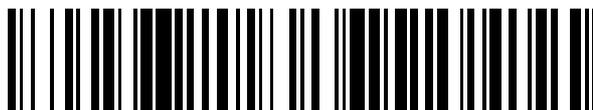


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 720**

51 Int. Cl.:

C07K 19/00 (2006.01)

C12N 15/62 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

A61P 15/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2010 PCT/KR2010/005367**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.02.2012 WO12020871**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2010 E 10855938 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 2604629**

54 Título: **Composición para prevenir o tratar el cáncer de cuello uterino con un potenciador de la inmunidad contra el virus de papiloma humano**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.05.2018

73 Titular/es:

**Genexine, Inc (100.0%)
4th Fl., Bldg. B, Korea Bio Park, Daewangpangyo-
ro 700, Bundang-gu Seongnam-si
Gyeonggi-do 463-400, KR**

72 Inventor/es:

**SUNG, YOUNG CHUL;
SEO, SANG HWAN y
SUH, YOU SUK**

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 666 720 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

Composición para prevenir o tratar el cáncer de cuello uterino con un potenciador de la inmunidad contra el virus de papiloma humano

Antecedentes

5 1. Campo de la invención

La presente invención se relaciona con una composición para prevenir o tratar el cáncer de cuello uterino que comprende un potenciador de la inmunidad contra el virus del papiloma humano (HPV) y, más particularmente, a una proteína de fusión que incluye un polipéptido de fusión recombinado para transformar una estructura tridimensional (3D) de E6 y E7, que son antígenos de los tipos 16 y 18 de HPV, un péptido señal para secretar el polipéptido de fusión fuera de las células y un péptido potenciador de la inmunidad presente en un individuo, donde la proteína de fusión puede tratar tumores desencadenados por HPV induciendo una respuesta inmune específica a los antígenos tipo 16 y 18 de HPV.

2. Discusión de la técnica relacionada

El cáncer de cuello uterino se conoce como una enfermedad que se desarrolla a partir de la infección de virus del papiloma humano (HPV) de gran preocupación como los tipos 16 y 18 (zur Hausen, H et al., *Biochem Biophys Acta* 1996, 1288; F55-F78, Mark H et al. *J Natl Cancer Inst* 1993, 85; 958-964). Entre las proteínas del HPV, las proteínas E6 y E7 desempeñan un papel importante en la aparición del cáncer de cuello uterino y son sustancias diana importantes utilizadas para preparar una vacuna para tratar y prevenir el cáncer de cuello uterino, ya que se confirma que se expresan en el 99% de los tejidos tumorales de los pacientes con cáncer de cuello uterino (von Knebel Doeberitz et al. *Int. J. Cancer* 1992, 51; 831-834). En este caso, E6 se enlaza a p53 conocida como proteína supresora de tumores para facilitar la degradación de la p53, obstruyendo así un ciclo celular que conduce a la vía de apoptosis, y E7 se enlaza a una proteína de retinoblastoma, pRb, conocida como factor supresor tumoral para inactivar la proteína del retinoblastoma y facilitar la degradación de la proteína del retinoblastoma, permitiendo así que el ciclo celular entre en la etapa S (Cobrinik et al., *Trends Biochem Sci* 1992, 17:312-5).

Sin embargo, en ensayos clínicos que usan una composición que incluye una secuencia de ácido nucleico en la que las proteínas E6 y E7 de HPV16 se expresan simultáneamente para tratar el cáncer de cuello uterino, la composición ha mostrado un efecto terapéutico deficiente (Garcia F et al. *Obstet Gynecol* 2004, 103; 317-326). Estos resultados indican que una respuesta inmune específica de antígeno suficiente para tratar o suprimir el cáncer de cuello uterino no se desencadena cuando solo se administra de manera simple un antígeno de HPV.

Por lo tanto, es necesario mejorar la inmunogenicidad de las proteínas E6 y E7 para tratar el cáncer de cuello uterino y eliminar la capacidad de las proteínas para convertirse en cáncer.

Sumario de la invención

La presente invención está dirigida a proporcionar una nueva proteína de fusión para prevenir o tratar enfermedades desencadenadas por HPV, y un polinucleótido que codifica la proteína de fusión. Aquí, la proteína de fusión suprime la capacidad de las proteínas E6 y E7 del HPV de convertirse en cáncer y también muestra una inmunogenicidad mejorada.

También, la presente invención está dirigida a proporcionar un vector recombinante que expresa la proteína de fusión, una célula huésped que incluye el vector recombinante, y un método para expresar la proteína de fusión que usa la célula huésped.

Además, la presente invención está dirigida a proporcionar una composición para prevenir o tratar enfermedades desencadenadas por HPV usando la proteína de fusión.

La presente invención se relaciona con una proteína de fusión que comprende la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 4. La presente invención además se relaciona con polinucleótidos que codifican la proteína de fusión, vectores recombinantes, células huésped, métodos para expresar la proteína de fusión, composiciones que comprenden la proteína de fusión y usos médicos de la proteína de fusión.

Además, la presente invención está dirigida a usos médicos que implican proteínas de fusión, polinucleótidos, vectores, células huésped y composiciones de la invención.

Un aspecto de la presente invención proporciona una proteína de fusión que incluye un polipéptido de fusión configurado para transformar una estructura tridimensional de E6 y E7 derivado de los tipos 16 y 18 de HPV y que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1, un péptido señal para secretar el polipéptido de fusión, y un péptido potenciador de la inmunidad.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un polinucleótido que codifica la proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención.

Aún otro aspecto de la presente invención proporciona un vector recombinante que incluye el polinucleótido de acuerdo con una realización ejemplar de la presente invención.

Aún otro aspecto de la presente invención proporciona una célula huésped transformada con el vector recombinante de acuerdo con una realización ejemplar de la presente invención.

- 5 Aún otro aspecto de la presente invención proporciona un método para expresar la proteína de fusión de la presente invención incubando la célula huésped transformada con el vector recombinante de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención.

10 Aún otro aspecto de la presente invención proporciona una composición para uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad desencadenada por HPV en un individuo que lo necesite. Aquí, la composición incluye al menos uno seleccionado del grupo que consiste en la proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención, la célula huésped transformada con el vector recombinante que expresa la proteína de fusión, y un homogeneizado de la célula huésped como un ingrediente efectivo.

15 Todavía otro aspecto de la presente invención proporciona las proteínas de fusión, polinucleótidos, vectores, células hospedadoras y composiciones para usar en la inducción de una respuesta inmune de células T específica para E6 y E7 de tipo 16 y 18 de HPV.

Breve descripción de los dibujos

Los anteriores y otros objetos, características y ventajas de la presente invención serán más evidentes para las personas con experiencia ordinaria en la técnica describiendo en detalle realizaciones de ejemplo de la misma con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

20 La figura 1 es un gráfico que muestra las respuestas celulares CD8+ T específicas de E6 de HPV16 que se inducen por tratamiento con GX-188E de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención después de que una línea celular tumoral, TC-1, se inyecta por vía subcutánea en ratas C57BL/6 en un modelo de tratamiento contra el cáncer.

25 La figura 2 es un gráfico que muestra las respuestas celulares CD8+ T específicas de E7 de HPV16 que se inducen mediante tratamiento con GX-188E de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención después de que una línea celular tumoral, TC-1, se inyecta por vía subcutánea en ratas C57BL/6 en el modelo de tratamiento contra el cáncer.

30 La figura 3 es un gráfico que muestra las respuestas celulares CD8+ T específicas de E6 de HPV18 que se inducen por tratamiento con GX-188E de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención después de que una línea celular tumoral, TC-1, se inyecta por vía subcutánea en ratas C57BL/6 en el modelo de tratamiento contra el cáncer.

35 La figura 4 es un gráfico que muestra la respuesta celular CD8+ T específica de E7 de HPV18 que se induce por tratamiento con GX-188E de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención después de que una línea celular tumoral, TC-1, se inyecta por vía subcutánea en ratas C57BL/6 en el modelo de tratamiento contra el cáncer.

La figura 5 es un gráfico que muestra los efectos contra el cáncer que son causados por el tratamiento con GX-188E de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención después de que una línea celular tumoral, TC-1, se inyecta por vía subcutánea en ratas C57BL/6 en el modelo de tratamiento contra el cáncer.

Descripción detallada de las realizaciones de ejemplo

40 De aquí en adelante, las realizaciones de ejemplo de la presente invención se describirán en detalle. Sin embargo, la presente invención no se limita a las realizaciones divulgadas a continuación, sino que se puede implementar de diversas formas. Las siguientes realizaciones se describen con el fin de permitir la realización y la práctica de la presente invención a las personas con experiencia ordinaria en la técnica.

45 Aunque los términos primero, segundo, etc. se pueden usar para describir diversos elementos, estos elementos no están limitados por estos términos. Estos términos solo se usan para distinguir un elemento de otro. Por ejemplo, un primer elemento podría denominarse como un segundo elemento y, de manera similar, un segundo elemento podría denominarse primer elemento, sin apartarse del alcance de las realizaciones de ejemplo. El término "y/o" incluye cualquiera y todas las combinaciones de uno o más de los elementos enumerados asociados.

50 Se entenderá que cuando se hace referencia a un elemento como "conectado" o "acoplado" a otro elemento, puede estar directamente conectado o acoplado al otro elemento o pueden estar presentes elementos intermedios. Por el contrario, cuando se hace referencia a un elemento como "directamente conectado" o "directamente acoplado" a otro elemento, no hay elementos intermedios presentes.

La terminología utilizada aquí tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente y no pretende limitar las realizaciones de ejemplo. Las formas singulares "un", "una" y "el/la" pretenden incluir también las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se entenderá además que los términos "comprende", "comprendiendo", "incluye" y/o "incluyendo", cuando se usan aquí, especifican la presencia de características, números enteros, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos indicados de los mismos, pero no excluyen la presencia o adición de una o más características, números enteros, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de los mismos.

Con referencia a los dibujos adjuntos, las realizaciones de ejemplo de la presente invención se describirán en detalle a continuación. Para ayudar a comprender la presente invención, los números similares se refieren a elementos similares en toda la descripción de las figuras, y la descripción de los mismos elementos no se reiterará.

De aquí en adelante, las configuraciones de la presente invención se describirán con más detalle.

La presente invención está dirigida a proporcionar una nueva proteína de fusión que incluye un polipéptido de fusión configurado para transformar una estructura tridimensional de E6 y E7 derivado de los tipos 16 y 18 de HPV y que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1, un péptido señal para secretar el polipéptido de fusión, y un péptido potenciador de la inmunidad.

La proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención puede incluir un polipéptido de fusión recombinado para transformar una estructura tridimensional del E6 y E7 derivados de los tipos de HPV 16 y 18. Más particularmente, el polipéptido de fusión es un polipéptido de fusión en el que el 1° al 85° aminoácidos de la proteína E6 derivada del HPV tipo 16, 1° a 65° aminoácidos de la proteína E7, 70° al 158° aminoácidos de la proteína E6, y 50° a 98° aminoácidos de la proteína E7, 1° a 85° aminoácidos de la proteína E6 derivada del HPV tipo 18, 1° a 65° aminoácidos de la proteína E7, 70° al 158° aminoácidos de la proteína E6, y 50° a 105° aminoácidos de la proteína E7 se enlazan en secuencia.

Más particularmente, el polipéptido de fusión tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1.

Además, el péptido señal se refiere a un péptido que incluye aproximadamente 20 a 30 aminoácidos, que sirve para secretar una proteína expresada en células, particularmente, una proteína que incluye un polipéptido de fusión de E6 y E7 fuera de las células. Además, una secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido señal se denomina "secuencia de la señal secretora". El polipéptido de fusión de E6 y E7 de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención es una proteína (es decir, una proteína del núcleo) expresada en los núcleos de las células infectadas con virus, y por lo tanto muestra una inmunidad débil. Por eso, el péptido señal expresado a partir de la secuencia de la señal secretora induce la secreción de antígenos E6 y E7 cuya estructura tridimensional se transforma fuera de las células, lo que conduce a un aumento de las respuestas inmunitarias humorales y celulares específicas de antígeno.

Se puede usar un péptido señal usado en células eucariotas superiores como el péptido señal. Por ejemplo, se puede usar una secuencia de la señal secretora del activador del plasminógeno tisular (tPa), HSV gDs o una hormona de crecimiento. Más preferiblemente, se puede usar un tPa. Lo más preferible, el péptido señal tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2.

Además, el péptido potenciador de la inmunidad se refiere a un péptido que sirve para potenciar una respuesta inmune activando células asociadas con la respuesta inmune (por ejemplo, células dendríticas, etc.).

Puede usarse un ligando de CD40, un ligando de tirosina quinasa-3 (Flt3) tipo aleta, flagelina u OX40 como el péptido potenciador de la inmunidad. Más preferiblemente, el ligando de Flt3 se puede usar aquí. El ligando Flt3 es un factor para inducir la proliferación y la maduración de las células dendríticas (DCs), que pueden potenciar una respuesta inmune contra un antígeno y mostrar un excelente efecto para aliviar un tumor cuando se fusiona con un antígeno tumoral. Más preferiblemente, el ligando de Flt3 puede tener una secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3.

Además, la presente invención se dirige a proporcionar un polinucleótido que codifica la proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención.

El polinucleótido codifica la proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención. Aquí, el polipéptido de fusión de E6 y E7 puede codificarse a partir de una secuencia de bases establecida en la SEQ ID NO: 4, pero la presente invención no está limitada a eso. Además, el péptido señal puede estar codificado a partir de una secuencia de bases establecida en la SEQ ID NO: 5, pero la presente invención no está limitada a eso. El péptido potenciador de la inmunidad puede estar codificado a partir de una secuencia de bases establecida en la SEQ ID NO: 6, pero la presente invención no está limitada a eso.

Además, el polinucleótido de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención se puede preparar usando síntesis química o una técnica de ingeniería genética. La síntesis química es conocida en la técnica relacionada, y cualquier método puede usarse aquí. Además, el polinucleótido se puede sintetizar usando síntesis de ácido nucleico comercialmente disponible y se puede comprar a un proveedor de ácido nucleico. Cuando el

polinucleótido se prepara usando la técnica de ingeniería genética, el polinucleótido puede prepararse, por ejemplo, construyendo por separado fragmentos de ácido nucleico que codifican un polipéptido de fusión de E6 y E7, un péptido señal y un péptido potenciador de la inmunidad como se conoce en la técnica anterior y enlazar estos fragmentos de acuerdo con un marco del mismo. Un método para preparar el fragmento de ácido nucleico es ampliamente conocido en la técnica relacionada. Por lo tanto, una persona con experiencia ordinaria en la técnica puede enlazar fácilmente los fragmentos de ácido nucleico usando una enzima de restricción apropiada. De acuerdo con una realización específica de la presente invención, se divulga un método para preparar un polinucleótido usando la síntesis química.

Adicionalmente, la presente invención está dirigida a proporcionar un vector recombinante que incluye el polinucleótido de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención.

En la presente invención, el término "vector" se refiere a una construcción génica que incluye un fragmento de ADN exógeno que se inserta en el genoma para codificar un polipéptido. Un vector asociado con la presente invención es un vector en el que una secuencia de señal secretora, una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de fusión de E6 y E7 cuya estructura de HPV tridimensional se transforma, y una secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido potenciador de inmunidad se insertan en el genoma. Los ejemplos del vector pueden incluir un vector de plásmido, un vector de cósmido, un vector de bacteriófago, un vector de levadura, o un vector viral tal como un vector adenoviral, un vector retroviral o un vector viral adeno asociado.

La secuencia de la señal secretora es una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido que puede secretar un antígeno tumoral expresado en las células fuera de las células para reconocer inmunocitos. Por ejemplo, la secuencia señal secretora puede incluir una secuencia señal secretora de tPa, HSV gDs, o una hormona del crecimiento. Preferiblemente, una secuencia de la señal secretora usada en células eucariotas superiores que incluyen un mamífero, y, más preferiblemente, el tPa se puede usar aquí. Más preferiblemente, la secuencia de la señal secretora puede tener una secuencia de bases expuesta en la SEQ ID NO: 5. Además, la secuencia de la señal secretora de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención puede ser sustituida con un codón que tiene una alta frecuencia de expresión, y usarse en una célula huésped.

Además, la secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido potenciador de la inmunidad se refiere a una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido que potencia una respuesta inmune activando células asociadas con la respuesta inmune (por ejemplo, células dendríticas, etc.). Se puede usar un ligando de CD40, un ligando de Flt3, flagelina u OX40 como el péptido potenciador de la inmunidad. Más preferiblemente, el ligando de Flt3 puede usarse como el péptido potenciador de la inmunidad. Además, la secuencia de ácido nucleico que codifica el péptido potenciador de la inmunidad de acuerdo con una realización ejemplar de la presente invención se puede sustituir con un codón que tiene una alta frecuencia de expresión, y se usa en una célula huésped.

Adicionalmente, el polinucleótido incluido en el vector recombinante de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención puede estar sustituido con un codón que tiene una alta frecuencia de expresión en la célula huésped. Entre los codones que controlan los aminoácidos cuando el ADN se transcribe y se traduce en una proteína en una célula huésped, hay codones que tienen una alta preferencia, dependiendo del huésped. Como se usa en la presente invención, el término "estar sustituido con un codón que tiene una alta frecuencia de expresión en una célula huésped" u "optimizado por codón" se refiere a un estado en el que un polinucleótido es sustituido con estos codones que tienen una alta preferencia para aumentar la eficacia de expresión de aminoácidos o una proteína codificada por ácidos nucleicos del polinucleótido.

Aquí, la "célula huésped" incluye una célula procariota o eucariota. En este caso, la célula eucariota incluye una célula eucariota inferior que incluye las de hongos o levaduras, así como una célula eucariota superior que incluye las de mamíferos.

El vector recombinante de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención puede incluir una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión en una forma adecuada para expresar la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la presente invención en una célula huésped. Es decir, el vector recombinante de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención incluye una o más secuencias reguladoras seleccionadas con base en una célula huésped que puede usarse para la expresión. Aquí, las secuencias reguladoras pueden estar acopladas operativamente a una secuencia de ácido nucleico que va a ser expresada.

El término "estar operativamente acoplado" se refiere a un estado en el que una secuencia de nucleótidos deseada (por ejemplo, en un sistema de transcripción/traducción in vitro o una célula huésped) está acoplada a la secuencia reguladora de una manera adecuada para expresar la secuencia de nucleótidos deseada.

El término "secuencia reguladora" se refiere a una secuencia que incluye un promotor, un potenciador y otro elemento regulador (por ejemplo, una señal de poliadenilación). La secuencia reguladora incluye una secuencia que ordena la expresión constitutiva de una secuencia de ácido nucleico deseada en muchas células huésped, y una secuencia que ordena la expresión de una secuencia de ácido nucleico deseada solo en una cierta célula huésped (por ejemplo, una secuencia reguladora específica de tejido). Una persona con experiencia ordinaria en la técnica puede comprender que el diseño de un vector de expresión puede variar de acuerdo con factores tales como la selección de una célula huésped para ser transformada, y un nivel de expresión de una proteína deseada. El vector de expresión de acuerdo

con una realización de ejemplo de la presente invención se puede introducir en una célula huésped para expresar la proteína de fusión.

5 Además, el vector de expresión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención puede prepararse, por ejemplo, usando la tecnología de ADN recombinante estándar. Por ejemplo, la tecnología de ADN recombinante
estándar incluye ligamiento de terminales romos y cohesivos, tratamiento con una enzima de restricción para
proporcionar un terminal apropiado, eliminación de un grupo fosfato mediante tratamiento con fosfatasa alcalina para
evitar el enlace inapropiado y enlace enzimático usando ADN ligasa de T4. El vector de expresión de acuerdo con una
realización de ejemplo de la presente invención se puede preparar recombinando ADN que codifica un péptido señal
10 obtenido por síntesis química o tecnología de recombinación genética, ADN que codifica un polipéptido de fusión de
E6 y E7 de HPV, y ADN que codifica un péptido potenciador de la inmunidad con un vector que incluye una secuencia
reguladora adecuada. El vector que incluye la secuencia reguladora se puede comprar o preparar de una manera
comercialmente disponible. En la presente invención, se preparó para su uso un vector para preparar una vacuna de
ADN, es decir, pGX27.

15 De acuerdo con una realización de ejemplo, el vector recombinante de la presente invención puede usarse para
preparar una línea celular para producir la proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente
invención, o puede usarse como un vector para transferir un gen en terapia génica, o un ingrediente farmacéuticamente
activo que se administra a un individuo.

Además, la presente invención está dirigida a proporcionar una célula huésped transformada con el vector
recombinante de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención.

20 El tipo de la célula huésped es como se enumera arriba.

La transformación puede realizarse usando un método conocido para introducir una secuencia de ácido nucleico en
un organismo, una célula, un tejido o un órgano. En este caso, un método que puede usarse puede seleccionarse de
modo que pueda ser adecuado para que una célula huésped dentro del alcance de la presente invención, sea
comprendida a un nivel de una persona con experiencia ordinaria en la técnica. Por ejemplo, dicho método incluye
25 electroporación, fusión de protoplastos, precipitación con fosfato de calcio (CaPO₄), precipitación con cloruro de calcio
(CaCl₂), agitación usando una fibra de carburo de silicio, transformación mediada por agrobacterias, PEG, sulfato de
dextrano y lifofectamina, pero la presente invención no está limitada a eso.

Además, la presente invención está dirigida a proporcionar un método para expresar una proteína de fusión de acuerdo
con una realización de ejemplo de la presente invención incubando la célula huésped transformada de acuerdo con
una realización de ejemplo de la presente invención.

La proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención puede expresarse fácilmente
y producirse en masa incubando la célula huésped transformada en un medio apropiado, o introduciendo la célula
huésped transformada en cualquier animal e incubando la célula huésped transformada in vivo.

Además, la presente invención está dirigida a proporcionar una composición para usar en la prevención o el tratamiento
de una enfermedad desencadenada por HPV en un individuo que lo necesite. Aquí, la composición incluye al menos
uno seleccionado del grupo que consiste en la proteína de fusión de acuerdo con una realización de ejemplo de la
presente invención, una célula huésped transformada con un vector recombinante que expresa la proteína de fusión
y un homogeneizado de la proteína de fusión como un ingrediente efectivo.

En la presente invención, el término "individuo" incluye un mamífero tal como un ser humano, un mono, una rata, un
cerdo, un bovino y un conejo, pero la presente invención no está limitada a esos.

Además, la enfermedad desencadenada por el HPV puede incluir cáncer de cuello uterino, verrugas anogenitales,
verrugas, etc.

Adicionalmente, la composición de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención puede incluir
además un portador farmacéuticamente aceptable. Aquí, los portadores farmacéuticamente permitidos incluyen
45 lactosa, glucosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, goma arábica, alginato, gelatina, fosfato de calcio, silicato de
calcio, celulosa, metil celulosa, celulosa microcristalina, polivinil pirrolidona, agua, hidroxibenzoato de metilo,
hidroxibenzoato de propilo, talco, estearato de magnesio y aceite mineral. Además, la composición puede incluir
además un lubricante, un agente humectante, un agente aromatizante, un agente emulsionante y un conservante.

Por ejemplo, la composición de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención se puede administrar
directamente a un individuo usando una vía de administración tal como administración intravenosa, intramuscular, oral,
transdérmica, intramucosa, intranasal, intratraqueal o subcutánea, pero la presente invención no está limitada a eso.
La composición de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención se puede administrar
indirectamente a un individuo administrando la composición en células incubadas in vitro y administrando las células
incubadas al individuo. En este caso, la composición de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente
55 invención se puede administrar sistémica o localmente.

La composición de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención se puede formular en una preparación oral tal como un gránulo, un polvo, una solución, una tableta, una cápsula o un jarabe seco, o una formulación parenteral tal como una solución inyectable, pero la presente invención no está limitada a eso. Preferiblemente, la composición de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención se puede preparar en forma de una solución o una solución inyectable.

Como el ingrediente activo, la proteína de fusión o el vector de expresión recombinante de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención se pueden administrar a una cantidad efectiva de aproximadamente 0,05 a 500 mg/kg, preferiblemente de 0,5 a 50 mg/kg. En este caso, la administración se puede realizar considerando una sola dosis o dosis divididas. Sin embargo, una cantidad del ingrediente activo para ser administrada puede determinarse teniendo en cuenta diversos factores tales como las afecciones a tratar, la edad y el peso corporal de un paciente, y la gravedad de las afecciones, pero la presente invención no está limitada a eso.

Además, la presente invención está dirigida a las proteínas de fusión, polinucleótidos, vectores, células huésped y composiciones de la presente invención para usar en la inducción de una respuesta inmune de células T específica para E6 y E7 de HPV tipo 16 y 18 en un sujeto.

Una composición farmacéutica de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención, el uso de la misma, un método de administración de la misma y una dosis de la composición farmacéutica son como se describió anteriormente.

En el uso médico de acuerdo con una realización de ejemplo de la presente invención, el individuo incluye un mamífero tal como un ser humano, un mono, una rata, un cerdo, un bovino y un conejo, pero la presente invención no está limitada a eso.

Además, la enfermedad desencadenada por el HPV puede incluir cáncer de cuello uterino, verrugas anogenitales, verrugas, etc.

De aquí en adelante, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a los Ejemplos de acuerdo con la presente invención y a los ejemplos comparativos que no entran dentro del alcance de la presente invención. Sin embargo, debe entenderse que los ejemplos no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

<Ejemplo 1> Construcción del ADN GX-188E

Las abreviaturas usadas en los ejemplos de la presente invención se definen de la siguiente manera. Una secuencia de ácido nucleico optimizada, "tPa" o "t" se refiere a una secuencia de señal secretora de un activador de plasminógeno tisular, y "F" o "Flt3L" se refiere a un ligando de tirosina quinasa-3 tipo aleta.

Se sintetizaron químicamente una secuencia de señal secretora tPa optimizada por codón que tiene una secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 5 y una Flt3L optimizada por codón que tiene una secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 6 mientras que las secuencias de la señal secretora tPa y Flt3L optimizadas por codón se acoplaron entre sí. Se proporcionó un terminal de la secuencia señal sintetizada con los sitios de restricción KpnI (5') y NheI (3') para facilitar la inserción en un vector. Un vector para preparar una vacuna de ADN, es decir, pGX10 (Publicación de Patente Coreana No. 2003-0047667) fue digerido con enzimas de restricción KpnI y NheI, y luego ligado con la secuencia señal tPa-Flt3L sintetizada usando ligasa para preparar un vector pGX10/tF.

Una secuencia de ácidos nucleicos optimizada por codón que codifica para el 1° a 85° aminoácidos del E6 de HPV16, una secuencia de ácidos nucleicos optimizada por codón que codifica para los aminoácidos 1° a 65° de E7 de HPV16, una secuencia de ácidos nucleicos optimizada por codón que codifica para los aminoácidos 70° a 158° del E6 de HPV16, una secuencia de ácido nucleico optimizada por codón que codifica los aminoácidos 50° a 98° del E7 de HPV16, una secuencia de ácidos nucleicos optimizada por codón que codifica para los aminoácidos 1° a 85° del E6 de HPV18, un ácido nucleico optimizado por codón que codifica para los aminoácidos 1° a 65° de E7 de HPV18, una secuencia de ácido nucleico optimizada por codón que codifica para los aminoácidos 70° a 158° de E6 de HPV18, y una secuencia de ácido nucleico optimizada por codón que codifica para los aminoácidos 50° a 105° de E7 de HPV18 se sintetizaron químicamente mientras que las secuencias de ácidos nucleicos optimizadas por codón se acoplaron entre sí (en lo sucesivo denominadas 16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C: SEQ ID NO: 4). Se proporcionó un terminal de la secuencia de señal sintetizada con sitios de restricción NheI (5') y XbaI (3') para facilitar la inserción en un vector. El vector pGX10/tF se digirió con enzimas de restricción NheI y XbaI, y luego se ligó con la secuencia de señal sintetizada, 16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C, utilizando ligasa para construir un vector pGX10/tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C. A continuación, el vector pGX10/tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C se digirió con enzimas de restricción KpnI y XbaI para separar tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C, y pGX10 se digirió con enzimas de restricción KpnI y XbaI, y luego se ligó con tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C usando ligasa para construir un vector pGX27/tF16E6N16E7N16E6C16E7C18E6N18E7N18E6C18E7C (de aquí en adelante denominado "GX-188E").

<Ejemplo 2> Confirmación del efecto terapéutico de GX-188E en el cáncer de cuello uterino

5 Para confirmar un efecto terapéutico de GX-188E en el cáncer de cuello uterino, las células tumorales TC-1 se inyectaron por vía subcutánea en ratas C57BL/6 a una concentración de 5×10^5 células, y se inyectó GX-188E por vía intramuscular a dosis de 50 μg y 100 μg en los días 3 y 8, seguido de electroporación. Se observó un cambio en el volumen de las células tumorales desde el día de la inyección hasta el día 27, y los bazo de las ratas se extrajeron el día 36. Luego, se colocaron 1×10^6 células en una placa recubierta con 50 μl de un 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de anticuerpo IFN-g anti ratón (BD Pharmigen, San Diego, CA) junto con IL-2 y un epítipo de células T CD8 de E6 de HPV16 (E6₄₈₋₅₇; EVYDFAFRDL, Peptron, Corea), un epítipo de células T CD8 de E7 de HPV18 (E7₄₉₋₅₇; RAHYNIVTF, Peptron, Corea), un grupo de péptidos de E6 de HPV18, o un grupo de péptidos de E7 de HPV18, y se incubaron a 37 °C durante 24 horas en una incubadora de CO₂ al 5% (Froma, Minnesota, EE. UU.). La placa se lavó con PBST, y 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de un anticuerpo de detección de IFN-g conjugado con biotina (BD Pharmigen, San Diego, CA) se puso en la placa a una dosis de 50 μl , y se incubó a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 horas. Posteriormente, la placa se lavó con PBST y se colocó en la placa estreptavidina-fosfato alcalino (AKP) diluido a 1:2.000 a una dosis de 50 μl , y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego, la placa se lavó con PBST y se añadieron 66 μl de NBT (Promega, Madison, WI) y 33 μl de BCIP (Promega, Madison, WI) en base a 10 ml de un regulador de fosfato alcalino. A continuación, se añadieron y se hicieron reaccionar 50 μl de la solución resultante. La placa se colocó en una incubadora a 37 °C y se mantuvo durante aproximadamente 30 minutos para facilitar una reacción de color. Luego, la placa se lavó con agua destilada (D.W.) y se contaron las manchas de color usando un lector.

20 Las respuestas inmunes de células T específicas para E6 y E7 de HPV16 y E6 y E7 de HPV18 se midieron en el epítipo de célula T CD8 de E6 de HPV16, el epítipo de célula T CD8 de E7 de HPV16, el grupo de péptidos de E6 de HPV18 y el grupo de péptidos de E7 de HPV18 usando un ensayo de punto de inmunosorbente ligado a enzima (ELISPOT). Como resultado, se confirmó que el GX-188E indujo una fuerte respuesta inmune específica de antígeno, y simultáneamente indujo una respuesta inmune específica para el E6 y E7 del HPV16 y HPV18 (véanse las Figuras 1, 2, 3 y 4).

25 Además, se confirmó que un volumen de tumor se redujo significativamente en las ratas cuyas células tumorales TC-1 se trataron inmunológicamente con el GX-188E, en comparación con las ratas a las que se inyectó con el pGX27 (control) (véase la Figura 5).

Aplicabilidad industrial

La proteína de fusión de acuerdo con la presente invención se puede usar como un agente terapéutico para tratar tumores desencadenados por HPV.

30 La proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, que se prepara para incluir un polipéptido de fusión recombinado para transformar una estructura tridimensional de las proteínas E6 y E7 derivadas de los tipos 16 y 18 de HPV, un péptido señal para secretar el polipéptido de fusión fuera de las células, y un péptido potenciador de la inmunidad presente en un individuo, puede tratar los tumores desencadenados por el HPV al inducir una fuerte respuesta inmune específica a los antígenos contra los tipos 16 y 18 del HPV.

35 <110> GENEXINE Co., Ltd.

Biod CO., LTD.

<120> composición para prevenir o tratar el cáncer de cuello uterino que comprende E6 y E7 estructuralmente modificados derivados de virus del papiloma humano y agente potenciador del sistema inmune

<160> 6

40 <170> Kopatente In 1.71

<210> 1

<211> 579

<212> PRT

<213> virus del papiloma humano

45 <220>

<221> PÉPTIDO

<222> (1)..(579)

<223> E6 y E7 estructuralmente modificados derivados de HPV16 y HPV18

<400> 1

ES 2 666 720 T3

Met His Gln Lys Arg Thr Ala Met Phe Gln Asp Pro Gln Glu Arg Pro
 1 5 10 15
 Arg Lys Leu Pro His Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp
 20 25 30
 Ile Ile Leu Glu Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu Leu Arg Arg Glu
 35 40 45
 Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp Gly
 50 55 60
 Asn Pro Tyr Ala Val Cys Asp Lys Cys Leu Lys Phe Tyr Ser Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Glu Tyr Arg Tyr Asp Lys Cys Leu Lys Phe Tyr Ser Lys Ile Ser
 85 90 95
 Glu Tyr Arg Tyr Tyr Cys Tyr Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Gln
 100 105 110
 Gln Tyr Asn Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile Arg Cys Ile Asn Cys
 115 120 125
 Gln Lys Pro Leu Cys Pro Glu Glu Lys Gln Arg His Leu Asp Lys Lys
 130 135 140
 Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Ser
 145 150 155 160
 Cys Cys Arg Ser Ser Arg Thr Arg Arg Glu Thr Gln Leu Met His Gly
 165 170 175
 Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr
 180 185 190
 Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp Ser Ser Glu Glu Glu
 195 200 205
 Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu Pro Asp Arg Ala His
 210 215 220
 Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp Ser Thr Leu His Tyr
 225 230 235 240
 Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp Ser Thr Leu Arg Leu Cys
 245 250 255

ES 2 666 720 T3

Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met
 260 265 270
 Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys Ser Gln Lys Pro Met Ala
 275 280 285
 Arg Phe Glu Asp Pro Thr Arg Arg Pro Tyr Lys Leu Pro Asp Leu Cys
 290 295 300
 Thr Glu Leu Asn Thr Ser Leu Gln Asp Ile Glu Ile Thr Cys Val Tyr
 305 310 315 320
 Cys Lys Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Val Phe Glu Phe Ala Phe Lys
 325 330 335
 Asp Leu Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro His Ala Ala Cys His
 340 345 350
 Lys Cys Ile Asp Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu Arg Tyr Tyr Ser
 355 360 365
 Asp Ser Val Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu Arg Tyr Tyr Ser Asp
 370 375 380
 Ser Val Tyr Gly Asp Thr Leu Glu Lys Leu Thr Asn Thr Gly Leu Tyr
 385 390 395 400
 Asn Leu Leu Ile Arg Cys Leu Arg Cys Gln Lys Pro Leu Asn Pro Ala
 405 410 415
 Glu Lys Leu Arg His Leu Asn Glu Lys Arg Arg Phe His Lys Ile Ala
 420 425 430
 Gly His Tyr Arg Gly Gln Cys His Ser Cys Cys Asn Arg Ala Arg Gln
 435 440 445
 Glu Arg Leu Gln Arg Arg Arg Glu Thr Gln Val Met Tyr Gly Pro Lys
 450 455 460
 Ala Thr Leu Gln Asp Ile Val Leu His Leu Glu Pro Gln Asn Glu Ile
 465 470 475 480
 Pro Val Asp Leu Leu Cys His Glu Gln Leu Ser Asp Ser Glu Glu Glu
 485 490 495
 Asn Asp Glu Ile Asp Gly Val Asn His Gln His Leu Pro Ala Arg Arg
 500 505 510
 Ala Glu Pro Gln Arg His Thr Met Leu Cys Met Cys Ala Arg Arg Ala
 515 520 525
 Glu Pro Gln Arg His Thr Met Leu Cys Met Cys Cys Lys Cys Glu Ala
 530 535 540
 Arg Ile Glu Leu Val Val Glu Ser Ser Ala Asp Asp Leu Arg Ala Phe
 545 550 555 560
 Gln Gln Leu Phe Leu Ser Thr Leu Ser Phe Val Cys Pro Trp Cys Ala
 565 570 575
 Ser Gln Gln

<210> 2

<211> 24

<212> PRT

<213> Eucariota

<220>

5 <221> PÉPTIDO

<222> (1)..(24)

<223> secuencia de señal secretora del activador del plasminógeno tisular

<400> 2

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15
Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Ala
20

10 <210> 3

<211> 158

<212> PRT

<213> Eucariota

<220>

15 <221> PÉPTIDO

<222> (1)..(158)

<223> Secuencia de aminoácidos del ligando tirosina quinasa 3 tipo fms

<400> 3

ES 2 666 720 T3

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

<210> 4

<211> 1746

<212> ADN

5 <213> virus del papiloma humano

<220>

<221> gen

<222> (1)..(1746)

10 <223> Secuencia de nucleótidos optimizada por codón de E6 y E7 estructuralmente modificados derivados de HPV16 y HPV18

<400> 4

ES 2 666 720 T3

atgcaccaga agagaaccgc catgttccag gaccctcagg agagacctag gaagctgcct 60
 cacctgtgta cagagctcca gacaaccatc caccgacatca tcctggagtg cgtgtactgt 120
 aagcagcagc tgctgagaag agagggtgtac gacttcgcct tcagagacct gtgcatcgtg 180
 tacagagacg gcaaccctta cgccgtgtgc gataagtgtc tgaagttcta ttccaaaatc 240
 tccgaatata ggtacatgca cggcgacacc cctaccctgc acgagtacat gctggacctc 300
 cagcctgaga ccacagacct gtactgctac gagcagctga acgacagctc tgaggaagag 360
 gacgagattg acggacctgc tggccaggcc gagcctgaca gagcccacta caatatcgtg 420
 acattctgtt gcaaatgcga ctccacactg gacaagtgcc tgaagttcta cagcaagatc 480
 tctgagtaca gatactactg ctactctgtg tacggcacca cactggagca gcagtacaac 540
 aagcctctgt gcgacctcct gatccgctgc atcaactgcc agaagcctct gtgccctgag 600
 gagaagcaga gacacctgga caagaagcag cggttccaca acatcagagg cagatggacc 660
 ggcagggtgca tgtcctgctg tagatcctcc agaaccagac gggagacca gctgcactac 720
 aacatcgtga ctttctgctg caagtgcgac tctaccctga gactgtgctg gcagtctacc 780
 cacgtggaca tcagaacctt ggaggacctg ctgatgggca ccctgggcat cgtgtgccct 840
 atctgctctc agaagcctat ggccaggttc gaggacccta ccagaagacc ctacaagctg 900
 cctgacctgt gcaccgagct gaacacctct ctgcaagaca tcgagatcac ctgctgttac 960
 tgcaagaccg tgctggagct gaccgaggtg ttcgagtctg cttcaagga cctgttcgtg 1020
 gtgtacagag acagcatccc tcacgctgcc tgccacaagt gcatcgactt ctattccagg 1080
 atcagggagc tgcgctatta ctccgactct gtgatgtacg gcccgaaggc caccctccag 1140
 gacatcgtgc tgcacctgga gcctcagaac gagatccccg tggacctgct gtgccacgag 1200
 cagctgtctg actctgaaga ggagaacgac gagatcgacg gcgtgaacca ccagacctg 1260
 cctgccagga gagctgaacc ccagcggcat accatgctgt gtatgtgctt ctactctagg 1320
 atcagagagc tgaggtacta ctctgactct gtgtacggcg acacctgga gaagctgacc 1380
 aacaccggcc tgtacaacct gctgatccgg tgctgaggt gccagaagcc tctgaacctt 1440
 gccgagaagc tgagacacct gaacgagaag agaagattcc acaagatcgc tggccactac 1500
 agaggccagt gccactcttg ctgcaacaga gccagacagg agagactcca gcggagaagg 1560
 gagaccagc tggccagaag agccgagcct cagagacaca ccatgctgtg catgtgctgc 1620
 aagtgcgagg ccagaatcga gctggtggtg gagagctctg ccgacgacct gagagccttc 1680
 cagcagctgt tcctgtctac cctgagcttc gtgtgccctt ggtgcgcctc tcagcagtaa 1740
 tctaga 1746

<210> 5

<211> 69

<212> ADN

5 <213> Eucariota

<220>

<221> gen

<222> (1)..(69)

ES 2 666 720 T3

<223> Secuencia de nucleótidos de secuencia de señal secretora de activador de plasminógeno tisular optimizado por codón

<400> 5

```
atggatgcta tgaaacgggg cctgtgctgc gtgctgctcc tgtgcggcgc tgtgtttgtg      60
agccctagc                                          69
```

5 <210> 6

<211> 489

<212> ADN

<213> Eucariota

<220>

10 <221> gen

<222> (1)..(489)

<223> Secuencia de nucleótidos del ligando de tirosina quinasa 3 tipo fms optimizado por codón

<400> 6

```
atcaccagg actgctcctt ccaacacagc cccatctcct ccgacttcgc tgtcaaaatc      60
cgtgagctgt ctgactacct gcttcaagat taccagtca ccgtagcctc caacctgcag      120
gacgaggagc tctgcggggg cctctggcgg ctggtcctgg cacagcgctg gatggagcgg      180
ctcaagactg tcgctgggtc caagatgcaa ggcttgctgg agcgcgtgaa cacggagata      240
cactttgtca ccaaattgtc ctttcagccc cccccagct gtcttcgctt cgtccagacc      300
aacatctccc gcctcctgca ggagacctcc gagcagctgg tggcgctgaa gccctggatc      360
actcggcaga acttctcccc gtgcctggag ctgcagtgtc agcccgactc ctcaaccctg      420
ccaccccat ggagtccccg gccctggag gccacagccc cgacagcccc gggcggcggc      480
agcggcgat                                          489
```

15

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión que comprende:
la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 4.
2. Un polinucleótido que codifica la proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1.
- 5 3. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido potenciador de la inmunidad.
4. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, que comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido señal.
- 10 5. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el péptido señal comprende al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en un péptido de la señal secretora de tPa, HSV gDs y hormonas de crecimiento.
6. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el péptido señal comprende la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 5.
7. El polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, en el que el péptido potenciador de la inmunidad comprende al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en un ligando CD40, un ligando tirosina quinasa-3 (Flt3) tipo fms, flagelina y OX40.
- 15 8. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 3 a 7, en el que el péptido potenciador de la inmunidad comprende la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 6.
9. El polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 4.
- 20 10. Un vector recombinante que comprende el polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9.
11. Una célula huésped que comprende el polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9 o el vector recombinante de acuerdo con la reivindicación 10.
- 25 12. Un método para expresar la proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1 o producir el polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, que comprende:
incubar la célula huésped de acuerdo con la reivindicación 11.
13. Una composición que comprende la proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, el polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, el vector de acuerdo con la reivindicación 10, o la célula huésped de acuerdo con la reivindicación 11 y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 30 14. Una proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, un polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, un vector de acuerdo con la reivindicación 10, una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 11, o una composición de acuerdo con la reivindicación 13 para uso en la inducción de una respuesta inmune de células T específica para E6 y E7 de HPV tipo 16 y E6 y E7 de HPV tipo 18 en un sujeto que lo necesita.
- 35 15. Una proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, un polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, un vector de acuerdo con la reivindicación 10, una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 11, o una composición de acuerdo con la reivindicación 13 para uso en prevención o tratamiento de un tumor desencadenado por HPV.
16. La proteína de fusión, polinucleótido, vector, célula huésped o composición para el uso de la reivindicación 15, en la que el tumor desencadenado por HPV es un cáncer de cuello uterino.
- 40 17. Una proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, un polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, un vector de acuerdo con la reivindicación 10, una célula huésped de acuerdo con la reivindicación 11, o una composición de acuerdo con la reivindicación 13 para uso en la reducción del volumen de un tumor desencadenado por el HPV.
- 45 18. Uso de la proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, el polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, el vector de acuerdo con la reivindicación 10, la célula huésped de acuerdo con la reivindicación 11, o la composición de acuerdo con la reivindicación 14 para la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar un tumor desencadenado por HPV en un sujeto que lo necesita.
19. Uso de la proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, el polinucleótido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, el vector de acuerdo con la reivindicación 10, la célula huésped de acuerdo con la

reivindicación 11, o la composición de acuerdo con la reivindicación 14 para la fabricación de un medicamento para reducir el volumen de un tumor desencadenado por HPV en un sujeto que lo necesite o inducir una respuesta inmune de células T específica para E6 y E7 de HPV tipo 16 y E6 y E7 de HPV tipo 18 en un sujeto que lo necesite.

FIG. 1

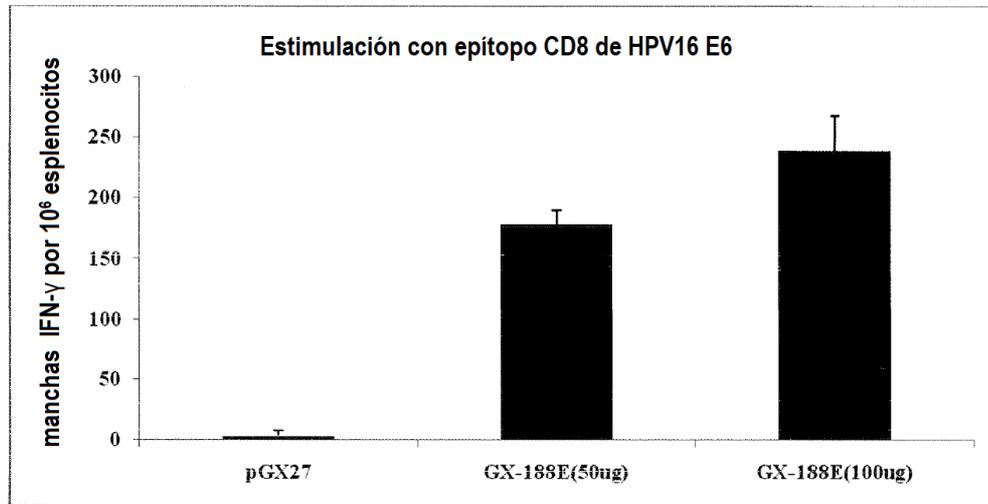


FIG. 2

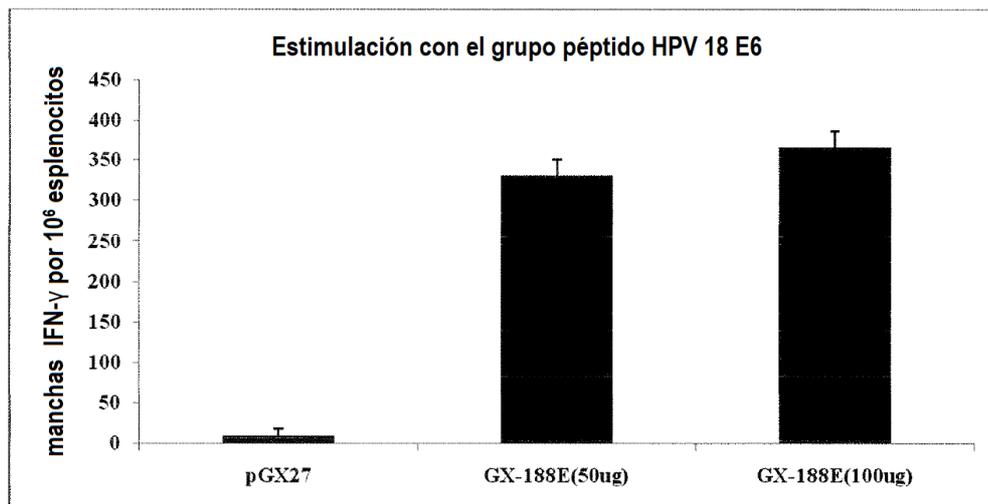


FIG. 3

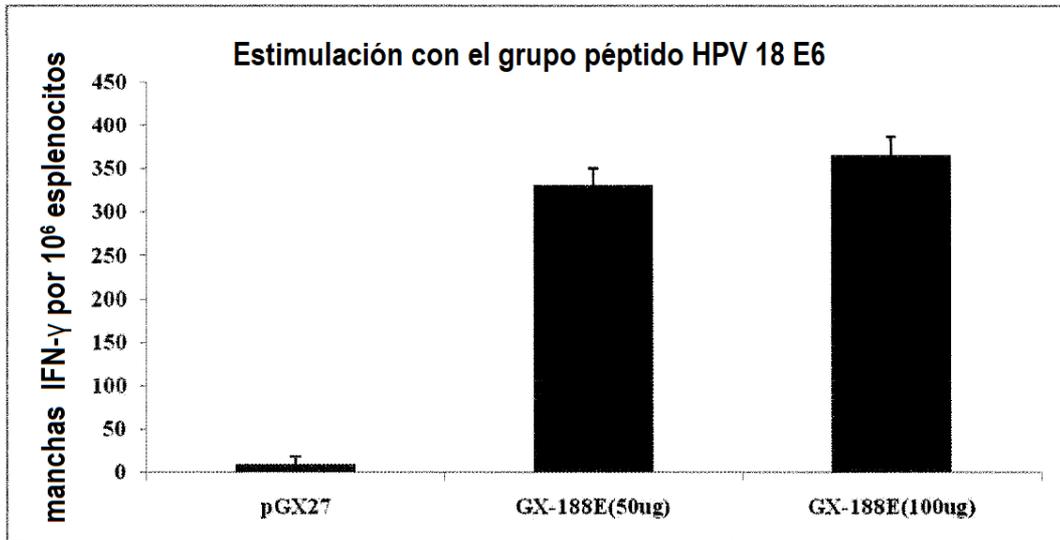


FIG. 4

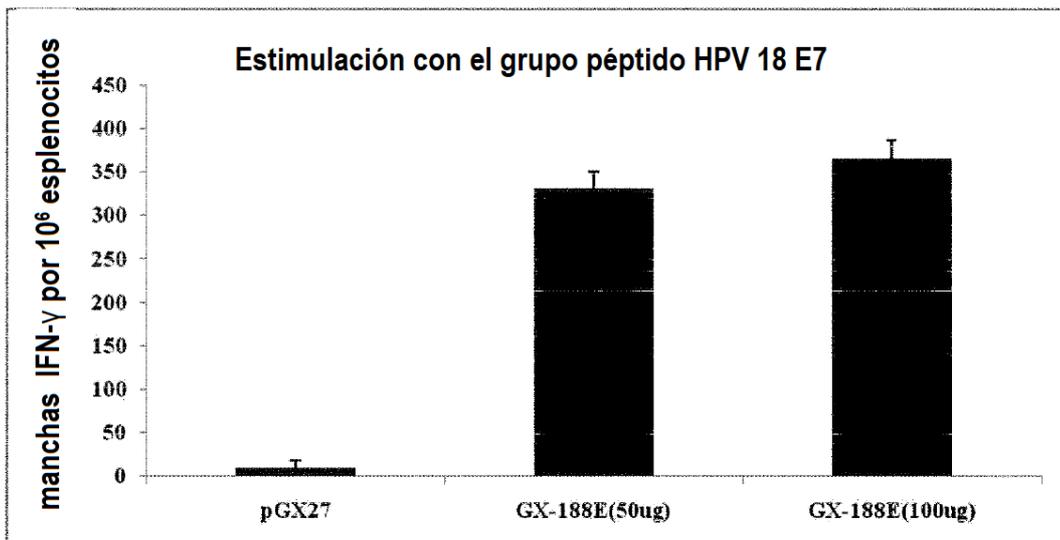


FIG. 5

