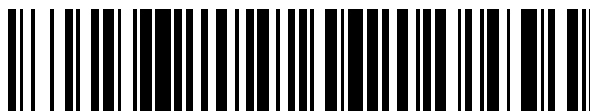


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 626 492**

51 Int. Cl.:

C12M 1/04	(2006.01)
A61K 39/12	(2006.01)
A61K 39/245	(2006.01)
C12N 5/0783	(2010.01)
A61K 39/235	(2006.01)
A61K 35/17	(2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.12.2012 PCT/GB2012/053113**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2013 WO13088147**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.12.2012 E 12815750 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017 EP 2791163**

54 Título: **Procedimiento para la expansión de células t**

30 Prioridad:

12.12.2011 GB 201121308

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.07.2017

73 Titular/es:

**CELL MEDICA LIMITED (100.0%)
1 Canal Side Studios 8-14 St. Pancras way
London NW1 0QG, GB**

72 Inventor/es:

**KNAUS, RAINER, LUDWIG y
NEWTON, KATY, REBECCA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 626 492 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

Procedimiento para la expansión de células t

5 La presente invención se refiere a un nuevo procedimiento para expandir células T, en particular células T específicas de antígenos, tales como células T alogénicas, poblaciones de células de las mismas, composiciones farmacéuticas que comprenden las poblaciones de células mencionadas y al uso de las células y composiciones para el tratamiento, en particular el tratamiento o la profilaxis de la infección por virus, especialmente en pacientes inmunocomprometidos.

Antecedentes

10 Los pacientes inmunocomprometidos son susceptibles de infecciones por virus oportunistas. Este es un enorme problema en pacientes con trasplante de médula ósea debido a que presentan un empobrecimiento en sus células inmunitarias como parte del procedimiento de trasplante de médula ósea y otras veces éstas se vuelven no funcionales debido al tratamiento con esteroides para la Enfermedad de Injerto contra Anfitrión (GvHD) que es una complicación común del trasplante de médula ósea. Los virus latentes tales como Citomegalovirus (CMV) y Adenovirus (ADV) se re-activan y el organismo es incapaz de luchar contra la infección. El término trasplante de 15 médula ósea según se utiliza en la presente memoria describe todas las formas de trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (alo-HSCT, por sus siglas en inglés) incluyendo procedimientos que implican la donación de células madre procedentes de donantes relacionados o no relacionados o de sangre de cordón umbilical.

20 Se ha desarrollado una práctica de reconstitución inmunitaria y ésta implica el trasplante (transferencia adoptiva) al paciente trasplantado de células inmunitarias procedentes de un donante de HLA compatible, normalmente el mismo donante que proporciona la médula ósea. Parece que el injerto de estas células en el paciente proporciona inmunidad a largo plazo frente a patógenos o al menos una ayuda profesional en la lucha contra la infección hasta que el propio sistema inmunitario del paciente está completamente reconstituido por medio del injerto de células madre hematopoyéticas del donante que a continuación se desarrollarán en un surtido diverso de células de la sangre y células inmunitarias.

25 Años de investigación clínica en la transferencia adoptiva de células inmunitarias de donante para lograr la reconstitución inmunitaria en un paciente después del trasplante de médula ósea han ilustrado las ventajas de este enfoque así como los retos de la optimización del enfoque para asegurar un resultado sistemáticamente eficaz y seguro. En algunos casos, el número de células inmunitarias del donante que es necesario para efectuar la reconstitución inmunitaria frente a un patógeno específico no se puede obtener a través de sistemas simples de selección mecánica. En tales casos, la dosificación mínima de las células inmunitarias terapéuticas, en particular 30 células T específicas del antígeno que demuestran una respuesta inmunitaria de memoria adaptativa contra el patógeno diana, se puede obtener expandiendo la población de células T del donante deseadas sobre una base *ex vivo* utilizando un sistema de cultivo celular. La técnica anterior indica que el procedimiento de expansión de las células procedentes de la muestra del donante generalmente dura aproximadamente 21 días y la prioridad ha sido expandir las células específicas con el fin de obtener el número más alto posible (rendimiento) de las poblaciones de células relevantes así como la pureza más alta posible de las poblaciones de células relevantes, para obtener por ejemplo de ese modo una población que esté próxima al 100 por ciento de pureza para las células diana. Esto supone, obviamente, largos períodos de expansión y estimulación de antígenos repetida para garantizar que las células se siguen expandiendo, a través del cultivo celular. Si bien no se desea estar limitado por la teoría, es probable que el pensamiento que hay tras esto sea doble, en primer lugar que a mayor número de células relevantes más eficaz será el tratamiento y en segundo lugar que al garantizar una población diana altamente purificada, se evitan toxicidades y efectos no deseados de la contaminación de los productos celulares.

45 La IL-2 exógena se ha utilizado tradicionalmente en el cultivo, puesto que esta citoquina se ha caracterizado como un factor de crecimiento de células T. Generalmente, la fuente de IL-2 exógena se requiere una vez o dos veces por semana durante el procedimiento de expansión.

Los autores de la presente invención han establecido un procedimiento rápido para la expansión de células T específicas del antígeno que proporciona una o más de las siguientes ventajas ya que es:

- 1) eficaz, robusto, viable, y/o económicamente rentable para la producción del producto celular
- 2) proporciona una dosis terapéutica (rendimiento) de las células T específicas del antígeno en un período mínimo de tiempo de cultivo
- 3) minimiza la contaminación de otras células que puede causar toxicidades no deseadas en el paciente, en particular enfermedad de Injerto frente a Anfitrión en un contexto clínicamente relevante
- 4) garantiza el cumplimiento de los requerimientos de producción de BPF a través del desarrollo de adaptaciones tecnológicas nuevas y de la invención a la tecnología existente que no se ajusta a los requerimientos de BPF
- 55 5) proporciona la opción de omitir la adición de IL-2 exógena

6) permite la expansión de una muestra de sangre del donante que se considera movilizada definida por el donante que ha recibido G-CSF antes de realizar la donación de médula ósea (célula madre hematopoyética)

7) proporciona un producto con características equivalentes a, o mejores que, las de la técnica anterior al optimizar un equilibrio deseable alcanzado entre la expansión adecuada de las poblaciones de células T específicas del antígeno y la presencia de poblaciones de células contaminantes potencialmente nocivas, y

8) permite la expansión a partir de una pequeña muestra del donante en el intervalo de 50-100 ml.

Esto se explicará con más detalle a continuación.

Además de estas mejoras prácticas, los autores de la presente invención tienen razones para creer que los métodos de la técnica anterior de cultivo de células durante períodos de tiempo prolongados particularmente en presencia IL-2 pueden dar como resultado poblaciones de células T que demuestran un cierto grado de agotamiento o anergia. Es decir, puede haber un gran número de las células deseadas presente en la población pero muchas de estas pueden no estar funcionando o pueden estar funcionando por debajo del óptimo, por ejemplo hiposensibles en uno o más aspectos funcionales.

Compendio de la invención

Los autores de la presente invención han ideado un procedimiento de expansión *in vitro* para la rápida expansión de células T específicas de antígenos, tales como células T específicas de antígenos alogénicos que comprende las etapas de cultivar, en un recipiente que comprende una superficie de cultivo permeable a los gases, una población de PBMC (en particular PBMC alogénicas) en presencia de un péptido reconstituido acuoso o una mezcla de péptidos reconstituidos acuosos relevantes para uno o varios antígenos diana, en donde los péptidos contienen al menos 2 pero no más de 50 aminoácidos, en donde el cultivo se lleva a cabo en presencia de al menos una citoquina exógena seleccionada del grupo que comprende IL-4, IL-7 e IL-15, y el procedimiento se lleva a cabo sin la adición de IL-2 exógena y en donde no se añaden ni se cambian medios ni nutrientes después del inicio del procedimiento de expansión y en donde la expansión proporciona la población de células T deseada en 14 días o menos.

El procedimiento de la presente descripción tiene muchas ventajas ya que reduce el tiempo y las fuentes requeridas para expandir las células T específicas de antígenos, es robusto y minimiza el riesgo de contaminación y estos aspectos son de una enorme importancia práctica porque el procedimiento se puede hacer compatible con las BPF y hará la terapia accesible a un número mayor de pacientes que lo necesiten.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1

es una representación diagramática del sistema GRex asequible de Wilson Wolf

Figura 2

es una representación diagramática del aparato empleado en la Figura 3

Figura 3

es una representación diagramática de un sistema GRex modificado adecuado para su uso como sistema cerrado

Figura 4A y B

es un gráfico de dos muestras que muestran que es suficiente una recogida de 50-100 ml de sangre para generar una dosis suficiente de células T específicas de adenovirus desarrolladas utilizando IL-4/7 pero no sin ellas.

Figura 5A y B

muestra las células formadoras de manchas en un análisis específico de citoquinas para determinar las células expandidas a partir del donante II y III que fueron cultivadas en presencia de péptido pp65 de CMV, IL4 e IL7 o en ausencia de citoquinas.

Figura 6A y 6B

Muestra las tasas de crecimiento celular para poblaciones expandidas específicas de CMV y adenovirus.

Figura 7

Muestra la producción de citoquinas específicas de adenovirus y CMV utilizando Elispot.

Figura 8

Protocolo de expansión con IL-4 vs protocolo de expansión con IL-2

Figura 9

Cultivo con concentraciones de péptido de 5 ng/ml (CMV), 50 ng/ml (10XCMV) o 250 ng/ml (50XCMV)

5 Figura 10

Muestra las producciones de IFN γ a diferentes concentraciones de péptido

Descripción detallada de la invención

La rápida expansión empleada en la presente memoria hace referencia a un procedimiento en un producto terapéutico que se obtiene en menos de 18 días, por ejemplo 7-10 días.

10 La población de células T específicas de antígenos obtenida del procedimiento es como mínimo equivalente al producto obtenido en los métodos de la técnica anterior, pero en numerosos aspectos puede tener mejores propiedades, por ejemplo puede mostrar una anergia o un agotamiento menor o nulos en comparación con las células preparadas mediante procedimientos de la técnica anterior.

15 La activación de las células T está estrechamente controlada mediante muchos procedimientos reguladores positivos y negativos. Esto permite al organismo proporcionar inmunidad a patógenos a la vez que se minimiza la autoinmunidad. La activación de las células T se produce cuando moléculas específicas de la superficie de las células presentadoras de antígenos profesionales, tales como las células dendríticas, se unen al receptor de células T y también proporcionan un factor co-estimulador.

20 Está documentado que la anergia o la hipo-sensibilidad se pueden producir, por ejemplo cuando el antígeno o las células presentadoras de antígenos se vinculan al receptor de células T en ausencia de una señal co-estimuladora. Esta hipo-sensibilidad se puede manifestar por niveles reducidos de secreción de citoquina, por ejemplo niveles más bajos de secreción de interferón-gamma y/o niveles más bajos de secreción de IL-13.

25 La carencia de anergia, por ejemplo se puede ilustrar debido a que las células preparadas mediante el presente procedimiento secretan de promedio (media) más interferón gamma que las células preparadas mediante el procedimiento de la técnica anterior, cuando se mide la secreción de la población en su totalidad y a continuación se divide por el número de células en la población relevante para proporcionar la media.

In vitro al menos ciertos tipos de anergias son reversibles, por ejemplo mediante la adición de IL-2. No se sabe cómo responden las células anérgicas in vitro en el caso de la transferencia adoptiva de células a un paciente si las células anérgicas pueden ser recuperadas para realizar sus funciones naturales.

30 Si bien no se desea estar limitado por la teoría cuando se preparan poblaciones de células T específicas de antígenos terapéuticas, el número absoluto de células para la dosificación puede no ser el factor más definitivo al proporcionar un producto eficaz. En lugar de eso, puede ser más relevante la funcionalidad de las células administradas. Es decir la administración de células en donde se minimiza el número de células hipo-sensibles.

35 El presente procedimiento optimiza la cantidad de células funcionales ya que el cultivo de las células es durante un período relativamente corto, generalmente 14 días o menos. De este modo, las células no se activan artificialmente hasta el punto de que empiezan a volverse inviables o hipo-sensibles.

40 En una realización, las células se expanden en ausencia de IL-2 exógena y en lugar de ello en presencia solamente de IL-2 endógena. Aunque se sabe que IL-2 es un estimulador de las células T, cuando se emplea la observación empírica en el presente método, parecería que ésta conduce la proliferación demasiado rápido y puede dar como resultado algunas desventajas.

En una realización se emplea una pequeña cantidad de IL-2 exógena, p. ej., 10 unidades o menos por ml.

Un factor exógeno es uno que no está presente en el cultivo de PBMC sin adición o en el que las cantidades naturalmente presentes en el cultivo celular aumentan por la adición de cantidades exógenas del factor.

45 La expansión de las células durante un período de tiempo reducido y/o sin la adición de IL-2 exógena significa que se evitan las condiciones artificiales (por ejemplo períodos sostenidos de expansión y/o altos niveles de estimulación) del procedimiento de la técnica anterior y de ese modo se puede minimizar la anergia/agotamiento resultante del mismo.

El procedimiento actual equilibra la generación de una población suficiente de células T específicas de antígenos a la vez que minimiza, pero no necesariamente elimina, las poblaciones de células no diana.

50 Generalmente, la población de células expandidas obtenida del procedimiento actual no contiene más de 80% de la

población de células T específicas de antígenos diana y esto representa una marcada desviación del conocimiento del campo establecido.

5 Si bien no se desea estar limitado por la teoría, se cree que la población de células T específicas de antígenos generada es suficiente para continuar la expansión *in vivo*. Esto puede ser en parte debido a que las células producidas no son anérgicas/ni están agotadas.

Se pretende que las células administradas al paciente mediante infusión continúen la expansión *in vivo*. Se cree que las células T específicas de antígenos generadas mediante el procedimiento descrito en la presente memoria son adecuadas para el propósito terapéutico deseado.

10 Otras poblaciones de células en el producto expandido de acuerdo con la presente descripción como mínimo no son perjudiciales y de hecho pueden resultar beneficiosas, por ejemplo debido a que la población global de células infundidas en el paciente pueden ser más representativas del entorno natural *in vivo* y por tanto más compatibles con él.

15 Se pretende que la anergia en el contexto de la presente memoria descriptiva haga referencia a una insensibilidad funcional de las células T de una o más maneras en presencia del antígeno, por ejemplo fracaso para experimentar expansión específica de antígenos y/o fracaso para secretar citoquinas tales como TNF- α o interferón gamma. Las poblaciones empleadas en la presente memoria comprenden numerosas células individuales. La población relevante no se considerará anérgica en la medida en que al menos 80% de la población no sea anérgica en cualquier aspecto, por ejemplo 85, 90, 95 o 100% de las células relevantes no sean anérgicas. Por supuesto la anergia no es un análisis binario sino que debe considerarse dentro de un intervalo de la calidad de las respuestas de las células T
20 medida por uno o más análisis funcionales.

Como se ha descrito anteriormente se pretende que la anergia en el contexto de la presente memoria descriptiva sea un término genérico que haga referencia a la reducción de la función celular de una o más maneras relevantes. El término incluye el agotamiento celular, por ejemplo cuando las células ya no son capaces de dividirse. La célula es referida a continuación como senescente. Las células dejan de dividirse debido a que los telómeros, extensiones protectoras de ADN en el extremo de un cromosoma necesarias para la replicación, se acortan con cada división celular, reduciéndose eventualmente hasta un punto que a través de mecanismos biológicos, limita una nueva división celular.

En una realización la anergia es hipo-sensibilidad.

25 En una realización, la anergia puede ser reversible *in vitro* mediante la adición de IL-2. Esta característica se puede emplear como un análisis para ciertos tipos de anergia.

Existen ciertos marcadores de la superficie celular que son exhibidos por células anérgicas, por ejemplo PD-1 (proteína de muerte celular programada 1 Uniprot Q15116) o ligando de PD-1. En una realización 10% o menos tal como 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1% de la población de células T específicas de antígenos expandida expresa PD-1 sobre su superficie. Blimp-1 puede ser otro marcador de anergia de la superficie celular.

35 En otra realización, PD-1 no se expresa permanentemente sobre las células T y la expresión es reversible. Los marcadores para las células que pueden ser apoptóticas pueden incluir la regulación a la baja de uno o más de CD4, CD8, HSA, CD45RB o una combinación de los mismos y/o la regulación al alza de uno o más CD3/TCR, CD69 y CD25). "Célula T" es un término comúnmente empleado en la técnica y se pretende que incluya todas las células CD3+ incluyendo timocitos, linfocitos T inmaduros, linfocitos T maduros, linfocitos T en reposo o linfocitos T
40 activados. Una célula T puede ser una célula T coadyuvante (Th), por ejemplo una célula T coadyuvante 1 (Th1) o una célula T coadyuvante 2 (Th2), aunque se están descubriendo otros agrupamientos de poblaciones de células T basándose en la investigación exhaustiva. La célula T puede ser una célula TCD4+, una célula T CD8+, una célula T CD4+CD8+, una célula T CD4-CD8- o cualquier subgrupo de células T.

45 El rasgo distintivo de las células T que son el producto del procedimiento actual es que la célula T tiene un receptor de célula T asociado CD3+ (TCR) que proporciona la especificidad para el antígeno que es un aspecto clave de la eficacia y seguridad de las células para el uso pretendido de reconstitución de la inmunidad sobre una base específica del patógeno en el paciente. La población de células diana se puede seleccionar empleando este marcador.

50 En una realización la población de células T específica del antígeno diana está sesgada hacia una población CD4+. Es decir, la respuesta específica del antígeno está centrada en las células CD4+. En una realización, las poblaciones contienen más células CD4+ que, por ejemplo células CD8+.

La población de células T específicas del antígeno empleada en la presente memoria hace referencia a células T que son específicas para el antígeno al cual se dirigen. Específica hace referencia a la capacidad de las células T relevantes para discriminar entre las dianas antigénicas y otras entidades para las cuales no son específicas.

55 El recipiente que comprende una superficie de cultivo permeable a los gases es una parte significativa de este

procedimiento puesto que permite una expansión eficaz en presencia de todos los nutrientes requeridos (medios de expansión de células T), sin la necesidad de cambiar los medios o proporcionar factores adicionales. De este modo, el recipiente puede soportar el volumen de medio requerido a la vez que permite el intercambio de gas con el entorno para garantizar niveles de oxígeno suficientes para el crecimiento celular.

5 El procedimiento de la presente descripción se realiza de manera adecuada en un recipiente que comprende una superficie de cultivo permeable a los gases. Se pretende que el recipiente empleado en la presente memoria haga referencia a cualquier tipo de contenedor adecuado para la retención de las células, los medios etc., por ejemplo una bolsa, tal como una bolsa de tipo infusión (provista de una porción permeable a los gases) o un recipiente rígido, tal como un sistema GRex™, véase la Figura 1. La superficie de cultivo permeable a los gases facilita la rápida expansión de las células y minimiza el número de cambios de medio necesarios. Esto permite la elaboración de las células expandidas en un procedimiento denominado de un toque, en donde todos los componentes para el procedimiento se insertan de una vez y se pueden dejar sin interferencia hasta que se completa la expansión. La única etapa que permanece es la cosecha de las células expandidas.

15 El documento WO 2005/035728 incorporado a la presente memoria como referencia describe cómo preparar un recipiente permeable a los gases (es decir, un recipiente que comprende una superficie de cultivo permeable a los gases). En una realización se emplea material permeable a los gases de silicona.

En una realización el sistema empleado es un sistema GRex™ de Wilson Wolf. El sistema permite expandir las células en 20 días o menos, por ejemplo 14, 13, 12, 11, 10 días o menos, tal como 14 días o 10 días.

20 La expansión rápida utilizada en la presente memoria es una expansión durante aproximadamente 18 días o menos, tal como 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 o 7, tal como 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 o 7 días. En la mayoría de los casos 9 o 10 días parece ser el óptimo. Esta expansión rápida permite añadir todos los nutrientes y medios para el cultivo, por ejemplo al principio del procedimiento y las células pueden crecer y dividirse sin ninguna intervención adicional. Esto resulta ventajoso porque minimiza la contaminación y el potencial de errores y también minimiza los recursos humanos requeridos para expandir las células.

25 El sistema también se puede adaptar para transformarlo en un sistema cerrado para permitir que el producto se fabrique asépticamente, por ejemplo como se describe la Solicitud Provisional de los Estados Unidos núm. de serie 61/550.246. En una realización, el sistema es un sistema modificado como se describe en el documento PCT/GB2012/052587.

30 De este modo en una realización el sistema es un sistema cerrado adecuado para el cultivo aséptico de células terapéuticas que comprende:

(i) un recipiente que comprende:

una porción permeable a los gases adecuada para soportar el crecimiento celular y permitir la liberación de gases a las células durante el cultivo, y

al menos una pared adosada a una base,

35 en donde dicho recipiente define un volumen interno y dicho recipiente está adaptado para contener un volumen de medio requisito para soportar un cultivo celular,

40 (ii) un orificio que comprende un conducto que define un orificio interior y un orificio exterior distal al mismo en comunicación fluida entre sí, en donde el conducto se extiende desde el exterior del sistema cerrado a través de un elemento estructural del sistema y se extiende al volumen interno del recipiente y termina en él con el orificio interior, en donde

el orificio interior está dispuesto de manera que durante el llenado y el vaciado de medio líquido no es susceptible de bloqueo por el líquido,

45 en donde el orificio exterior está adaptado para conectarse con un filtro aséptico permitiendo de ese modo el paso de gases a través del filtro al interior del recipiente o al exterior del recipiente, según se requiera para lograr la entrada y salida de fluidos y células a o desde el recipiente,

50 (iii) uno o varios puertos adaptados para permitir la introducción de fluidos y células asépticamente en el recipiente, uno o varios puertos adaptados para permitir que los fluidos salgan del sistema sin exponer el sistema al entorno externo y adaptados de manera que las células desarrolladas en ellos puedan salir del sistema por gravedad cuando el sistema es orientado para poner las células en comunicación de fluido con el puerto de salida y este último se abre.

Un sistema de esta disposición se muestra en la Figura 3, a modo de ejemplo.

En una realización todo el procedimiento de expansión se lleva a cabo asépticamente en un sistema cerrado.

En una realización el sistema se siembra con aproximadamente 0,5 a 2 millones de células por cm^2 de área de superficie. En un GRex-10 con un área de superficie de 10 cm^2 , se sembraría un mínimo de 5 millones y hasta 20 millones de células.

5 En una realización el sistema se siembra con aproximadamente 20 millones de células efectoras que equivale a aproximadamente 10 cm^2 de células.

La presente invención se refiere a un procesamiento *ex vivo* de células y productos de células T obtenidos del mismo. Normalmente la presente invención no incluye la etapa de obtención de la muestra del paciente.

10 La etapa de obtención de una muestra adecuada del donante es una técnica rutinaria, que implica tomar una muestra de sangre. Este procedimiento presenta poco riesgo para los donantes y no es necesario que lo lleve a cabo un doctor ya que puede ser realizado por personal de apoyo apropiadamente entrenado. En una realización la muestra derivada del paciente consiste en aproximadamente 200 ml de sangre, o menos, por ejemplo 50-100 ml.

Sorprendentemente se puede generar un número suficiente de células T específicas de antígenos utilizando esta pequeña cantidad de sangre.

15 Sorprendentemente los autores de la presente invención han descubierto que se pueden emplear las PBMC de una muestra de sangre movilizada en el procedimiento de expansión. Una muestra movilizada es una en la que el donante ha recibido G-CSF (factor estimulador de colonias de granulocitos) y otros factores que estimulan la producción por la médula ósea de células madre y a continuación las libera a la sangre. Las muestras de sangre tomadas en este momento no se han empleado para un uso posterior en terapia de reconstitución inmunitaria del paciente, simplemente porque se consideró inadecuado. Nawa et al. en Bone Marrow Transplantation (2000) 25, 20 1035-1040, por ejemplo sugieren que G-CSF da como resultado una reducción de la capacidad para secretar interferón gamma, IL-4 y también reduce las respuestas proliferativas. Shantaram et al. en Blood, 15 Septiembre 2001, Vol. 98, número 6 también sugieren que hay una disminución de las funciones inmunitarias de las células sanguíneas después de la movilización con G-CSF. Otra investigación ha sugerido que G-CSF puede distorsionar la población de células T hacia el grupo Th2, que puede ser menos eficaz en el control de una infección viral 25 intracelular.

No obstante, resulta incómodo pedir a los donantes que regresen al hospital después de la donación de células madre hematopoyéticas para obtener más muestras biológicas. En contraste es muy conveniente tomar una muestra de sangre para su expansión para producir un producto de reconstitución inmunitaria en el momento en el que se toma del donante la muestra de células madre para el trasplante.

30 De este modo, empleando sangre movilizada para la expansión se proporciona una ventaja práctica para los trabajadores sanitarios y los donantes.

La sangre movilizada empleada en la presente memoria hace referencia a una muestra de sangre de un donante que ha sido movilizado mediante tratamiento con un agente tal como G-CSF. El procedimiento de movilización incrementa el número de células madre en la sangre periférica.

35 La aféresis movilizada empleada en la presente memoria hace referencia a una muestra de un donante que ha sido movilizado por tratamiento con un agente tal como G-CSF. El procedimiento de movilización incrementa el número de células madre en la sangre periférica.

Típicamente las PBMC para la expansión de células T se obtienen de sangre o productos de aféresis mediante separación por gradiente de densidad con Ficoll conocida por los expertos en la técnica.

40 Como es sabido por el experto en la técnica la expansión de células T se realiza generalmente en un medio de expansión de células T adecuado. El medio de expansión de células T generalmente comprende suero, medio y cualquier citoquina empleada en la etapa de expansión, por ejemplo como se especifica en la Exposición de la Invención o en las reivindicaciones, según sea apropiado.

45 En una realización el medio es medio RPMI Advance o medio RPMI 1640, asequible de Life Technologies. El medio RPMI Advance contiene productos derivados de animales y normalmente se emplea con suero humano a aproximadamente 2%. En contraste el medio RPMI 1640 no contiene productos derivados de animales y normalmente se emplea con suero humano al 10%. El medio RPMI 1640 es generalmente más conveniente para su uso en el presente método.

Se encuentra disponible medio libre de suero alternativo en AQIX RS-I para el cultivo de linfocitos.

50 En una realización el medio comprende RPMI Advance al 45%, EHAA al 45%, FCS al 10% y L-glutamina 200 mM.

En una realización el medio de expansión celular comprende suero AB Humano al 10%, L-glutamina 200 mM, aminoácidos de Ham de Earle al 45% (EHAA o medio de Click) y RPMI Advance o RPMI 1640 al 45%.

En una realización las citoquinas empleadas se comentan más abajo.

En una realización el medio de expansión de células T empleado no se cambia ni se complementa durante el procedimiento de expansión.

La expansión celular empleada en la presente memoria hace referencia al incremento del número de células diana en una población de células como resultado de la división celular.

- 5 La expansión de células T se puede evaluar sometiendo a recuento las células CD3+ viables (es decir, la población diana de células es CD3+).

Las células viables se pueden someter a ensayo mediante tinción celular con Azul de Tripano (y microscopio óptico) o 7-amino-actinomicina D, colorante vital que emite a 670 nm (o ViaProbe una solución lista para su uso comercial de 7AAD) y citometría de flujo, empleando un mecanismo conocido por los expertos en la técnica. Cuando el tinte penetra en las células, las células se consideran no viables. Las células que absorben el colorante se consideran viables. Un método ilustrativo puede emplear aproximadamente 5 µL de 7AAD y aproximadamente 5 µL de Anexina-V (una proteína de unión a fosfolípido que se une al fosfolípido externo fosfatidilserina expuesto durante la apoptosis) por aproximadamente 100 µL de suspensión celular. Esta mezcla se puede incubar a la temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos en ausencia de luz. A continuación se puede realizar el análisis empleando la citometría de flujo. Véanse por ejemplo MG Wing, AMP Montgomery, S. Songsivilai y JV Watson. An Improved Method for the Detection of Cell Surface Antigens in Samples of Low Viabilidad using Flow Cytometry. J Immunol Methods 126: 21-27 1990.

20 Un tinte alternativo es TO-PRO-3 que es un tinte de ácido nucleico de monómero de carbocianina con fluorescencia en el rojo lejano similar a los colorantes Alexa Fluor 647 o Cy 5. Es útil como contratinción nuclear e indicador de muerte celular, y está entre las sondas de mayor sensibilidad para la detección de ácido nucleico.

Los virus contra los cuales se pueden expandir poblaciones de células T específicas de antígenos incluyen citomegalovirus, adenovirus, virus varicela zoster, virus BK, virus del papiloma humano, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, virus Epstein-Barr, virus del herpes asociado al sarcoma de Kaposi y virus linfotrófico T humano, tal como citomegalovirus o adenovirus.

- 25 El antígeno empleado en el procedimiento incluye polipéptidos completos, fragmentos de polipéptidos o péptidos.

Se pretende que el péptido empleado en la presente memoria haga referencia a polímeros cortos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, en donde los péptidos contienen al menos 2, pero generalmente no más de 50 aminoácidos.

30 Los péptidos empleados son suficientemente largos como para presentar uno o más epítomos lineales, por ejemplo tiene como término medio 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 aminoácidos de longitud.

En una realización algunos de los péptidos de la mezcla se solapan (en relación con la secuencia de un único antígeno), es decir, que son de un único antígeno y se disponen de tal manera que las porciones de los fragmentos y cierta secuencia de aminoácidos de la secuencia parental existen en más de un fragmento peptídico de la mezcla.

35 En una realización 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 aminoácidos se solapan en cada péptido. En una realización las bibliotecas de péptidos para cada proteína tienen 15 aminoácidos de longitud y se solapan en 11 aminoácidos de manera que todos los epítomos potenciales pueden ser presentados a partir de una proteína. Los péptidos pueden ser más largos, por ejemplo 20 aminoácidos que se solapan en 15 o 30 aminoácidos que se solapan en 25.

40 En una realización el virus diana es el CMV y, por ejemplo el antígeno empleado para elegir como diana el virus es pp65. La secuencia para el citomegalovirus humano (cepa AD169) se encuentra en la base de datos UniProt con el número P06725. La proteína recombinante se puede adquirir de Miltenyi Biotech. La última compañía también proporciona PepTivator® CMV pp65 que es una reserva de péptidos que consiste principalmente en péptidos de 15 subunidades con 11-aminoácidos (aa) que se solapan, que abarcan la secuencia completa de la proteína pp65 de citomegalovirus humano. Otros antígenos diana para CMV incluyen pp50 e IE-1 (también conocido como UL123).

45 Los antígenos de EBV diana incluyen EBNA1, LMP1, LMP2 y BARF1. Los ejemplos de las secuencias peptídicas adecuadas para estos antígenos incluyen aquellas de ID de secuencia NO: 1 a 335 descritos en el listado de secuencias asociado. Se incluye en la presente solicitud un listado de secuencias que comprende 340 secuencias de antígenos. Para los antígenos diana de adenovirus se incluyen la hexona y la pentona.

Para los antígenos diana del virus BK se incluyen el antígeno T grande y el antígeno t pequeño.

50 En una realización la mezcla de péptidos comprende o consiste en 2-1000 péptidos, más específicamente 2-500, por ejemplo 2-400, 2-300, 2-200 o 2-100 tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134,

135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199 o 200 péptidos.

5 En una realización se emplean de 5 a 500 ng de péptido o de cada biblioteca de péptido por ml de cultivo, tal como 5, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 o 450 ng/ml, en particular 5 ng/ml. Alternativamente se pueden emplear 1, 2, 3 o 4 ng/ml de péptido.

10 Ventajosamente, los péptidos empleados a una concentración de aproximadamente 5 ng/ml (tal como 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 ng/ml) pueden dar como resultado una población de células T específica de antígenos expandida que el día 9 o el día 10 secreta interferón gamma a niveles equivalentes o superiores a los de las células expandidas empleando concentraciones de péptidos más elevadas.

En una realización los péptidos empleados son de calidad BPF. Es decir se fabrican utilizando buenas prácticas de fabricación, lo que significa que son adecuados para la preparación de un producto terapéutico.

Las citoquinas que se pueden emplear en el procedimiento de la presente descripción incluyen IL-1, IL-2, IL-4, IL-6 IL-7, IL-12 e IL-15.

15 Una gran cantidad de bibliografía, aunque no definitiva, esboza cómo IL-2, IL-7 e IL-15 juegan papeles no redundantes en la conformación de la representación de las células de memoria. IL-2 controla la expansión clonal y la contracción de células T, y promueve la diferenciación de linfocitos. IL-2 e IL-15 también pueden apoyar a la división de células de memoria y se han utilizado combinadas con la estimulación dirigida por antígeno, para la expansión de CTL. IL-7 regula la homeostasis de las células T periféricas, y contribuye a la generación y la supervivencia a largo plazo de los linfocitos T de memoria tanto CD4 como CD8 *in vivo*.

20 En una realización las citoquinas empleadas en el procedimiento de acuerdo con la presente descripción se seleccionan independientemente entre IL-4, IL-7 e IL-15, especialmente IL-4 e IL-7.

25 En una realización las citoquinas empleadas son IL-4 y/o IL-7. Si bien no se desea estar limitado por la teoría, los autores de la presente invención creen que estas citoquinas tienen un papel que desempeñar en el perfilado de la frecuencia, el repertorio y la expansión de las células T específicas de antígenos virales.

30 El repertorio de células T puede ser determinado mediante análisis ELISPOT después de la estimulación con bibliotecas de péptidos divididas en alícuotas en reservas de manera que cada péptido se representa de manera única en dos reservas (Kern, F., N. Faulhaber, C. Frommel, E. Khatamzas, S. Prosch, C. Schonemann, I. Kretzschmar, R. Volkmer-Engert, H. D. Volk, y P. Reinke. 2000. Analysis of CD8 T cell reactivity to cytomegalovirus using protein-spanning pools of overlapping pentadecapeptides. Eur J Immunol. 30:1676-1682 y Straathof, K. C., A. M. Leen, E. L. Buza, G. Taylor, M. H. Huls, H. E. Heslop, C. M. Rooney, y C. M. Bollard. 2005.

Characterization of latent membrane protein 2 specificity in CTL lines from patients with EBV-positive nasopharyngeal carcinoma and lymphoma. J. Immunol. 175:4137-4147).

35 IL-4 se emplea generalmente a una concentración final de 250 ng/ml de cultivo o menos, tal como 200 ng/ml o menos.

IL-7 se emplea generalmente a una concentración final de 50 ng/ml de cultivo o menos, tal como 20 ng/ml o menos, en particular 10 ng/ml.

IL-15 se emplea a una concentración final adecuada de 50 ng/ml de cultivo o menos, tal como 20 ng/ml o menos, en particular 10 ng/ml.

40 En una realización en aproximadamente 20 ml por GRex-10 (por ejemplo 20×10^6 PBMC) se añaden 10 ml más de medio que contiene IL-4 (1666 unidades por mL) e IL-7 (10 ng por ml).

IL-12 tiene un papel en el enfoque de Th1 y la IL-12 exógena se puede omitir si se desea Th1/Th2 equilibrada. En una realización el procedimiento de la presente descripción no emplea IL-12 exógena. Sin embargo, en el contexto del presente producto de células T se piensa que es deseable una respuesta Th1 en la población CD4+.

45 En una realización, cuando se emplea IL-4 en el procedimiento de expansión de la presente descripción el día 10 o el día 11 el número de células expandidas puede ser 10, 20, 30, 40 50, 60, 70, 80, 90, 100 o 200% mayor que el de células expandidas empleando un protocolo similar reemplazando IL-4 por IL-2.

50 No obstante, incluso cuando después de aproximadamente 9, 10 u 11 días el número de células T específicas de antígenos proporcionadas a partir de los protocolos con IL-2 e IL-4/7 es el mismo en términos del número de células secretoras gamma específicas, las células con IL-2 son mucho menos viables. La viabilidad celular se puede someter a ensayo como se describe en la presente memoria.

Cuando se emplea IL-2 exógena en el sistema de expansión rápida se genera una hiper-proliferación de células T.

- 5 Cuando se produce esta expansión hiper-rápida el equilibrio de células T deseables y células residuales está por debajo del óptimo ya que la expansión se produce tan rápidamente que muchas de las células residuales no han muerto y por lo tanto siguen presentes en la población de células totales. De este modo, los autores de la presente invención han conciliado los factores inherentemente incompatibles de la expresión rápida con la selectividad del cultivo de las células durante un período de tiempo y han descubierto que la omisión de IL-2 mejora la razón de células deseadas con respecto a células residuales. Aún más, en el período de 7 a 14 días, tal como 10 días, la razón de células deseadas con respecto a células residuales es un punto de cruce en el que el producto cultivado se vuelve adecuado para su uso en terapia. Este punto de cruce se define como cuando se alcanza una dosis mínima suficiente de células T terapéuticas dentro de una formulación de dosis que entra dentro del umbral de seguridad de no más de 5×10^5 células T CD3+ por kg de peso corporal del paciente.
- 10 Los autores de la presente invención esperan que este umbral de seguridad se convierta en el modelo de referencia dentro del contexto de la dosificación óptima para un producto de células T específicas de antígenos destinada a proporcionar la reconstitución inmunitaria después del trasplante de médula ósea.
- 15 Si bien cada producto de células T expandidas final puede variar en la composición exacta debido a diferencias inherentes en la muestra del donante de partida, el perfil de seguridad del producto se puede controlar verificando la proporción de células T específicas de antígenos con respecto a células residuales. Ventajosamente, el producto obtenido del procedimiento de la presente invención se puede controlar para garantizar que es seguro, en un contexto clínico.
- 20 En una realización la población de células T específicas de antígenos expandida obtenida está sesgada para producir una población de células CD4+.
- En una realización el procedimiento de la presente descripción se emplea para proporcionar una población de células que comprende una población de células T CD4+, por ejemplo una población Th1. Se pretende que una población Th1 según se emplea en la presente memoria haga referencia a una población CD4+ en donde 5% de las células o más, tal como 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90% o más se clasifican como Th1.
- 25 Las células T de memoria son un componente de las células Th1.
- En una realización la población de células obtenida a partir del procedimiento comprende una subpoblación de células T de memoria, por ejemplo las células T de memoria representan 10, 20, 30, 40, 50 o 60% de las células expandidas y generalmente expresarán marcadores de memoria efectores incluyendo CD27, CD28, CD62L y CD45RO. Ésta será significativamente mayor que la población de células de memoria antes de la expansión.
- 30 Se pretende que el antígeno diana empleado en la presente memoria haga referencia al antígeno que se emplea para generar especificidad en las células T con respecto a la diana terapéutica, tal como un virus particular, por ejemplo CMV, adenovirus, EBV o virus BK. De este modo las células infectadas por el virus diana o las células cancerosas expresarán normalmente el antígeno diana y de ese modo se convertirán en una diana para el aclaramiento del sistema inmunitario. El sistema inmunitario tiene la extraordinaria capacidad de eliminar (destruir) una célula infectada del organismo mientras se garantizan unas propiedades de escape mínimas para el patógeno que infecta la célula en cuestión.
- 35 Las células CD3-, CD56+, y NK residuales en la población de células final son aceptables porque son potencialmente beneficiosas.
- 40 Las poblaciones de células expandidas utilizando el procedimiento de la presente descripción comprenden la población de células T deseada y generalmente no consistirán solamente en la población deseada. El producto final administrado al paciente incluirá otras numerosas células que el procedimiento no elige como diana para su expansión. En una realización la población deseada de células CD4+ y CD8+ comprende aproximadamente 60% o menos, 70% o menos, o 80% o menos de la población total de células. La frecuencia de las poblaciones de células se puede medir empleando un análisis Elispot de IFN gamma que es conocido por los expertos en la técnica.
- 45 En una realización la población de células T obtenida mediante el procedimiento es diversa cuando se analiza por medio de espectrotipificación, y sin la emergencia de un clon dominante. Es decir, la diversidad de células T en la muestra de partida está representada sustancialmente en las células T expandidas, es decir la expansión no es generalmente la expansión de un solo clon.
- 50 En una realización la población relevante de células T preparada tiene un receptor de células T sobre la superficie. En una o más realizaciones, las poblaciones de acuerdo con la presente descripción tienen una o más propiedades ventajosas en comparación con las células preparadas mediante el método de la técnica anterior.
- En una realización las células T específicas de antígenos de la presente descripción tienen un diámetro celular medio que es 95% o menos, por ejemplo 90% o menos, tal como 85% o menos, más específicamente 80% o menos del diámetro celular máximo.
- 55 En una realización el diámetro celular medio de las células en la población de células T relevante se encuentra en el

intervalo de 10 a 14 micras y el diámetro celular medio es de aproximadamente 10, 11, 12, 13 o 14 micras.

Los autores de la presente invención creen que se pueden preparar suficientes células incluso para las dosis más altas empleando el método de la presente descripción.

El criterio de Liberación para el producto incluye:

Identidad:	Mayor de 50% de células CD3+ o CD45+
Viabilidad:	Mayor de 70% de células CD45+
Seguridad:	La dosis de CD3+ no excede el número especificado de células T
Específico del Virus:	Mínimo de 100 células específicas del Virus por Kg definido por la producción de IFN γ específico

5

Ventajosamente, los cultivos celulares de la presente invención muestran generalmente baja toxicidad, por ejemplo están asociados con escasas respuestas de intolerancia por toxicidad, por ejemplo respuestas inflamatorias, daño celular, síntomas similares a la gripe, náuseas, pérdida de cabello o similares.

10

En algunas realizaciones las poblaciones de células de acuerdo con la presente descripción también pueden proporcionar una o más de las siguientes propiedades ventajosas, por ejemplo los niveles de secreción de interferón gamma, la proliferación *in vivo*, la regulación al alza de un marcador de activación de células T (por ejemplo receptores de células T) pueden ser elevados con respecto al número total de células T específicas de antígenos en la población.

En una realización se puede utilizar la captura gamma para seleccionar una población de células diana.

15

Se pretende que los elevados niveles de secreción de interferón gamma empleados en la presente memoria hagan referencia al hecho de que como promedio (por ejemplo expresado como media) las células de las poblaciones preparadas mediante el método actual pueden secretar niveles de interferón gamma superiores a los de las células preparadas mediante métodos de la técnica anterior. Al analizar este atributo, puede ser necesario dejar reposar las células durante un periodo después de la expansión antes de medir el nivel de secreción de interferón gamma.

20

Aunque esto se puede medir a nivel de la población - cuando se mida a nivel de la célula individual revelará que un mayor porcentaje de células será específico del antígeno - es decir produce interferón gamma en comparación con células elaboradas utilizando la técnica anterior.

25

En una realización las células de la presente descripción pueden mostrar una mayor especificidad de antígeno, por ejemplo en una descripción del análisis en la presente memoria, en comparación con las células preparadas mediante un método de la técnica anterior.

En una realización las poblaciones de células de la presente descripción muestran una avidéz comparable (no significativamente diferente) a la de las poblaciones preparadas mediante un método de la técnica anterior.

30

La población de células T específica de antígenos terapéutica proporcionada puede ser técnicamente una dosis sub-terapéutica en la composición de la invención. No obstante, después de la infusión en el paciente, las células se expanden adicionalmente para ayudar a reconstituir el repertorio inmunitario del paciente. De este modo, si las células transfundidas están agotadas o son anérgicas, es probable que la eficacia de las células *in vivo* resulte comprometida o reducida en uno o más aspectos.

De este modo la "potencia" o "eficacia biológica" de las células es una consideración realmente importante en las capacidades de reconstitución de las células T terapéuticas diana.

35

Los autores de la presente invención creen que esta visión conducirá a un cambio de modelo en el pensamiento actual y el enfoque de la terapia con células T en el campo.

En una realización las poblaciones de células T proporcionadas por la presente descripción son eficaces en la expansión *in vivo* para proporcionar una respuesta inmunitaria apropiada a células infectadas por un virus diana y/o células cancerosas asociadas con un virus diana.

40

La presente invención también se extiende a composiciones que comprenden las poblaciones de células T específicas de antígenos alogénicas de acuerdo con la invención. Estas composiciones pueden comprender un diluyente, portador, estabilizador, tensioactivo, ajuste del pH o cualquier otro excipiente farmacéuticamente aceptable añadido a la población celular después de las etapas del procedimiento principal. Un excipiente tendrá generalmente una función de estabilización de la formulación, prolongación de la semivida, transformación de la

composición en una más compatible con el sistema *in vivo* del paciente o similar.

5 En una realización se añade una proteína estabilizante al cultivo celular después de fabricar, por ejemplo albúmina, en particular albúmina de suero humano, que puede actuar como agente estabilizante. Las cantidades de albúmina empleadas en la formulación pueden ser de 1 a 50% p/p, por ejemplo de 10 a 50% p/p, tal como aproximadamente 2,25, 4,5 o 12,5% p/p.

En una realización la formulación también contiene un crioprotector, por ejemplo glicerol o DMSO. La cantidad de DMSO es generalmente 12% o menos tal como aproximadamente 10% p/p.

10 En una realización el procedimiento de la presente invención comprende la etapa adicional de preparar una formulación farmacéutica mediante la adición de un excipiente farmacéuticamente aceptable, en particular un excipiente como se describe en la presente memoria, por ejemplo un diluyente, estabilizador y/o conservante.

Excipiente según se emplea en la presente memoria es un término genérico que abarca todos los ingredientes añadidos a la población de células T que no tienen una función biológica o fisiológica.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica de una población de células T específica de antígenos expandida alogénica para un paciente, en donde la composición comprende:

15 una población de células T CD3+, donde en la población total de CD3+ no excede de 5×10^5 células por kg de paciente, y dicha población de células T CD3+ comprende una población de células T terapéutica de células CD4+ caracterizada como una población Th1, por ejemplo con algunos CTL CD8+;

opcionalmente la población de células no CD3+ es 20 por ciento o menos de la población de células total de la composición

20 caracterizada porque la población de células T específica de antígenos expandida relevante es capaz de expandirse *in vivo*. En una realización se proporciona una composición farmacéutica de una población de células T específica de antígenos expandida para un paciente, en donde la composición comprende:

25 una población de al menos 70% de células T CD3+ y menos de 30 por ciento de células no CD3+, donde la población total de células CD3+ no excede de 5×10^4 células (o alternativamente 1×10^5) por kg de paciente, y dicha población de células T CD3+ comprende una población de células T terapéutica de células CD4+ que puede tener una caracterización primaria como Th1,

30 caracterizada porque la población de células T específicas de antígenos expandida relevante es capaz de expandirse *in vivo*. El análisis de si las células T específicas de antígenos son adecuadas para expandirse *in vivo* se puede someter a ensayo empleando sistemas *in vitro*, por ejemplo utilizando un análisis de proliferación celular, por ejemplo el análisis CFSE descrito en la presente memoria.

En una realización las células T específicas de antígenos expandidas son susceptibles de una expansión adicional *in vitro* e *in vivo*, una expansión a niveles significativos por ejemplo incluye una expansión de 2, 3, 4, 5 veces o más.

En una realización al menos 70% de las células relevantes son viables como se mide mediante exclusión de colorante o citometría de flujo, por ejemplo 75%, 80%, 85% o más de las células son viables.

35 En una realización la población de células T específicas de antígenos expandida es capaz de producir citoquinas Th1, por ejemplo niveles biológicamente relevantes de las mismas.

40 La proliferación celular se puede analizar marcando las células con compuesto fluorescente CFSE para controlar la división frente a un estímulo dado. En resumen las células se marcan con CFSE y se añade antígeno que estimula la división de algunas células. Estas células se pueden controlar ya que cuando se dividen la cantidad de colorante en cada célula hija se reduce a la mitad reduciendo de ese modo a la mitad el brillo de las células detectado por medio de citometría de flujo. Por lo tanto se puede determinar el número de divisiones que ha experimentado la población celular.

Una vez que se ha preparada la formulación final, ésta se cargará en un recipiente adecuado, por ejemplo una bolsa para infusión o un criovial.

45 En una realización el procedimiento de acuerdo con la presente descripción comprende la etapa adicional de cargar la población de células T o la formulación farmacéutica de la misma en un contenedor adecuado, tal como una bolsa para infusión y sellar el mismo.

50 En una realización el recipiente cargado con la población de células T de la presente descripción o una composición farmacéutica que la comprende se congela para su almacenamiento y transporte, por ejemplo se almacena a aproximadamente -135°C.

En una realización el procedimiento de la presente descripción comprende la etapa adicional de congelar la

población de células T de la presente descripción o una composición farmacéutica que la comprende. En una realización el "producto" se congela reduciendo la temperatura 1°C por minuto para garantizar que los cristales formados no alteran la estructura celular. Este procedimiento puede continuar hasta que la muestra alcanza aproximadamente -100°C.

- 5 Se pretende que un producto de acuerdo con la presente descripción haga referencia a una población de células cultivadas de la presente descripción o una composición farmacéutica que la comprenda.

En una realización el producto es transferido, enviado, transportado en forma congelada a la ubicación del paciente.

- 10 En una realización el producto de acuerdo con la presente descripción se proporciona en una forma adecuada para la administración parenteral, por ejemplo, infusión, inyección lenta o inyección en embolada. En una realización la formulación se proporciona en una forma adecuada para la infusión intravenosa.

En un aspecto la presente descripción proporciona un método de transporte de un producto de acuerdo con la presente descripción, desde el lugar de fabricación, o un punto de recogida conveniente, al entorno del paciente pretendido, por ejemplo donde la célula T producto es almacenada a 0°C o menos durante el tránsito, tal como por debajo de -100°C.

- 15 En una realización las fluctuaciones de temperatura de la célula T producto se controlan durante el almacenamiento y/o el transporte.

En una realización se proporciona un producto de la presente descripción para su uso en el tratamiento, por ejemplo en el tratamiento de un patógeno viral tal como adenovirus, CMV, EBV, virus del poliovirus humano, virus herpes simplex, virus varicella zoster, hepatitis, rotavirus o similar.

- 20 En una realización el tratamiento es el de un paciente inmunodeprimido.

En una realización se proporciona un método de tratamiento de un paciente con un producto de acuerdo con la presente descripción que comprende la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del producto definido en la presente memoria.

- 25 La cantidad terapéuticamente eficaz no representa necesariamente una cantidad que es inmediatamente eficaz desde el punto de vista terapéutico sino que incluye una dosis que es adecuada para la expansión in vivo (después de la administración) para proporcionar un efecto terapéutico.

Se prevé que se pueda combinar más de una realización descrita en la presente memoria, según sea técnicamente apropiado.

En el contexto de esta memoria descriptiva, "que comprende" se debe interpretar como "que incluye".

- 30 También se pretende que los aspectos de la descripción que comprenden ciertos elementos se amplíen a realizaciones alternativas "que consisten" o "que consisten esencialmente en" los elementos relevantes.

Sili U. et al. Large-scale expansion of dendritic cell-primed polyclonal human cytotoxic T-lymphocyte lines using lymphoblastoid cells for adoptive immunotherapy. *J. Immunother.* May-Jun 2003; 26(3): 241-56

- 35 Leen AM et al. Contact-activated monocytes: efficient antigen presenting cells for the stimulation of antigen-specific T cells. *J Immunother.* Enero 2007;30(1): 96-107.

Bollard CM et al. The generation and characterization of LMP2-specific CTL for use as adoptive transfer from patients with relapsed EBV-positive Hodgkin disease *J. Immunother.*

MG Wing, et al. An Improved Method for the Detection of Cell Surface Antigens in Samples of Low Viabilidad using Flow Cytometry. *J Immunol Methods* 126:21-27, 1990

- 40 DR Parks, et al. Capítulo 29 Flow Cytometry and Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS). *Handbook of Experimental Immunology*, DM Weir (ed), Blackwell Scientific Publications, MA, 1986

I Schmid et al. Dead Cell Discrimination with 7-aminoactinomycin D in Combination with Dual Colour Immunofluorescence in Single Laser Flow Cytometry. *Cytometry* 13:204, 1992

- 45 F de Boer et al. Extensive early apoptosis in frozen thawed CD34+ stem cells decreases threshold doses for haematological recovery after autologous peripheral blood progenitor cell transplant. *Bone marrow Transplant* 29:249-255, 2002

RS Anthony, et al. Flow cytometry using annexin V can detect early apoptosis in peripheral blood stem cell harvests from patients with leukemia and lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 21:441-446, 1998. James W Tung, et al. *Modern Flow Cytometry: A Practical Approach*. *Clin Lab Med* 27(3):453, 2007 (Septiembre)

Ejemplos

Expansión de las células T específicas de antígenos producto

Reactivos

5 Este procedimiento describe la producción y criopreservación de una terapia celular adoptiva, producida utilizando un sistema GReX de Wilson Wolf

Reactivos	Fabricante	Núm. Catálogo
RPMI 1640	Invitrogen Ltd	61870
Suero AB humano		
DMSO	Wak chemie	WAK-DMSO-70
Lymphoprep	AxisSheild	11114445
Albúmina de suero humano (HSA), 4,5%	BPL	PL08801/0006
IL-4	CellGenix	1003
IL-7	CellGenix	1010
AdV-5	Miltenyi	76106
WFI	Gibco	A12873

Un péptido o mezcla de péptidos del virus diana tal como CMV pp65 o PepTivator®

EQUIPO	Fabricante	Especificaciones
Centrífuga Rotina 46R	No especificado	300 x 'g'
Balanza digital	No especificado	Peso
Prensa de plasma	Baxter	N/A
Incubadora de CO ₂	No especificado	37 ± 2°C, 5 ± 1°C,
Selladora térmica	Baxter	N/A
Soldador estéril	Terumo	N/A
Cabina de seguridad biológica Clase II	No especificado	N/A
Kryo 560-16	Planer	TBC
Cámara de vacío	Multivac	N/A
Procesador de células sanguíneas Sepax	Biosafe	N/A
Micropipetas	Gilson	N/A

Recepción de producto sanguíneo entrante:

5 Todos los donantes deben ser escrutados para determinar los Marcadores de Enfermedades Infecciosas (antígeno de superficie de Hepatitis B, marcadores de Hepatitis C, Sífilis, HTLV I y II y VIH) en el plazo de 30 días de la extracción del producto sanguíneo del donante. Si un donante ha dado positivo en un ensayo para determinar cualquier enfermedad infecciosa, la recogida del producto no se llevará a cabo y se cancelará el procedimiento.

IL-4

10 Diluir un vial de 50 µg de IL-4 con 250 µl de Agua para inyectables, produciendo una provisión de partida de 200 µg/ml. Se añaden 20 µL de muestra diluida por cultivo cuando se requiere. Se toman alícuotas de la muestra restante en alícuotas de 50 µL en Crioviales Nunc de 1,8 ml. Si se utiliza un lote congelado de IL-4 asegurarse de que el material está completamente descongelado antes de su uso.

IL-7

15 Diluir un vial de 50 µg de IL-7 con 200 µl de Agua para inyectables (WFI por sus siglas en inglés), la solución se diluye adicionalmente 1:25, mediante la adición de 240 µl de WFI para producir una provisión de partida de trabajo de 10 µg/ml. A continuación se utilizan 20 µl de ésta por cultivo. Se toman alícuotas de la muestra restante en alícuotas de 50 µl en Crioviales Nunc de 1,8 ml. Si se utiliza un lote congelado de IL-7 asegurarse de que el material está completamente descongelado antes de su uso

Péptido

20 El péptido se reconstituye añadiendo 2 ml de WFI al vial de 100 µg/péptido. Se retiran 100 µl del péptido reconstituido y se diluyen adicionalmente en 900 µl de WFI. A continuación se añaden 20 µL del péptido diluido a cada cultivo. Se dispensan alícuotas de 50 µl del péptido reconstituido en Crioviales Nunc. Los 1500 µl restantes de péptido concentrado (50 µg/ml) se liberan para su utilización en los análisis QC.

RPMI para lavado

25 Pinchar una bolsa de 5 L de RPMI con el acoplador de un envase de transferencia de 600 ml. Colocar el envase de transferencia sobre una balanza tarada y transferir aproximadamente 500 ml (500 g) de RPMI. Una vez que todo el tampón ha sido transferido sellar con calor el conducto tres veces. Marcar como Identificador del Paciente, 500 ml para lavar y dejar a 2-8°C hasta que se requiera para su uso.

RPMI para inoculación

Soldar un envase de transferencia de 600 ml de nueva aportación sobre el tubo restante conectado a la bolsa de 5 L de RPMI, utilizando una balanza tarada transferir aproximadamente 100 ml de RPMI a la bolsa.

30 Lymphoprep

Pinchar una botella de Lymphoprep con el acoplador de una bolsa de 1000 ml. Pinchar el Lymphoprep con dos entradas de aire y transferir 100 ml a la bolsa. Marcar como Identificador del Paciente, 100 ml Lymphoprep.

Preparación de células mononucleares-Día 0

35 Se preparan PBMC mediante centrifugación en gradiente de densidad sobre el dispositivo Sepax, un protocolo conocido por los expertos en la técnica.

Ejemplo 1 Procedimiento para 226 CMV

Día -0

Preparación de tampón**IL-4**

40 Se diluyó un vial de 50 µg de IL-4 (calidad USP, CellGenix catálogo 1003-050) con 250 µL de WFI (Calidad USP Invitrogen Catálogo A12873) para producir una solución de partida de 200 µg/ml. La solución de partida se almacenó a -80°C dejando una alícuota para su uso en la inoculación del recipiente.

IL-7

45 Se diluyó un vial de 50 µg de IL-4 (GMP, Cellgenix catálogo 1010-050) con 200 µL de WFI (Calidad USP Invitrogen Catálogo A12873) para producir una provisión de partida. La provisión de partida se diluyó 1:25 con WFI para producir una provisión de partida de trabajo, que se almacenó a continuación a -80°C dejando una alícuota para su uso en la inoculación del recipiente.

Péptido PepTivator CMV

5 Se reconstituyó un péptido de 60 nmoles/péptido (GMP PepTivator pp65) en 2 ml de WFI (Calidad USP Invitrogen Catálogo A12873). Se eliminaron 100 µl del péptido reconstituido y adicionalmente se diluyeron en 900 µl de WFI. Se retuvieron 20 µL del péptido diluido para la inoculación del recipiente con el volumen restante, se tomaron alícuotas y se almacenaron a -80°C.

RPMI

Se conectó una bolsa de 5 L de RPMI + Glutamax (Invitrogen Catálogo 61870) con un envase de transferencia de 600 ml y se transfirieron 500 ml de RPMI (lavado de producto). El RPMI se soldó sobre un 2º envase de transferencia de 600 ml y se transfirieron 100 ml adicionales (inoculación del recipiente),

10 **Lymphoprep**

Se drenaron 100 ml de Lymphoprep (Axis Shield Catálogo 1114740) en un envase de transferencia de 1000 ml y se apartaron para su uso en el ciclo de DGBS (Separación basada en gradiente de densidad)

Manipulación celular

15 Llegaron al emplazamiento 100 ml de aféresis no movilizada, después de un envío a temperatura controlada a 2-8°C, procedente de un donante compatible. Se retiró una muestra de 3 ml (STA) del producto celular y se inoculó 1 ml en un conjunto de Bactecs. También se realizaron el subsiguiente QC y el ensayo en proceso del material de partida restante con los resultados presentados en la siguiente tabla.

- Recuento celular, realizado en un contador celular automatizado
- Enumeración de células T absoluta por medio de Trucount (CD3-FITC, CD8-PE, CD45-PerCP)
- 20 • Tinción de viabilidad (CD3-FITC, CD45-PE, CD8-PerCP)

Recuento WBC	34,4 x 10 ⁶ /ml
Linfocitos %	80,5%
Conc CD3 absoluto	21,6 x 10 ⁶
Viabilidad	98,87%
Hematocrito	1,6%

Se conectaron la bolsa de 500 ml de RPMI y 100 ml de Lymphoprep a CS900.02 junto con el contenido restante de los materiales de sangre completa entrantes (97 ml). Se seleccionó el ciclo de DGBS V128 en el Sepax y se instaló el kit. Una vez completado el ciclo se hicieron eluir 42 ml de las PBMC y se realizó el siguiente ensayo.

25 Se retiró una muestra de 1 ml de la bolsa de elución y se llevaron a cabo los siguientes ensayos

- Recuento celular, realizado en un contador celular automatizado
- Enumeración de células T absoluta por medio de Trucount (CD3-FITC, CD8-PE, CD45-PerCP)
- Tinción de viabilidad (CD3-FITC, Cd45-PE, CD8-PerCP)

Recuento WBC	48,0 x 10 ⁶ /ml
Linfocitos %	79,2%
Conc CD3 absoluto	20,66 x 10 ⁶ /ml
Viabilidad	97,58%

Se inocularon 20×10^6 WBC (410 μ l de suspensión celular) en Wilson Wolf Biopot (Biorreactor GP-40) junto con 2 ml de Suero AB humano (GMP German Blood Service) y 20 μ l de IL-4/IL-7 y péptido. El volumen total se lleva a 20 ml utilizando RPMI (19,6 ml).

5 A continuación el recipiente se incubó durante 10 días en una incubadora a $37 \pm 2^\circ\text{C}$, $5 \pm 1\%$ de CO_2 , 95% de humedad.

Día -10

Lavado celular

10 El día 10 el recipiente se retiró de la incubadora y se agitó suavemente para resuspender las células de la base del biorrecipiente Wilson Wolf. Se retira una muestra de 2 ml utilizándose $2 \times 250 \mu\text{L}$ para el ensayo de Mycoplasma. La muestra restante se utiliza en el siguiente ensayo del procedimiento

- Recuento celular manual con Azul de Tripano
- Identidad de células T CD3-FITC, CD56-PE, CD45-PerCP

Volumen recuperado	12,5 ml
Recuento de células WBC	$3,6 \times 10^6$
Viabilidad	73%

15 Se preparó una bolsa de 230 ml de HAS al 4,5% (BPL) y la suspensión celular restante se diluyó antes de ser centrifugada a $300 \times 'g'$ durante 10 minutos. Al completarse la centrifugación se retiró el sobrenadante del paquete celular utilizando una prensa de plasma antes de resuspender y diluir las células en 230 ml adicionales de HSA al 4,5%. Se realizó un centrifugado final de las células a $300 \times 'g'$ durante 10 minutos antes de retirar de nuevo el sobrenadante. El sedimento se resuspendió en HSA al 4,5% de nueva aportación.

Se retiró una muestra de 1 ml y se realizaron el subsiguiente QC y el ensayo en proceso

- 20
- Tinción gamma intra-celular

IFN-Gamma + células T	15,07%
-----------------------	--------

Congelación y envío

Se prepararon 100 ml de solución de DMSO al 20% (Cryosure-DMSO, Wak-Chemie) en HSA al 4,5% (BPL) y se enfriaron sobre bolsas de hielo

25 La dosis celular requerida es $= 3 \times 10^4$ células T/kg

Peso del paciente = 16 kg

Por lo tanto las células requeridas = 480.000 células T

Los siguientes volúmenes se transfirieron a una bolsa Cryocyte del tamaño adecuado por medio de una serie de colectores Cryocyte.

Suspensión celular	0,13 ml
HSA al 4,5%	9,87 ml
DMSO al 20% en HSA al 4,5%	10,0 ml

30 Se retiró una muestra de 3 ml de la bolsa Cryocyte inoculando 2 ml en una de cada una de una serie de Bactecs. Un mililitro restante de muestra se almacenó a -80°C y se envió para el ensayo de Endotoxinas.

5 La bolsa Cryocyte que contenía el producto celular se colocó en un congelador de velocidad controlada y las células se congelaron a una tasa de $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta -30°C y a continuación se redujo a $-2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta -100°C . Al completarse el ciclo de congelación, las células se colocaron con la fase de vapor de un Matraz Dewar LN_2 de temperatura controlada. Se obtuvieron los siguientes resultados de ensayos de seguridad antes de la distribución del producto.

Esterilidad	No se detectó crecimiento
Mycoplasma	Negativo
Endotoxina	≤ 10 UE/ml

10 Una vez requerido por los pacientes del médico el producto fue distribuido por QP antes de ser enviado a los laboratorios de células madre relevantes en un transportador seco de temperatura controlada, validado. A su llegada las células son almacenadas en la fase de vapor de los matraces de vacío de los laboratorios de células madre hasta su infusión.

Ejemplo 2 Procedimiento para 226 ADV

Día -0

Preparación de tampón

IL-4

15 Se diluyó un vial de 50 μg de IL-4 (Calidad USP, CellGenix catálogo 1003-050) con 250 μL de WFI (Calidad USP Invitrogen Catálogo A12873) para producir una solución de partida de 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$. La solución de partida se almacenó a -80°C dejando una alícuota para su uso en la inoculación del recipiente.

IL-7

20 Se diluyó un vial de 50 μg de IL-4 (GMP, CellGenix catálogo 1010-050) con 200 μL de WFI (Calidad USP Invitrogen Catálogo A12873) para producir una provisión de partida. La provisión de partida se diluyó 1:25 con WFI para producir una provisión de partida de trabajo, que después se almacenó a -80°C dejando una alícuota para su uso en la inoculación del recipiente.

Péptido PepTivator ADV

25 Se reconstituyó un péptido de 60 nmoles/péptido (GMP PepTivator hexon V) en 2 ml de WFI (Calidad USP Invitrogen Catálogo A12873). Se retiraron 100 μl del péptido reconstituido y adicionalmente se diluyeron en 900 μl de WFI. Se conservaron 20 μL del péptido diluido para la inoculación del recipiente dividiendo en alícuotas el volumen restante y almacenándolas a -80°C .

RPMI

30 Se conectó una bolsa de 5 L de RPMI + Glutamax (Invitrogen Catálogo 61870) a un envase de transferencia de 600 ml y se transfirieron 500 ml de RPMI (lavado del producto). El RPMI se soldó a un 2° envase de transferencia y se transfirieron 100 ml más (inoculación del recipiente).

Lymphoprep

Se drenaron 100 ml de Lymphoprep (Axis Shield Catálogo 1114740) en un envase de transferencia de 1000 ml y se apartaron para su uso en el ciclo de DGBS (Separación basada en gradiente de densidad)

35 **Manipulación celular**

Llegaron al emplazamiento 100 ml de aféresis no movilizada, después de un envío a temperatura controlada a $2-8^{\circ}\text{C}$, procedente de un donante compatible. Se retiró una muestra de 3 ml (STA) del producto celular y se inoculó 1 ml en una serie de Bactec. También se llevaron a cabo el subsiguiente QC y el ensayo durante el procedimiento en el material de partida restante con los resultados presentados en la siguiente tabla.

- 40
- Recuento celular, realizado en contador celular automatizado
 - Enumeración de células T absoluta por medio de Trucount (CD3-FITC, CD8-PE, CD45-PerCP)
 - Tinción de viabilidad (CD3-FITC, CD45-PE, CD8-PerCP)

Recuento WBC	34,4 x 10 ⁶ /ml
Linfocitos %	80,5%
Conc CD3 absoluto	21,6 x 10 ⁶
Viabilidad	98,87%
Hematocrito	1,6%

Se conectaron la bolsa de 500 ml de RPMI y 100 ml de Lymphoprep a CS900.02 junto con el contenido restante de los materiales de sangre completa entrantes (97 ml). Se seleccionó el ciclo de DGBS V128 en Sepax y se instaló el kit. Al completarse el ciclo se hicieron eluir 42 ml de PBMC y se realizó el siguiente ensayo.

5 Se retiró una muestra de 1 ml de la bolsa de elución y se llevaron a cabo los siguientes ensayos:

- Recuento celular, realizado en un contador celular automatizado;
- Enumeración de células T absoluta por medio de Trucount (CD3-FITC, CD8-PE, CD45-PerCP); y
- Tinción de viabilidad (CD3-FITC, Cd45-PE, CD8-PerCP).

Recuento WBC	48,0 x 10 ⁶ /ml
Linfocitos %	79,2%
Conc CD3 absoluto	20,66 x 10 ⁶ /ml
Viabilidad	97,58%

10 Se inocularon 20 x 10⁶ WBC (410 µl) de suspensión celular) en Wilson Wolf Biopot (Biorreactor GP-40) junto con 2 ml de Suero AB humano (GMP German Blood Service) y 20 µl de IL-4/IL-7 y péptido. El volumen total se llevó a 20 ml utilizando RPMI (19,6 ml).

El recipiente se incubó a continuación durante 10 días en una incubadora a 37± 2°C, 5 ± 1% de CO₂, 95% de humedad.

15 Día -10

Lavado celular

El día 10 se retiró el recipiente de la incubadora y se agitó suavemente para resuspender las células de la base del biorrecipiente Wilson Wolfe. Se retiró una muestra de 2 ml utilizándose 2 x 250 µL para el ensayo de Mycoplasma. La muestra restante se utilizó en el siguiente ensayo en proceso:

- 20
- Recuento celular manual con Azul de Tripano; y
 - Identidad células T CD3-FITC, CD56-PE, CD45-PerCP.

Volumen recuperado	12,5 ml
Recuento de células WBC	3,6 x 10 ⁶
Viabilidad	97,22%

Se preparó una bolsa de 230 ml de HAS al 4,5% (BPL) y la suspensión celular restante se diluyó antes de ser centrifugada a 300 x 'g' durante 10 minutos. Una vez completada la centrifugación se retiró el sobrenadante del

paquete celular utilizando una prensa de plasma antes de resuspender las células y diluirlas en 230 ml adicionales de HSA al 4,5%. Se realizó un centrifugado final de las células a 300 x 'g' durante 10 minutos antes de retirar de nuevo el sobrenadante. El sedimento se resuspendió en HSA al 4,5% de nueva aportación.

5 Se retiró una muestra de 1 ml y se realizaron el subsiguiente QC y el ensayo durante el procedimiento: Tinción gamma intra-celular

IFN-Gamma + células T	17,14%
-----------------------	--------

Congelación y envío

Se prepararon 100 ml de solución de DMSO al 20% (Cryosure-DMSO, Wak-Chemie) en HSA al 4,5% (BPL) y se enfriaron sobre bolsas de hielo

10 La dosis celular requerida es = 3×10^4 células T/kg

Peso del paciente = 16 kg

Por lo tanto células requeridas = 480.000 células T

Se transfirieron los siguientes volúmenes a una bolsa Cryocyte del tamaño adecuado por medio de una serie de colectores Cryocyte.

Suspensión celular	0,13 ml
HSA al 4,5%	9,87 ml
DMSO al 20% en HSA al 4,5%	10,0 ml

15 Se retiró una muestra de 3 ml de la bolsa Cryocyte inoculándose 2 ml en uno de cada una de una serie de Bactec. Un mililitro de muestra restante se almacenó a -80°C y se envió para el ensayo de Endotoxina.

20 La bolsa Cryocyte que contenía el producto celular se colocó en un congelador de velocidad controlada y las células se congelaron a una velocidad de -1°C/min hasta -30°C y a continuación se redujo a -2°C/min hasta -100°C. Una vez completado el ciclo de congelación las células se colocaron con la fase de vapor de un Matraz Dewar LN₂ de temperatura controlada. Los siguientes resultados de ensayos de seguridad se obtuvieron antes de la distribución del producto.

Esterilidad	No se detectó crecimiento
Mycoplasma	Negativo
Endotoxina	≤10 UE/ml

25 Una vez requerido por el médico de los pacientes el producto fue distribuido por QP antes de ser enviado a los laboratorios de células madre relevantes en el interior de un transportador seco de temperatura controlada, validado. Tras su llegada las células se almacenaron en la fase de vapor de los matraces de vacío de los laboratorios de células madre hasta su infusión.

Ejemplo 3

30 La población de células de partida se cultivó en un sistema G-Rex adaptado como se muestra en las Figuras empleando medio RPMI 1640 en presencia de suero humano al 10%, IL-4, IL-7 y una reserva de péptidos solapantes específicos para el antígeno deseado. Para la expansión específica de CMV el péptido empleado fue pp65. Para adenovirus (ADV) se emplearon péptidos solapantes para la hexona de ad 5. Se empleó una densidad de siembra de 0,5, 1 o 2×10^6 /cm². Los resultados establecieron que 2×10^6 /cm² conducían a una expansión celular máxima véase

35

ES 2 626 492 T3

Tabla 1 Densidad de siembra para la expansión de CMV:

		Día 0	Día 5	Día 9	Día 12
	no cito	20000000	18300000	13500000	14100000
	IL4/7	20000000	29100000	1080000001	20000000
Donante I	no cito	10000000	7800000	6900000	8100000
	IL4/7	10000000	13500000	43500000	81000000
	no cito	5000000	1800000	2100000	1900000
	IL4/7	5000000	4200000	6400000	3900000
	no cito	20000000	13500000	15000000	22800000
	IL4/7	20000000	14700000	34500000	120000000
Donante II	no cito	10000000	4500000	5500000	5000000
	IL4/7	10000000	12500000	32000000	75000000
	no cito	5000000	4200000	2100000	2700000
	IL4/7	5000000	2700000	6300000	21000000
	no cito	20000000	9900000	11100000	13500000
	IL4/7	20000000	13500000	24000000	49000000
Donante III	no cito	10000000	5100000	6000000	5500000
	IL4/7	10000000	10500000	12000000	24000000
	no cito	5000000	2100000	3500000	3000000
	IL4/7	5000000	2500000	4200000	4500000

La mezcla se cultivó durante 12 aproximadamente 12 días a 37°C, sin remover ni agitar.

Las muestras se tomaron diariamente y se analizaron o cuando fue necesario.

Se midió el recuento de células totales de la población expandida. Los resultados para los dos donantes se muestran en la Figura 4A y 4B.

5 Se sometió a ensayo la cantidad de células específicas para CMV que secretaban citoquinas. Los resultados para los dos donantes se muestran en la Figura 5A y 5B.

Se midieron las velocidades de crecimiento celular y los resultados para las expansiones específicas para CMV se muestran en la Figura 6A y para las expansiones específicas para adenovirus se muestran en la Figura 6B.

10 Se midió la producción de citoquinas específicas para adenovirus y CMV utilizando Elispot y los resultados se muestran en la **Figura 7**.

La **Figura 8** muestra una comparación de dos protocolos de expansión, en donde la única citoquina empleada es IL2 o IL4.

15 La **Figura 9** muestra el protocolo de expansión del Ejemplo 7 empleando diferentes concentraciones de péptidos. Alrededor del día 9 o 10 el sistema que emplea 5 ng/ml (CMV) parece tener un funcionamiento mejorado en términos de expansión celular.

La **Figura 10** muestra la producción de IFN-gamma de las células cultivadas utilizando diferentes concentraciones de péptido.

Alrededor del día 9 o 10 el sistema que emplea 5 ng/ml (CMV) parece tener el mejor funcionamiento.

Listado de secuencias

20

<110> Cell Medica Limited et al.

<120> Procedimiento para la expansión de células T

25

<130> P000073_WO

<150> GB 1121308.9

<151> 12-12-2011

30

<160> 340

<170> PatentIn versión 3.5

35

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

40

<220>

<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 1

Met	Ser	Asp	Glu	Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	Pro	Gly	Asn	Gly	Leu	Gly
1				5					10					15

45

<210> 2

<211> 15

<212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

50

<220>

<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 2

55

Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	Pro	Gly	Asn	Gly	Leu	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp
1				5					10					15

<210> 3
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 10 <400> 3

 Gly Pro Gly Asn Gly Leu Gly Glu Lys Gly Asp Thr Ser Gly Pro
 1 5 10 15

 <210> 4
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 4

 Gly Leu Gly Glu Lys Gly Asp Thr Ser Gly Pro Glu Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 25
 <210> 5
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 5
 35
 Lys Gly Asp Thr Ser Gly Pro Glu Gly Ser Gly Gly Ser Gly Pro
 1 5 10 15

 <210> 6
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 45
 <400> 6

 Ser Gly Pro Glu Gly Ser Gly Gly Ser Gly Pro Gln Arg Arg Gly
 1 5 10 15
 50
 <210> 7
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 7

 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Pro Gln Arg Arg Gly Gly Asp Asn His
 1 5 10 15
 60
 <210> 8

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

5 <400> 13

Arg Gly Gly Gly Arg Pro Gly Ala Pro Gly Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

10 <210> 14
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 14

Arg Pro Gly Ala Pro Gly Gly Ser Gly Ser Gly Pro Arg His Arg
1 5 10 15

20 <210> 15
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

25 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

30 <400> 15

Pro Gly Gly Ser Gly Ser Gly Pro Arg His Arg Asp Gly Val Arg
1 5 10 15

35 <210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

40 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 16

Gly Ser Gly Pro Arg His Arg Asp Gly Val Arg Arg Pro Gln Lys
1 5 10 15

45 <210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

50 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 17

55 **Arg His Arg Asp Gly Val Arg Arg Pro Gln Lys Arg Pro Ser Cys**
1 5 10 15

60 <210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

ES 2 626 492 T3

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 18

5 Gly Val Arg Arg Pro Gln Lys Arg Pro Ser Cys Ile Gly Cys Lys
 1 5 10 15

<210> 19
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

15 <400> 19

Pro Gln Lys Arg Pro Ser Cys Ile Gly Cys Lys Gly Thr His Gly
 1 5 10 15

20 <210> 20
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 20

30 Pro Ser Cys Ile Gly Cys Lys Gly Thr His Gly Gly Arg Gly Arg
 1 5 10 15

<210> 21
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

40 <400> 21

Gly Cys Lys Gly Thr His Gly Gly Arg Gly Arg Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

45 <210> 22
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

50 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 22

55 Thr His Gly Gly Arg Gly Arg Gly Gly Ser Gly Gly Arg Arg Gly
 1 5 10 15

<210> 23
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

ES 2 626 492 T3

<400> 23

Arg Gly Arg Gly Gly Ser Gly Gly Arg Arg Gly Arg Gly Arg Glu
1 5 10 15

5

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

10

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 24

Gly Ser Gly Gly Arg Arg Gly Arg Gly Arg Glu Arg Ala Arg Gly
1 5 10 15

15

<210> 25
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

20

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

25

<400> 25

Arg Arg Gly Arg Gly Arg Glu Arg Ala Arg Gly Gly Ser Arg Glu
1 5 10 15

30

<210> 26
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

35

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 26

Gly Arg Glu Arg Ala Arg Gly Gly Ser Arg Glu Arg Ala Arg Gly
1 5 10 15

40

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

45

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

50

<400> 27

Ala Arg Gly Gly Ser Arg Glu Arg Ala Arg Gly Arg Gly Arg Gly
1 5 10 15

55

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

60

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 28

ES 2 626 492 T3

Ser Ser Gln Ser Ser Ser Ser Gly Ser Pro Pro Arg Arg Pro Pro
1 5 10 15

5 <210> 34
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 34

Ser Ser Ser Gly Ser Pro Pro Arg Arg Pro Pro Pro Gly Arg Arg
1 5 10 15

15 <210> 35
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 35

Ser Pro Pro Arg Arg Pro Pro Pro Gly Arg Arg Pro Phe Phe His
1 5 10 15

25 <210> 36
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

35 <400> 36

Arg Pro Pro Pro Gly Arg Arg Pro Phe Phe His Pro Val Gly Glu
1 5 10 15

40 <210> 37
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 37

Gly Arg Arg Pro Phe Phe His Pro Val Gly Glu Ala Asp Tyr Phe
1 5 10 15

50 <210> 38
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 38

60 <210> 39
Phe Phe His Pro Val Gly Glu Ala Asp Tyr Phe Glu Tyr His Gln
1 5 10 15

<210> 39
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 10 <400> 39

 Val Gly Glu Ala Asp Tyr Phe Glu Tyr His Gln Glu Gly Gly Pro
 1 5 10 15

 <210> 40
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 40

 Asp Tyr Phe Glu Tyr His Gln Glu Gly Gly Pro Asp Gly Glu Pro
 1 5 10 15

 25 <210> 41
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 41

 35 Tyr His Gln Glu Gly Gly Pro Asp Gly Glu Pro Asp Val Pro Pro
 1 5 10 15

 <210> 42
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 45 <400> 42

 Gly Gly Pro Asp Gly Glu Pro Asp Val Pro Pro Gly Ala Ile Glu
 1 5 10 15

 50 <210> 43
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 43

 Gly Glu Pro Asp Val Pro Pro Gly Ala Ile Glu Gln Gly Pro Ala
 1 5 10 15

 60 <210> 44

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 44

Val Pro Pro Gly Ala Ile Glu Gln Gly Pro Ala Asp Asp Pro Gly
 1 5 10 15

<210> 45
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

15 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 45

Ala Ile Glu Gln Gly Pro Ala Asp Asp Pro Gly Glu Gly Pro Ser
 1 5 10 15

<210> 46
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 46

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

<210> 47
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 47

Asp Pro Gly Glu Gly Pro Ser Thr Gly Pro Arg Gly Gln Gly Asp
 1 5 10 15

<210> 48
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 48

Gly Pro Ser Thr Gly Pro Arg Gly Gln Gly Asp Gly Gly Arg Arg
 1 5 10 15

<210> 49
 <211> 15
 <212> PRT

55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 48

Gly Pro Ser Thr Gly Pro Arg Gly Gln Gly Asp Gly Gly Arg Arg
 1 5 10 15

<210> 49
 <211> 15
 <212> PRT

60

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

5 <400> 49

Gly Pro Arg Gly Gln Gly Asp Gly Gly Arg Arg Lys Lys Gly Gly
1 5 10 15

10 <210> 50
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 50

Gln Gly Asp Gly Gly Arg Arg Lys Lys Gly Gly Trp Phe Gly Lys
20 1 5 10 15

<210> 51
<211> 15
<212> PRT

25 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

30 <400> 51

Gly Arg Arg Lys Lys Gly Gly Trp Phe Gly Lys His Arg Gly Gln
1 5 10 15

<210> 52
<211> 15
<212> PRT

35 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

40 <400> 52

Lys Gly Gly Trp Phe Gly Lys His Arg Gly Gln Gly Gly Ser Asn
45 1 5 10 15

<210> 53
<211> 15
<212> PRT

50 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 53

55 Phe Gly Lys His Arg Gly Gln Gly Gly Ser Asn Pro Lys Phe Glu
1 5 10 15

<210> 54
<211> 15
<212> PRT

60 <213> Virus Herpesviridae

ES 2 626 492 T3

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 54

5 Arg Gly Gln Gly Gly Ser Asn Pro Lys Phe Glu Asn Ile Ala Glu
 1 5 10 15

<210> 55
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

15 <400> 55

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

20 <210> 56
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 56

Lys Phe Glu Asn Ile Ala Glu Gly Leu Arg Ala Leu Leu Ala Arg
 1 5 10 15

30 <210> 57
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

40 <400> 57

Ile Ala Glu Gly Leu Arg Ala Leu Leu Ala Arg Ser His Val Glu
 1 5 10 15

45 <210> 58
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

50 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 58

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

55 <210> 59
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

ES 2 626 492 T3

<400> 59

Leu Ala Arg Ser His Val Glu Arg Thr Thr Asp Glu Gly Thr Trp
 1 5 10 15

5 <210> 60
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 60

15 His Val Glu Arg Thr Thr Asp Glu Gly Thr Trp Val Ala Gly Val
 1 5 10 15

20 <210> 61
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

25 <400> 61

Thr Thr Asp Glu Gly Thr Trp Val Ala Gly Val Phe Val Tyr Gly
 1 5 10 15

30 <210> 62
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 62

40 Gly Thr Trp Val Ala Gly Val Phe Val Tyr Gly Gly Ser Lys Thr
 1 5 10 15

45 <210> 63
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

50 <400> 63

Ala Gly Val Phe Val Tyr Gly Gly Ser Lys Thr Ser Leu Tyr Asn
 1 5 10 15

55 <210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV)

60 <400> 64

ES 2 626 492 T3

Val Tyr Gly Gly Ser Lys Thr Ser Leu Tyr Asn Leu Arg Arg Gly
 1 5 10 15
 5 <210> 65
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 10 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 65
 Ser Lys Thr Ser Leu Tyr Asn Leu Arg Arg Gly Thr Ala Leu Ala
 1 5 10 15
 15 <210> 66
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 66
 25 Leu Tyr Asn Leu Arg Arg Gly Thr Ala Leu Ala Ile Pro Gln Cys
 1 5 10 15
 30 <210> 67
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 35 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 67
 Arg Arg Gly Thr Ala Leu Ala Ile Pro Gln Cys Arg Leu Thr Pro
 1 5 10 15
 40 <210> 68
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 68
 Ala Leu Ala Ile Pro Gln Cys Arg Leu Thr Pro Leu Ser Arg Leu
 50 1 5 10 15
 55 <210> 69
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 60 <400> 69

ES 2 626 492 T3

Pro Gln Cys Arg Leu Thr Pro Leu Ser Arg Leu Pro Phe Gly Met
 1 5 10 15
 <210> 70
 <211> 15
 5 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 10 <400> 70
 Leu Thr Pro Leu Ser Arg Leu Pro Phe Gly Met Ala Pro Gly Pro
 1 5 10 15
 15 <210> 71
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 71
 Ser Arg Leu Pro Phe Gly Met Ala Pro Gly Pro Gly Pro Gln Pro
 25 1 5 10 15
 <210> 72
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 35 <400> 72
 Phe Gly Met Ala Pro Gly Pro Gly Pro Gln Pro Gly Pro Leu Arg
 1 5 10 15
 40 <210> 73
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 45 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 73
 Pro Gly Pro Gly Pro Gln Pro Gly Pro Leu Arg Glu Ser Ile Val
 1 5 10 15
 50 <210> 74
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 74
 60 Pro Gln Pro Gly Pro Leu Arg Glu Ser Ile Val Cys Tyr Phe Met
 1 5 10 15

<210> 75
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 10 <400> 75

 Pro Leu Arg Glu Ser Ile Val Cys Tyr Phe Met Val Phe Leu Gln
 1 5 10 15

 <210> 76
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 76

 Ser Ile Val Cys Tyr Phe Met Val Phe Leu Gln Thr His Ile Phe
 1 5 10 15
 25
 <210> 77
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 77
 35
 Tyr Phe Met Val Phe Leu Gln Thr His Ile Phe Ala Glu Val Leu
 1 5 10 15

 <210> 78
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 45
 <400> 78

 Phe Leu Gln Thr His Ile Phe Ala Glu Val Leu Lys Asp Ala Ile
 1 5 10 15
 50
 <210> 79
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

 <400> 79

 His Ile Phe Ala Glu Val Leu Lys Asp Ala Ile Lys Asp Leu Val
 1 5 10 15
 60
 <210> 80

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 80
 Glu Val Leu Lys Asp Ala Ile Lys Asp Leu Val Met Thr Lys Pro
 10 1 5 10 15
 <210> 81
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 20 <400> 81
 Asp Ala Ile Lys Asp Leu Val Met Thr Lys Pro Ala Pro Thr Cys
 1 5 10 15
 <210> 82
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 30 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 82
 Asp Leu Val Met Thr Lys Pro Ala Pro Thr Cys Asn Ile Arg Val
 1 5 10 15
 35 <210> 83
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 <400> 83
 45 Thr Lys Pro Ala Pro Thr Cys Asn Ile Arg Val Thr Val Cys Ser
 1 5 10 15
 <210> 84
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV
 55 <400> 84
 Pro Thr Cys Asn Ile Arg Val Thr Val Cys Ser Phe Asp Asp Gly
 1 5 10 15
 60 <210> 85
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

5 <400> 85

Ile Arg Val Thr Val Cys Ser Phe Asp Asp Gly Val Asp Leu Pro
1 5 10 15

10 <210> 86
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 86

Val Cys Ser Phe Asp Asp Gly Val Asp Leu Pro Pro Trp Phe Pro
1 5 10 15

20 <210> 87
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

25 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

30 <400> 87

Asp Asp Gly Val Asp Leu Pro Pro Trp Phe Pro Pro Met Val Glu
1 5 10 15

35 <210> 88
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

40 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 88

Asp Leu Pro Pro Trp Phe Pro Pro Met Val Glu Gly Ala Ala Ala
1 5 10 15

45 <210> 89
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

50 <220>
<223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 89

55 Trp Phe Pro Pro Met Val Glu Gly Ala Ala Ala Glu Gly Asp Asp
1 5 10 15

60 <210> 90
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

ES 2 626 492 T3

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 90

5 Met Val Glu Gly Ala Ala Ala Glu Gly Asp Asp Gly Asp Asp Gly
 1 5 10 15

<210> 91
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

15 <400> 91

Ala Ala Ala Glu Gly Asp Asp Gly Asp Asp Gly Asp Glu Gly Gly
 1 5 10 15

20 <210> 92
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 92

30 Gly Asp Asp Gly Asp Asp Gly Asp Glu Gly Gly Asp Gly Asp Glu
 1 5 10 15

<210> 93
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

40 <400> 93

Asp Asp Gly Asp Glu Gly Gly Asp Gly Asp Glu Gly Glu Glu Gly
 1 5 10 15

45 <210> 94
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

50 <220>
 <223> Fragmento de la proteína EBNA1 de EBV

<400> 94

55 Glu Gly Gly Asp Gly Asp Glu Gly Glu Glu Gly Gln Glu
 1 5 10

<210> 95
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 95

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

5 <210> 96
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

15 <400> 96

Leu Glu Arg Gly Pro Pro Gly Pro Arg Arg Pro Pro Arg Gly Pro
 1 5 10 15

20 <210> 97
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 97

Pro Pro Gly Pro Arg Arg Pro Pro Arg Gly Pro Pro Leu Ser Ser
 1 5 10 15

30 <210> 98
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 98

Arg Arg Pro Pro Arg Gly Pro Pro Leu Ser Ser Ser Leu Gly Leu
 1 5 10 15

40 <210> 99
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

50 <400> 99

Leu Phe Trp Leu Tyr Ile Val Met Ser Asp Trp Thr Gly Gly Ala
 1 5 10 15

55 <210> 100
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 100

ES 2 626 492 T3

Tyr Ile Val Met Ser Asp Trp Thr Gly Gly Ala Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

5 <210> 101
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 10 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 101

Ser Asp Trp Thr Gly Gly Ala Leu Leu Val Leu Tyr Ser Phe Ala
1 5 10 15

15 <210> 102
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 102

25 **Gly Gly Ala Leu Leu Val Leu Tyr Ser Phe Ala Leu Met Leu Ile**
1 5 10 15

30 <210> 103
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus

<220>
 35 <223> Proteína LMP1 de EBV

<400> 103

Leu Val Leu Tyr Ser Phe Ala Leu Met Leu Ile Ile Ile Ile Leu
1 5 10 15

40 <210> 104
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 104

Ser Phe Ala Leu Met Leu Ile Ile Ile Ile Leu Ile Ile Phe Ile
1 5 10 15

50 <210> 105
 <211> 15
 <212> PRT

55 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

60 <400> 105

ES 2 626 492 T3

Met Leu Ile Ile Ile Ile Leu Ile Ile Phe Ile Phe Arg Arg Asp
 1 5 10 15
 <210> 106
 <211> 15
 5 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 10 <400> 106
Ile Ile Leu Ile Ile Phe Ile Phe Arg Arg Asp Leu Leu Cys Pro
 1 5 10 15
 15 <210> 107
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 107
Ile Phe Ile Phe Arg Arg Asp Leu Leu Cys Pro Leu Gly Ala Leu
 25 1 5 10 15
 <210> 108
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 35 <400> 108
Arg Arg Asp Leu Leu Cys Pro Leu Gly Ala Leu Cys Ile Leu Leu
 1 5 10 15
 40 <210> 109
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 45 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 109
Leu Cys Pro Leu Gly Ala Leu Cys Ile Leu Leu Leu Met Ile Thr
 50 1 5 10 15
 <210> 110
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 110
 60 **Gly Ala Leu Cys Ile Leu Leu Leu Met Ile Thr Leu Leu Leu Ile**
 1 5 10 15

ES 2 626 492 T3

<210> 111
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 10 <400> 111

Ile Leu Leu Leu Met Ile Thr Leu Leu Leu Ile Ala Leu Trp Asn
1 5 10 15

 <210> 112
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 112

Met Ile Thr Leu Leu Leu Ile Ala Leu Trp Asn Leu His Gly Gln
1 5 10 15
 25
 <210> 113
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 113
 35
Leu Leu Ile Ala Leu Trp Asn Leu His Gly Gln Ala Leu Tyr Leu
1 5 10 15

 <210> 114
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 45 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 114

Leu Trp Asn Leu His Gly Gln Ala Leu Tyr Leu Gly Ile Val Leu
1 5 10 15
 50
 <210> 115
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 115

His Gly Gln Ala Leu Tyr Leu Gly Ile Val Leu Phe Ile Phe Gly
1 5 10 15
 60
 <210> 116

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 116

Leu Tyr Leu Gly Ile Val Leu Phe Ile Phe Gly Cys Leu Leu Val
 10 1 5 10 15

<210> 117
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

15 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 117

Ile Val Leu Phe Ile Phe Gly Cys Leu Leu Val Leu Gly Leu Trp
 20 1 5 10 15

<210> 118
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 118

Ile Phe Gly Cys Leu Leu Val Leu Gly Leu Trp Ile Tyr Leu Leu
 30 1 5 10 15

<210> 119
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 119

Leu Leu Val Leu Gly Leu Trp Ile Tyr Leu Leu Glu Ile Leu Trp
 40 1 5 10 15

<210> 120
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 120

Gly Leu Trp Ile Tyr Leu Leu Glu Ile Leu Trp Arg Leu Gly Ala
 50 1 5 10 15

<210> 121
 <211> 15
 <212> PRT

55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 120

Gly Leu Trp Ile Tyr Leu Leu Glu Ile Leu Trp Arg Leu Gly Ala
 60 1 5 10 15

<210> 121
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

5 <400> 121

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

10 <210> 122
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 122

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

20 <210> 123
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

25 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

30 <400> 123

Leu Gly Ala Thr Ile Trp Gln Leu Leu Ala Phe Phe Leu Ala Phe
1 5 10 15

35 <210> 124
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

40 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 124

Ile Trp Gln Leu Leu Ala Phe Phe Leu Ala Phe Phe Leu Asp Leu
1 5 10 15

45 <210> 125
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

50 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 125

55 **Leu Ala Phe Phe Leu Ala Phe Phe Leu Asp Leu Ile Leu Leu Ile**
1 5 10 15

60 <210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

ES 2 626 492 T3

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 126

5 **Leu Ala Phe Phe Leu Asp Leu Ile Leu Leu Ile Ile Ala Leu Tyr**
 1 5 10 15

<210> 127
 <211> 15
 10 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

15 <400> 127

Leu Asp Leu Ile Leu Leu Ile Ile Ala Leu Tyr Leu Gln Gln Asn
 1 5 10 15

20 <210> 128
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 128

30 <210> 129
 <211> 15
 <212> PRT
 35 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

40 <400> 129

Ala Leu Tyr Leu Gln Gln Asn Trp Trp Thr Leu Leu Val Asp Leu
 1 5 10 15

45 <210> 130
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

50 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 130

55 <210> 131
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

ES 2 626 492 T3

<400> 131

Trp Thr Leu Leu Val Asp Leu Leu Trp Leu Leu Leu Phe Leu Ala
 1 5 10 15

5 <210> 132
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

15 <400> 132

Val Asp Leu Leu Trp Leu Leu Leu Phe Leu Ala Ile Leu Ile Trp
 1 5 10 15

20 <210> 133
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 133

Trp Leu Leu Leu Phe Leu Ala Ile Leu Ile Trp Met Tyr Tyr His
 1 5 10 15

30 <210> 134
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 134

Phe Leu Ala Ile Leu Ile Trp Met Tyr Tyr His Gly Gln Arg His
 1 5 10 15

40 <210> 135
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

50 <400> 135

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

55 <210> 136
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 136

ES 2 626 492 T3

Tyr Tyr His Gly Gln Arg His Ser Asp Glu His His His Asp Asp
 1 5 10 15
 5 <210> 137
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 10 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 137
 Gln Arg His Ser Asp Glu His His His Asp Asp Ser Leu Pro His
 1 5 10 15
 15 <210> 138
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 138
 25 Asp Glu His His His Asp Asp Ser Leu Pro His Pro Gln Gln Ala
 1 5 10 15
 30 <210> 139
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 35 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 139
 His Asp Asp Ser Leu Pro His Pro Gln Gln Ala Thr Asp Asp Ser
 1 5 10 15
 40 <210> 140
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 140
 Leu Pro His Pro Gln Gln Ala Thr Asp Asp Ser Gly His Glu Ser
 50 1 5 10 15
 55 <210> 141
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 60 <400> 141

ES 2 626 492 T3

Gln Gln Ala Thr Asp Asp Ser Gly His Glu Ser Asp Ser Asn Ser
 1 5 10 15
 <210> 142
 <211> 15
 5 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 10 <400> 142
Asp Asp Ser Gly His Glu Ser Asp Ser Asn Ser Asn Glu Gly Arg
 1 5 10 15
 15 <210> 143
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 143
His Glu Ser Asp Ser Asn Ser Asn Glu Gly Arg His His Leu Leu
 25 1 5 10 15
 <210> 144
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 35 <400> 144
Ser Asn Ser Asn Glu Gly Arg His His Leu Leu Val Ser Gly Ala
 1 5 10 15
 40 <210> 145
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 45 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 145
Glu Gly Arg His His Leu Leu Val Ser Gly Ala Gly Asp Gly Pro
 1 5 10 15
 50 <210> 146
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 146
 60 <210> 146
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 <400> 146
His Leu Leu Val Ser Gly Ala Gly Asp Gly Pro Pro Leu Cys Ser
 1 5 10 15

<210> 147
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 10 <400> 147

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

 <210> 148
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 148

Asp Gly Pro Pro Leu Cys Ser Gln Asn Leu Gly Ala Pro Gly Gly
1 5 10 15
 25
 <210> 149
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 149
 35
Leu Cys Ser Gln Asn Leu Gly Ala Pro Gly Gly Gly Pro Asp Asn
1 5 10 15

 <210> 150
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV
 45
 <400> 150

Asn Leu Gly Ala Pro Gly Gly Gly Pro Asp Asn Gly Pro Gln Asp
1 5 10 15
 50
 <210> 151
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 151

Pro Gly Gly Gly Pro Asp Asn Gly Pro Gln Asp Pro Asp Asn Thr
1 5 10 15
 60
 <210> 152

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 152

10 Pro Asp Asn Gly Pro Gln Asp Pro Asp Asn Thr Asp Asp Asn Gly
 1 5 10 15

<210> 153
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

20 <400> 153

Pro Gln Asp Pro Asp Asn Thr Asp Asp Asn Gly Pro Gln Asp Pro
 1 5 10 15

<210> 154
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 30 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 154

Asp Asn Thr Asp Asp Asn Gly Pro Gln Asp Pro Asp Asn Thr Asp
 1 5 10 15

35 <210> 155
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 155

45 Asp Asn Gly Pro Gln Asp Pro Asp Asn Thr Asp Asp Asn Gly Pro
 1 5 10 15

<210> 156
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

55 <400> 156

Gln Asp Pro Asp Asn Thr Asp Asp Asn Gly Pro His Asp Pro Leu
 1 5 10 15

60 <210> 157
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

5 <400> 157

Asn Thr Asp Asp Asn Gly Pro His Asp Pro Leu Pro His Ser Pro
1 5 10 15

10 <210> 158
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 158

Asn Gly Pro His Asp Pro Leu Pro His Ser Pro Ser Asp Ser Ala
1 5 10 15

20 <210> 159
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

25 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

30 <400> 159

Asp Pro Leu Pro His Ser Pro Ser Asp Ser Ala Gly Asn Asp Gly
1 5 10 15

35 <210> 160
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

40 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 160

His Ser Pro Ser Asp Ser Ala Gly Asn Asp Gly Gly Pro Pro Gln
1 5 10 15

45 <210> 161
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

50 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 161

55 Asp Ser Ala Gly Asn Asp Gly Gly Pro Pro Gln Leu Thr Glu Glu
1 5 10 15

60 <210> 162
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 162

5 **Asn Asp Gly Gly Pro Pro Gln Leu Thr Glu Glu Val Glu Asn Lys**
 1 5 10 15

<210> 163
 <211> 15
 10 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

15 <400> 163

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

20 <210> 164
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 164

30 **Thr Glu Glu Val Glu Asn Lys Gly Gly Asp Gln Gly Pro Pro Leu**
 1 5 10 15

 <210> 165
 <211> 15
 <212> PRT
 35 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

40 <400> 165

Glu Asn Lys Gly Gly Asp Gln Gly Pro Pro Leu Met Thr Asp Gly
 1 5 10 15

45 <210> 166
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

50 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

 <400> 166

55 **Gly Asp Gln Gly Pro Pro Leu Met Thr Asp Gly Gly Gly Gly His**
 1 5 10 15

 <210> 167
 <211> 15
 <212> PRT
 60 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 167

Pro Pro Leu Met Thr Asp Gly Gly Gly Gly His Ser His Asp Ser
 1 5 10 15

5 <210> 168
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

15 <400> 168

Thr Asp Gly Gly Gly Gly His Ser His Asp Ser Gly His Gly Gly
 1 5 10 15

20 <210> 169
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 169

Gly Gly His Ser His Asp Ser Gly His Gly Gly Gly Asp Pro His
 1 5 10 15

30 <210> 170
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 170

His Asp Ser Gly His Gly Gly Gly Asp Pro His Leu Pro Thr Leu
 1 5 10 15

40 <210> 171
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

50 <400> 171

His Gly Gly Gly Asp Pro His Leu Pro Thr Leu Leu Leu Gly Ser
 1 5 10 15

55 <210> 172
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 172

ES 2 626 492 T3

Asp Pro His Leu Pro Thr Leu Leu Leu Gly Ser Ser Gly Ser Gly
 1 5 10 15

5 <210> 173
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 10 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 173

Pro Thr Leu Leu Leu Gly Ser Ser Gly Ser Gly Gly Asp Asp Asp
 1 5 10 15

15 <210> 174
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 174

25 **Leu Gly Ser Ser Gly Ser Gly Gly Asp Asp Asp Asp Pro His Gly**
 1 5 10 15

30 <210> 175
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 35 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 175

Gly Ser Gly Gly Asp Asp Asp Asp Pro His Gly Pro Val Gln Leu
 1 5 10 15

40 <210> 176
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP1 de EBV

<400> 176

Asp Asp Asp Asp Pro His Gly Pro Val Gln Leu Ser Tyr Tyr Asp
 50 1 5 10 15

55 <210> 177
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

60 <400> 177

ES 2 626 492 T3

Met Gly Ser Leu Glu Met Val Pro Met Gly Ala Gly Pro Pro Ser
 1 5 10 15

 <210> 178
 <211> 15
 5 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 10
 <400> 178

 Glu Met Val Pro Met Gly Ala Gly Pro Pro Ser Pro Gly Gly Asp
 1 5 10 15

 15 <210> 179
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 179

 Met Gly Ala Gly Pro Pro Ser Pro Gly Gly Asp Pro Asp Gly Tyr
 25 1 5 10 15

 <210> 180
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 35 <400> 180

 Pro Pro Ser Pro Gly Gly Asp Pro Asp Gly Tyr Asp Gly Gly Asn
 1 5 10 15

 40 <210> 181
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 45 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 181

 Gly Gly Asp Pro Asp Gly Tyr Asp Gly Gly Asn Asn Ser Gln Tyr
 1 5 10 15

 50 <210> 182
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 182

 60 Asp Gly Tyr Asp Gly Gly Asn Asn Ser Gln Tyr Pro Ser Ala Ser
 1 5 10 15

ES 2 626 492 T3

<210> 183
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 10 <400> 183

 Gly Gly Asn Asn Ser Gln Tyr Pro Ser Ala Ser Gly Ser Ser Gly
 1 5 10 15

 <210> 184
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 184

 Ser Gln Tyr Pro Ser Ala Ser Gly Ser Ser Gly Asn Thr Pro Thr
 1 5 10 15

 25 <210> 185
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 185

 35 Ser Ala Ser Gly Ser Ser Gly Asn Thr Pro Thr Pro Pro Asn Asp
 1 5 10 15

 <210> 186
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 45 <400> 186

 Ser Ser Gly Asn Thr Pro Thr Pro Pro Asn Asp Glu Glu Arg Glu
 1 5 10 15

 50 <210> 187
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 187

 Thr Pro Thr Pro Pro Asn Asp Glu Glu Arg Glu Ser Asn Glu Glu
 1 5 10 15

 60 <210> 188

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 188
 Pro Asn Asp Glu Glu Arg Glu Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro
 10 1 5 10 15
 <210> 189
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 20 <400> 189
 Glu Arg Glu Ser Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Asp Pro
 1 5 10 15
 <210> 190
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 30 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 190
 Asn Glu Glu Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Asp Pro Tyr Trp Gly Asn
 35 1 5 10 15
 <210> 191
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 191
 45 Pro Pro Pro Tyr Glu Asp Pro Tyr Trp Gly Asn Gly Asp Arg His
 1 5 10 15
 <210> 192
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 55 <400> 192
 Glu Asp Pro Tyr Trp Gly Asn Gly Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln
 1 5 10 15
 60 <210> 193
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

5 <400> 193

Trp Gly Asn Gly Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr
1 5 10 15

10 <210> 194
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 194

Asp Arg His Ser Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser
20 1 5 10 15

<210> 195
<211> 15
<212> PRT

25 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

30 <400> 195

Asp Tyr Gln Pro Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly
1 5 10 15

<210> 196
<211> 15
<212> PRT

35 <213> Virus Herpesviridae

<220>

40 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 196

Leu Gly Thr Gln Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp
45 1 5 10 15

<210> 197
<211> 15
<212> PRT

50 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 197

55 Asp Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly
1 5 10 15

<210> 198
<211> 15
<212> PRT

60 <213> Virus Herpesviridae

ES 2 626 492 T3

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 198

5 Tyr Leu Gly Leu Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro
 1 5 10 15

<210> 199
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

15 <400> 199

Gln His Asp Gly Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro
 1 5 10 15

20 <210> 200
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 200

30 Asn Asp Gly Leu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser
 1 5 10 15

<210> 201
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

40 <400> 201

Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile
 1 5 10 15

45 <210> 202
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

50 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 202

Tyr Ser Pro Arg Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala
 1 5 10 15

55 <210> 203
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

ES 2 626 492 T3

<400> 203

Asp Asp Ser Ser Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly Ser
 1 5 10 15

5 <210> 204
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 204

15 Gln His Ile Tyr Glu Glu Ala Gly Arg Gly Ser Met Asn Pro Val
 1 5 10 15

20 <210> 205
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 205

Glu Glu Ala Gly Arg Gly Ser Met Asn Pro Val Cys Leu Pro Val
 1 5 10 15

30 <210> 206
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 206

Arg Gly Ser Met Asn Pro Val Cys Leu Pro Val Ile Val Ala Pro
 1 5 10 15

40 <210> 207
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

50 <400> 207

Asn Pro Val Cys Leu Pro Val Ile Val Ala Pro Tyr Leu Phe Trp
 1 5 10 15

55 <210> 208
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 208

ES 2 626 492 T3

Leu Pro Val Ile Val Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Leu Ala Ala Ile
 1 5 10 15
 5 <210> 209
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 10 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 209
 Val Ala Pro Tyr Leu Phe Trp Leu Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys
 1 5 10 15
 15 <210> 210
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 210
 25 Leu Phe Trp Leu Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser
 1 5 10 15
 <210> 211
 <211> 15
 30 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 35 <400> 211
 Ala Ala Ile Ala Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser Val Ser Thr Val
 1 5 10 15
 40 <210> 212
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 212
 Ala Ser Cys Phe Thr Ala Ser Val Ser Thr Val Val Thr Ala Thr
 50 1 5 10 15
 <210> 213
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 60 <400> 213

ES 2 626 492 T3

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

5 <210> 214
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 214

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

15 <210> 215
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 215

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

25 <210> 216
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

35 <400> 216

Leu Ala Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ala Ala Val Ala Ser Ser Tyr
1 5 10 15

40 <210> 217
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 217

Leu Leu Leu Leu Ala Ala Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln
1 5 10 15

50 <210> 218
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 218

60 **Ala Ala Val Ala Ser Ser Tyr Ala Ala Ala Gln Arg Lys Leu Leu**
1 5 10 15

ES 2 626 492 T3

<210> 219
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 10 <400> 219

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

 <210> 220
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 220

Ala Ala Gln Arg Lys Leu Leu Thr Pro Val Thr Val Leu Thr Ala
1 5 10 15
 25
 <210> 221
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 221
 35
Lys Leu Leu Thr Pro Val Thr Val Leu Thr Ala Val Val Thr Phe
1 5 10 15

 <210> 222
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 45
 <400> 222

Pro Val Thr Val Leu Thr Ala Val Val Thr Phe Phe Ala Ile Cys
1 5 10 15
 50
 <210> 223
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 223

Leu Thr Ala Val Val Thr Phe Phe Ala Ile Cys Leu Thr Trp Arg
1 5 10 15
 60
 <210> 224

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 224

10 Val Thr Phe Phe Ala Ile Cys Leu Thr Trp Arg Ile Glu Asp Pro
 1 5 10 15

<210> 225
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

20 <400> 225

Ala Ile Cys Leu Thr Trp Arg Ile Glu Asp Pro Pro Phe Asn Ser
 1 5 10 15

<210> 226
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 30 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 226

Thr Trp Arg Ile Glu Asp Pro Pro Phe Asn Ser Leu Leu Phe Ala
 1 5 10 15

35 <210> 227
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 227

45 Glu Asp Pro Pro Phe Asn Ser Leu Leu Phe Ala Leu Leu Ala Ala
 1 5 10 15

<210> 228
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

55 <400> 228

Phe Asn Ser Leu Leu Phe Ala Leu Leu Ala Ala Ala Gly Gly Leu
 1 5 10 15

60 <210> 229
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

5 <400> 229

Leu Phe Ala Leu Leu Ala Ala Ala Gly Gly Leu Gln Gly Ile Tyr
1 5 10 15

10 <210> 230
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 230

Leu Ala Ala Ala Gly Gly Leu Gln Gly Ile Tyr Val Leu Val Met
20 1 5 10 15

<210> 231
<211> 15
<212> PRT

25 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

30 <400> 231

Gly Gly Leu Gln Gly Ile Tyr Val Leu Val Met Leu Val Leu Leu
1 5 10 15

<210> 232
<211> 15
<212> PRT

35 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

40 <400> 232

Gly Ile Tyr Val Leu Val Met Leu Val Leu Leu Ile Leu Ala Tyr
45 1 5 10 15

<210> 233
<211> 15
<212> PRT

50 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 233

55 Leu Val Met Leu Val Leu Leu Ile Leu Ala Tyr Arg Arg Arg Trp
1 5 10 15

<210> 234
<211> 15
<212> PRT

60 <213> Virus Herpesviridae

ES 2 626 492 T3

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 234

5 Val Leu Leu Ile Leu Ala Tyr Arg Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr
 1 5 10 15

<210> 235
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

15 <400> 235

Leu Ala Tyr Arg Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr Val Cys Gly Gly
 1 5 10 15

20 <210> 236
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 236

30 Arg Arg Trp Arg Arg Leu Thr Val Cys Gly Gly Ile Met Phe Leu
 1 5 10 15

<210> 237
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

40 <400> 237

Arg Leu Thr Val Cys Gly Gly Ile Met Phe Leu Ala Cys Val Leu
 1 5 10 15

45 <210> 238
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

50 <400> 238

Cys Gly Gly Ile Met Phe Leu Ala Cys Val Leu Val Leu Ile Val
 1 5 10 15

55 <210> 239
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 239

Met Phe Leu Ala Cys Val Leu Val Leu Ile Val Asp Ala Val Leu
 1 5 10 15

5 <210> 240
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

15 <400> 240

Cys Val Leu Val Leu Ile Val Asp Ala Val Leu Gln Leu Ser Pro
 1 5 10 15

20 <210> 241
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 241

Leu Ile Val Asp Ala Val Leu Gln Leu Ser Pro Leu Leu Gly Ala
 1 5 10 15

30 <210> 242
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 242

Ala Val Leu Gln Leu Ser Pro Leu Leu Gly Ala Val Thr Val Val
 1 5 10 15

40 <210> 243
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

50 <400> 243

Leu Ser Pro Leu Leu Gly Ala Val Thr Val Val Ser Met Thr Leu
 1 5 10 15

55 <210> 244
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 244

ES 2 626 492 T3

Leu Gly Ala Val Thr Val Val Ser Met Thr Leu Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15

5 <210> 245
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 10 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 245

Thr Val Val Ser Met Thr Leu Leu Leu Leu Ala Phe Val Leu Trp
1 5 10 15

15 <210> 246
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 246

25 **Met Thr Leu Leu Leu Leu Ala Phe Val Leu Trp Leu Ser Ser Pro**
1 5 10 15

30 <210> 247
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 35 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 247

Leu Leu Ala Phe Val Leu Trp Leu Ser Ser Pro Gly Gly Leu Gly
1 5 10 15

40 <210> 248
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 248

Val Leu Trp Leu Ser Ser Pro Gly Gly Leu Gly Thr Leu Gly Ala
50 1 5 10 15

<210> 249
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

60 <400> 249

ES 2 626 492 T3

Ser Ser Pro Gly Gly Leu Gly Thr Leu Gly Ala Ala Leu Leu Thr
 1 5 10 15
 <210> 250
 <211> 15
 5 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 10 <400> 250
Gly Leu Gly Thr Leu Gly Ala Ala Leu Leu Thr Leu Ala Ala Ala
 1 5 10 15
 15 <210> 251
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 251
Leu Gly Ala Ala Leu Leu Thr Leu Ala Ala Ala Leu Ala Leu Leu
 25 1 5 10 15
 <210> 252
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 35 <400> 252
Leu Leu Thr Leu Ala Ala Ala Leu Ala Leu Leu Ala Ser Leu Ile
 1 5 10 15
 40 <210> 253
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 45 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 253
Ala Ala Ala Leu Ala Leu Leu Ala Ser Leu Ile Leu Gly Thr Leu
 1 5 10 15
 50 <210> 254
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 254
 60 **Ala Leu Leu Ala Ser Leu Ile Leu Gly Thr Leu Asn Leu Thr Thr**
 1 5 10 15

ES 2 626 492 T3

<210> 255
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 10 <400> 255

Ser Leu Ile Leu Gly Thr Leu Asn Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu
1 5 10 15

 <210> 256
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 256

Gly Thr Leu Asn Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp
1 5 10 15
 25
 <210> 257
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 257
 35
Leu Thr Thr Met Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val
1 5 10 15

 <210> 258
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 45
 <400> 258

Phe Leu Leu Met Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys
1 5 10 15
 50
 <210> 259
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 259

Leu Leu Trp Thr Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser
1 5 10 15
 60
 <210> 260

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 260
 Leu Val Val Leu Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu
 10 1 5 10 15
 <210> 261
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 20 <400> 261
 Leu Ile Cys Ser Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu
 1 5 10 15
 <210> 262
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 30 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 262
 Ser Cys Ser Ser Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu
 35 1 5 10 15
 <210> 263
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 263
 45 Cys Pro Leu Ser Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala
 1 5 10 15
 <210> 264
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 55 <400> 264
 Lys Ile Leu Leu Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 60 <210> 265
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

5 <400> 265

Ala Arg Leu Phe Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser
1 5 10 15

10 <210> 266
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 266

Leu Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Leu Ile Ala
20 1 5 10 15

<210> 267
<211> 15
<212> PRT

25 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

30 <400> 267

Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile
1 5 10 15

<210> 268
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus

<220>

40 <223> Proteína LMP2 de EBV

<400> 268

Leu Ala Ser Ala Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile Leu Gln Thr Asn
45 1 5 10 15

<210> 269
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

50 <220>
<223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 269

55 **Leu Ile Ala Gly Gly Ser Ile Leu Gln Thr Asn Phe Lys Ser Leu**
1 5 10 15

<210> 270
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

60

ES 2 626 492 T3

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 270

5 Gly Ser Ile Leu Gln Thr Asn Phe Lys Ser Leu Ser Ser Thr Glu
 1 5 10 15

<210> 271
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

15 <400> 271

Gln Thr Asn Phe Lys Ser Leu Ser Ser Thr Glu Phe Ile Pro Asn
 1 5 10 15

20 <210> 272
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 272

Lys Ser Leu Ser Ser Thr Glu Phe Ile Pro Asn Leu Phe Cys Met
 30 1 5 10 15

<210> 273
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

40 <400> 273

Ser Thr Glu Phe Ile Pro Asn Leu Phe Cys Met Leu Leu Leu Ile
 1 5 10 15

45 <210> 274
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

50 <400> 274

Ile Pro Asn Leu Phe Cys Met Leu Leu Leu Ile Val Ala Gly Ile
 55 1 5 10 15

<210> 275
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 275

Phe Cys Met Leu Leu Leu Ile Val Ala Gly Ile Leu Phe Ile Leu
 1 5 10 15

5

<210> 276
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 276

15

Leu Leu Ile Val Ala Gly Ile Leu Phe Ile Leu Ala Ile Leu Thr
 1 5 10 15

<210> 277
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

20

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

25

<400> 277

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

30

<210> 278
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 278

40

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

<210> 279
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

45

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

50

<400> 279

Ile Leu Thr Glu Trp Gly Ser Gly Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val
 1 5 10 15

55

<210> 280
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60

<220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

<400> 280

ES 2 626 492 T3

Trp Gly Ser Gly Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val Phe Met Cys Leu
 1 5 10 15
 5 <210> 281
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 10 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 281
 Asn Arg Thr Tyr Gly Pro Val Phe Met Cys Leu Gly Gly Leu Leu
 1 5 10 15
 15 <210> 282
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 282
 25 Gly Pro Val Phe Met Cys Leu Gly Gly Leu Leu Thr Met Val Ala
 1 5 10 15
 <210> 283
 <211> 15
 30 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 35 <400> 283
 Met Cys Leu Gly Gly Leu Leu Thr Met Val Ala Gly Ala Val Trp
 1 5 10 15
 40 <210> 284
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 284
 Gly Leu Leu Thr Met Val Ala Gly Ala Val Trp Leu Thr Val Met
 50 1 5 10 15
 <210> 285
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 60 <400> 285

ES 2 626 492 T3

Met Val Ala Gly Ala Val Trp Leu Thr Val Met Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15
 <210> 286
 <211> 15
 5 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 10 <400> 286
Ala Val Trp Leu Thr Val Met Ser Asn Thr Leu Leu Ser Ala Trp
 1 5 10 15
 15 <210> 287
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 287
Thr Val Met Ser Asn Thr Leu Leu Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala
 25 1 5 10 15
 <210> 288
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 35 <400> 288
Asn Thr Leu Leu Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala Gly Phe Leu Ile
 1 5 10 15
 40 <210> 289
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 45 <223> Fragmentos de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 289
Ser Ala Trp Ile Leu Thr Ala Gly Phe Leu Ile Phe Leu Ile Gly
 1 5 10 15
 50 <210> 290
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 290
 60 **Leu Thr Ala Gly Phe Leu Ile Phe Leu Ile Gly Phe Ala Leu Phe**
 1 5 10 15

ES 2 626 492 T3

<210> 291
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 10 <400> 291

Phe Leu Ile Phe Leu Ile Gly Phe Ala Leu Phe Gly Val Ile Arg
1 5 10 15

 <210> 292
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 292

Leu Ile Gly Phe Ala Leu Phe Gly Val Ile Arg Cys Cys Arg Tyr
1 5 10 15
 25
 <210> 293
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 293
 35
Ala Leu Phe Gly Val Ile Arg Cys Cys Arg Tyr Cys Cys Tyr Tyr
1 5 10 15

 <210> 294
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 45
 <400> 294

Val Ile Arg Cys Cys Arg Tyr Cys Cys Tyr Tyr Cys Leu Thr Leu
1 5 10 15
 50
 <210> 295
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV

 <400> 295

Cys Arg Tyr Cys Cys Tyr Tyr Cys Leu Thr Leu Glu Ser Glu Glu
1 5 10 15
 60
 <210> 296

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 296
 Cys Tyr Tyr Cys Leu Thr Leu Glu Ser Glu Glu Arg Pro Pro Thr
 10 1 5 10 15
 <210> 297
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 20 <400> 297
 Leu Thr Leu Glu Ser Glu Glu Arg Pro Pro Thr Pro Tyr Arg Asn
 1 5 10 15
 <210> 298
 25 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 30 <223> Fragmento de la proteína LMP2 de EBV
 <400> 298
 Ser Glu Glu Arg Pro Pro Thr Pro Tyr Arg Asn Thr Val
 35 1 5 10
 <210> 299
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 299
 45 Met Ala Arg Phe Ile Ala Gln Leu Leu Leu Leu Ala Ser Cys Val
 1 5 10 15
 <210> 300
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 55 <400> 300
 Ala Gln Leu Leu Leu Leu Ala Ser Cys Val Ala Ala Gly Gln Ala
 1 5 10 15
 60 <210> 301
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

5 <400> 301

Leu Ala Ser Cys Val Ala Ala Gly Gln Ala Val Thr Ala Phe Leu
1 5 10 15

10 <210> 302
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 302

Ala Ala Gly Gln Ala Val Thr Ala Phe Leu Gly Glu Arg Val Thr
20 1 5 10 15

<210> 303
<211> 15
<212> PRT

25 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

30 <400> 303

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

35 <210> 304
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

<220>

40 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 304

Gly Glu Arg Val Thr Leu Thr Ser Tyr Trp Arg Arg Val Ser Leu
45 1 5 10 15

<210> 305
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus

50 <220>
<223> Proteína BARF1 de EBV

<400> 305

55 Leu Thr Ser Tyr Trp Arg Arg Val Ser Leu Gly Pro Glu Ile Glu
1 5 10 15

<210> 306
<211> 15
<212> PRT

60 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 306

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

<210> 307
 <211> 15
 10 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

15 <400> 307

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

20 <210> 308
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

 <400> 308

30 **Val Ser Trp Phe Lys Leu Gly Pro Gly Glu Glu Gln Val Leu Ile**
 1 5 10 15

 <210> 309
 <211> 15
 <212> PRT
 35 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

40 <400> 309

Leu Gly Pro Gly Glu Glu Gln Val Leu Ile Gly Arg Met His His
 1 5 10 15

45 <210> 310
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

50 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

 <400> 310

55 **Glu Gln Val Leu Ile Gly Arg Met His His Asp Val Ile Phe Ile**
 1 5 10 15

 <210> 311
 <211> 15
 <212> PRT
 60 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 311

Gly Arg Met His His Asp Val Ile Phe Ile Glu Trp Pro Phe Arg
 1 5 10 15

5 <210> 312
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

10 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 312

15 Asp Val Ile Phe Ile Glu Trp Pro Phe Arg Gly Phe Phe Asp Ile
 1 5 10 15

20 <210> 313
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

25 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 313

Glu Trp Pro Phe Arg Gly Phe Phe Asp Ile His Arg Ser Ala Asn
 1 5 10 15

30 <210> 314
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

35 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 314

40 Gly Phe Phe Asp Ile His Arg Ser Ala Asn Thr Phe Phe Leu Val
 1 5 10 15

45 <210> 315
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

<220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

50 <400> 315

His Arg Ser Ala Asn Thr Phe Phe Leu Val Val Thr Ala Ala Asn
 1 5 10 15

55 <210> 316
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

60 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 316

ES 2 626 492 T3

Thr Phe Phe Leu Val Val Thr Ala Ala Asn Ile Ser His Asp Gly
 1 5 10 15
 <210> 317
 5 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 10 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 317
 Val Thr Ala Ala Asn Ile Ser His Asp Gly Asn Tyr Leu Cys Arg
 1 5 10 15
 15 <210> 318
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 318
 25 Ile Ser His Asp Gly Asn Tyr Leu Cys Arg Met Lys Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 <210> 319
 <211> 15
 30 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 35 <400> 319
 Asn Tyr Leu Cys Arg Met Lys Leu Gly Glu Thr Glu Val Thr Lys
 1 5 10 15
 40 <210> 320
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 45 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 320
 Met Lys Leu Gly Glu Thr Glu Val Thr Lys Gln Glu His Leu Ser
 50 1 5 10 15
 <210> 321
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 60 <400> 321

ES 2 626 492 T3

Thr Glu Val Thr Lys Gln Glu His Leu Ser Val Val Lys Pro Leu
 1 5 10 15
 <210> 322
 <211> 15
 5 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 10 <400> 322
 Gln Glu His Leu Ser Val Val Lys Pro Leu Thr Leu Ser Val His
 1 5 10 15
 15 <210> 323
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 20 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 323
 Val Val Lys Pro Leu Thr Leu Ser Val His Ser Glu Arg Ser Gln
 25 1 5 10 15
 <210> 324
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 35 <400> 324
 Thr Leu Ser Val His Ser Glu Arg Ser Gln Phe Pro Asp Phe Ser
 1 5 10 15
 40 <210> 325
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 45 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 325
 Ser Glu Arg Ser Gln Phe Pro Asp Phe Ser Val Leu Thr Val Thr
 50 1 5 10 15
 <210> 326
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 326
 60 Phe Pro Asp Phe Ser Val Leu Thr Val Thr Cys Thr Val Asn Ala
 1 5 10 15

<210> 327
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 10 <400> 327

 Val Leu Thr Val Thr Cys Thr Val Asn Ala Phe Pro His Pro His
 1 5 10 15

 <210> 328
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 20 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

 <400> 328

 Cys Thr Val Asn Ala Phe Pro His Pro His Val Gln Trp Leu Met
 1 5 10 15
 25

 <210> 329
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 30

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

 <400> 329
 35

 Phe Pro His Pro His Val Gln Trp Leu Met Pro Glu Gly Val Glu
 1 5 10 15

 <210> 330
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 45

 <400> 330

 Val Gln Trp Leu Met Pro Glu Gly Val Glu Pro Ala Pro Thr Ala
 1 5 10 15
 50

 <210> 331
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 55

 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

 <400> 331

 Pro Glu Gly Val Glu Pro Ala Pro Thr Ala Ala Asn Gly Gly Val
 1 5 10 15
 60

 <210> 332

ES 2 626 492 T3

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 5 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 332
 Pro Ala Pro Thr Ala Ala Asn Gly Gly Val Gly Ser Leu Ser Val
 10 1 5 10 15
 <210> 333
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 20 <400> 333
 Ala Asn Gly Gly Val Gly Ser Leu Ser Val Ala Val Asp Leu Ser
 1 5 10 15
 <210> 334
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 30 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 334
 Gly Ser Leu Ser Val Ala Val Asp Leu Ser Leu Pro Lys Pro Trp
 35 1 5 10 15
 <210> 335
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 40 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 <400> 335
 45 Ala Val Asp Leu Ser Leu Pro Lys Pro Trp His Leu Pro Val Thr
 1 5 10 15
 <210> 336
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Virus Herpesviridae
 <220>
 <223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV
 55 <400> 336
 Leu Pro Lys Pro Trp His Leu Pro Val Thr Cys Val Gly Lys Asn
 1 5 10 15
 60 <210> 337
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

5 <400> 337

His Leu Pro Val Thr Cys Val Gly Lys Asn Asp Lys Glu Glu Ala
1 5 10 15

10 <210> 338
<211> 15
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

15 <220>
<223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

<400> 338

Cys Val Gly Lys Asn Asp Lys Glu Glu Ala His Gly Val Tyr Val
20 1 5 10 15

<210> 339
<211> 15
<212> PRT

25 <213> Virus Herpesviridae

<220>
<223> Fragmento de la proteína BARF1 de EBV

30 <400> 339

Asp Lys Glu Glu Ala His Gly Val Tyr Val Ser Gly Tyr Leu Ser
1 5 10 15

35 <210> 340
<211> 220
<212> PRT
<213> Virus Herpesviridae

<220>

40 <223> Proteína BHRF 1 de EBV

<400> 340

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

Ala Gly Gln Ala Val Thr Ala Phe Leu Gly Glu Arg Val Thr Leu Thr
20 25 30

Ser Tyr Trp Arg Arg Val Ser Leu Gly Pro Glu Ile Glu Val Ser Trp
35 40 45

Phe Lys Leu Gly Pro Gly Glu Glu Gln Val Leu Ile Gly Arg Met His
50 55 60

45

ES 2 626 492 T3

His Asp Val Ile Phe Ile Glu Trp Pro Phe Arg Gly Phe Phe Asp Ile
65 70 75 80

His Arg Ser Ala Asn Thr Phe Phe Leu Val Val Thr Ala Ala Asn Ile
85 90 95

Ser His Asp Gly Asn Tyr Leu Cys Arg Met Lys Leu Gly Glu Thr Glu
100 105 110

Val Thr Lys Gln Glu His Leu Ser Val Val Lys Pro Leu Thr Leu Ser
115 120 125

Val His Ser Glu Arg Ser Gln Phe Pro Asp Phe Ser Val Leu Thr Val
130 135 140

Thr Cys Thr Val Asn Ala Phe Pro His Pro His Val Gln Trp Leu Met
145 150 155 160

Pro Glu Gly Val Glu Pro Ala Pro Thr Ala Ala Asn Gly Gly Val Met
165 170 175

Lys Glu Lys Asp Gly Ser Leu Ser Val Ala Val Asp Leu Ser Leu Pro
180 185 190

Lys Pro Trp His Leu Pro Val Thr Cys Val Gly Lys Asn Asp Lys Glu
195 200 205

Glu Ala His Gly Val Tyr Val Ser Gly Tyr Leu Ser
210 215 220

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento de expansión *in vitro* para una expansión rápida de células T específicas de antígenos, que comprende la etapa de cultivar un un recipiente permeable a los gases una población de PBMC con la adición de un antígeno seleccionado del grupo que consiste en un péptido reconstituido acuoso y una mezcla de péptidos reconstituidos acuosos para uno o varios antígenos diana;
- en donde los péptidos contienen al menos 2, pero no más de 50 aminoácidos;
- en donde el cultivo se lleva a cabo en presencia de al menos una citoquina exógena, seleccionada del grupo que comprende IL-4, IL-7 e IL-15, y el procedimiento se lleva a cabo sin la adición de IL-2 exógena; y
- 10 en donde no se añaden ni se cambian medio ni nutrientes después del inicio del procedimiento de expansión, y en donde la expansión proporciona la población de células T deseada en 14 días o menos.
2. Un procedimiento de expansión *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la citoquina exógena es una combinación de IL-4 e IL-7.
3. Un procedimiento de expansión *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde las células específicas de antígenos son alogénicas.
- 15 4. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el cultivo se lleva a cabo en presencia de un medio de expansión de células T.
5. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el antígeno diana es un antígeno específico de CMV.
- 20 6. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la mezcla de péptidos comprende entre 2 y 500 péptidos, 2 a 400 péptidos, 2 a 300 o 2 a 200 péptidos.
7. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 6, en donde los péptidos se solapan en 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más aminoácidos.
8. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde los péptidos tienen de promedio 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 aminoácidos de longitud.
- 25 9. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la muestra de PBMC inicial derivada de un donante es una muestra movilizada o una muestra de aféresis movilizada.
10. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el recipiente permeable a los gases es un sistema GRex o un sistema derivado o equivalente.
- 30 11. Un procedimiento *in vitro* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el procedimiento se lleva a cabo en una estancia limpia.
12. Un procedimiento de acuerdo con lo definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende la etapa adicional de preparar una composición farmacéuticamente aceptable añadiendo un diluyente, estabilizador, conservante y/u otro excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 35 13. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, que comprende la etapa adicional de cargar la población de células T específicas de antígenos o una composición farmacéutica que la comprende en un contenedor.
14. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el procedimiento consiste en expandir las células T específicas de antígenos durante 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7 días o menos.

Figura 1 Representación diagramática de un Dispositivo Wilson Wolf

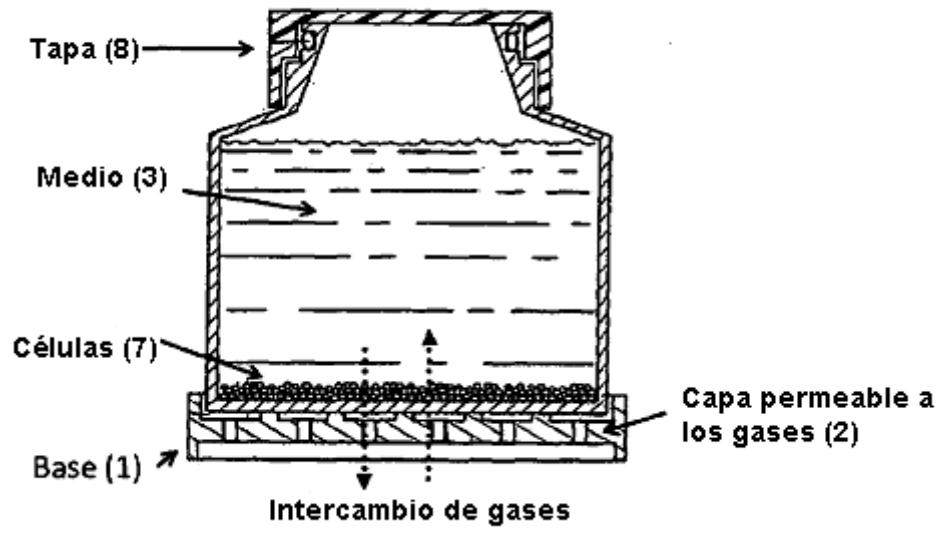


FIGURA 2 Representación diagramática del Aparato empleado en el Ejemplo 3

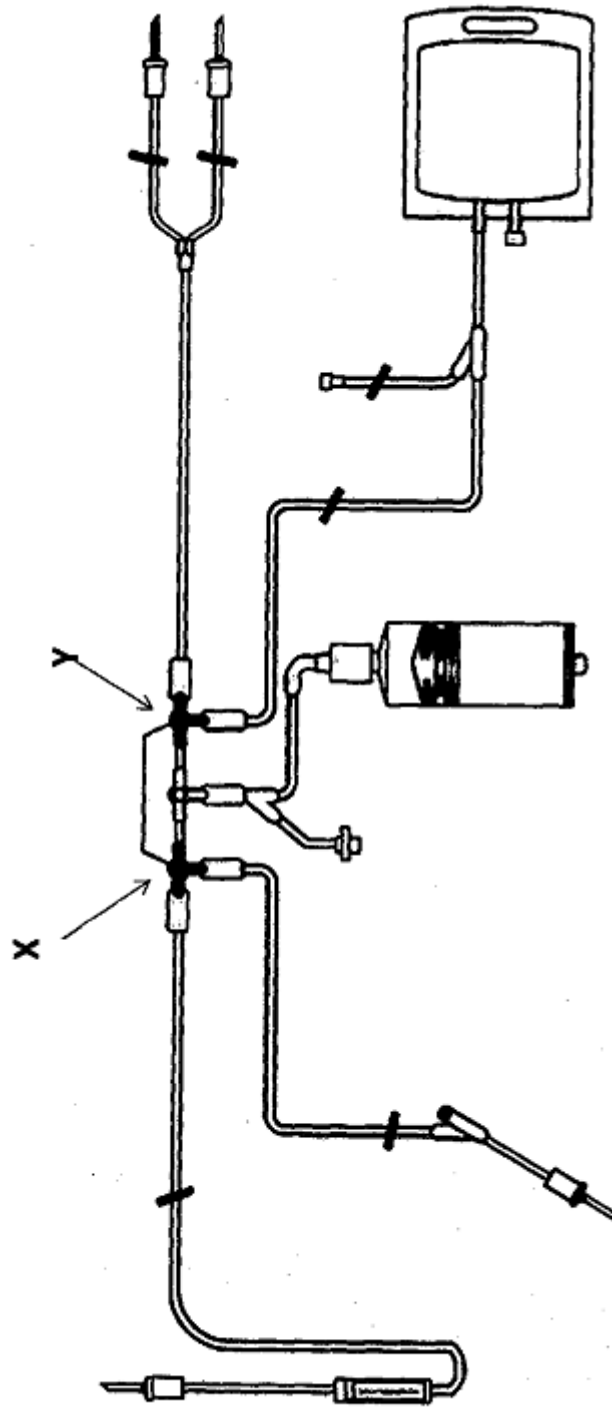


FIGURA 3 Dispositivo de cultivo celular modificado que puede funcionar como un sistema cerrado

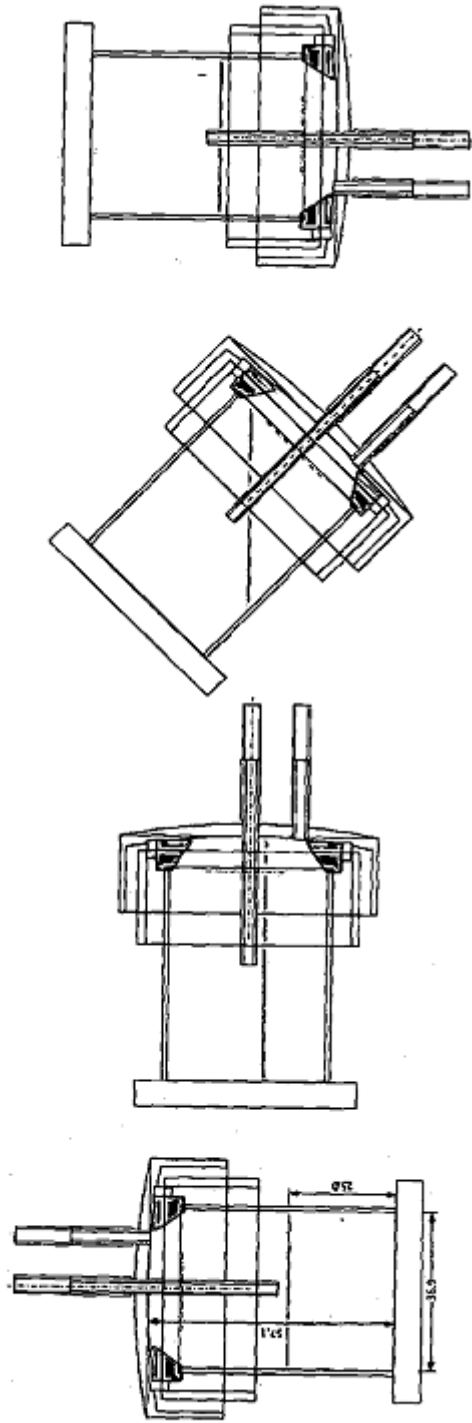


Figura 4A Expansión de linfocitos T citolíticos del donante III en presencia de IL4 e IL7 y en ausencia de dichas citoquinas

Donante II - Expansión de CTL

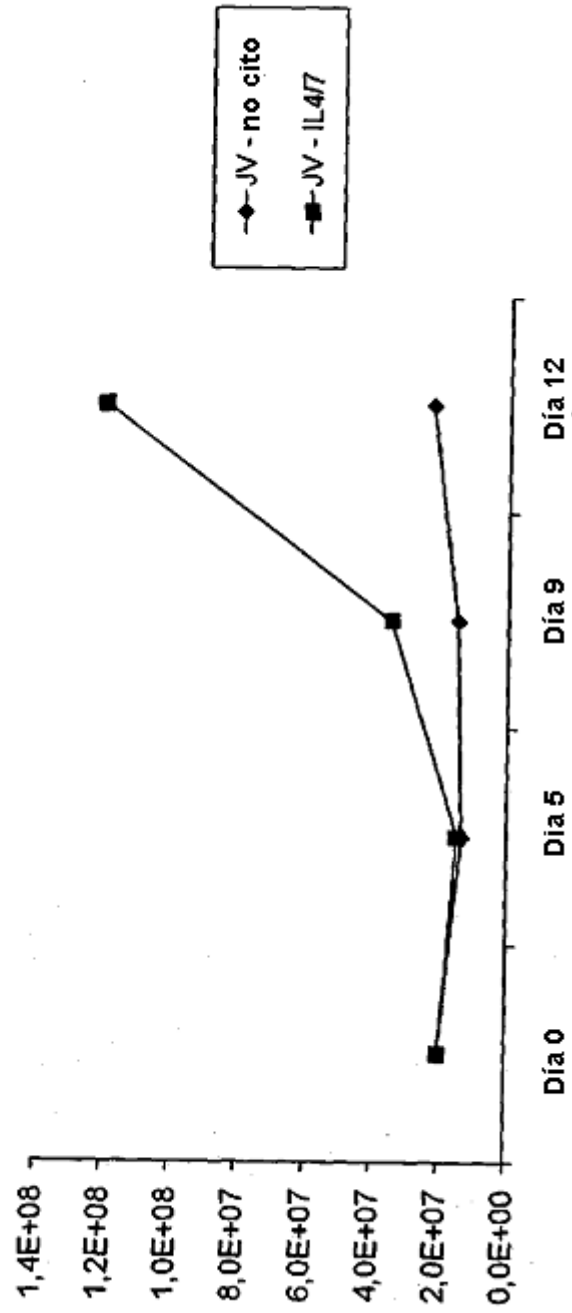


Figura 4B Expansión de linfocitos T citolíticos del donante III en presencia de IL4 e IL7 y en ausencia de dichas citoquinas

Donante III - Expansión CTL

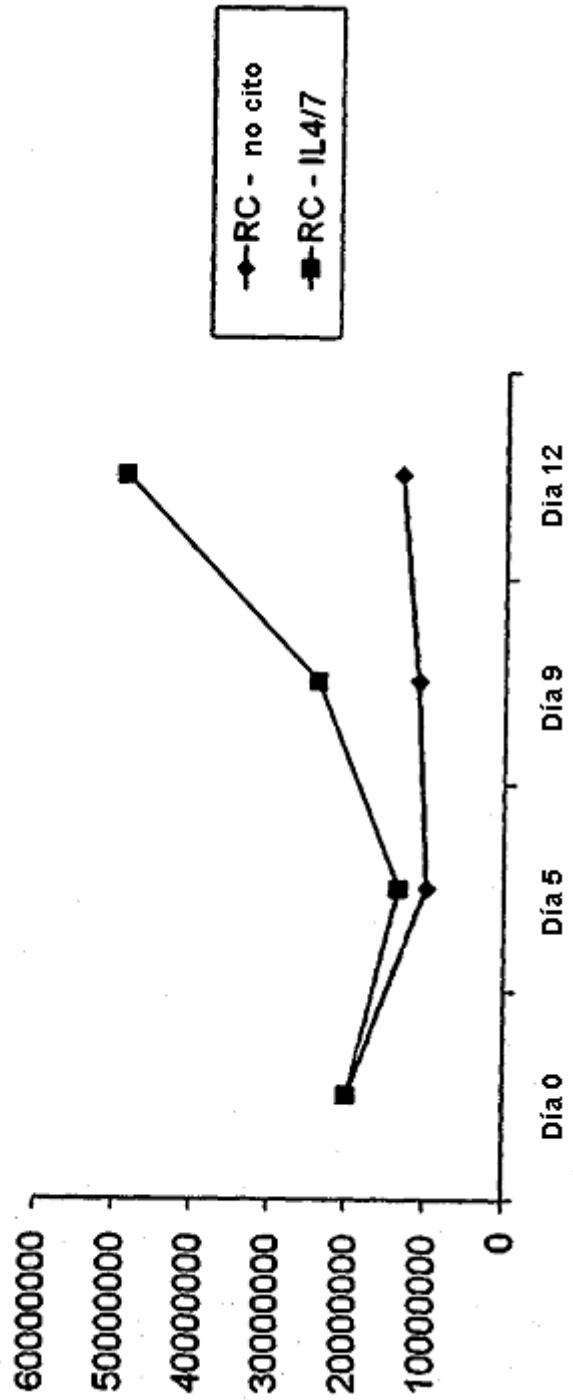


Figura 5A Muestra las células fadoras de manchás en un análisis específico de citoquinas para células expandidas del donante III que fueron cultivadas en presencia de peptido pp65 de CMV, IL4 e IL7 o en ausencia de citoquina
Donante III - pp65 CTL

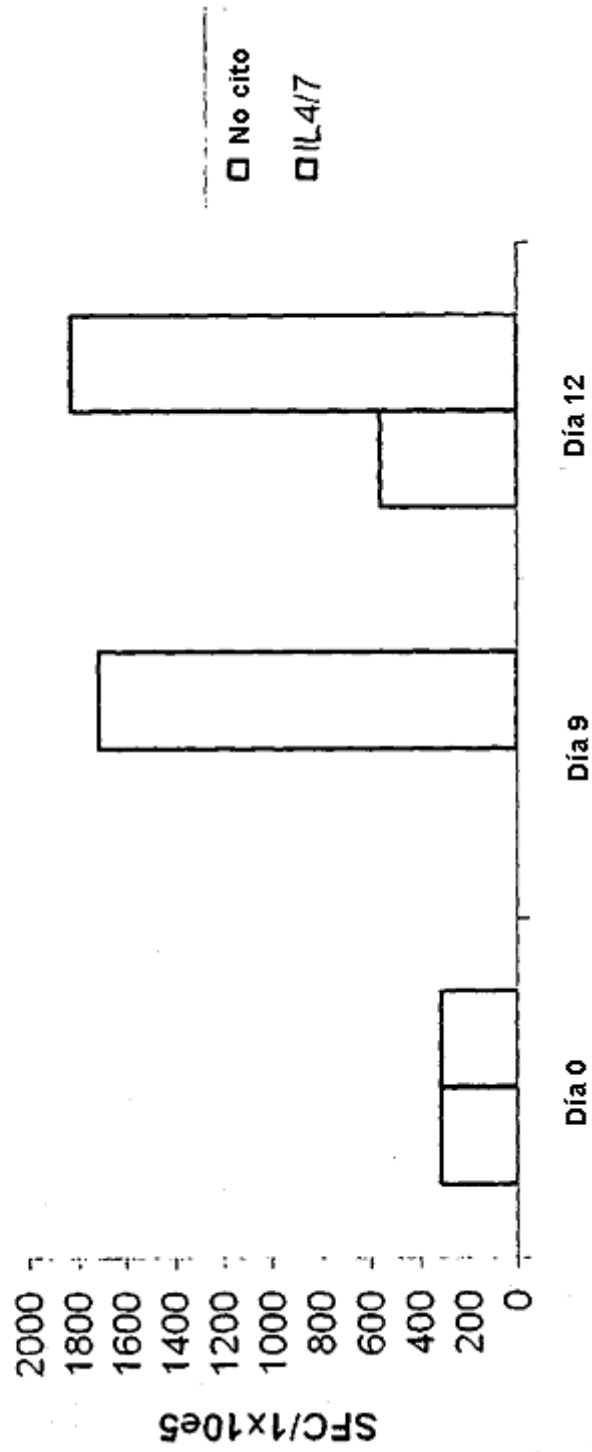


Figura 5B Muestra las células formadoras de manchas de citoquinas en un análisis específico de citoquinas para células expandidas de donante II que fueron cultivadas en presencia de péptido pp65 de CMV, IL4 e IL7 o en ausencia de citoquinas

Donante II - pp65 CTL

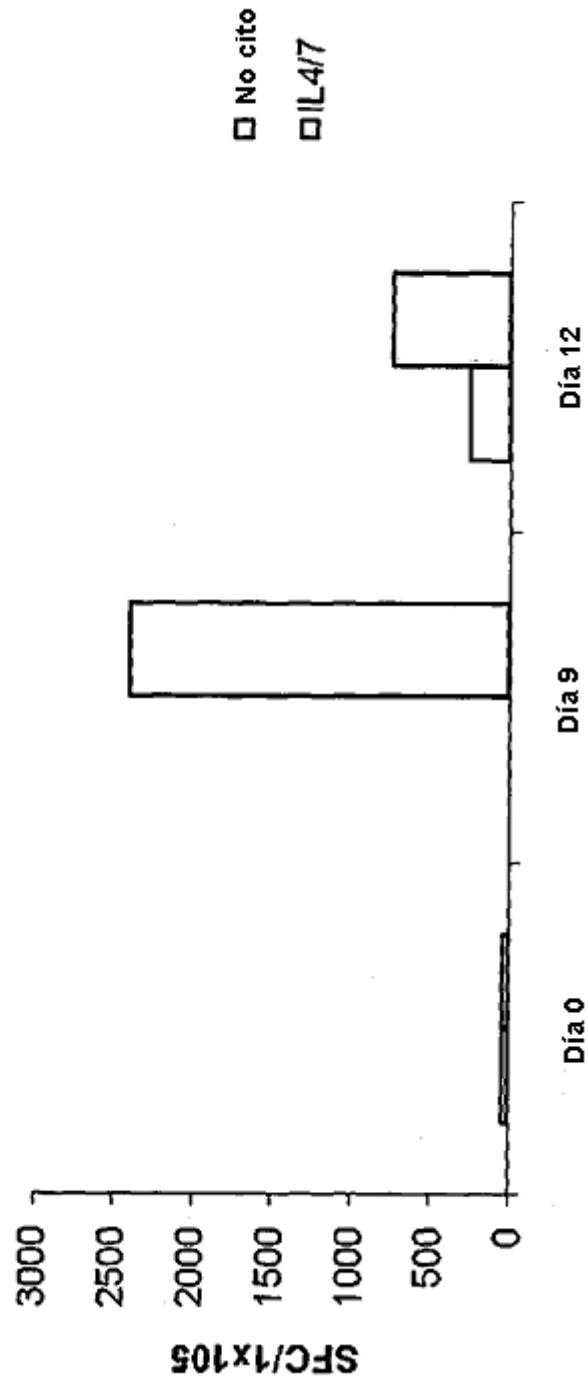


Figura 6A Muestra las Tasas de crecimiento celular para poblaciones expandidas específicas de CMV

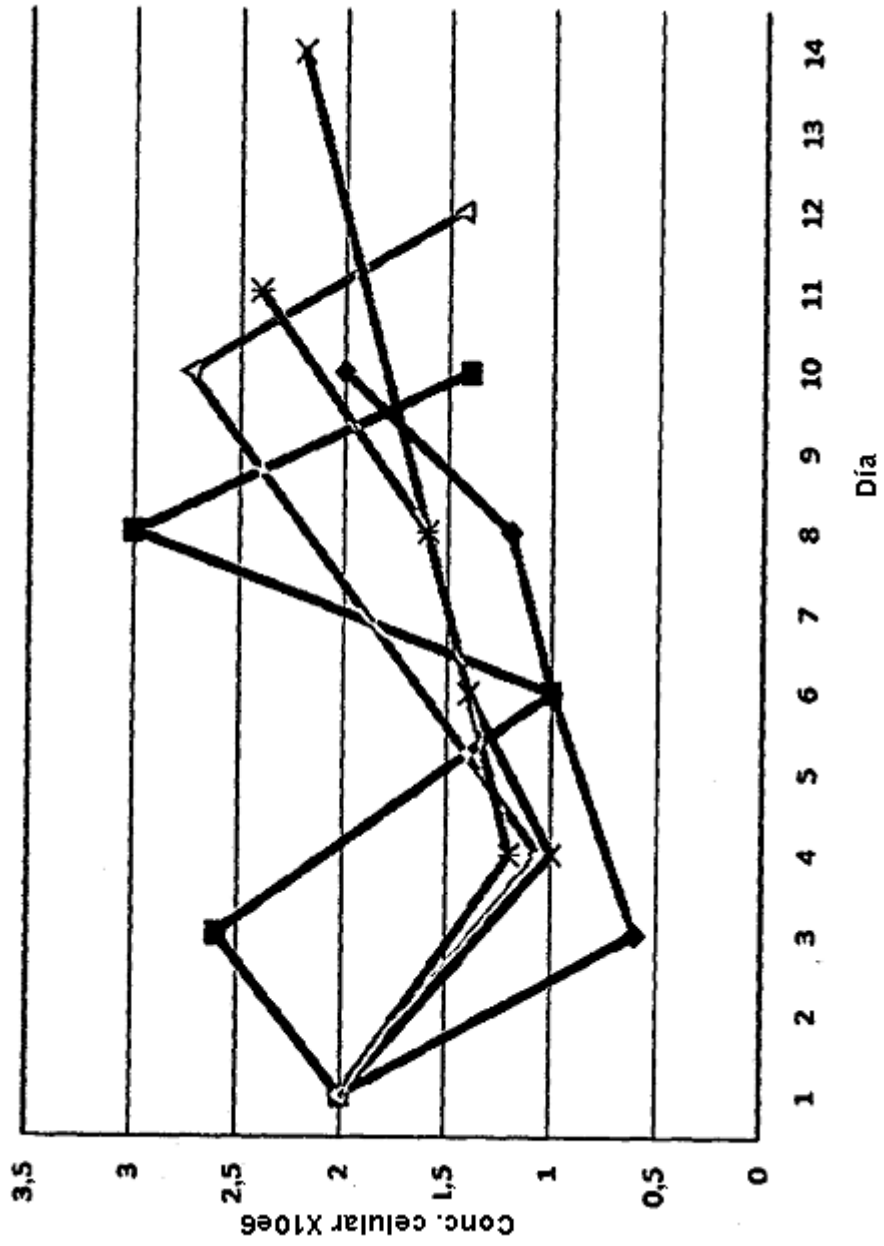


Figura 6B Muestra las Tasas de crecimiento celular para poblaciones expandidas específicas de adenovirus

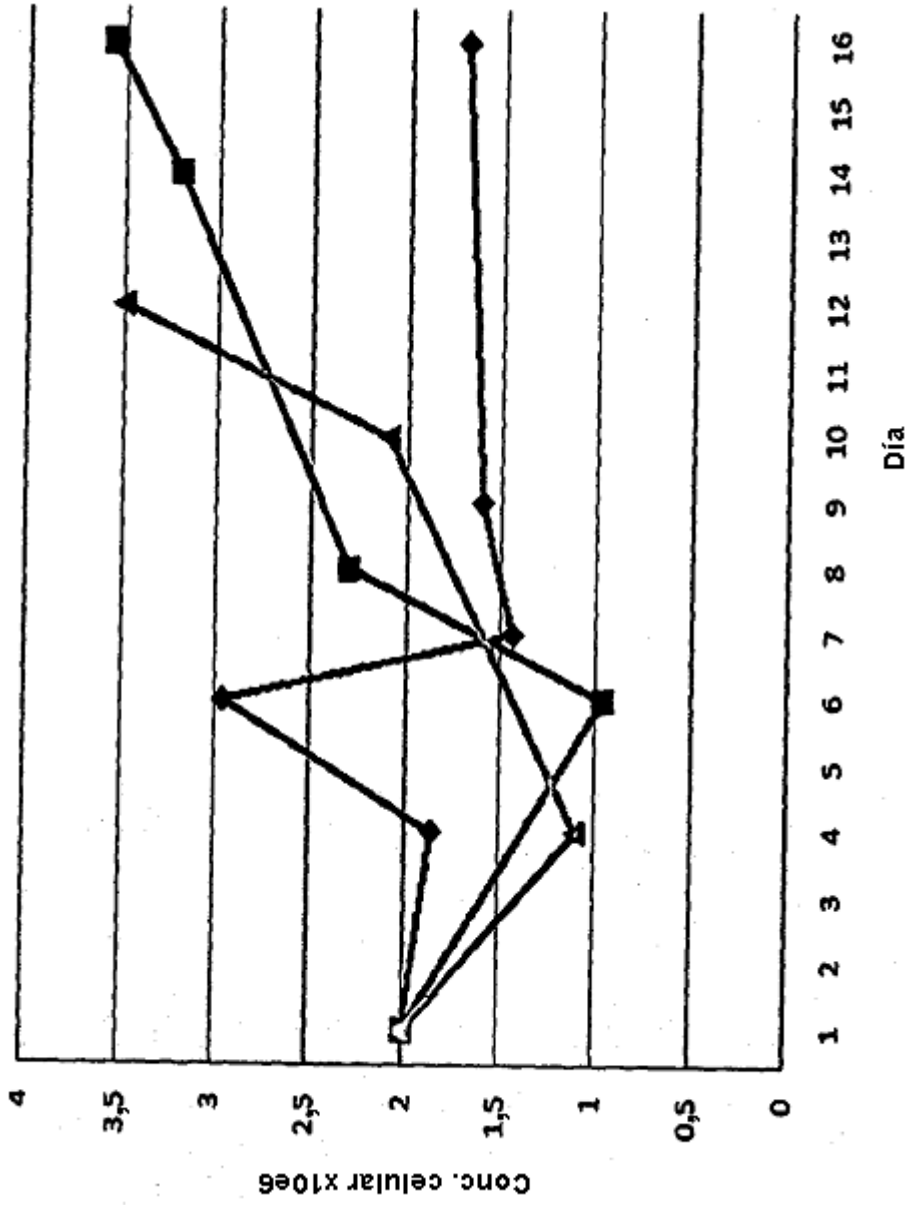


Figura 7

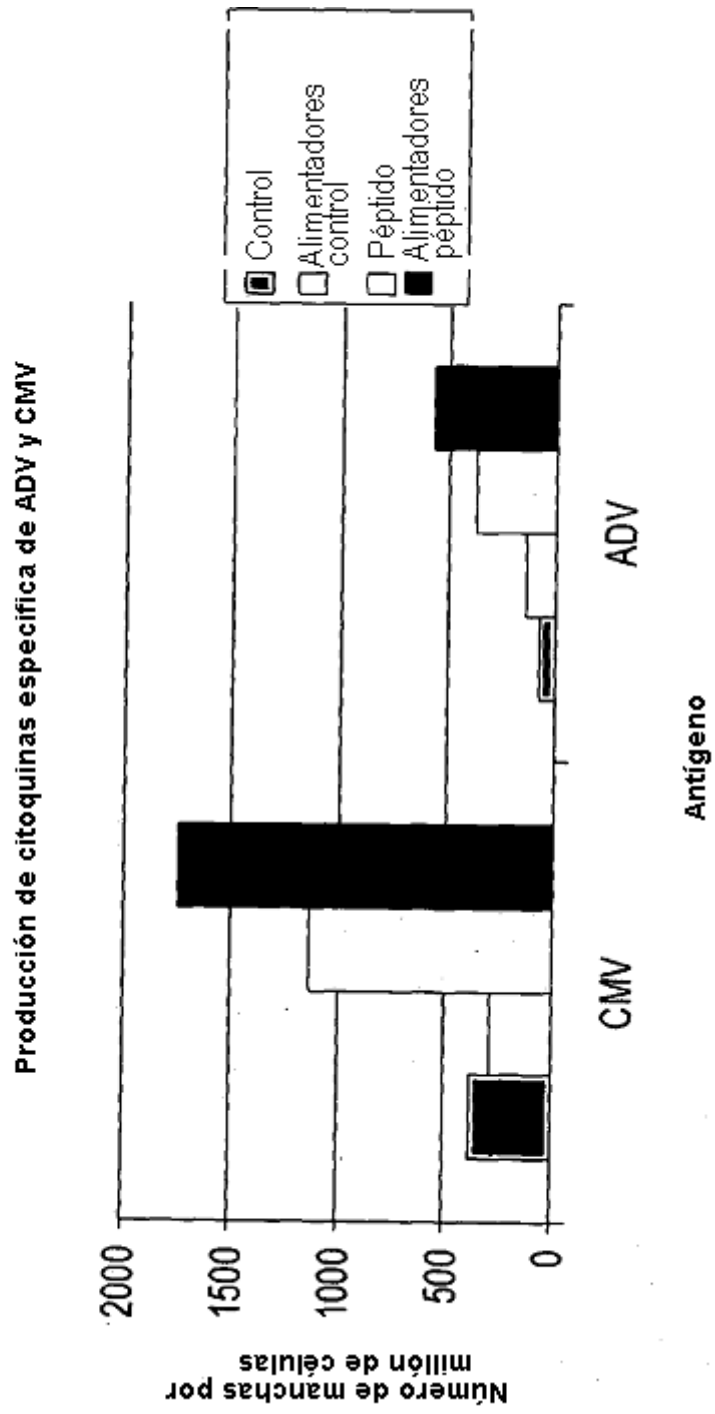


Figura 8 Protocolo de expansión con IL4 vs Protocolo de expansión con IL2

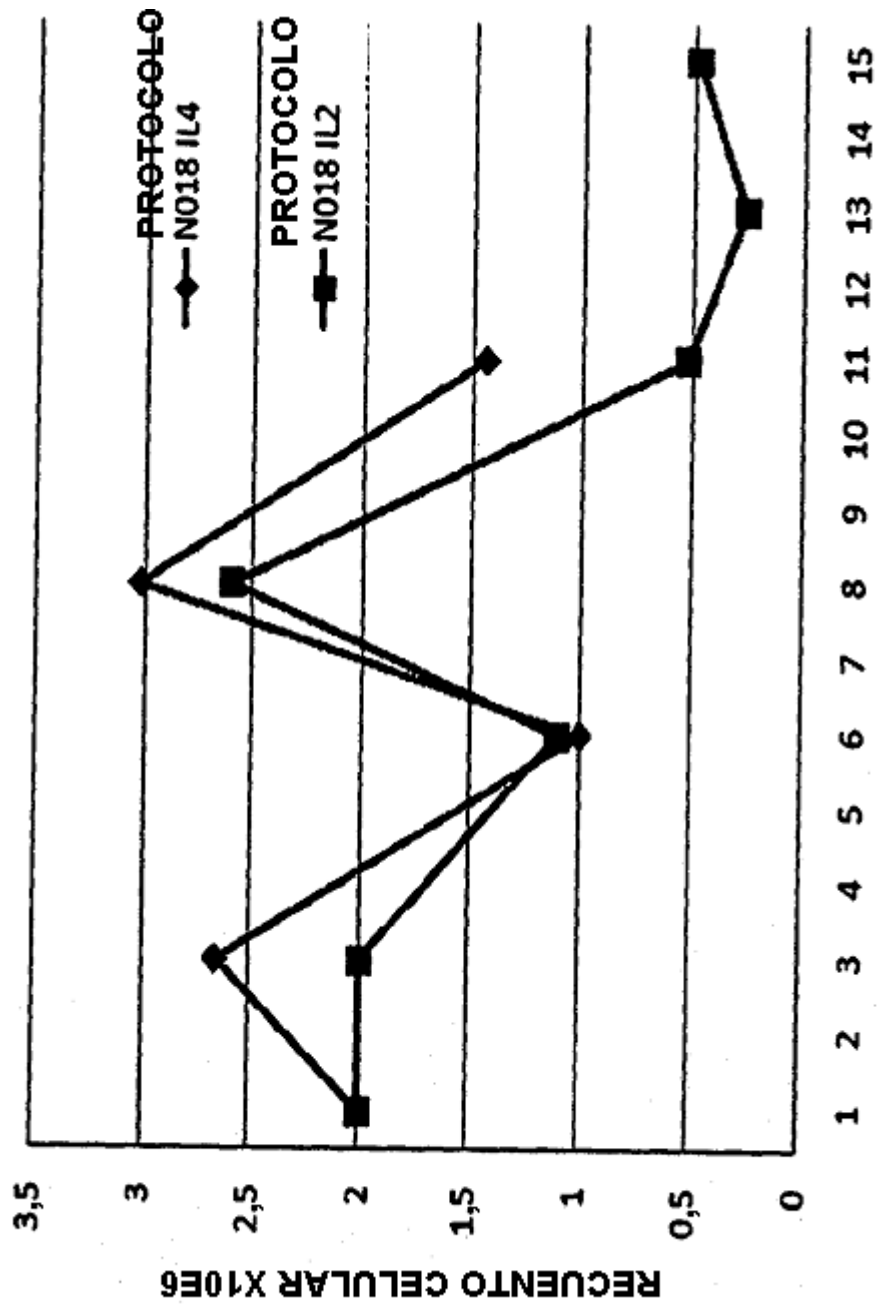


Figura 9 Cultivo con concentraciones de péptido de 5 ng/ml (CMV), 50 ng/mL (10xCMV) o 250 ng/ml (50XCMV)

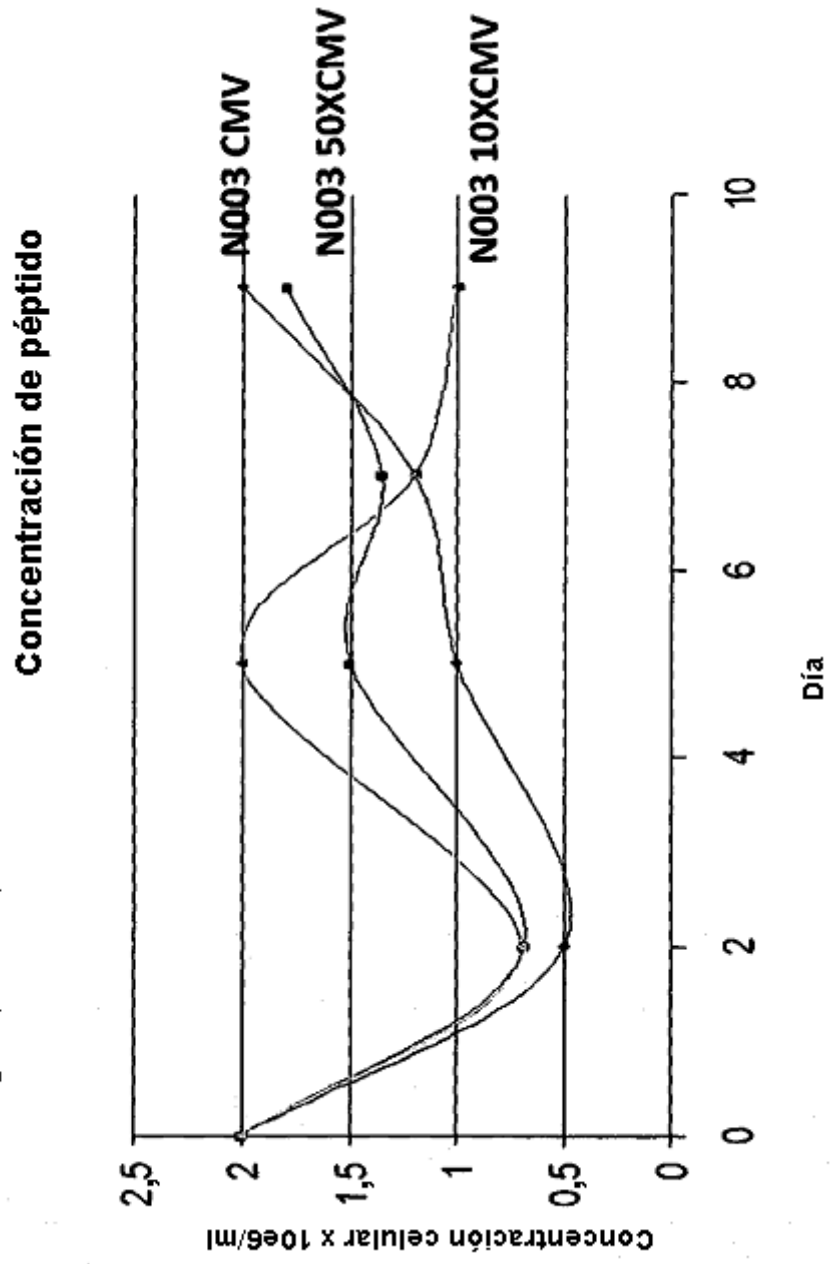


Figura 10 Producciones de IFNg a diferentes concentraciones de peptidos

