15  
<210> 15  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Cynodon dactylon*  
  
<400> 15

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15  
  
Gly His His Leu Thr Ser Ala Ala Ile Ile Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

ES 2 623 050 T3

Trp Ala Gln Ser Ala Ala Phe Pro Ala Phe Lys Pro Glu Glu Met Ala  
 35 40 45

Asn Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly Phe Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Phe Leu Gly Pro Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Val Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Ile Glu Lys Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
 115 120 125

Gln Gly Met  
 130

<210> 16  
 <211> 134  
 <212> PRT  
 <213> *Olea europaea*

5

<400> 16

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly His Glu Asp His Arg Leu Thr Ala Ala Ala Ile Val Gly His Asp  
 20 25 30

Gly Ser Val Trp Ala Gln Ser Ala Thr Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu  
 35 40 45

Glu Met Asn Gly Ile Met Thr Asp Phe Asn Glu Pro Gly His Leu Ala  
 50 55 60

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

Glu Ala Gly Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ile Thr  
 85 90 95

Ile Lys Lys Thr Gly Gln Ala Leu Val Phe Gly Ile Tyr Glu Glu Pro  
 100 105 110

10

ES 2 623 050 T3

Val Thr Pro Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr  
 115 120 125

Leu Val Glu Gln Gly Met  
 130

5 <210> 17  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Corylus avellana*

<400> 17

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Gly Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly Asn Arg Leu Ala Ala Ala Ala Ile Ile Gly His Asp Gly Ser Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ser Thr Phe Pro Gln Leu Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Gly Val Met Asn Asp Phe Asn Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Arg Lys Lys Gly Pro Gly Gly Val Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Ser Gln Ala Leu Ile Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Asp  
 115 120 125

Gln Gly Leu  
 130

10 <210> 18  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 15 <213> *Betula pendula*

<400> 18

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Asp Ile Asp  
 1 5 10 15

Gly Gln Ala Ser Asn Ser Leu Ala Ser Ala Ile Val Gly His Asp Gly  
 20 25 30

Ser Val Trp Ala Gln Ser Ser Ser Phe Pro Gln Phe Lys Pro Gln Glu  
 35 40 45

Ile Thr Gly Ile Met Lys Asp Phe Glu Glu Pro Gly His Leu Ala Pro  
 50 55 60

Thr Gly Leu His Leu Gly Gly Ile Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu  
 65 70 75 80

Ala Gly Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ile Thr Ile  
 85 90 95

Lys Lys Thr Gly Gln Ala Leu Val Phe Gly Ile Tyr Glu Glu Pro Val  
 100 105 110

Thr Pro Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu  
 115 120 125

Ile Asp Gln Gly Leu  
 130

- <210> 19
- <211> 131
- <212> PRT
- <213> *Arachis hypogaea*
- <400> 19

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asn His Leu Leu Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly Asp His Leu Ser Ser Ala Ala Ile Leu Gly Gln Asp Gly Gly Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ser His Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Ala Ile Met Asn Asp Phe Ala Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Ile Ile Pro Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Val Thr Ile Glu Lys  
 85 90 95

Thr Asn Gln Ala Leu Ile Ile Gly Ile Tyr Asp Lys Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Asp  
 115 120 125

Thr Gly Leu  
 130

5 <210> 20  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Glycine max*  
 <400> 20

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Leu Cys Asp Ile Glu  
 1 5 10 15

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

Trp Ala Gln Ser Thr Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Ala Ile Met Asn Asp Phe Asn Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Val Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Ala Ala Leu Ile Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Pro Gly Asp Tyr Leu Ile Asp  
 115 120 125

Gln Gly Tyr  
 130

<210> 21  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> *Ambrosia artemisiifolia*

<400> 21

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Asp Ile Glu  
 1 5 10 15

5

10

ES 2 623 050 T3

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

Asn Val Trp Ala Lys Ser Ser Ser Phe Pro Glu Phe Lys Pro Asp Glu  
 35 40 45

Ile Asn Ala Ile Ile Lys Glu Phe Ser Glu Pro Gly Ala Leu Ala Pro  
 50 55 60

Thr Gly Leu Phe Leu Ala Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu  
 65 70 75 80

Pro Gly Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Cys Ile  
 85 90 95

Lys Lys Thr Gly Gln Ala Met Val Phe Gly Ile Tyr Glu Glu Pro Val  
 100 105 110

Asn Pro Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu  
 115 120 125

Val Asp Gln Gly Met  
 130

<210> 22  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> *Helianthus annuus*

5

<400> 22

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Asp Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly Thr Gly Gln His Leu Thr Ser Ala Ala Ile Leu Gly Leu Asp Gly  
 20 25 30

Thr Val Trp Ala Gln Ser Ala Lys Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu  
 35 40 45

Met Lys Gly Ile Ile Lys Glu Phe Asp Glu Ala Gly Thr Leu Ala Pro  
 50 55 60

Thr Gly Met Phe Ile Ala Gly Ala Lys Tyr Met Val Leu Gln Gly Glu  
 65 70 75 80

Pro Gly Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Cys Ile  
 85 90 95

10

ES 2 623 050 T3

Lys Lys Thr Gly Gln Ala Met Ile Met Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Val  
 100 105 110

Ala Pro Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu  
 115 120 125

Leu Glu Gln Gly Met  
 130

<210> 23  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> *Artemisia vulgaris*

5

<400> 23

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Glu  
 1 5 10 15

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

Thr Val Trp Ala Lys Ser Ala Ser Phe Pro Glu Phe Lys Pro Asn Glu  
 35 40 45

Ile Asp Ala Ile Ile Lys Glu Phe Asn Glu Ala Gly Gln Leu Ala Pro  
 50 55 60

Thr Gly Leu Phe Leu Gly Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu  
 65 70 75 80

Ala Gly Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Cys Ile  
 85 90 95

Lys Lys Thr Gly Gln Ala Met Val Phe Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Val  
 100 105 110

Ala Pro Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu  
 115 120 125

Leu Asp Gln Gly Met  
 130

10

<210> 24  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Hevea brasiliensis*

15

<400> 24

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu Arg Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

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

Trp Ala Gln Ser Ser Asn Phe Pro Gln Phe Lys Ser Glu Glu Ile Thr  
35 40 45

Ala Ile Met Ser Asp Phe Asp Glu Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Leu His Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Ala Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Val Thr Val Arg Lys  
85 90 95

Thr Asn Gln Ala Leu Ile Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Leu Glu  
115 120 125

Gln Gly Met  
130

<210> 25  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Fragaria ananassa*

5

<400> 25

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly Asn His Leu Ser Ala Ala Ala Ile Ile Gly Gln Asp Gly Ser Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Thr Phe Pro Gln Leu Lys Pro Glu Glu Val Thr  
35 40 45

Gly Ile Val Arg Asp Phe Asp Glu Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

10

ES 2 623 050 T3

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Val Thr Val Lys Lys  
85 90 95

Thr Thr Leu Ala Leu Leu Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

5 <210> 26  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Malus domestica*  
  
<400> 26

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Asp  
1 5 10 15

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

Trp Ser Gln Ser Ala Ser Phe Pro Ala Phe Lys Pro Glu Glu Ile Ala  
35 40 45

Ala Ile Leu Lys Asp Phe Asp Gln Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Leu Phe Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Ser Gln Ala Leu Leu Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Val Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Ile Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

10  
  
15 <210> 27  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Prunus avium*

ES 2 623 050 T3

<400> 27

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Asp  
1 5 10 15

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

Trp Ser Gln Ser Ala Thr Phe Pro Ala Phe Lys Pro Glu Glu Ile Ala  
35 40 45

Ala Ile Leu Lys Asp Leu Asp Gln Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Leu Phe Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Ala Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ile Thr Val Lys Lys  
85 90 95

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

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

- 5 <210> 28
- <211> 131
- <212> PRT
- <213> *Prunus dulcis*

10 <400> 28

Met Ser Trp Gln Gln Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Asp  
1 5 10 15

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

Trp Ser Gln Ser Ala Thr Phe Pro Ala Phe Lys Pro Glu Glu Ile Ala  
35 40 45

Ala Ile Leu Lys Asp Phe Asp Gln Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

ES 2 623 050 T3

Leu Phe Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Ala Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ile Thr Val Lys Lys  
85 90 95

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

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

<210> 29  
<211> 131  
<212> PRT  
<213> *Prunus persica*

5

<400> 29

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Asp  
1 5 10 15

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

Trp Ser Gln Ser Ala Thr Phe Pro Ala Phe Lys Pro Glu Glu Ile Ala  
35 40 45

Ala Ile Leu Lys Asp Phe Asp Gln Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Leu Phe Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Ala Gly  
65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ile Thr Val Lys Lys  
85 90 95

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

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
115 120 125

Gln Gly Leu  
130

10

ES 2 623 050 T3

<210> 30  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Pyrus communis*

5

<400> 30

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Asp  
 1 5 10 15

Gly His His Leu Thr Ala Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Ser Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ser Thr Phe Pro Lys Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Ala Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu His Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Gly Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Val Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Ser Gln Ala Leu Val Phe Gly Ile Tyr Glu Glu Pro Leu Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Asp  
 115 120 125

Gln Gly Leu  
 130

10 <210> 31  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> *Parietaria judaica*

15 <400> 31

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Gly Asn Thr Pro Ala Ser Ala Ala Ile Ile Gly His Asp Gly Ser  
 20 25 30

Val Trp Ala Gln Ser Ala Asn Phe Pro Gln Leu Lys Pro Glu Glu Val  
 35 40 45

Thr Gly Ile Met Asn Asp Phe Asn Glu Ala Gly Phe Leu Ala Pro Thr  
 50 55 60

Gly Leu Phe Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Ser  
 65 70 75 80

Gly Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Ala Thr Leu Lys  
 85 90 95

Lys Thr Gly Gln Ala Ile Val Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr  
 100 105 110

Pro Gly Gln Cys Asn Leu Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Leu  
 115 120 125

Glu Gln Gly Leu  
 130

5

<210> 32  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Phoenix dactylifera*  
 <400> 32

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Asp  
 1 5 10 15

Gly His His Leu Thr Ala Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Ser Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ser Ser Phe Pro Gln Phe Lys Ser Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Asn Ile Met Asn Asp Phe Asn Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Ser Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Val Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Asn Gln Ala Leu Ile Phe Gly Ile Tyr Glu Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
 115 120 125

Gln Gly Met

130

5 <210> 33  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Chenopodium album*  
 <400> 33

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Asp Ile Glu  
1 5 10 15

Gly Asn His Leu Ser Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Ser Pro Ser Phe Pro Gln Leu Lys Pro Glu Glu Val Ser  
35 40 45

Ala Ile Met Lys Asp Phe Asn Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
50 55 60

Leu His Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
65 70 75 80

Asp Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Val Thr Ile Lys Lys  
85 90 95

Thr Asn Gln Ala Leu Ile Ile Gly Ile Tyr Gly Glu Pro Met Thr Pro  
100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Ile Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
115 120 125

Gln Gly Met  
130

<210> 34  
<211> 133  
<212> PRT  
<213> *Salsola kali*

5

<400> 34

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
1 5 10 15

Gly Thr Asn Asn His Leu Thr Ala Ala Ala Ile Leu Gly Val Asp Gly  
20 25 30

Ser Val Trp Ala Gln Ser Ala Asn Phe Pro Gln Phe Lys Pro Asp Glu  
35 40 45

10

ES 2 623 050 T3

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

Thr Gly Leu His Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu  
 65 70 75 80

Ala Gly Gln Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Ile Cys Val  
 85 90 95

Lys Lys Thr Gly Gln Ala Leu Ile Phe Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Val  
 100 105 110

Thr Pro Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu  
 115 120 125

Val Glu Gln Gly Met  
 130

<210> 35  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> *Amaranthus retroflexus*

5

<400> 35

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly Thr Thr Asn His Leu Thr Gly Ala Ala Ile Leu Gly Leu Asp Gly  
 20 25 30

Ser Val Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Asp Glu  
 35 40 45

Ile Ala Ala Ile Val Glu Asp Phe Asp Glu Pro Gly Thr Leu Ala Pro  
 50 55 60

Thr Gly Leu His Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu  
 65 70 75 80

Pro Gly Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Cys Val  
 85 90 95

Lys Lys Thr Gly Gln Ala Leu Val Met Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Val  
 100 105 110

Thr Pro Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu  
 115 120 125

10

ES 2 623 050 T3

Ile Glu Gln Gly Tyr  
130

5 <210> 36  
<211> 134  
<212> PRT  
<213> *Daucus carota*  
  
<400> 36

```

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Val Asp
 1           5                10                15

Gly Asn Pro Gly Gln Gln Leu Ser Ala Ala Ala Ile Ile Gly His Asp
          20                25                30

Gly Ser Val Trp Ala Gln Ser Ser Thr Phe Pro Lys Phe Lys Pro Glu
          35                40                45

Glu Ile Thr Gly Ile Met Lys Asn Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala
 50                55                60

Pro Thr Gly Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly
65                70                75                80

Glu Pro Ile Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Val Thr
          85                90                95

Ile Lys Lys Thr Gly Gln Ala Leu Val Phe Gly Val Tyr Asp Glu Pro
          100                105                110

Val Thr Pro Gly Gln Cys Asn Leu Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr
          115                120                125

Leu Ile Glu Gln Gly Leu
130

```

10 <210> 37  
<211> 134  
<212> PRT  
<213> *Apium graveolens*  
  
15 <400> 37

```

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Val Glu
 1           5                10                15

Gly Asn Pro Gly Gln Thr Leu Thr Ala Ala Ala Ile Ile Gly His Asp
          20                25                30

```

ES 2 623 050 T3

Gly Ser Val Trp Ala Gln Ser Ser Thr Phe Pro Gln Ile Lys Pro Glu  
 35 40 45

Glu Ile Ala Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala  
 50 55 60

Pro Thr Gly Leu Tyr Leu Gly Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly  
 65 70 75 80

Glu Pro Asn Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Val Thr  
 85 90 95

Ile Lys Lys Thr Gly Gln Ala Leu Val Phe Gly Val Tyr Asp Glu Pro  
 100 105 110

Val Thr Pro Gly Gln Cys Asn Val Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr  
 115 120 125

Leu Ile Asp Gln Gly Leu  
 130

<210> 38  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Cucumis melo*  
 <400> 38

5

Met Ser Trp Gln Val Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

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

Trp Ala Gln Ser Gln Asn Phe Pro Gln Leu Lys Pro Glu Glu Val Ala  
 35 40 45

Gly Ile Val Gly Asp Phe Ala Asp Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Ile Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Ala Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Met Ala Leu Val Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

10

ES 2 623 050 T3

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Asp  
 115 120 125

Gln Gly Leu  
 130

5 <210> 39  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Capsicum annuum*

<400> 39

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

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

Trp Ala Gln Ser Ala Thr Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Ala Ile Met Asn Asp Phe Ala Glu Pro Gly Thr Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Ala Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Pro Gly Gly Ile Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Asn Gln Ala Leu Ile Ile Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Ile Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
 115 120 125

Gln Ser Leu  
 130

10 <210> 40  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 15 <213> *Ananas comosus*

<400> 40

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Met Cys Glu Ile Asp  
 1 5 10 15

ES 2 623 050 T3

Gly Gln His Leu Ser Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Ser Thr Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Pro Asn Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Ser  
 35 40 45

Ala Ile Leu Asn Asp Phe Glu Asn Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Val Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Thr Gly Gly Ile Thr Val Lys Lys  
 85 90 95

Thr Asn Leu Ala Leu Ile Ile Gly Val Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Leu Glu  
 115 120 125

Gln Gly Phe  
 130

<210> 41  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Crocus sativus*  
 <400> 41

5

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Cys Asp Met Asp  
 1 5 10 15

Gly His Val Leu Thr Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Ser Val  
 20 25 30

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

Ala Ile Leu Asn Asp Phe Asn Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Met Tyr Ile Asn Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Val Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Val Thr Ile Lys Lys  
 85 90 95

10

ES 2 623 050 T3

Ser Asn Met Ala Leu Ile Phe Gly Leu Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Leu Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Ile Glu  
 115 120 125

Gln Gly Tyr  
 130

5 <210> 42  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> *Musa acuminata*  
 <400> 42

Met Ser Trp Gln Ala Tyr Val Asp Asp His Leu Leu Cys Asp Ile Asp  
 1 5 10 15

Gly Gln Cys Leu Thr Ala Ala Ala Ile Val Gly His Asp Gly Ser Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Asp Ala Phe Pro Gln Cys Lys Pro Glu Glu Ile Ala  
 35 40 45

Ala Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly Ser Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Leu Tyr Leu Gly Gly Thr Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ser Gly Gly Val Thr Ile Lys Lys  
 85 90 95

Thr Asn Leu Ala Leu Ile Ile Gly Ile Tyr Asn Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Cys Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Phe Asp  
 115 120 125

10 Gln Gly Phe  
 130

15 <210> 43  
 <211> 56  
 <212> PRT  
 <213> *Phleum pratense*

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(56)  
 <223> Aminoácidos 71-127 de SEQ ID NO: 1

ES 2 623 050 T3

<400> 43

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

Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys Thr Gly Gln Ala Leu Val Val  
20 25 30

Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro Gly Gln Cys Asn Met Val Val  
35 40 45

Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val  
50 55

5

<210> 44

<211> 131

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> SEQ ID NO: 1 con sustituciones C13S y C115S

15

<400> 44

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Ser Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Met Phe Val Ala Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Ser Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
 115 120 125

Gln Gly Met  
 130

5 <210> 45  
 <211> 131  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> SEQ ID NO: 1 con sustituciones C13A y C115A  
 <400> 45

ES 2 623 050 T3

Met Ser Trp Gln Thr Tyr Val Asp Glu His Leu Met Ala Glu Ile Glu  
 1 5 10 15

Gly His His Leu Ala Ser Ala Ala Ile Leu Gly His Asp Gly Thr Val  
 20 25 30

Trp Ala Gln Ser Ala Asp Phe Pro Gln Phe Lys Pro Glu Glu Ile Thr  
 35 40 45

Gly Ile Met Lys Asp Phe Asp Glu Pro Gly His Leu Ala Pro Thr Gly  
 50 55 60

Met Phe Val Ala Gly Ala Lys Tyr Met Val Ile Gln Gly Glu Pro Gly  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Arg Gly Lys Lys Gly Ala Gly Gly Ile Thr Ile Lys Lys  
 85 90 95

Thr Gly Gln Ala Leu Val Val Gly Ile Tyr Asp Glu Pro Met Thr Pro  
 100 105 110

Gly Gln Ala Asn Met Val Val Glu Arg Leu Gly Asp Tyr Leu Val Glu  
 115 120 125

Gln Gly Met  
 130

5 <210> 46  
 <211> 396  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> ADN codificante de SEQ ID NO: 44  
 <400> 46

atgagctggc aaacgtatgt cgatgaacac ctgatgagcg aaattgaagg tcaccacctg 60  
 gcgtcggcgg ctattctggg tcacgatggc accgtttggg cacagagcgc tgattttccg 120

caattcaaac cggaagaaat taccggcatc atgaaggatt ttgacgaacc ggtcatctg 180  
 gcaccgacgg gcatgttcgt cgcaggtgcc aatatatgg tgattcaggg tgaaccgggt 240  
 gcagtcatcc gtggcaaaaa gggtgccggc ggtattacca tcaaaaagac gggccaagcc 300  
 ctggtggttg gtatttacga cgaaccgatg acgccgggtc aaagcaacat ggtggtggaa 360  
 cgtctgggcg actatctggt ggaacagggt atgtag 396

15 <210> 47  
 <211> 326

ES 2 623 050 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> ADN codificante de SEQ ID NO: 45

<400> 47

```
cgattctggg tcacgatggc accgtttggg cacagagcgc tgattttccg caattcaaac      60
cggaagaaat taccggcatc atgaaggatt ttgacgaacc ggtcatctg gcaccgacgg      120
gcatgttcgt cgcaggtgcc aaatatatgg tgattcaggg tgaaccgggt gcagtcatcc      180
gtggcaaaaa ggtgcccggc ggtattacca tcaaaaagac gggccaagcc ctggtggttg      240
gtatttacga cgaaccgatg acgccgggtc aagcaaacat ggtggtggaa cgtctgggtg      300
attatctggt ggaacagggt atgtag                                           326
```

10

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un polipéptido para su uso en el tratamiento de una respuesta inmune de hipersensibilidad en un individuo, en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está causada por un alérgeno distinto de la profilina de un material vegetal que contiene profilina, en el que dicho polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 60 % de identidad con SEQ ID NO: 1.
2. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 75 % de identidad con SEQ ID NO: 1.
3. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que una parte del polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO: 43.
- 10 4. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polipéptido es una profilina que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1-42 o una variante de dicha profilina, en el que la variante comprende un aminoácido seleccionado de A (alanina), G (glicina) o S (serina) en la posición 13 y/o en la posición 115 de SEQ ID NO: 1.
- 15 5. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-42 están sin metionina en el extremo N-terminal.
6. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el material vegetal que contiene profilina es de un orden de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Poales*, *Asterales*, *Fagales* y *Lamiales*.
- 20 7. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el material vegetal que contiene profilina es polen.
8. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el material vegetal que contiene profilina es polen de un género de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Anthoxanthum*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Festuca*, *Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Oryza*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Secale*, *Sorghum*, *Triticum* y *Zea*.
- 25 9. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el material vegetal que contiene profilina es polen de un género de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Ambrosia* y *Artemisia*.
10. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el material vegetal que contiene profilina es polen de un género de plantas seleccionado del grupo que consiste en *Betula*, *Alnus*, *Carpinus*, *Corylus*, *Ostrya*, *Fagus*, *Quercus*, *Castanea*, *Juglans* y *Carya*.
- 30 11. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el material vegetal que contiene profilina es polen del género de plantas *Olea*.
12. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el individuo no está sensibilizado a la profilina del material vegetal que contiene profilina antes de la administración de la primera dosis del polipéptido.
- 35 13. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polipéptido no se administra junto con un alérgeno distinto de la profilina.
14. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polipéptido se administra por vía sublingual.
15. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la respuesta inmune de hipersensibilidad está asociada con una respuesta inmune alérgica.
- 40 16. Un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, en el que 1 o 2 resto/s de cisteína está/n sustituido/s con un aminoácido seleccionado de A (alanina), G (glicina) y/o S (serina).
17. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 16, en el que el polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 o 45.
- 45 18. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 16 y 17, en el que la secuencia de aminoácidos no contiene metionina en la posición 1.
19. Un ácido nucleico aislado que codifica la proteína de SEQ ID NO: 44 o 45.
20. El ácido nucleico aislado de acuerdo con la reivindicación 19 que tiene SEQ ID NO: 46 o 47.

Fig 1.

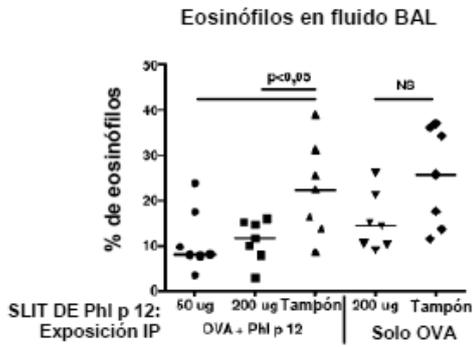


Fig 2.

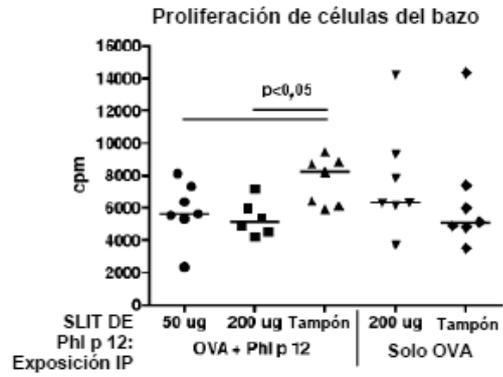


Fig 3.

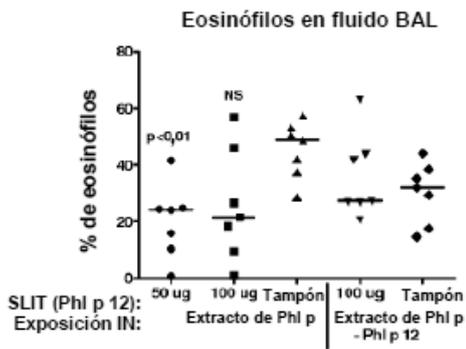


Fig 4.

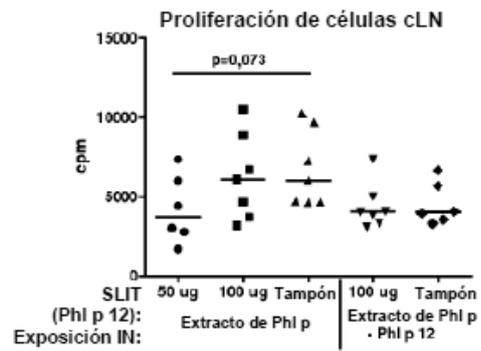


Fig 5.

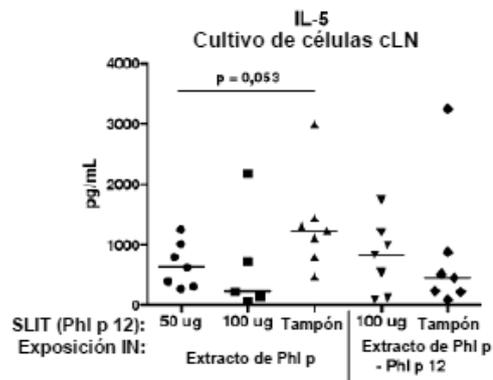


Fig 6.

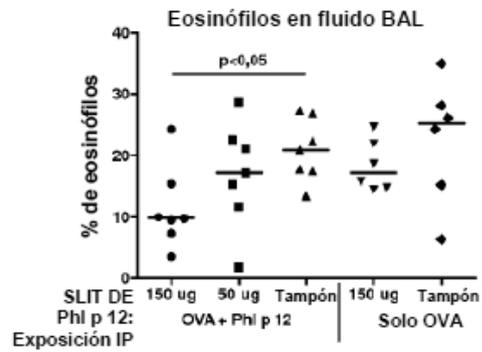


Fig 7.

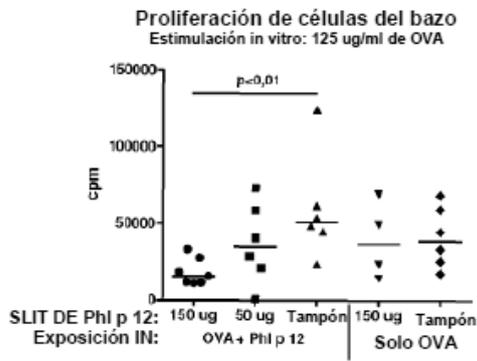


Fig 8.

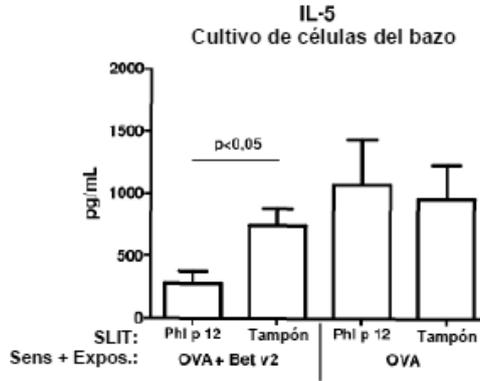


Fig 9.

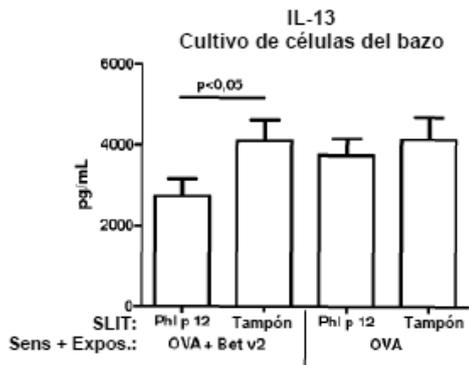


Fig 10.

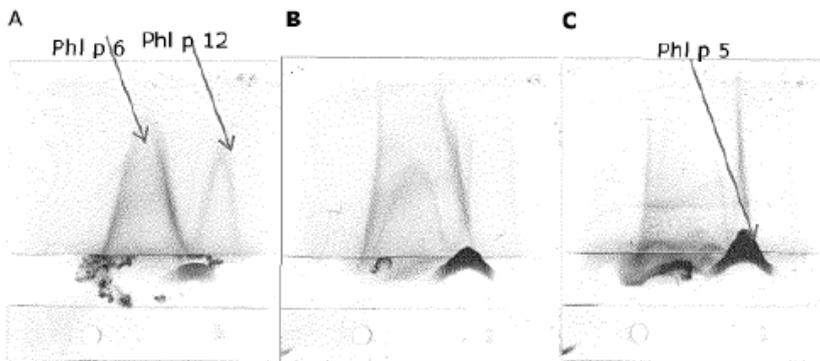


Fig 11.

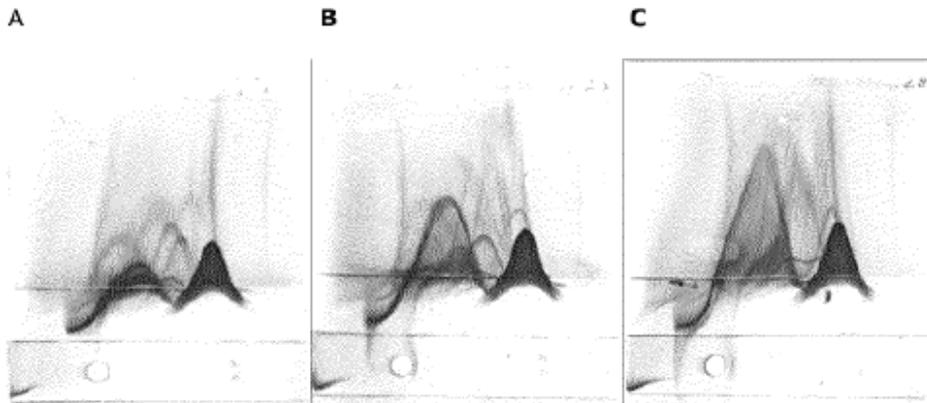


Fig 12.

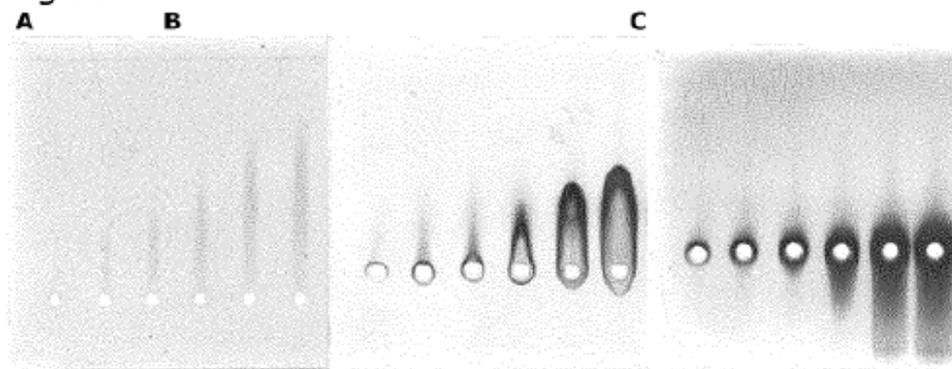


Fig13.

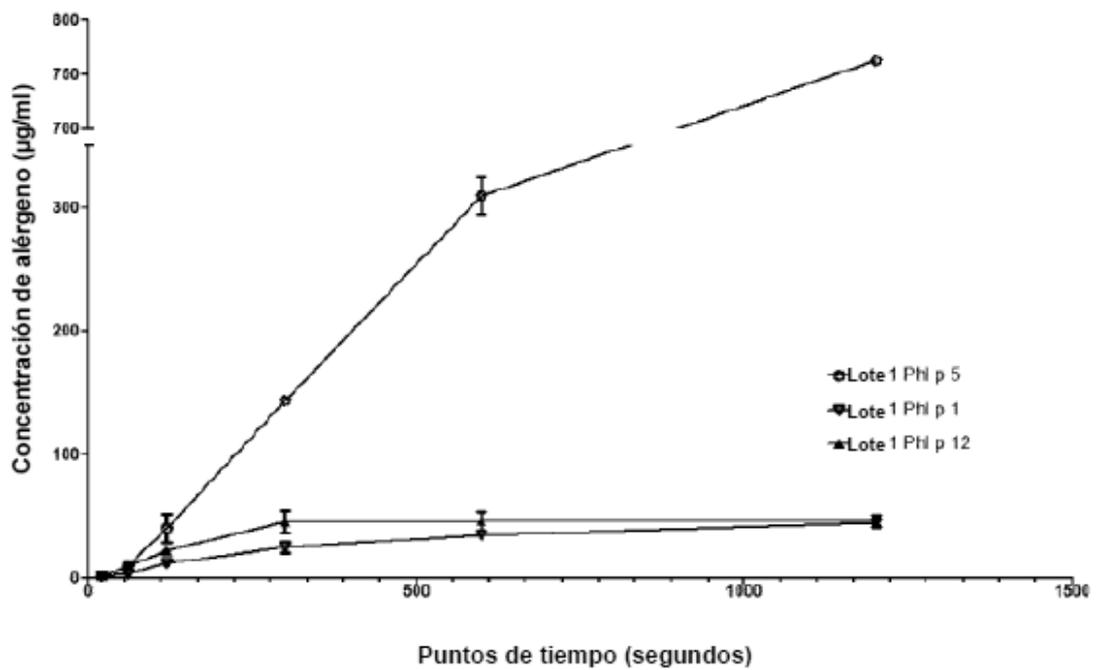


Fig 14.

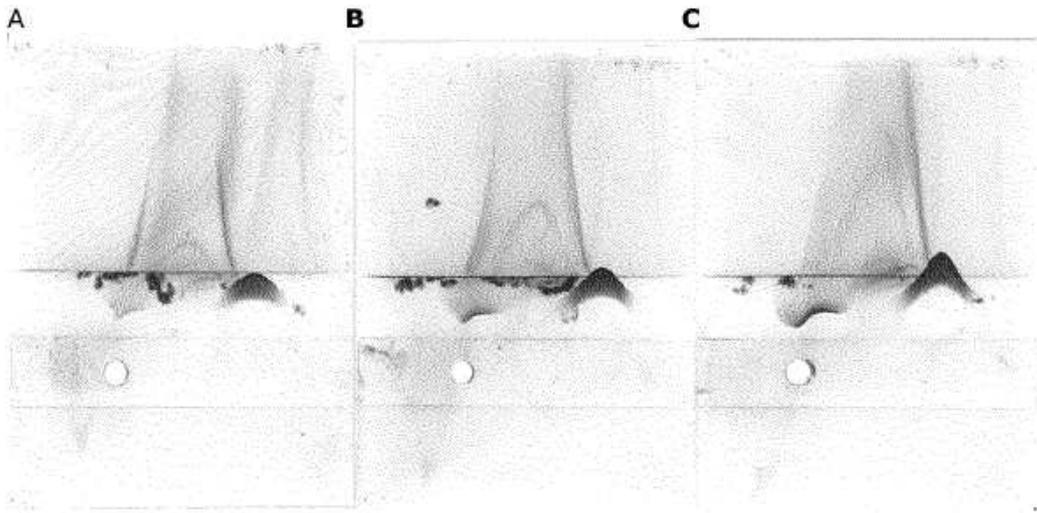


Fig 15.

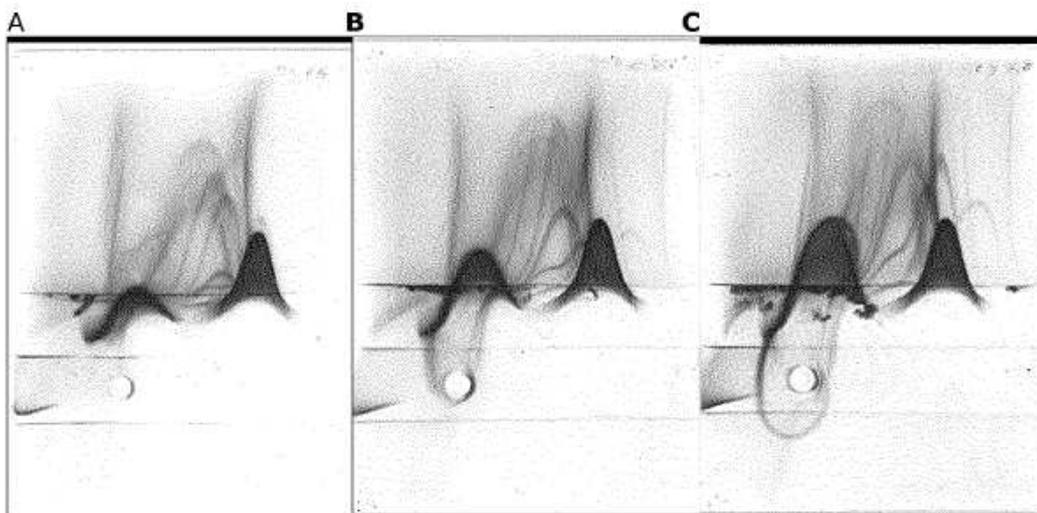


Fig 16.

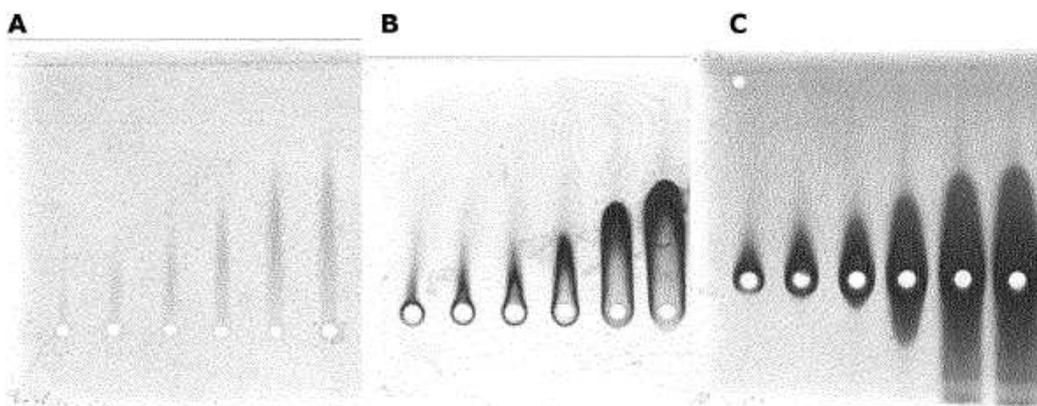


Fig 17.

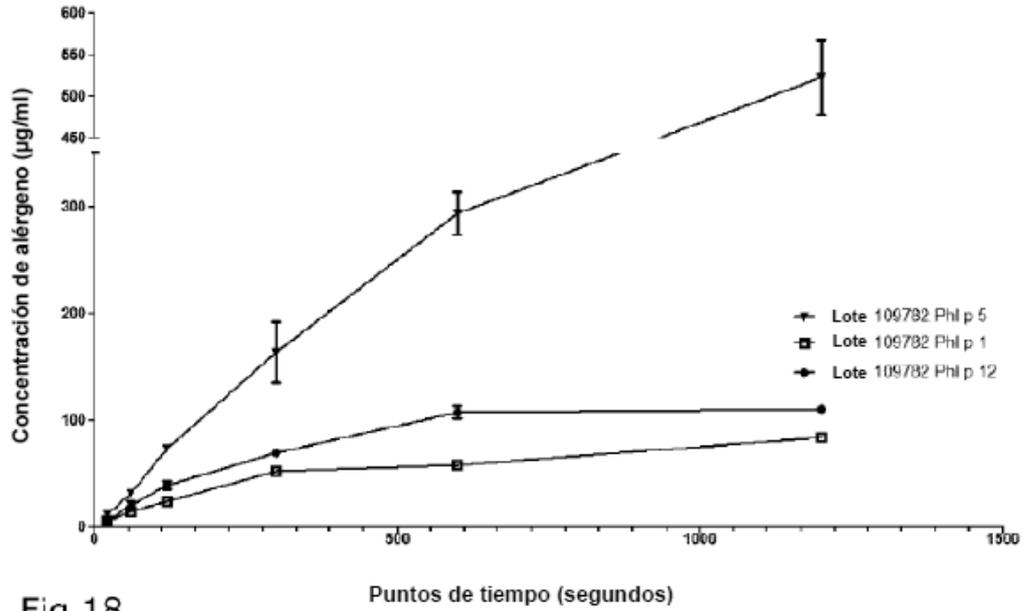


Fig 18.

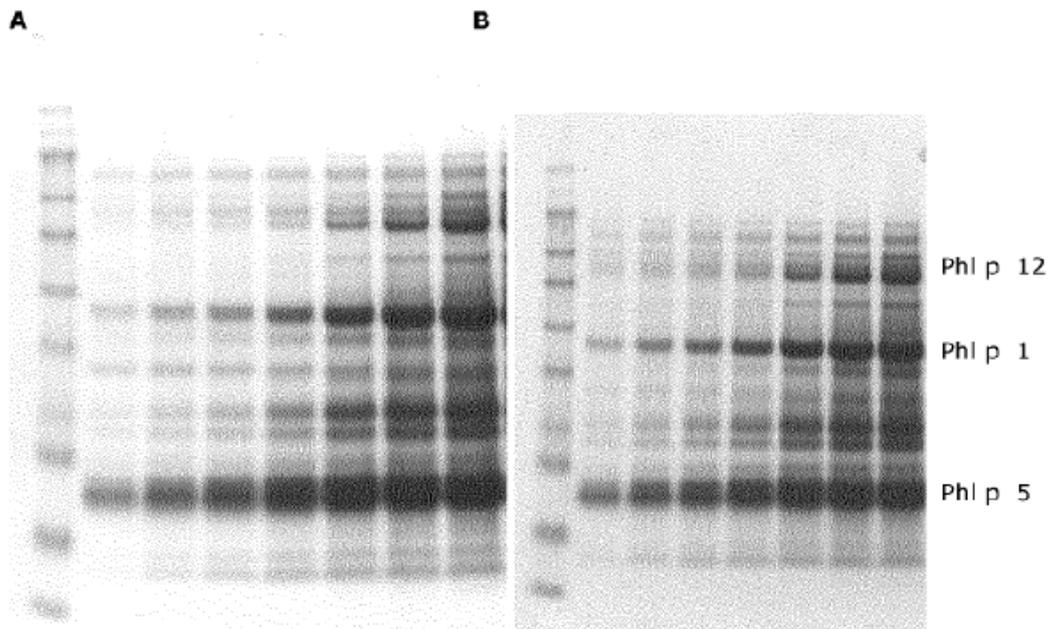


Fig 19.

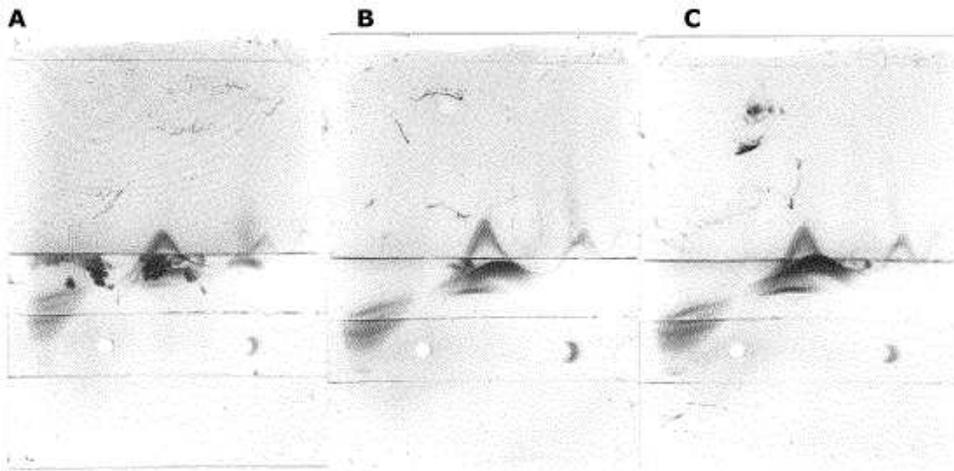


Fig 20.

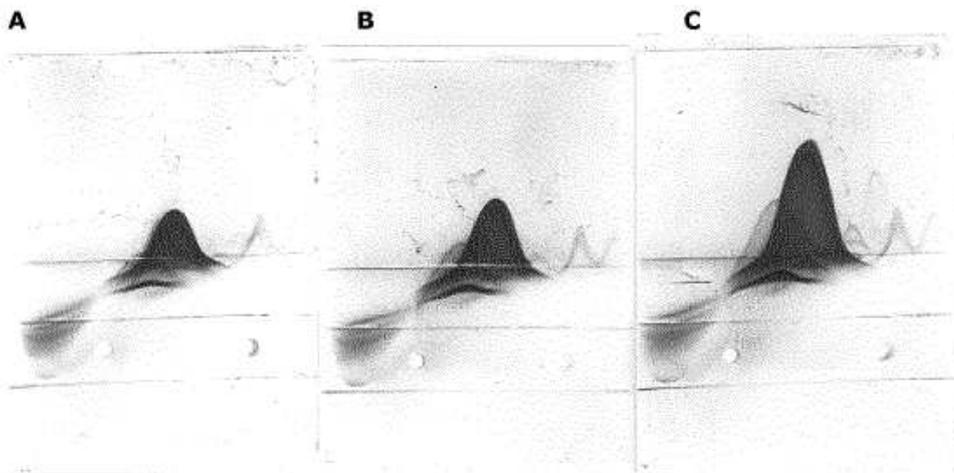


Fig 21.

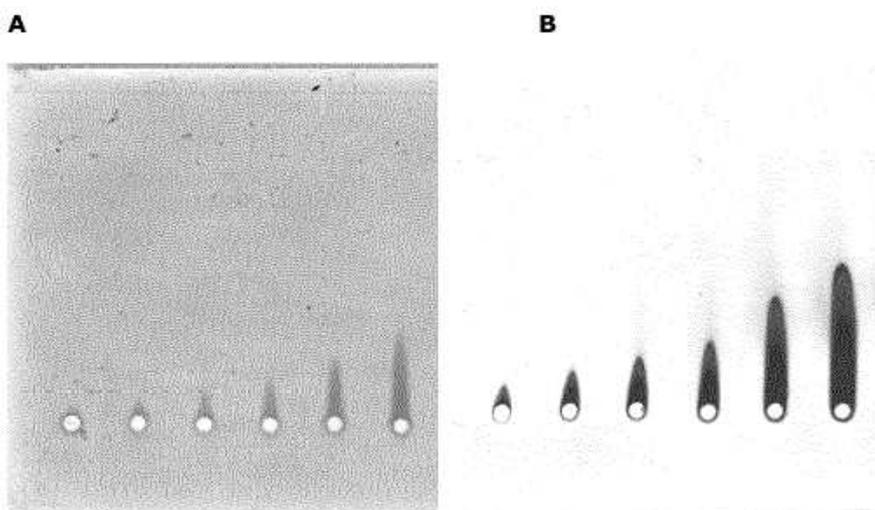


Fig 22.

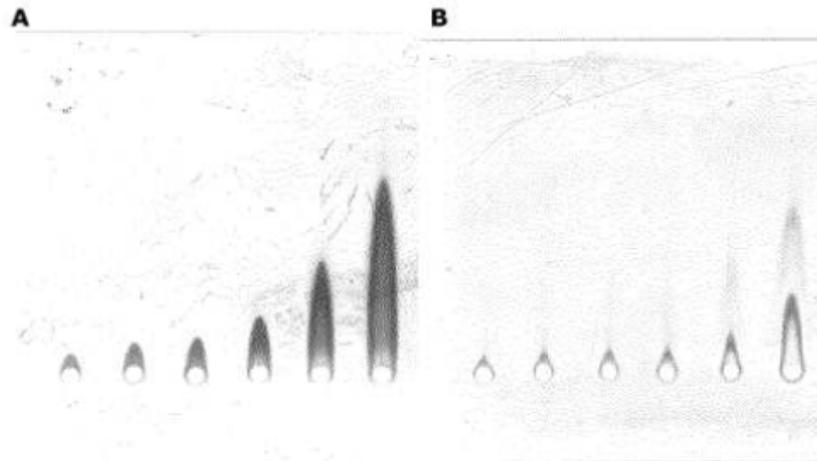


Fig 23.

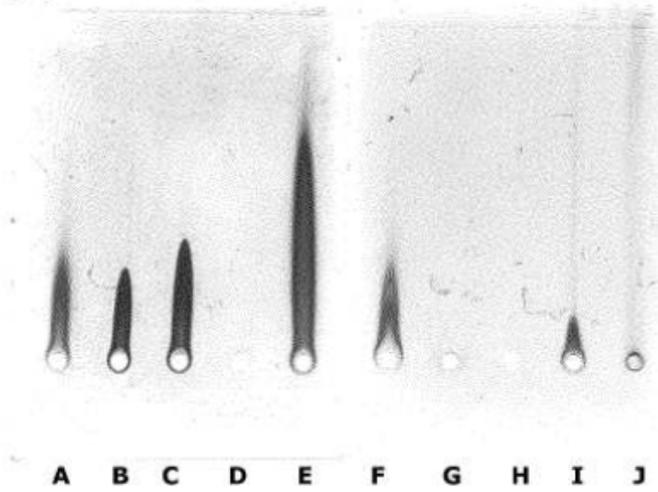


Fig 24.

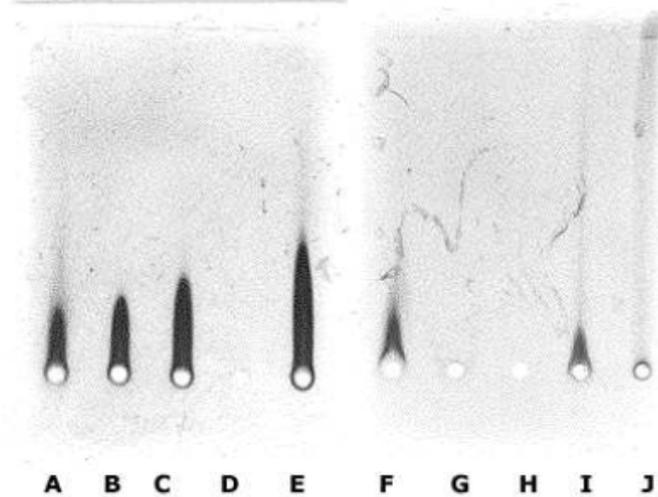


Fig 25.

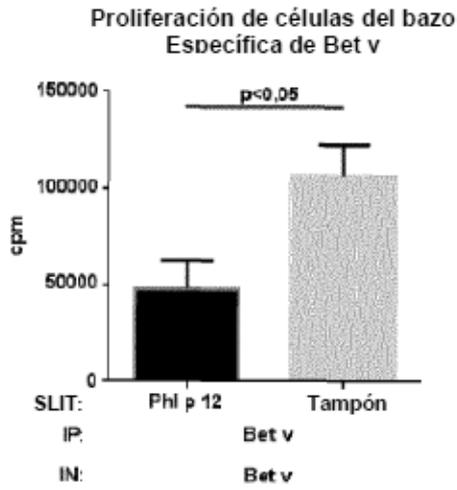


Fig 26.

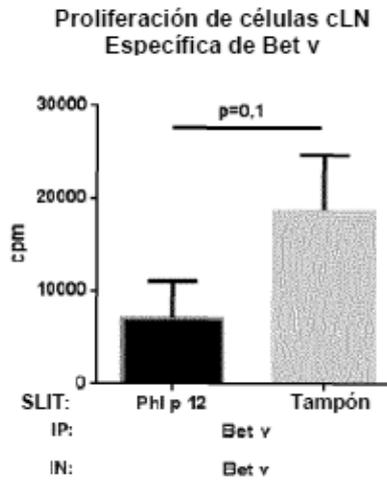


Fig 27.

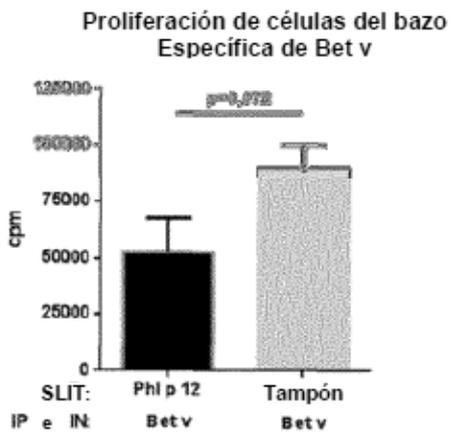


Fig 28.

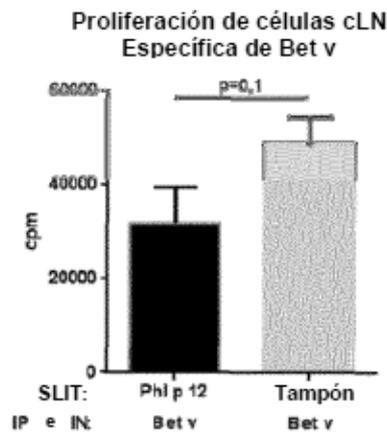


Fig 29.

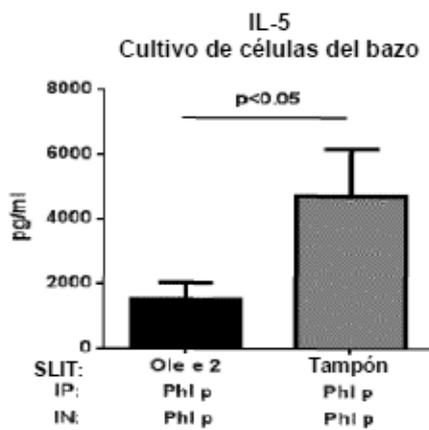


Fig 30.

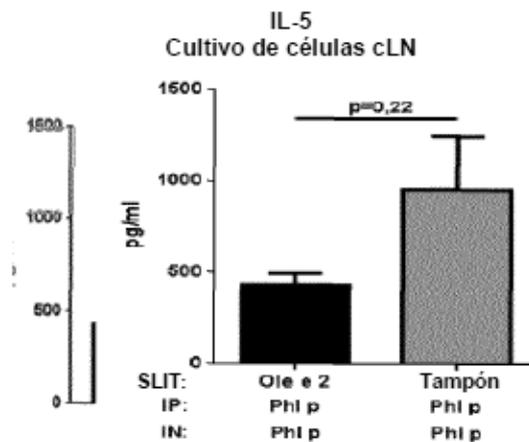


Fig 31.

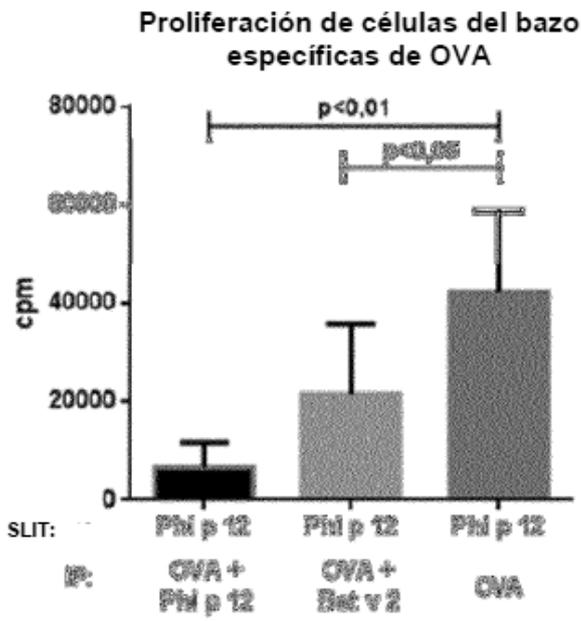


Fig 32A.

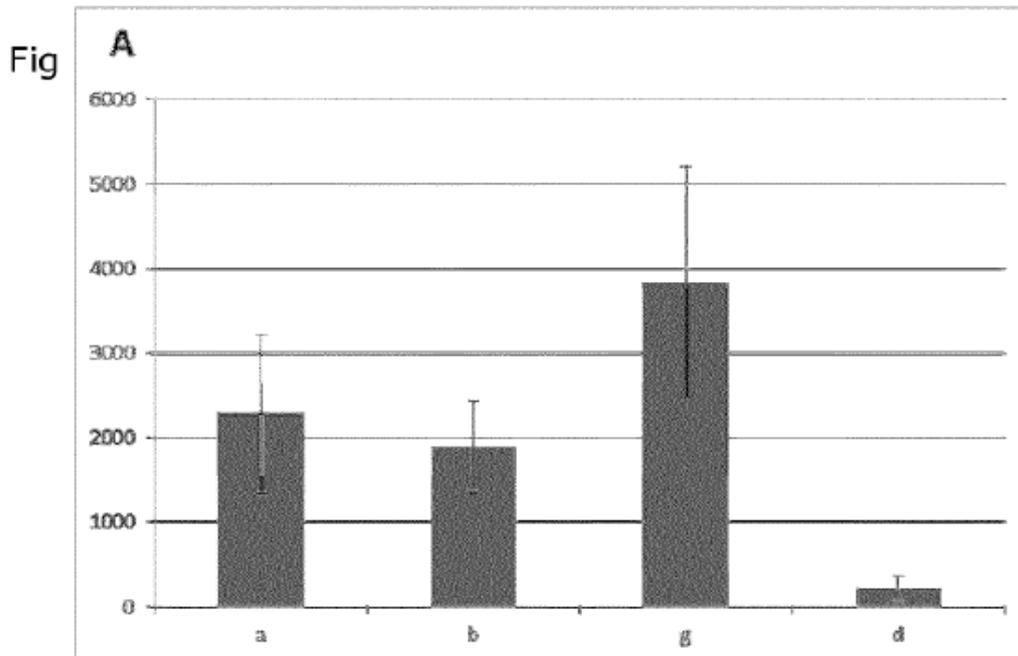


Fig 32B.

