

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 696 551**

51 Int. Cl.:

A61K 39/23 (2006.01)

A01N 63/00 (2006.01)

A61K 39/235 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.12.2011 PCT/US2011/065868**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.06.2012 WO12083302**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2011 E 11848223 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018 EP 2651439**

54 Título: **Composiciones y métodos para el tratamiento o la prevención de la infección por adenovirus-36 humano**

30 Prioridad:

17.12.2010 US 201061424472 P

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

16.01.2019

73 Titular/es:

**GLOBEIMMUNE, INC. (100.0%)
1450 Infinite Drive
Louisville, CO 80027, US**

72 Inventor/es:

**APELIAN, DAVID;
KING, THOMAS, H.;
COESHOTT, CLAIRE y
LU, YINGNIAN**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 696 551 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

Composiciones y métodos para el tratamiento o la prevención de la infección por adenovirus-36 humano

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere en general a composiciones inmunoterapéuticas para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la infección por adenovirus-36 humano, así como la prevención y/o el tratamiento de la obesidad y/o trastornos asociados con la obesidad u otras secuelas relacionadas con la infección por adenovirus-36 humano.

10

Antecedentes de la invención

Los términos "obesidad" y "sobrepeso" o "preobeso" definen intervalos de pesos que son mayores que los pesos que se consideran en general sanos para una persona de una altura dada. Según un informe de agosto de 2010 de los Centros para el Control de Enfermedades (CDC), "ningún estado cumplió el objetivo de obesidad de Healthy people 2010 del 15 % y la prevalencia indicada por los participantes de obesidad entre adultos de los Estados Unidos había aumentado 1,1 puntos porcentuales desde 2007" (Sherry *et al.*, Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), 59; 1-5; 3 de agosto de 2010). En niños y adolescentes, el exceso de peso representa un problema de salud muy grave. El Estudio de Examen de Salud y Nutrición Nacional (NHANES) de 2007-2008 estimó que el 17 % de individuos de 2-19 años de edad son obesos (CDC). De hecho, el CDC y la OMS han hecho referencia a una "epidemia de obesidad" en muchas poblaciones en todo el mundo. Los individuos con sobrepeso y obesos tiene una mayor probabilidad de desarrollar una diversidad de problemas de salud incluyendo, pero sin limitación, enfermedades cardiovasculares y afecciones asociadas (por ejemplo, tensión arterial alta, colesterol alto), diabetes de tipo 2, trastornos respiratorios, cáncer, trastornos reproductivos, disfunción hepática y osteoartritis.

25

Varios factores diferentes pueden contribuir a la obesidad o al sobrepeso, y la afección puede ser un problema de salud complejo para muchos individuos. Los factores conductuales, factores ambientales, la genética, la enfermedad y/o los agentes infecciosos pueden desempeñar un papel en la afección. La falta de suficiente actividad física y exceso de consumo calórico en la dieta, es decir, desequilibrio calórico, son las causas más evidentes y habituales de sobrepeso u obesidad. Sin embargo, parece haber varios factores genéticos que pueden predisponer a determinados individuos al aumento de peso, incluyendo mutaciones en genes relacionados con el control del comportamiento alimentario y diversas mutaciones genéticas o correlaciones de genotipo con obesidad en individuos y poblaciones. Además de estos factores, diversas enfermedades y fármacos también pueden influir en el peso de un individuo. Más recientemente, se ha identificado que algunos agentes infecciosos contribuyen a algunos casos de obesidad.

35

Varios agentes infecciosos se han asociado con la obesidad en animales no humanos, y uno en particular se ha asociado con la obesidad humana. El adenovirus-36 humano (también denominado Ad-36, Adv-36 o hAdv-36) se describió por primera vez en un niño con diabetes en 1980 (Wigand *et al.*, 1980, Arch. Viol. 64(3):225-233). Desde el principio de la década de 1990, experimentos de Dhurandhar y colaboradores mostraron por primera vez que Ad-36 aumentaba la adiposidad en pollos y en ratones ((Dhurandhar *et al.*, 1990, J. Bombay Vet. College 2:131-132; Dhurandhar *et al.*, 1992, Vet. Microbiol., 31:101-107; Dhurandhar *et al.*, 2000, Int J Obes Relat Metab Disord 24:989-996; Dhurandhar *et al.*, 2001, Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 25(7):990-996), así como en monos (Dhurandhar, *et al.*, 2002, J. Nutr. 132(10):3155-3160). En ratones y pollos, la infección con Ad-36 dio como resultado viremia, infección de tejido adiposo, aumento de la grasa visceral, la grasa corporal total y/o el peso corporal, y reducción del colesterol y los triglicéridos en suero. En monos, Ad-36 promovió el aumento de peso y redujo el colesterol en suero. Pasarica y colaboradores han mostrado que el Ad-36 humano induce adiposidad, aumenta la sensibilidad a insulina y altera las monoaminas hipotalámicas en ratas (Pasarica *et al.*, 2006, Obesity 14(11):1905-1913).

40

45

En los seres humanos, se ha mostrado que Ad-36 tiene una alta probabilidad de estar asociado con obesidad, donde un fenotipo único de bajos niveles de colesterol y triglicéridos en suero estaba presente en aproximadamente 30 % de sujetos humanos obesos que tenían anticuerpos anti Ad-36, mientras que solamente 5 % de los seres humanos no obesos examinados tenían anticuerpos para Ad-36 (Dhurandhar *et al.*, 1997, FASEB J, 3:A230; Atkinson *et al.*, 1998, Int J Obes Relat Metab Disord 22(Supl): S57). Un estudio epidemiológico mostró que 30 % de las personas obesas estaban infectadas con Ad-36 en comparación con solamente 11 % de las personas delgadas en el estudio (Atkinson *et al.*, 2005, Int J Obes (Lond), 29(3):281-286). Estos investigadores mostraron que Ad-36 está asociado con aumento del peso corporal y la reducción de lípidos en suero en seres humanos. Investigadores adicionales han indicado una asociación entre Ad-36 humano y trastornos lipídicos o tasas de obesidad en niños y adolescentes en todo el mundo (Na *et al.*, 2010, Int. J. Obes. 34:89-93; Gabbert *et al.*, 2010, Pediatrics 2010;126:721-726; y Atkinson *et al.*, 2010, Int. J. Ped. Obes. 5:157-160). Trabajo adicional de Pasarica y Dhurandhar y colaboradores ha mostrado que Ad-36 induce determinación, diferenciación y acumulación de lípidos en células madre procedentes de tejido adiposo humano (Pasarica *et al.*, 2008, Stem Cells 26:969-978). Por otra parte, se ha mostrado que la adipogénesis *in vitro* es acelerada por la infección de preadipocitos con Ad-36 humano (Vangipuram *et al.*, 2004, Obes. Res. 12(5):770-777) y también se ha mostrado que la infección aumenta la sensibilidad a insulina y suprime la expresión de ARNm de leptina (Vangipuram *et al.*, 2007, Int. J. Obes. (Lond.) 31(1):87-96. Se ha sugerido que la actividad del gen *E4 orf1* de Ad-36 es responsable de esta adipogénesis (Rogers *et al.*, 2008, International Journal of Obesity

65

32:397-406). El documento WO2010/011440 describe adenovirus lipógenos y su uso como biomarcadores para la hipertrofia de tejido adiposo anómalo. El documento WO2006/044923 describe composiciones de vacuna que comprenden un vehículo de levadura y antígenos del virus de la hepatitis C (VHC) para su uso en la vacunación de un animal contra el VHC. El documento WO2009/073104 describe el uso de adenovirus de la subfamilia E de simios como vectores víricos para suministrar moléculas heterólogas como antígenos. Toth *et al* (Virus Research 108 (2005) págs. 149-159) describe un vector de adenovirus que comprende proteínas E3 y sugiere que la infección de ratones con el vector protege células A549 humanas trasplantadas del rechazo en ratones infectados.

En 2010, Arnold y colaboradores informaron de la caracterización completa del genoma de Ad-36 humano (Arnold *et al.*, 2010, Virus Res. 149:152-161). Se han descrito ensayos de diagnóstico para la identificación de infección por Ad-36 en tejidos humanos, mediante la identificación o el uso de anticuerpos anti Ad-36 (véase, por ejemplo, documentos WO 98/44946, WO 2007/120362) y se está desarrollando comercialmente un ensayo de diagnóstico de Ad-36 (Scandivir AB). Sin embargo, no existe un tratamiento para la infección vírica, una vez identificada; no está disponible en el mercado en la actualidad ningún tratamiento preventivo o terapéutico que se dirija directamente a infección por Ad-36. En consecuencia, sigue existiendo la necesidad en la técnica de un tratamiento profiláctico y/o terapéutico eficaz para la infección por adenovirus-36, para reducir o eliminar condiciones de obesidad y sobrepeso asociadas con Ad-36.

Sumario de la invención

La invención proporciona una composición inmunoterapéutica que comprende:

- a. un vehículo de levadura; y
- b. una proteína de fusión que comprende un antígeno de adenovirus-36 (Ad-36) que comprende al menos un dominio inmunogénico de CR1 α y al menos un dominio inmunogénico de CR1 γ .

En la composición inmunoterapéutica de la invención el antígeno de Ad-36 de la proteína de fusión puede comprender una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 55 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

En la composición inmunoterapéutica de la invención el antígeno de Ad-36 de la proteína de fusión puede comprender una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, al menos 90 % o al menos 95 % idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.

En la composición inmunoterapéutica de la invención el antígeno de Ad-36 de la proteína de fusión puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.

En la composición inmunoterapéutica de la invención el antígeno de Ad-36 de la proteína de fusión puede comprender secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 pueden consistir en: las posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; o las posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

En la composición inmunoterapéutica de la invención:

- el antígeno de Ad-36 puede ser expresado por el vehículo de levadura;
- el vehículo de levadura de levadura puede ser una levadura completa, termoinactivada; y/o
- el vehículo de levadura puede ser de *Saccharomyces cerevisiae*.

La invención también proporciona una proteína de fusión que comprende al menos un dominio inmunogénico de CR1 α de Ad-36 y al menos un dominio inmunogénico de CR1 γ de Ad-36.

La proteína de fusión de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.

La invención también proporciona una molécula de ácido nucleico recombinante que codifica la proteína de fusión de la invención.

La invención también proporciona una célula aislada transfectada con la molécula de ácido nucleico recombinante de la invención.

La invención también proporciona una composición que comprende la proteína de fusión de la invención, la molécula de ácido nucleico recombinante de la invención o la célula aislada de la invención.

La invención también proporciona cualquiera de las composiciones anteriormente descritas de la invención para su uso para tratar la infección por Ad-36, para su uso para prevenir la infección por Ad-36, para su uso para reducir la tasa de aumento de peso en un individuo infectado con Ad-36 y/o para su uso para provocar una respuesta inmunitaria de Ad-36 en un individuo.

5 Una realización de la invención se refiere a una composición inmunoterapéutica que comprende: (a) un vehículo de levadura; y (b) un antígeno de adenovirus-36 (Ad-36) que comprende una o más proteínas de Ad-36 y/o dominios inmunogénicos de dichas proteínas. En un aspecto, las proteínas de Ad-36 incluyen al menos una proteína seleccionada de, pero sin limitación: hexón, fibra, CR1 α y CR1 γ , y/o al menos un dominio inmunogénico de al menos una de las proteínas. En un aspecto, las proteínas de Ad-36 incluyen al menos un dominio inmunogénico de CR1 α y al menos un dominio inmunogénico de CR1 γ .

15 En un aspecto, el antígeno de Ad-36 comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 consisten en: las posiciones 71-136 de Ad-36 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 334-363 de Ad-36 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36. Por ejemplo, dicho antígeno de Ad-36 puede incluir, pero sin limitación, una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: la SEQ ID NO: 42 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36, la SEQ ID NO: 48 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36 y la SEQ ID NO: 49 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

25 En un aspecto, el antígeno de Ad-36 comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 consisten en: las posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36. Por ejemplo, dicho antígeno de Ad-36 puede incluir, pero sin limitación, la SEQ ID NO: 43 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36, la SEQ ID NO: 50 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36 y la SEQ ID NO: 51 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

30 En otro aspecto, el antígeno de Ad-36 comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 consisten en las posiciones 2-944 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36. Por ejemplo, dicho antígeno de Ad-36 puede incluir, pero sin limitación, la SEQ ID NO: 44 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36, la SEQ ID NO: 52 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36 y la SEQ ID NO: 53 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

40 En otro aspecto más, el antígeno de Ad-36 comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 consisten en: las posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36. Por ejemplo, dicho antígeno de Ad-36 puede incluir, pero sin limitación, la SEQ ID NO: 45 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36 y las posiciones 7 a 418 de la SEQ ID NO: 45 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

50 En otro aspecto, el antígeno de Ad-36 comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 consisten en: las posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36. Por ejemplo, dicho antígeno de Ad-36 puede incluir, pero sin limitación, la SEQ ID NO: 46 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36 y las posiciones 7 a 418 de la SEQ ID NO: 46 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

60 En otro aspecto, el antígeno de Ad-36 comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 consisten en: las posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36. Por ejemplo, dicho antígeno de Ad-36 puede incluir, pero sin limitación, la SEQ ID NO: 47 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36, la SEQ ID

NO: 54 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36 y la SEQ ID NO: 55 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.

5 En cualquiera de los aspectos o realizaciones de la invención descritos anteriormente o en otra parte del presente documento, en un aspecto, el antígeno de Ad-36 se expresa por el vehículo de levadura. En un aspecto, el vehículo de levadura es una levadura completa. En un aspecto, la levadura está inactivada. En un aspecto, la levadura está termoinactivada. En un aspecto, el vehículo de levadura es de un género de levadura seleccionado de: *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Schizosaccharomyces* y *Yarrowia*. En un aspecto, el vehículo de levadura es de *Saccharomyces*. En un aspecto, el vehículo de levadura es de *Saccharomyces cerevisiae*.
10

En cualquiera de los aspectos o realizaciones de la invención descritos anteriormente o en otra parte del presente documento, en un aspecto, una composición de la invención se formula en un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado para administración a un individuo.
15

Otra realización de la invención se refiere a una proteína de fusión que comprende al menos un dominio inmunogénico de CR1 α y al menos un dominio inmunogénico de CR1 γ .

20 Las composiciones pueden comprender dos o más proteínas de Ad-36 y/o dominios inmunogénicos de una o más proteínas de Ad-36, en donde las proteínas de Ad-36 incluyen al menos una proteína seleccionada de: hexón, fibra, CR1 α y CR1 γ , y/o al menos un dominio inmunogénico de al menos una de las proteínas.

En un aspecto, las proteínas de Ad-36 incluyen E4, o al menos un dominio inmunogénico de la misma. En un aspecto, las proteínas de Ad-36 incluyen al menos un dominio inmunogénico de CR1 α y al menos un dominio inmunogénico de CR1 γ . En un aspecto, la proteína de fusión comprende: (a) secuencias de Ad-36 que consisten en: las posiciones 71-136 de Ad-36 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 334-363 de Ad-36 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; (b) secuencias de Ad-36 que consisten en: las posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; (c) secuencias de Ad-36 que consisten en: las posiciones 2-944 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; (d) secuencias de Ad-36 que consisten en: las posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; (e) secuencias de Ad-36 que consisten en: las posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; o (f) secuencias de Ad-36 que consisten en: las posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; y las posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36. En un aspecto, la proteína de fusión se selecciona del grupo de: SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 y SEQ ID NO: 55.
25
30
35
40
45
50
55

Otra realización más de la divulgación se refiere a una molécula de ácido nucleico recombinante que codifica cualquiera de las proteínas de fusión descritas anteriormente o en otra parte del presente documento.
60

Otra realización de la divulgación se refiere a una célula aislada transfectada con la molécula de ácido nucleico recombinante anterior. En un aspecto, la célula es una célula de levadura.

65 Realizaciones adicionales de la divulgación se refieren a una composición que comprende cualquiera de las proteínas de fusión, moléculas de ácido nucleico recombinantes o células aisladas, descritas anteriormente o en otra parte del presente documento. En cualquiera de estas realizaciones, en un aspecto, la composición comprende

además al menos un modificador de respuesta biológica.

- 5 Otra realización de la divulgación se refiere a un método para tratar la infección por adenovirus-36 (Ad-36) en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar a un sujeto que se ha infectado con Ad-36 cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento, en donde la administración de la composición al sujeto reduce la infección por Ad-36 en el sujeto. En un aspecto, la administración de la composición al sujeto reduce la carga vírica de Ad-36 en el sujeto.
- 10 Otra realización más de la divulgación se refiere a un método para tratar la infección por adenovirus-36 (Ad-36) en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar a un sujeto que se ha infectado con Ad-36 cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento, en donde la administración de la composición al sujeto reduce la tasa de aumento de peso en el sujeto.
- 15 Otra realización de la divulgación se refiere a un método para tratar la obesidad o el exceso de peso asociado con adenovirus-36 (Ad-36) en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar a un sujeto que se ha infectado con Ad-36 y tiene un índice de masa corporal (IMC) de al menos 25, cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento, en donde la administración de la composición al sujeto reduce la IMC en el sujeto.
- 20 Otra realización más de la divulgación se refiere a un método para tratar la obesidad o el exceso de peso asociado con adenovirus-36 (Ad-36) en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar a un sujeto que se ha infectado con Ad-36 y tiene un índice de masa corporal (IMC) de menos de 25, cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento, en donde la administración de la composición al sujeto reduce el IMC en el sujeto o reduce la tasa de aumento de peso en el sujeto.
- 25 Otra realización de la divulgación se refiere a un método para provocar una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T, específica de antígeno, contra un antígeno de Ad-36. El método incluye la etapa de administrar a un sujeto cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento.
- 30 Otra realización más de la divulgación se refiere a un método para prevenir la infección por Ad-36 en un sujeto o para reducir la tasa de aumento de peso en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar a un sujeto que no se ha infectado con Ad-36 cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento. En un aspecto, el sujeto tiene un IMC de menos de 25. En un aspecto, el sujeto tiene un IMC de 25 o más. En un aspecto, el sujeto es de entre 2 y 19 años de edad. En un aspecto, el sujeto es un adulto.
- 35 Otra realización de la divulgación se refiere a un método para inmunizar una población de individuos contra infección por Ad-36, que comprende administrar a la población de individuos cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento. En un aspecto, los individuos son adultos. En un aspecto, los individuos son de 2 a 19 años de edad. En un aspecto, los individuos tienen un IMC de 25 o más. En un aspecto, los individuos tienen un IMC de menos de 25.
- 40 Otra realización de la divulgación se refiere a cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento para su uso para tratar la infección por Ad-36.
- 45 Otra realización más de la divulgación se refiere a cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento para su uso para prevenir la infección por Ad-36.
- 50 Otra realización de la divulgación se refiere a cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento para su uso para reducir la tasa de aumento de peso en un individuo infectado con Ad-36.
- 55 Otra realización de la divulgación se refiere a cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento para su uso para provocar una respuesta inmunitaria a Ad-36 en un individuo.
- 60 Otra realización más de la divulgación se refiere al uso de cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento en la preparación de un medicamento para tratar la infección por Ad-36.
- Otra realización de la divulgación se refiere al uso de cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento en la preparación de un medicamento para prevenir infección por Ad-36.
- Otra realización de la divulgación se refiere al uso de cualquiera de las composiciones descritas anteriormente o en otra parte del presente documento en la preparación de un medicamento para reducir la tasa de aumento de peso en un individuo infectado con Ad-36.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una imagen digitalizada de una transferencia de western que muestra la expresión de: (1) una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende fibra (FIB) (SEQ ID NO: 42) bajo el control de un promotor de TEF2; (2) una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende hexón (HEX) (SEQ ID NO: 43) bajo el control de un promotor de TEF2; y (3) una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende CR1 α y CR1 γ (CRAG) (SEQ ID NO: 47) bajo el control de un promotor de TEF2. La Fig. 2 es una imagen digitalizada de una transferencia de western que muestra la expresión de: (1) una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende fibra (Ad-aFL-FIB) (SEQ ID NO: 48) bajo el control de un promotor de *Cup1*; (2) una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende hexón (Ad-aFL-HEX) (SEQ ID NO: 50) bajo el control de un promotor de *Cup1*; (3) una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende CR1 α y CR1 γ (Ad-aFL-CRAG) (SEQ ID NO: 54) bajo el control de un promotor de *Cup1*; y (4) una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende hexón de longitud completa (Ad-aFL-Hexón-Completo) (SEQ ID NO: 52) bajo el control de un promotor de TEF2.

La Fig. 3 es un gráfico de barras que muestra la expresión de genes que codifican Ad-36 E1A, Ad-36 E4orf1 y hexón de Ad-36 en células madre procedentes de tejido adiposo de rata (ADS) 15 horas después de la infección por Ad-36 *in vitro*.

La Fig. 4 es un gráfico de barras que muestra la expresión de genes que codifican Ad-36 E1A, Ad-36 E4orf1 y hexón de Ad-36 en células A549 (célula hospedadora natural para adenovirus humanos) 15 horas después de infección por Ad-36 *in vitro*.

La Fig. 5 es un gráfico que muestra el control de simulación para el estudio de cinética de partículas víricas (P.V.) tempranas.

La Fig. 6 es un gráfico que muestra cinética de partículas víricas (P.V.) tempranas después de exposición a 10⁷ UFP de Ad-36.

La Fig. 7 es un gráfico que muestra cinética de partículas víricas (P.V.) tempranas después de exposición a 10⁸ UFP de Ad-36.

La Fig. 8 es un gráfico que muestra cinética de partículas víricas (P.V.) tempranas después de exposición a 10⁹ UFP de Ad-36.

La Fig. 9 es una imagen digitalizada de PCR anidado que detecta ADN de Ad-36 en tejido adiposo visceral de ratas dos semanas después de infección con diversas dosis del virus *in vivo*.

La Fig. 10 es un gráfico de dispersión que muestra aumento de peso corporal 18 semanas después de infección por Ad-36 en ratas a las que se inyectó PBS (PBS), levadura de control (YVEC), una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende CR1 α de Ad-36 y CR1 γ de Ad-36 (aFL-Crag), y una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende hexón de Ad-36 (aFL-Hex).

La Fig. 11 es un gráfico lineal que representa la evolución temporal de la mediana de aumento de peso con respecto al valor basal en ratas infectadas por Ad-36 en las que se inyectó PBS (PBS), levadura de control (YVEC), una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende CR1 α de Ad-36 y CR1 γ de Ad-36 (aFL-Crag), y una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende hexón de Ad-36 (aFL-Hex).

La Fig. 12 es un gráfico de barras que compara la mediana del aumento de peso corporal en la semana 4 y la semana 12 después de infección por Ad-36 en ratas a las que se inyectó PBS (PBS, barras blancas), levadura de control (YVEC, barras grises), una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende CR1 α de Ad-36 y CR1 γ de Ad-36 (aFL-CRAG, barras negras), y una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende hexón de Ad-36 (aFL-HEX, barras a cuadros).

La Fig. 13 es un gráfico lineal que muestra la cinética vírica de Ad-36 en la sangre para ratas estaban infectadas con Ad-36 y se les inyectó PBS (PBS), levadura de control (YVEC), una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende CR1 α de Ad-36 y CR1 γ de Ad-36 (aFL-Crag), y una composición de inmunoterapia basada en levadura que expresa una proteína de fusión que comprende hexón de Ad-36 (aFL-Hex).

La Fig. 14 es un gráfico de barras que compara el consumo dietético total (en peso) durante 12 semanas de ratas no infectadas por Ad-36 a las que se inyectó un producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresa una proteína de fibra de Ad-36 y ratas a las que se inyectó de forma simulada (sin producto inmunoterapéutico).

La Fig. 15 es un gráfico lineal que compara el aumento de peso durante 12 semanas de ratas no infectadas con Ad-36 a las que se inyectó un producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresa una proteína de fibra de Ad-36 y ratas a las que se inyectó de forma simulada (sin producto inmunoterapéutico).

La Fig. 16 es una imagen digitalizada de PCR que muestra ADN de Ad-36 en órganos y tejidos de una rata 15 semanas después de inoculación intraperitoneal con el virus Ad-36.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere en general a composiciones inmunoterapéuticas y métodos para la prevención y/o el tratamiento de la infección por adenovirus-36 (Ad-36), así como la prevención y/o el tratamiento de obesidad, trastornos relacionados con obesidad relacionados con infección por adenovirus-36 e hipertrofia del tejido adiposo relacionada con infección por Ad-36. La invención incluye una composición inmunoterapéutica basada en levadura (también denominada inmunoterapia basada en levadura) que comprende un vehículo de levadura y una proteína de fusión que comprende uno o más antígenos de Ad-36 que se han diseñado para provocar una respuesta inmunitaria profiláctica y/o terapéutica contra infección por Ad-36 en un sujeto. La invención incluye dichas composiciones para su uso en la prevención y/o el tratamiento de infección por Ad-36. La invención también incluye las moléculas de ácido nucleico recombinante usadas en las composiciones basadas en levadura de la invención, así como las proteínas codificadas por las mismas, para su uso en cualquier composición inmunoterapéutica y/o protocolo terapéutico para infección por Ad-36.

Las composiciones inmunoterapéuticas específicas de Ad-36, basadas en levadura, de la invención inducen respuestas inmunitarias innatas, así como respuestas inmunitarias adaptativas que se dirigen específicamente a Ad-36, incluyendo respuestas de linfocitos T TH17 y TH1 dependientes de CD4 y respuestas de linfocitos T CD8⁺ específicas de antígeno, que incluyen respuestas de linfocitos T citotóxicos (CTL). Además, las composiciones inmunoterapéuticas específicas de Ad-36, basadas en levadura, de la invención modulan números y/o funcionalidad de linfocitos T reguladores (Treg). La amplitud de la respuesta inmunitaria provocada por inmunoterapia basada en levadura específica de Ad-36 puede modularse hacia el tipo deseado de respuesta inmunitaria (por ejemplo, TH1 frente a TH17 frente a Treg), y es muy adecuada para dirigirse a Ad-36. A diferencia de vacunas que se inmunizan generando respuestas de anticuerpo neutralizantes, las composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura que se dirigen a Ad-36 provocan respuestas inmunitarias celulares específicas de antígeno, de base amplia y potentes, incluyendo respuestas de linfocitos T CD4⁺ T que se cree que son particularmente eficaces para proporcionar inmunidad contra adenovirus, ya que la infección por adenovirus temprano puede inhibir la expresión del MHC de clase I. También se cree que la capacidad de la inmunoterapia basada en levadura para potenciar respuestas de linfocitos T TH17 es útil, ya que IL-17 bloquea la diferenciación de células adiposas precursoras a verdaderos adipocitos y también promueve la lipólisis (Shin *et al.*, 2009).

La inmunoterapia basada en levadura también es muy capaz de activar células presentadoras de antígenos y tiene una capacidad única de sensibilizar de forma cruzada la respuesta inmunitaria, generando respuestas de CTL CD8⁺ que son típicamente eficaces contra infecciones víricas, incluso frente a lo que de otro modo puede ser un ambiente supresor. La inmunoterapia basada en levadura puede diseñarse para dirigirse a regiones de Ad-36 que son específicas para este virus, o para dirigirse a regiones que están conservada entre muchos serotipos de adenovirus y/o para dirigirse a una mezcla de estas regiones, haciendo la vacuna muy adaptable a las necesidades del individuo infectado, y para dirigirse a la inmunidad tanto protectora como terapéutica. Ya que este tipo de inmunoterapia utiliza la capacidad natural de la célula presentadora de antígeno para presentar inmunógenos relevantes, no es necesario conocer la identidad precisa de epítopos de CTL o epítopos del MHC de clase II para producir un producto inmunoterapéutico eficaz y, de hecho, múltiples epítopos de linfocitos T CD4 y CD8 pueden ser diana en una única composición. Por lo tanto, se espera que la inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura, activando la respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa, se dirija eficazmente a células infectadas por Ad-36 para eliminación no citopática, destrucción, o ambas. Además de ser eficaces en el tratamiento del exceso de peso o combatir la tasa de aumento de peso, así como en el tratamiento de afecciones relacionadas con el exceso de peso o el aumento de peso que se asocian con la infección por Ad-36, se espera que las composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura de la invención sean eficaces en casos en los que el tejido adiposo presenta crecimiento anómalo o hipertrofia que se asocia con la presencia de Ad-36, como sucede en pacientes infectados con VIH. De hecho, antes del desarrollo de SIDA avanzado, los pacientes infectados por VIH y pacientes que experimentan adiposidad anómala asociada con Ad-36 que puede desarrollarse en el contexto de función inmunitaria normal reducida o alterada, administración de la inmunoterapia basada en levadura descrita en el presente documento puede ser eficaz para tratar dichos pacientes proporcionando una respuesta inmunitaria de base amplia suficiente para reducir la carga vírica de Ad-36 y de este modo resolver la hipertrofia del tejido adiposo anómala. La inmunoterapia basada en levadura activa múltiples rutas del sistema inmunitario y se espera que sea eficaz cuando otros enfoques terapéuticos, incluyendo otros enfoques inmunoterapéuticos, carecen de eficacia.

Las composiciones, los métodos y los usos de la invención se dirigen a la prevención y/o el tratamiento de infección por Ad-36, lo que puede reducir o prevenir uno o más síntomas o afecciones asociados con infección por Ad-36, incluyendo, pero sin limitación, obesidad, sobrepeso, aumento de peso indeseable o anómalo y/o hipertrofia de tejido adiposo anómala. Abordando estas afecciones, las secuelas corriente abajo de la obesidad y el sobrepeso, o afecciones asociadas con obesidad, exceso de peso, aumento de peso indeseable o anómalo o hipertrofia de tejido adiposo anómala, también pueden reducirse. Dichas afecciones incluyen, pero sin limitación, colesterol en suero alto, triglicéridos altos, tensión arterial alta, afecciones respiratorias, resistencia a la insulina y diabetes de tipo II.

Composiciones de la invención

Una realización de la presente invención se refiere a una composición inmunoterapéutica basada en levadura que

puede usarse para prevenir y/o tratar la infección por Ad-36 o para aliviar al menos un síntoma resultante de la infección por Ad-36, incluyendo, pero sin limitación, obesidad, sobrepeso, aumento de peso indeseado o anómalo, o la propensión a los mismos. La composición comprende: (a) un vehículo de levadura; y (b) una o más proteínas de Ad-36 y/o uno o más dominios inmunogénicos de las mismas (colectivamente, "antígenos de Ad-36"). Junto con el vehículo de levadura, las proteínas de Ad-36 se expresan más típicamente como proteínas recombinantes por el vehículo de levadura (por ejemplo, por una levadura intacta o esferoplasto de levadura, que opcionalmente pueden procesarse además a un citoplasto de levadura, célula vacía de levadura o extracto de membrana de levadura o fracción de la misma), aunque es una realización de la invención que se carguen una o más de dichas proteínas de Ad-36 en un vehículo de levadura o formen complejos de otra manera con, se adhieran a, se mezclen con o se administren con un vehículo de levadura como se describe en el presente documento para formar una composición de la presente invención. Según la presente invención, la referencia a una proteína "heteróloga" o antígeno "heterólogo", incluyendo una proteína de fusión heteróloga, en relación a un vehículo de levadura de la invención, significa que la proteína o el antígeno no es una proteína o un antígeno que son expresadas de forma natural por la levadura, aunque una proteína de fusión puede incluir secuencias de levadura o proteínas o partes de las mismas que también son expresadas de forma natural por la levadura. Las proteínas de Ad-36 son heterólogas con respecto a levadura. Los antígenos diana útiles en la presente invención son normalmente proteínas de Ad-36 y/o dominios inmunogénicos de las mismas.

Otra realización de la invención se refiere a proteínas de fusión de Ad-36 novedosas descritas en la presente memoria. En un aspecto, dichas proteínas de fusión de Ad-36 son útiles en una composición inmunoterapéutica de la invención, incluyendo una composición inmunoterapéutica basada en levadura de la invención. Dichas proteínas de fusión, y/o las moléculas de ácido nucleico recombinantes que codifican dichas proteínas, se pueden usar también en, en combinación con o para producir, una composición inmunoterapéutica basada en levadura, que puede incluir, sin limitación, una vacuna de ADN, una vacuna de subunidad de proteína, una composición inmunoterapéutica basada en virus recombinante y una vacuna de patógeno destruido o inactivado. En otra realización, dichas proteínas de fusión pueden usarse en un ensayo de diagnóstico para Ad-36 y/o para generar anticuerpos contra Ad-36. Se describen en el presente documento proteínas de fusión de Ad-36 ejemplares que proporcionan partes seleccionadas de Ad-36 que son particularmente útiles en composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura de la invención.

Adenovirus-36

Adenovirus-36 (también denominado en el presente documento Ad-36, Adv-36, hAdv-36 o HAdV-D36, o serotipo de adenovirus 36, todos los cuales pueden usarse indistintamente) es uno de 52 serotipos conocidos en la actualidad de adenovirus que infectan seres humanos, de la familia *Adenoviridae*, género *Mastadenovirus*, especie *Adenovirus humano D* (HAdV-D). El virus fue identificado por primera vez en un niño con diabetes y enteritis (Wigand *et al.*, 1980, mencionado anteriormente) y se depositó en la ATCC como ATCC® número VR-1610™ de Wigand. En 2010, Arnold y colaboradores secuenciaron el genoma de Ad-36 completo (Arnold *et al.*, 2010, mencionado anteriormente), que está depositado con el n.º de referencia de GenBank® GQ384080.1 (GI:261875889). La secuencia de nucleótidos de esta secuencia genómica de adenovirus-36 representativa se representa en el presente documento por SEQ ID NO: 1.

Ad-36 es un virus de ADN bicatenario con un genoma de 35.152 pb, organizado en 39 fases abiertas de lectura (ORF) predichas. Las secuencias codificantes que son más divergentes de otros adenovirus se encuentran en el hexón, CR1β, CR1γ y regiones codificantes de fibras. La Tabla 1 indica las secuencias proteicas individuales codificadas por el genoma de Ad-36 (SEQ ID NO: 1). Se observa que pueden producirse variaciones pequeñas en la secuencia de aminoácidos entre diferentes aislados víricos de la misma proteína de Ad-36. Sin embargo, usando las directrices proporcionadas en el presente documento y la referencia a las secuencias de Ad-36 ejemplares, un experto en la materia podrá fácilmente producir una diversidad de proteínas basadas en Ad-36, incluyendo proteínas de fusión, de cualquier cepa (aislado) o genotipo de Ad-36, para su uso en las composiciones y métodos de la presente invención y, por lo tanto, la invención no está limitada a las secuencias específicas divulgadas en el presente documento. La referencia a una proteína o antígeno de Ad-36 en cualquier parte de esta divulgación, o a cualquier dominio funcional, estructural o inmunogénico de la misma, puede en consecuencia hacerse por referencia a una secuencia particular de una o más de las secuencias presentadas en esta divulgación, o por referencia a la misma secuencia, una similar o correspondiente de un aislado (cepa) de Ad-36 diferente. Un experto en la materia podrá identificar fácilmente la posición de la secuencia correspondiente para cada proteína en la Tabla 1 en una secuencia de Ad-36 dada de cualquier cepa/aislado de Ad-36, dadas las directrices proporcionadas posteriormente, incluso aunque algunos aminoácidos pueden diferir de las secuencias en la Tabla 1.

Tabla 1. Secuencias proteicas de adenovirus-36

Nombre de la proteína	Identificador de secuencia
E1A 28K	SEQ ID NO: 2
E1A 21K	SEQ ID NO: 3

ES 2 696 551 T3

Nombre de la proteína	Identificador de secuencia
E1B 19K	SEQ ID NO: 4
E1B 55K	SEQ ID NO: 5
pIX	SEQ ID NO: 6
IVa2	SEQ ID NO: 7
Proteína Pol	SEQ ID NO: 8
13,6K	SEQ ID NO: 9
pTP	SEQ ID NO: 10
52K	SEQ ID NO: 11
pIIIa	SEQ ID NO: 12
III	SEQ ID NO: 13
pVII	SEQ ID NO: 14
V	SEQ ID NO: 15
pX	SEQ ID NO: 16
pVI	SEQ ID NO: 17
Hexón	SEQ ID NO: 18
Proteasa	SEQ ID NO: 19
DBP	SEQ ID NO: 20
100K	SEQ ID NO: 21
33K	SEQ ID NO: 22
22K	SEQ ID NO: 23
pVIII	SEQ ID NO: 24
E3 12,5K	SEQ ID NO: 25
E3 CR1 α	SEQ ID NO: 26
E3 18,4K	SEQ ID NO: 27
E3 50K (CR1 β)	SEQ ID NO: 28
E3B1-2 30,8K (CR1 γ)	SEQ ID NO: 29
E3B2-2 10K (RID α)	SEQ ID NO: 30
E3B2-2 14,6K (RID β)	SEQ ID NO: 31
E3B 14,7K	SEQ ID NO: 32
Proteína U	SEQ ID NO: 33
Fibra	SEQ ID NO: 34
E4 ORF 6/7	SEQ ID NO: 35
E4 34K	SEQ ID NO: 36
E4 17K	SEQ ID NO: 37
E4 ORF4	SEQ ID NO: 38
E4 ORF3	SEQ ID NO: 39
E4 ORF2	SEQ ID NO: 40

Nombre de la proteína	Identificador de secuencia
E4 ORF1	SEQ ID NO: 41

Antígenos y construcciones diana de adenovirus-36.

5 Una realización de la invención se refiere a nuevas proteínas de Ad-36 y proteínas de fusión que pueden usarse como antígenos diana en una composición inmunoterapéutica de la invención y moléculas de ácido nucleico recombinantes que codifican estas proteínas o antígenos. Se describen en el presente documento varias proteínas de Ad-36 y proteínas de fusión nuevas diferentes para su uso como antígenos diana en una composición inmunoterapéutica basado en levadura u otra composición (por ejemplo, otra composición inmunoterapéutica o de diagnóstico) que proporcionan una, dos, o múltiples (tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más) y/o uno, dos o múltiples dominios inmunogénicos de una o más proteínas, todos contenidos en el mismo polipéptido y codificado por la misma construcción de ácido nucleico recombinante. Las proteínas usadas en las composiciones de la invención incluyen al menos un antígeno de Ad-36 para inmunizar un animal (de forma profiláctica o terapéutica). La composición puede incluir, una, dos, algunas, varias o una pluralidad de antígenos de Ad-36, incluyendo uno o más dominios inmunogénicos de una o más proteínas de Ad-36, según se desee.

15 Según la presente invención, el uso general en el presente documento del término "antígeno" se refiere: a cualquier parte de una proteína (péptido, proteína parcial, proteína de longitud completa), en donde la proteína es de origen natural o se ha obtenido sintéticamente, a una composición celular (célula completa, lisado celular o células alteradas), a un organismo (organismo completo, lisado o células alteradas) o a un carbohidrato, u otra molécula o una parte de la misma. Un antígeno puede provocar una respuesta inmunitaria específica de antígeno (por ejemplo, una respuesta inmunitaria humoral y/o mediada por células) contra antígenos iguales o similares que encuentran un elemento del sistema inmunitario (por ejemplo, linfocitos T, anticuerpos).

25 Un antígeno puede ser tan pequeño como un único epítipo, o mayor, y puede incluir múltiples epítipos. Por tanto, el tamaño de un antígeno puede ser tan pequeño como de aproximadamente 5-12 aminoácidos (es decir, un péptido) y tan grande como: una proteína de longitud completa, un multímero, una proteína de fusión, una proteína quimérica, una célula completa, un microorganismo completo o cualquier parte de los mismos (por ejemplo, lisados de células completas o extractos de microorganismos. Además, los antígenos pueden incluir carbohidratos, que pueden cargarse en un vehículo de levadura o en una composición de la invención. Se apreciará que en algunas realizaciones (es decir, cuando el antígeno es expresado por el vehículo de levadura a partir de una molécula de ácido nucleico recombinante), el antígeno es una proteína, proteína de fusión, proteína quimérica o fragmento de la misma, en lugar de una célula o microorganismo completo.

35 Cuando el antígeno tiene va a expresarse en levadura, un antígeno es de un tamaño mínimo que puede expresarse de forma recombinante en levadura, y es típicamente de al menos o mayor de 25 aminoácidos de longitud, o de al menos o mayor de 26, al menos o mayor de 27, al menos o mayor de 28, al menos o mayor de 29, al menos o mayor de 30, al menos o mayor de 31, al menos o mayor de 32, al menos o mayor de 33, al menos o mayor de 34, al menos o mayor de 35, al menos o mayor de 36, al menos o mayor de 37, al menos o mayor de 38, al menos o mayor de 39, al menos o mayor de 40, al menos o mayor de 41, al menos o mayor de 42, al menos o mayor de 43, al menos o mayor de 44, al menos o mayor de 45, al menos o mayor de 46, al menos o mayor de 47, al menos o mayor de 48, al menos o mayor de 49, o de al menos o mayor de 50 aminoácidos de longitud, o es de al menos 25-50 aminoácidos de longitud, al menos 30-50 aminoácidos de longitud, o al menos 35-50 aminoácidos de longitud, o de al menos 40-50 aminoácidos de longitud, o al menos 45-50 aminoácidos de longitud. Pueden expresarse proteínas más pequeñas, y pueden expresarse proteínas considerablemente más grandes (por ejemplo, cientos de aminoácidos de longitud o incluso varios miles de aminoácidos de longitud). En un aspecto, puede expresarse una proteína de longitud completa o un dominio estructural o funcional de la misma o un dominio inmunogénico de la misma que carece de uno o más aminoácidos del extremo N y/o C (por ejemplo, que carece entre aproximadamente 1 y aproximadamente 20 aminoácidos del extremo N y/o C). Las proteínas de fusión y proteínas quiméricas también son antígenos que pueden expresarse en la invención. Un "antígeno diana" es un antígeno al que se dirige específicamente una composición inmunoterapéutica de la invención (es decir, un antígeno contra el que se desea provocar una respuesta inmunitaria). Un "antígeno de Ad-36" es un antígeno obtenido, diseñado o producido a partir de una o más proteínas de Ad-36 de modo que la dirección al antígeno también dirija al adenovirus-36.

55 Cuando se hace referencia a la estimulación de una respuesta inmunitaria, el término "inmunógeno" es un subconjunto del término "antígeno" y, por lo tanto, en algunos casos, puede usarse indistintamente con el término "antígeno". Un inmunógeno, como se usa en el presente documento, describe un antígeno que provoca una respuesta inmunitaria humoral y/o mediada por células (es decir, es inmunogénico), de modo que la administración del inmunógeno a un individuo genera una respuesta inmunitaria específica de antígeno contra antígenos iguales o similares con los que se encuentra el sistema inmunitario del individuo. En una realización, el inmunógeno provoca una respuesta inmunitaria mediada por células, incluyendo una respuesta de linfocitos T CD4⁺ (TH1 y/o TH17) y/o una respuesta de linfocitos T CD8⁺ (por ejemplo una respuesta de CTL).

- Un "dominio inmunogénico" de un antígeno dado puede ser cualquier parte, fragmento o epítipo de un antígeno (por ejemplo, un fragmento peptídico o subunidad o un epítipo de anticuerpo u otro epítipo conformacional) que contiene al menos un epítipo que puede actuar como un inmunógeno cuando se administra a un animal. Por lo tanto, un dominio inmunogénico es más grande que un único aminoácido y es de al menos un tamaño suficiente para contener al menos un epítipo. Por ejemplo, una única proteína puede contener múltiples dominios inmunogénicos diferentes. No es necesario que los dominios inmunogénicos sean secuencias lineales dentro de una proteína, tal como en el caso de una respuesta inmunitaria humoral, donde se contemplan dominios conformacionales.
- Un epítipo se define en este documento como un único sitio inmunogénico dentro de un antígeno dado que es suficiente para provocar una respuesta inmunitaria cuando se proporciona al sistema inmunitario en el contexto de señales coestimuladoras apropiadas y/o células activadas del sistema inmunitario. En otras palabras, un epítipo es la parte de un antígeno que es reconocida por componentes del sistema inmunitario, y también puede denominarse determinante antigénico. Los expertos en la materia reconocerán que los epítipos de linfocitos T son de tamaño y composición diferentes de los epítipos de linfocitos B o anticuerpos, y que los epítipos presentados a través de la ruta del MHC de clase I difieren en tamaño y atributos estructurales de los epítipos presentados a través de la ruta del MHC de clase II. Por ejemplo, los epítipos de linfocitos T presentados por moléculas del MHC de clase I típicamente son de una longitud de entre 8 y 11 aminoácidos, mientras que los epítipos presentados por moléculas del MHC de clase II están menos restringidos en su longitud y pueden ser de hasta 25 aminoácidos o más largos. Además, los epítipos de linfocitos T tienen características estructurales predichas que dependen de las moléculas del MHC específicas con las que se une el epítipo. Los epítipos pueden ser epítipos de secuencia lineal o epítipos conformacionales (regiones de unión conservadas). La mayoría de los anticuerpos reconocen epítipos conformacionales.
- Un "dominio funcional" de una proteína dada es una parte o unidad funcional de la proteína que incluye secuencia o estructura que es directa o indirectamente responsable de al menos una función biológica o química asociada con, atribuida a o realizada por la proteína. Por ejemplo, un dominio funcional puede incluir un sitio activo para actividad enzimática, un sitio de unión a ligando, un sitio de unión a receptor, un sitio de unión para una molécula o resto tal como calcio, un sitio de fosforilación o un dominio de transactivación.
- Un "dominio estructural" de una proteína dada es una parte de la proteína o un elemento en la estructura global de la proteína que tiene una estructura identificable (por ejemplo, puede ser una estructura primaria o terciaria que pertenece a y es indicativa de varias proteínas dentro de una clase o familia de proteínas), es autoestabilizante y/o puede plegarse independientemente del resto de la proteína. Un dominio estructural está frecuentemente asociado con o tiene un papel prominente en la función biológica de la proteína a la que pertenece.
- Un antígeno de Ad-36 de la presente invención es una proteína de fusión. En un aspecto de la invención, dicha proteína de fusión puede incluir dos o más antígenos. En un aspecto, la proteína de fusión puede incluir dos o más dominios inmunogénicos y/o dos o más epítipos de una o más proteínas de Ad-36. Una composición inmunoterapéutica que contiene dichos antígenos puede proporcionar inmunización específica de antígeno en una amplia serie de pacientes. Por ejemplo, una proteína o proteína de fusión abarcada por la invención puede incluir al menos una parte o la longitud completa de una cualquiera o más proteínas de Ad-36 representadas en la Tabla 1 (secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 2 a 41) y/o uno o más dominios inmunogénicos cualesquiera de una cualquiera o más de estas proteínas de Ad-36, proporcionadas en cualquier combinación. En una realización, una proteína útil en la presente invención comprende una o más de las siguientes proteínas de Ad-36 y/o uno o más dominios inmunogénicos de una cualquiera o más de las siguientes proteínas: hexón, fibra, CR1 α , CR1 γ y/o E4. En una realización, un antígeno útil en una composición inmunoterapéutica de la invención es una única proteína de Ad-36 (longitud completa, longitud casi completa o parte de la misma que comprende, al menos, uno, dos, tres, cuatro o más dominios inmunogénicos de una proteína de longitud completa). En una realización de la invención, una composición inmunoterapéutica incluye uno, dos, tres, cuatro, cinco o más vehículos de levadura individuales, expresando o conteniendo cada uno un antígeno de Ad-36 diferente.
- En una realización de la invención, el o los antígenos de Ad-36 para su uso en una composición de la invención es un antígeno de Ad-36 que comprende o consiste en hexón, fibra, CR1 α , CR1 γ y/o E4 y/o uno o más dominios (estructurales, funcionales o inmunogénicos) de los mismos, o cualquier combinación de los mismos. En un aspecto, uno cualquiera o más de estas proteínas o dominios son de longitud completa o longitud casi completa. Según la presente invención, la referencia a una proteína "de longitud completa" (o un dominio funcional de longitud completa o dominio inmunológico de longitud completa) incluye la secuencia de aminoácidos de longitud completa de la proteína o dominio funcional o dominio inmunológico, como se describe en el presente documento o se conoce de otro modo o se describe en una secuencia públicamente disponible. Una proteína o dominio que es "de longitud casi completa", que también es un tipo de homólogo de una proteína, difiere de una proteína o dominio de longitud completa, por la adición o supresión de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos del extremo N y/o C de dicha proteína de longitud completa o dominio de longitud completa. La referencia general a una proteína o dominio puede incluir proteínas de longitud completa y de longitud casi completa, así como otros homólogos de las mismas. En un aspecto, una o más de estas proteínas o dominios comprenden o consisten en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más dominios inmunogénicos. En un aspecto, uno cualquiera o más de estas proteínas o dominios comprenden al menos

80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de la secuencia lineal de la secuencia de longitud completa correspondiente o de un dominio o parte específico de la secuencia de longitud completa. Una secuencia de expresión N-terminal y/o un marcador C-terminal son opcionales para su uso con los antígenos de Ad-36, y puede seleccionarse de varias secuencias diferentes descritas en otra parte del presente documento para mejorar la expresión, estabilidad y/o permitir la identificación y/o purificación de la proteína, o una o ambas de las secuencias N o C-terminales se omiten completamente. Además, se conocen en la técnica muchos promotores diferentes adecuados para su uso en levadura.

Además si dos o más proteínas de Ad-36 o dominios de las mismas se incluyen en un antígeno de Ad-36, pueden introducirse opcionalmente secuencias conectoras intermedias cortas (por ejemplo, péptidos de 1, 2, 3, 4 o 5 o más aminoácidos) entre partes de la proteína o entre las proteínas y otros elementos (por ejemplo, péptidos N-terminales) por una diversidad de razones, incluyendo la introducción de sitios de enzimas de restricción para facilitar la clonación y la futura manipulación de las construcciones. Por último, como se analiza en otra parte del presente documento, las secuencias descritas en el presente documento son ejemplares y pueden modificarse como se ha descrito anteriormente para sustituir, añadir o suprimir secuencias para acomodar preferencias para la cepa o el aislado de Ad-36, o secuencias consenso e inclusión de epítomos de linfocitos T preferidos, incluyendo epítomos de linfocitos T dominantes y/o subdominantes.

En un aspecto de la invención, los antígenos de Ad-36 útiles en la invención son antígenos que son divergentes, o están menos conservados, con respecto a otros adenovirus (por ejemplo, tienen homología o identidad de secuencia relativamente baja con las mismas proteínas o proteínas equivalentes de otros serotipos/genotipos de adenovirus). En una realización de la invención, una región divergente de una proteína, o referencia a una proteína o región de una proteína que es divergente con respecto a otras proteínas de estructura y/o función similar (por ejemplo, una región de una proteína de Ad-36 en comparación con aproximadamente la misma región o una región similar de la misma proteína o una proteína equivalente de otro serotipo/genotipo de adenovirus), se define como una región proteica para la que hay menos de aproximadamente 60 % de identidad de aminoácidos promedio entre la secuencia de referencia y al menos otras cinco secuencias de otras fuentes que son equivalentes en estructura y/o función, determinada, por ejemplo, usando un algoritmo de BLAST (descrito posteriormente). En consecuencia, se incluyen proteínas o dominios o partes de proteínas de Ad-36 que no están altamente conservados (están relativamente o muy poco conservados) con otros serotipos/genotipos de adenovirus en antígenos y proteínas de fusión útiles en la invención, en una realización de la invención. La inclusión de antígenos de Ad-36 que son divergentes de otros antígenos de adenovirus (por ejemplo, antígenos similares o equivalentes, con respecto a la estructura y/o función, de otros serotipos o genotipos de adenovirus) tiene la ventaja de crear una composición inmunoterapéutica que es específica de Ad-36 y potencialmente minimiza los efectos fuera de diana del producto inmunoterapéutico o dilución de la especificidad del producto inmunoterapéutico. En otro aspecto de la invención, pueden incluirse antígenos de regiones conservadas de Ad-36 (por ejemplo, regiones con mayor homología de secuencia con otros antígenos similares o equivalentes de otros serotipos/genotipos de adenovirus) en una proteína de fusión o composición de la invención, que tiene la ventaja, por ejemplo, de proporcionar un producto inmunoterapéutico de amplio espectro con aplicaciones potenciales más allá del tratamiento o la prevención de obesidad y afecciones relacionadas con tejido adiposo.

En una realización ejemplar de la invención, el o los antígenos de Ad-36 para su uso en una composición de la invención, es una proteína que comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 comprenden o consisten en proteína de fibra de Ad-36 y/o uno o más dominios inmunogénicos de proteína de fibra de Ad-36. En un aspecto, el antígeno de fibra de Ad-36 es proteína de fibra de longitud completa o proteína de fibra de longitud casi completa. En un aspecto, el antígeno de fibra de Ad-36 comprende al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de la secuencia lineal de un antígeno de fibra de Ad-36 de longitud completa o un dominio inmunogénico o parte del mismo. En un aspecto, el antígeno de fibra de Ad-36 es de al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntico a un antígeno de fibra de Ad-36 de longitud completa o un dominio inmunogénico o parte del mismo. En una realización, una proteína útil en una composición de la invención comprende o consiste en dominios o partes divergentes, es decir, dominios o partes relativamente no conservados, con respecto a otros adenovirus, de proteína de fibra de Ad-36. Por ejemplo, una construcción de proteína de fibra de Ad-36 según esta realización puede estar comprendida por una fusión de una, dos, tres, cuatro o más regiones diferentes de proteína de fibra de Ad-36 que están poco conservadas entre genotipos adenovíricos humanos.

Se describen ejemplos de dichas proteínas de fusión en el Ejemplo 1. Un antígeno de Ad-36 que comprende secuencia de proteína de fibra descrita en el Ejemplo 1 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 42: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 42); (2) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-72 de la SEQ ID NO: 42; (3) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 73-97 de la SEQ ID NO: 42; (4) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 98-194 de la

SEQ ID NO: 42; (5) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 195-224 de la SEQ ID NO: 42; y (6) un marcador de hexahistidina (posiciones 225-230 de la SEQ ID NO: 42). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 42 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Otro antígeno de Ad-36 que comprende secuencia de proteína de fibra descrita en el Ejemplo 1 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 48: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 48); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 48); (3) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-157 de la SEQ ID NO: 48; (4) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 158-182 de la SEQ ID NO: 48; (5) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 183-279 de la SEQ ID NO: 48; (6) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 280-309 de la SEQ ID NO: 48; y (7) un marcador de hexahistidina (posiciones 310-315 de la SEQ ID NO: 48). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 48 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Los segmentos de aminoácidos usados en estas proteínas de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; los ejemplos proporcionados en el presente documento son solamente ejemplares. Además, la secuencia de expresión N-terminal (por ejemplo, las posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO:42 o las posiciones 1-89 de la SEQ ID NO:48) y el marcador C-terminal (por ejemplo, las posiciones 225-230 de la SEQ ID NO:42 o las posiciones 310-315 de la SEQ ID NO:48) son opcionales y pueden seleccionarse en lugar de otras secuencias diferentes descritas en otra parte en el presente documento o que se conoce en la técnica que mejoran la expresión, estabilidad y/o permiten la identificación y/o purificación de la proteína, o una o ambas se pueden omitir completamente. Asimismo, pueden introducirse secuencias conectoras intermedias cortas tales como la ejemplificada en la SEQ ID NO: 48 (por ejemplo, péptidos de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos o más grandes) entre partes de la proteína de fusión por una diversidad de razones, incluyendo la introducción de sitios de enzimas de restricción para facilitar la clonación como sitios de escisión para proteasas fagosómicas del hospedador, para acelerar el procesamiento de proteínas o antígenos, y para la futura manipulación de las construcciones. La secuencia de aminoácidos que consiste solamente en las proteínas de fibra de Ad-36 en las proteínas de fusión descritas anteriormente se representa en el presente documento por SEQ ID NO: 49. La SEQ ID NO: 49 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido: (1) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 1-66 de la SEQ ID NO: 49; (2) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 67-91 de la SEQ ID NO: 49; (3) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-188 de la SEQ ID NO: 49; y (4) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 189-218 de la SEQ ID NO: 49. Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 49 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

En otra realización ejemplar de la invención, el o los antígenos de Ad-36 para su uso en una composición de la invención, es una proteína que comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 comprenden o consisten en proteína de hexón de Ad-36 y/o uno o más dominios inmunogénicos de proteína de hexón de Ad-36. En un aspecto, el antígeno de hexón de Ad-36 es proteína de hexón de longitud completa o proteína de hexón de longitud casi completa (longitud completa y longitud casi completa se han definido anteriormente). En un aspecto, el antígeno de hexón de Ad-36 comprende al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de la secuencia lineal de una proteína de hexón de Ad-36 de longitud completa o un dominio inmunogénico o parte del mismo. En un aspecto, el antígeno de hexón de Ad-36 es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntico a un proteína de hexón de Ad-36 de longitud completa o un dominio inmunogénico o parte del mismo. En una realización, una proteína útil en una composición de la invención comprende o consiste en dominios o partes divergentes, es decir, dominios o partes relativamente no conservados, con respecto a otros adenovirus, de proteína de hexón de Ad-36. Por ejemplo, una construcción de proteína de hexón de Ad-36 según esta realización puede estar comprendida por una fusión de una, dos, tres, cuatro, cinco o más regiones diferentes de proteína de hexón de Ad-36 que están poco conservadas entre genotipos adenovíricos humanos.

Se describen ejemplos de dichas proteínas de fusión que comprenden proteínas de hexón en el Ejemplo 1. Uno de

dichos antígenos de Ad-36 que comprende secuencias de proteínas de hexón procedentes de partes divergentes de hexón de Ad-36 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 43: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 43); (2) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-89 de la SEQ ID NO: 43; (3) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 90-141 de la SEQ ID NO: 43; (4) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 142-153 de la SEQ ID NO: 43; (5) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 154-194 de la SEQ ID NO: 43; y (6) un marcador de hexahistidina (posiciones 195-200 de la SEQ ID NO: 43). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 43 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Otro antígeno de Ad-36 que comprende secuencia de proteína de hexón procedente de partes divergentes de secuencia de Ad-36 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 50: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 50); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 50); (3) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-174 de la SEQ ID NO: 50; (4) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 175-226 de la SEQ ID NO: 50; (5) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 227-238 de la SEQ ID NO: 50; (6) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 239-279 de la SEQ ID NO: 50; y (7) un marcador de hexahistidina (posiciones 280-285 de la SEQ ID NO: 50). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 50 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Los segmentos de aminoácidos usados en estas proteínas de fusión basadas en hexón descritas anteriormente pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; los ejemplos proporcionados en el presente documento son solamente ejemplares. Además, la secuencia de expresión N-terminal (por ejemplo, las posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 43 o las posiciones 1-89 de la SEQ ID NO: 50) y el marcador C-terminal (por ejemplo, las posiciones 195-200 de la SEQ ID NO: 43 o las posiciones 280-285 de la SEQ ID NO: 50) son opcionales y pueden seleccionarse en lugar de otras secuencias diferentes descritas en otra parte en el presente documento o que se conoce en la técnica que mejoran la expresión, estabilidad y/o permiten la identificación y/o purificación de la proteína, o una o ambas se pueden omitir completamente. Asimismo, pueden introducirse secuencias conectoras intermedias cortas tales como la ejemplificada en la SEQ ID NO: 48 (por ejemplo, péptidos de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos o más grandes) entre partes de la proteína de fusión por una diversidad de razones, incluyendo la introducción de sitios de enzimas de restricción para facilitar la clonación como sitios de escisión para proteasas fagosómicas del hospedador, para acelerar el procesamiento de proteínas o antígenos, y para la futura manipulación de las construcciones. La secuencia de aminoácidos que consiste solamente en las proteínas de hexón de Ad-36 en las proteínas de fusión descritas anteriormente se representa en el presente documento por SEQ ID NO: 51. La SEQ ID NO: 51 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido: (1) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 1-83 de la SEQ ID NO: 51; (2) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 84-135 de la SEQ ID NO: 51; (3) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 136-147 de la SEQ ID NO: 51; y (4) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 148-188 de la SEQ ID NO: 51. Puede adjuntarse cualquier secuencia N-terminal y/o C-terminal adecuada a esta secuencia, como se ha descrito anteriormente para SEQ ID NO: 43 y 50, o pueden omitirse una o ambas. Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 51 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Un antígeno de Ad-36 que comprende secuencia de proteína de hexón de longitud completa o longitud casi completa descrita en el Ejemplo 1 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 44: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 44); (2) las posiciones 2-944 de hexón de Ad-36 (posiciones 2-944 de la SEQ ID NO: 18 o una

secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-949 de la SEQ ID NO: 44; y (3) un marcador de hexahistidina (posiciones 950-955 de la SEQ ID NO: 44). Esta construcción contiene epítomos del MHC de clase I demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 119-129 de la SEQ ID NO:44; posiciones 319-327 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 710-718 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 843-851 de la SEQ ID NO: 44; o posiciones 909-915 de la SEQ ID NO: 44) y epítomos del MHC de clase II demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 15-25 de la SEQ ID NO:44; posiciones 31-41 de la SEQ ID NO: 44; 321-335 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 373-383 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 707-718 de la SEQ ID NO: 44; o posiciones 862-872 de la SEQ ID NO: 44). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 44 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Otro antígeno de Ad-36 que comprende secuencia de proteína de hexón de longitud completa o longitud casi completa descrita en el Ejemplo 1 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 52: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 52); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 52); (3) las posiciones 2-944 de hexón de Ad-36 (posiciones 2-944 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-1034 de la SEQ ID NO: 52; y (3) un marcador de hexahistidina (posiciones 1035-1040 de la SEQ ID NO: 52). Esta construcción contiene epítomos del MHC de clase I demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 204-214 de la SEQ ID NO:52; posiciones 404-412 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 795-803 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 928-936 de la SEQ ID NO: 52; o posiciones 994-1000 de la SEQ ID NO: 52) y epítomos del MHC de clase II demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 100-110 de la SEQ ID NO:52; posiciones 116-126 de la SEQ ID NO: 52; 406-420 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 458-468 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 792-803 de la SEQ ID NO: 52; o posiciones 947-957 de la SEQ ID NO: 52). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 52 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Los segmentos de aminoácidos usados en estas proteínas de fusión basadas en hexón descritas anteriormente pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; los ejemplos proporcionados en el presente documento son solamente ejemplares. Además, la secuencia de expresión N-terminal (por ejemplo, las posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 44 o las posiciones 1-89 de la SEQ ID NO: 52) y el marcador C-terminal (por ejemplo, las posiciones 950-955 de la SEQ ID NO: 44 o las posiciones 1035-1040 de la SEQ ID NO: 52) son opcionales y pueden seleccionarse en lugar de otras secuencias diferentes descritas en otra parte en el presente documento o que se conoce en la técnica que mejoran la expresión, estabilidad y/o permiten la identificación y/o purificación de la proteína, o una o ambas se pueden omitir completamente. Asimismo, pueden introducirse secuencias conectoras intermedias cortas tales como la ejemplificada en la SEQ ID NO: 48 (por ejemplo, péptidos de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos o más grandes) entre partes de la proteína de fusión por una diversidad de razones, incluyendo la introducción de sitios de enzimas de restricción para facilitar la clonación como sitios de escisión para proteasas fagosómicas del hospedador, para acelerar el procesamiento de proteínas o antígenos, y para la futura manipulación de las construcciones. La secuencia de aminoácidos que consiste solamente en la proteína de hexón de Ad-36 en las proteínas de fusión descritas anteriormente se representa en el presente documento por SEQ ID NO: 53. SEQ ID NO: 53 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido y comprende las posiciones 2-944 de hexón de Ad-36 (posiciones 2-944 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 1-943 de la SEQ ID NO: 53. Esta construcción contiene epítomos del MHC de clase I demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 113-123 de la SEQ ID NO:53; posiciones 313-321 de la SEQ ID NO: 53; posiciones 704-712 de la SEQ ID NO: 53; posiciones 837-845 de la SEQ ID NO: 53; o posiciones 903-909 de la SEQ ID NO: 53) y epítomos del MHC de clase II demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 9-19 de la SEQ ID NO:53; posiciones 25-35 de la SEQ ID NO: 53; 315-329 de la SEQ ID NO: 53; posiciones 367-377 de la SEQ ID NO: 53; posiciones 701-712 de la SEQ ID NO: 53; o posiciones 856-866 de la SEQ ID NO: 53). Puede adjuntarse cualquier secuencia N-terminal y/o C-terminal adecuada a esta secuencia, como se ha descrito anteriormente para SEQ ID NO: 44 y 52, o pueden omitirse una o ambas. Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 53 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

En otra realización ejemplar de la invención, el o los antígenos de Ad-36 para su uso en una composición de la invención es una proteína que comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 comprenden o consisten en proteína de hexón y proteína de fibra de Ad-36 y/o uno o más dominios inmunogénicos de proteína de hexón y proteína de fibra. En un aspecto, el antígeno de hexón de Ad-36 y/o de fibra de Ad-36 son proteínas de longitud completa o proteínas de longitud casi completa (longitud completa y longitud casi completa se han definido anteriormente). En un aspecto, el antígeno de hexón y de fibra de Ad-36 comprende al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de la secuencia lineal de un proteína de Ad-36 de longitud completa o dominio inmunogénico o parte del mismo. En un aspecto, el antígeno de hexón de Ad-36 y/o de fibra de Ad-36 es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntico a un proteína de Ad-36 de longitud completa o dominio inmunogénico o parte del mismo. En una realización, una proteína útil en una composición de la invención comprende o consiste en dominios o partes divergentes, es decir, dominios o partes relativamente no conservados, con respecto a otros adenovirus, de proteína de hexón de Ad-36 y proteína de

fibra de Ad-36. Por ejemplo, una construcción de proteína de hexón-fibra o fibra-hexón de Ad-36 según esta realización puede estar comprendida por una fusión de una, dos, tres, cuatro, cinco o más regiones diferentes de proteína de hexón de Ad-36 que están poco conservadas entre genotipos adenovíricos humanos, y una, dos, tres, cuatro, cinco o más regiones diferentes de proteína de fibra de Ad-36 que están poco conservadas entre genotipos adenovíricos humanos.

Se describen ejemplos de dichas proteínas de fusión que comprenden proteínas tanto de hexón como de fibra en el Ejemplo 1. Uno de dichos antígenos de Ad-36 que comprende secuencias de proteínas de hexón y fibra procedentes de partes divergentes de hexón y fibra de Ad-36 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 45: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 45); (2) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-72 de la SEQ ID NO: 45; (3) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 73-97 de la SEQ ID NO: 45; (4) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 98-194 de la SEQ ID NO: 45; (5) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 195-224 de la SEQ ID NO: 45; (6) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 225-307 de la SEQ ID NO: 45; (7) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 308-359 de la SEQ ID NO: 45; (8) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 360-371 de la SEQ ID NO: 45; (9) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 372-412 de la SEQ ID NO: 45; y (10) un marcador de hexahistidina (posiciones 413-418 de la SEQ ID NO: 45).

Otro antígeno de Ad-36 que comprende secuencias de proteínas de hexón y fibra procedentes de partes divergentes de hexón y fibra de Ad-36 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 46: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 46); (2) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-89 de la SEQ ID NO: 46; (3) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 90-141 de la SEQ ID NO: 46; (4) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 142-153 de la SEQ ID NO: 46; (5) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 154-194 de la SEQ ID NO: 46; (6) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 195-260 de la SEQ ID NO: 46; (7) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 261-285 de la SEQ ID NO: 46; (8) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 286-382 de la SEQ ID NO: 46; (9) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 383-412 de la SEQ ID NO: 46; y (10) un marcador de hexahistidina (posiciones 413-418 de la SEQ ID NO: 46). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 45 o SEQ ID NO: 46 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente divulgación.

Los segmentos de aminoácidos usados en cualquiera de las proteínas de fusión descritas anteriormente pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; los ejemplos proporcionados en el presente documento son solamente ejemplares. La secuencia de expresión N-terminal (las posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 45 o 46) y el marcador C-terminal (las posiciones 413-418 de la SEQ ID NO: 45 o 46) son opcionales y pueden seleccionarse en lugar de otras secuencias diferentes descritas en otra parte en el presente documento o que se conoce en la técnica que mejoran la expresión, estabilidad y/o permiten la identificación y/o purificación de la proteína, o una o ambas se pueden omitir completamente. Asimismo, pueden introducirse secuencias conectoras intermedias cortas tales como la ejemplificada en la SEQ ID NO: 48 (por ejemplo, péptidos de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos o más grandes) entre partes de la proteína de fusión por una diversidad de razones, incluyendo la introducción de sitios de enzimas de restricción para facilitar la clonación como sitios de escisión para proteasas fagosómicas del hospedador, para acelerar el procesamiento de proteínas o antígenos, y para la futura manipulación de las construcciones. Por ejemplo, una proteína de fusión que omite las secuencias tanto N como C-terminales de la SEQ ID NO: 45 está representada por las posiciones 7-412 de la SEQ

ID NO: 45 y una proteína de fusión que omite las secuencias tanto N como C-terminales de la SEQ ID NO: 46 está representada por las posiciones 7-412 de la SEQ ID NO: 46.

5 En otra realización ejemplar más de la invención, el o los antígenos de Ad-36 para su uso en una composición de la invención es una proteína que comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 comprenden o consisten en proteína CR1 α de Ad-36 y/o CR1 γ de Ad-36 y/o uno o más dominios inmunogénicos de CR1 α y/o CR1 γ . En un aspecto, el antígeno de CR1 α de Ad-36 y/o de CR1 γ de Ad-36 son proteínas de longitud completa o proteínas de longitud casi completa (longitud completa y longitud casi completa se han definido anteriormente). En un aspecto, el antígeno de CR1 α de Ad-36 y/o de CR1 γ de Ad-36 comprende al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de la secuencia lineal de una proteína de Ad-36 de longitud completa o dominio inmunogénico o parte del mismo. En un aspecto, el antígeno de CR1 α de Ad-36 y/o de CR1 γ de Ad-36 es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntico a una proteína de Ad-36 de longitud completa o dominio inmunogénico o parte del mismo. En una realización, una proteína útil en una composición de la invención comprende o consiste en dominios o partes divergentes, es decir, dominios o partes relativamente no conservados, con respecto a otros adenovirus, de CR1 α y/o CR1 γ de Ad-36. Por ejemplo, una construcción de proteína de CR1 α y/o CR1 γ de Ad-36 según esta realización puede estar comprendida por una fusión de una, dos, tres, cuatro, cinco o más regiones diferentes de proteína de CR1 α y/o CR1 γ de Ad-36 que están poco conservadas entre genotipos adenovíricos humanos. En una realización, una región N-terminal notablemente hidrófoba se omite de CR1 α en una proteína de la invención (por ejemplo, aproximadamente las posiciones 1-17 de la proteína madura) para minimizar el riesgo de agregación y/o insolubilidad cuando esa proteína se exprese en levadura. En una realización, un segmento C-terminal de CR1 α madura se omite de proteínas usadas en la invención debido a la notable hidrofobicidad (posiciones 158-177) más alta conservación de secuencia con otros serotipos/genotipos de adenovirus (posiciones 158 a extremo C). En otra realización, las posiciones N-terminales 1-18 de CR1 γ se omiten de proteínas usadas en la invención ya que contienen ambas posiciones de aminoácidos altamente conservadas con otros serotipos/genotipos de adenovirus y también contienen un elemento muy hidrófobo.

Se describen ejemplos de dichas proteínas de fusión que comprenden proteínas tanto de CR1 α como de CR1 γ en el Ejemplo 1. Uno de dichos antígenos de Ad-36 que comprende secuencias de proteínas de CR1 α y CR1 γ precedentes de partes divergentes y/o seleccionadas de CR1 α y CR1 γ de Ad-36 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 47: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 47); (2) las posiciones 18-60 de CR1 α (posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-49 de la SEQ ID NO: 47; (3) las posiciones 123-157 de CR1 α de Ad-36 (posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 50-84 de la SEQ ID NO: 47; (4) las posiciones 19-60 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 85-126 de la SEQ ID NO: 47; (5) las posiciones 83-116 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 127-160 de la SEQ ID NO: 47; y (6) un marcador de hexahistidina (posiciones 161-166 de la SEQ ID NO: 47). Los segmentos de aminoácidos usados en cualquiera de las proteínas de fusión descritas anteriormente pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; los ejemplos proporcionados en el presente documento son solamente ejemplares. Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 47 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente invención.

Otro antígeno de Ad-36 que comprende secuencias de proteínas de CR1 α y CR1 γ descritas en el Ejemplo 1 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido con los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representado por la SEQ ID NO: 54: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 54); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 54); (3) las posiciones 18-60 de CR1 α (posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-134 de la SEQ ID NO: 54; (4) las posiciones 123-157 de CR1 α de Ad-36 (posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 135-169 de la SEQ ID NO: 54; (5) las posiciones 19-60 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 170-211 de la SEQ ID NO: 54; (6) las posiciones 83-116 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 212-245 de la SEQ ID NO: 54; y (7) un marcador de hexahistidina (posiciones 246-251 de la SEQ ID NO: 54). Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 54 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente invención.

65 Los segmentos de aminoácidos usados en estas proteínas de fusión basadas en CR1 α y CR1 γ descritas anteriormente pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos

de cualquier dominio; los ejemplos proporcionados en el presente documento son solamente ejemplares. Además, la secuencia de expresión N-terminal (por ejemplo, las posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 47 o las posiciones 1-89 de la SEQ ID NO: 54) y el marcador C-terminal (por ejemplo, las posiciones 161-166 de la SEQ ID NO: 47 o las posiciones 246-251 de la SEQ ID NO: 54) son opcionales y pueden seleccionarse en lugar de otras secuencias diferentes descritas en otra parte en el presente documento o que se conoce en la técnica que mejoran la expresión, estabilidad y/o permiten la identificación y/o purificación de la proteína, o una o ambas se pueden omitir completamente. Asimismo, pueden introducirse secuencias conectoras intermedias cortas tales como la ejemplificada en la SEQ ID NO: 48 (por ejemplo, péptidos de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos o más grandes) entre partes de la proteína de fusión por una diversidad de razones, incluyendo la introducción de sitios de enzimas de restricción para facilitar la clonación como sitios de escisión para proteasas fagosómicas del hospedador, para acelerar el procesamiento de proteínas o antígenos, y para la futura manipulación de las construcciones. La secuencia de aminoácidos que consiste solamente en las proteínas de CR1 α y CR1 γ de Ad-36 en las proteínas de fusión descritas anteriormente se representa en el presente documento por SEQ ID NO: 55. La SEQ ID NO: 55 es una proteína de fusión expresada como un único polipéptido: (1) las posiciones 18-60 de CR1 α (posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 1-43 de la SEQ ID NO: 55; (2) las posiciones 123-157 de CR1 α de Ad-36 (posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 44-78 de la SEQ ID NO: 55; (3) las posiciones 19-60 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 79-120 de la SEQ ID NO: 55; y (4) las posiciones 83-116 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 121-154 de la SEQ ID NO: 55. Puede adjuntarse cualquier secuencia N-terminal y/o C-terminal adecuada a esta secuencia, como se ha descrito anteriormente para SEQ ID NO: 47 y 54, o pueden omitirse una o ambas. Una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 55 (codones optimizados para la expresión en levadura) también está incluida en la presente invención.

La invención también incluye homólogos de cualquiera de las proteínas de fusión descritas anteriormente, así como el uso de homólogos, variantes o mutantes de las proteínas de Ad-36 individuales o partes de las mismas que son parte de dichas proteínas de fusión. En un aspecto, la invención incluye el uso de proteínas de fusión que tienen secuencias de aminoácidos que son al menos 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idénticas a la secuencia de aminoácidos de las proteínas de fusión descritas en el presente documento sobre la longitud completa de la proteína de fusión o con respecto a una proteína definida o dominio de la misma (dominio inmunológico o dominio funcional (dominio con al menos una actividad biológica)) que forma parte de la proteína de fusión.

Las moléculas de ácido nucleico recombinantes útiles en una composición basada en levadura de la invención no incluyen el genoma de longitud completa de Ad-36, sino que incluyen en su lugar menos que la longitud completa de Ad-36. Normalmente, las moléculas de ácido nucleico recombinantes útiles en una composición basada en levadura de la invención incluyen una o más secuencias codificantes de longitud completa y/o una o más secuencias codificantes de dominios (inmunogénico o funcional) para proteínas de Ad-36. Las proteínas incluidas en una única composición basada en levadura de la invención no incluyen todas las proteínas codificadas por Ad-36. Preferentemente, una composición basada en levadura comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más proteínas codificadas por Ad-36 y/o uno o más dominios inmunogénicos de una cualquiera o más proteínas de Ad-36.

Las moléculas de ácido nucleico recombinantes y las proteínas codificadas por las mismas, incluyendo proteínas de fusión, como una realización de la invención, pueden usarse en composiciones de inmunoterapia basadas en levadura o para cualquier otro fin adecuado para un antígeno o antígenos de Ad-36, incluyendo en un ensayo *in vitro*, para la producción de anticuerpos, o en otra composición de inmunoterapia, incluyendo otra vacuna, que no se basa en la inmunoterapia basada en levadura descrita en el presente documento. La expresión de las proteínas/antígenos por levadura es una realización preferida, aunque pueden usarse otros sistemas de expresión para producir las proteínas/antígenos para aplicaciones diferentes a una composición de inmunoterapia basada en levadura.

Composiciones de inmunoterapia basadas en levadura. En diversas realizaciones de la invención, la invención incluye el uso de al menos una "composición inmunoterapéutica basada en levadura" (expresión que puede usarse indistintamente con "producto de inmunoterapia basado en levadura", "composición de inmunoterapia basada en levadura", "composición basada en levadura", "producto inmunoterapéutico basado en levadura", "vacuna basada en levadura" o derivados de estas expresiones). Una "composición inmunoterapéutica" es una composición que provoca una respuesta inmunitaria suficiente para conseguir al menos un beneficio terapéutico en un sujeto. Como se usa en el presente documento, la composición inmunoterapéutica basada en levadura se refiere a una composición que incluye un componente de vehículo de levadura y que provoca una respuesta inmunitaria suficiente para conseguir al menos un beneficio terapéutico en un sujeto. Más particularmente, una composición inmunoterapéutica basada en levadura es una composición que incluye un componente de vehículo de levadura y puede provocar o inducir una respuesta inmunitaria, tal como una respuesta inmunitaria celular, incluyendo, sin limitación, una respuesta inmunitaria celular mediada por linfocitos T. En un aspecto, una composición

inmunoterapéutica basada en levadura útil en la invención puede inducir una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos-T CD8⁺ y/o CD4⁺ y, en un aspecto, una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos-T CD8⁺ y CD4⁺. Una respuesta inmunitaria de CD4⁺ puede incluir repuestas inmunitarias de TH1, respuestas inmunitarias de TH17, o ambas, ya que los productos inmunoterapéuticos basados en levadura son capaces de generar ambos tipos de respuesta. Una respuesta inmunitaria de CD8⁺ puede incluir una respuesta de linfocitos T citotóxicos (CTL), ya que los productos inmunoterapéuticos basados en levadura son capaces de generar dichas respuestas. En un aspecto, una composición inmunoterapéutica basada en levadura modula el número y/o la funcionalidad de linfocitos T reguladores (Treg) en un sujeto. La inmunoterapia basada en levadura también puede modificarse para promover un tipo de respuesta por encima de otra, por ejemplo, mediante la adición de citocinas, anticuerpos y/o modulación del proceso de fabricación para la levadura. Opcionalmente, una composición inmunoterapéutica basada en levadura puede provocar una respuesta inmunitaria humoral. Una composición inmunoterapéutica basada en levadura útil en la presente invención puede provocar, por ejemplo, una respuesta inmunitaria en un individuo de modo que el individuo esté protegido de infección por Ad-36 y/o se trate para infección por Ad-36 o para los síntomas resultantes de infección por Ad-36.

Las composiciones de inmunoterapia basadas en levadura de la invención pueden ser "profilácticas" o "terapéuticas". Cuando se proporcionan de manera profiláctica, las composiciones de la presente invención se proporcionan por anticipado a cualquier síntoma de infección por Ad-36. Dicha composición podría administrarse al nacimiento, en la infancia temprana o a adultos, y pueden incluir sujetos obesos, con sobrepeso, no obesos o sin sobrepeso. La administración profiláctica de las composiciones de inmunoterapia sirve para prevenir la posterior infección por Ad-36, para resolver una infección más rápidamente o más completamente si sobreviene posteriormente infección por Ad-36 y/o para mejorar o aliviar los síntomas de infección por Ad-36 si posteriormente sobreviene la infección. Cuando se proporcionan de manera terapéutica, las composiciones de inmunoterapia se proporcionan en o después de la aparición de la infección por Ad-36, con el objetivo de prevenir o aliviar al menos un síntoma de la infección (por ejemplo, prevenir la obesidad en sujetos infectados por Ad-36, no obesos, o reducir el peso en sujetos infectados por Ad-36, obesos) y, preferentemente, con el objetivo de eliminar la infección, proporcionando una remisión de larga duración de la infección, y/o proporcionando inmunidad a largo plazo contra posteriores infecciones o reactivaciones del virus.

Normalmente, una composición de inmunoterapia basada en levadura incluye un vehículo de levadura y al menos un antígeno (por ejemplo, una proteína de Ad-36) o dominio inmunogénico del mismo expresado por, adherido a o mezclado con el vehículo de levadura, en donde el antígeno es heterólogo con respecto a la levadura, y en donde el antígeno comprende una o más proteínas de Ad-36 o dominios inmunogénicos de las mismas. En algunas realizaciones, el antígeno o dominio inmunogénico del mismo se proporciona como una proteína de fusión. Se han descrito anteriormente varias proteínas de fusión de Ad-36 adecuadas para su uso en las composiciones y métodos de la invención. En un aspecto de la invención, la proteína de fusión puede incluir dos o más antígenos. En un aspecto, la proteína de fusión puede incluir dos o más dominios inmunogénicos de uno o más antígenos, o dos o más epítomos de uno o más antígenos.

Un TARMOGEN® es un ejemplo no limitante de una composición de inmunoterapia basada en levadura que es útil en la presente invención. Un TARMOGEN® (TARgeted MOlecular immunoGEN, GlobelImmune, Inc., Louisville, Colorado) se refiere en general a un vehículo de levadura que expresa uno o más antígenos heterólogos de forma extracelular (en su superficie), de forma intracelular (internamente o citosólicamente) o tanto extracelularmente como intracelularmente. Los TARMOGEN® se han descrito en general en la técnica. Véase, por ejemplo, patente de los Estados Unidos n.º 5.830.463.

Se describen en detalle composiciones de inmunoterapia basadas en levadura y métodos para preparar y usarlos en general, por ejemplo, en la patente de los Estados Unidos n.º 5.830.463, patente de los Estados Unidos n.º 7.083.787, patente de los Estados Unidos n.º 7.736.642, Stubbs *et al.*, Nat. Med. 7:625-629 (2001), Lu *et al.*, Cancer Research 64:5084-5088 (2004), y en Bernstein *et al.*, Vaccine 24 ene 2008;26(4):509-21. Se ha mostrado que estos productos inmunoterapéuticos basados en levadura provocan respuestas inmunitarias, incluyendo respuestas inmunitarias celulares y humorales. Los productos inmunoterapéuticos basados en levadura son capaces de destruir células diana que expresan una diversidad de antígenos *in vivo*, en una diversidad de especies animales, y hacerlo mediante respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, específicas de antígeno. Estudios adicionales han mostrado que la levadura es fagocitada de forma ávida por y activa directamente células dendríticas que después presentan proteínas asociadas a levadura a linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ de una manera altamente eficaz. Véase, por ejemplo, Stubbs *et al.* Nature Med. 5:625-629 (2001) y Patente de los Estados Unidos n.º 7.083.787.

En cualquiera de las composiciones de inmunoterapia basadas en levadura usadas en la presente invención, se incluyen en la invención los siguientes aspectos relacionados con el vehículo de levadura. Según la presente invención, un vehículo de levadura es cualquier célula de levadura (por ejemplo, una célula completa o intacta) o un derivado de la misma (véase posteriormente) que puede usarse junto con uno o más antígenos, dominios inmunogénicos de los mismos o epítomos de los mismos en una composición terapéutica de la invención, o en un aspecto, el vehículo de levadura puede usarse en solitario o como un adyuvante. El vehículo de levadura, por lo tanto, puede incluir, pero sin limitación, un microorganismo de levadura intacto (completo) vivo (es decir, una célula de levadura que tiene todos sus componentes incluyendo una pared celular), un microorganismo de levadura

destruido (muerto) o inactivado intacto, o derivados de levadura intacta incluyendo: un esferoplasto de levadura (es decir, una célula de levadura que carece de una pared celular), un citoplasto de levadura (es decir, una célula de levadura que carece de una pared celular y núcleo), una célula vacía de levadura (es decir, una célula de levadura que carece de una pared celular, núcleo y citoplasma), un extracto de membrana de levadura subcelular o fracción del mismo (también denominado partícula de membrana de levadura y previamente partícula de levadura subcelular), cualquier otra partícula de levadura o una preparación de pared celular de levadura.

Los esferoplastos de levadura típicamente se producen por digestión enzimática de la pared celular de la levadura. Dicho método se describe, por ejemplo, en Franzusoff *et al.*, 1991, *Meth. Enzymol.* 194, 662-674.

Los citoplastos de levadura se producen típicamente por enucleación de células de levadura. Dicho método se describe, por ejemplo, en Coon, 1978, *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 48, 45-55.

Las células vacías de levadura se producen típicamente resellando una célula permeabilizada o lisada y pueden contener, pero no necesariamente, al menos algunos de los orgánulos de esa célula. Dicho método se describe, por ejemplo, en Franzusoff *et al.*, 1983, *J. Biol. Chem.* 258, 3608-3614 y Bussey *et al.*, 1979, *Biochim. Biophys. Acta* 553, 185-196.

Una partícula de membrana de levadura (extracto de membrana de levadura subcelular o fracción del mismo) se refiere a una membrana de levadura que carece de un núcleo o citoplasma natural. La partícula puede ser de cualquier tamaño, incluyendo tamaños que varían desde el tamaño de una membrana de levadura natural a micropartículas producidas por sonicación u otros métodos de alteración de membrana conocidos por los expertos en la materia, seguido por resellado. Un método para producir extractos de membrana de levadura subcelular se describe, por ejemplo, en Franzusoff *et al.*, 1991, *Meth. Enzymol.* 194, 662-674. También se pueden usar fracciones de partículas de membrana de levadura que contienen partes de membrana de levadura y, cuando el antígeno u otra proteína se expresó de forma recombinante por la levadura antes de la preparación de las partículas de membrana de levadura, el antígeno u otra proteína de interés. Los antígenos u otras proteínas de interés pueden transportarse dentro de la membrana, sobre cualquier superficie de la membrana o combinaciones de las mismas (es decir, la proteína puede estar tanto dentro como fuera de la membrana y/o ser transmembrana de la partícula de membrana de levadura). En una realización, una partícula de membrana de levadura es una partícula de membrana de levadura recombinante que puede ser una membrana de levadura intacta, alterada o interrumpida y resellada que incluye al menos un antígeno deseado u otra proteína de interés sobre la superficie de la membrana o al menos incluida parcialmente dentro de la membrana.

Un ejemplo de una preparación de pared celular de levadura es una preparación de paredes celulares de levadura aisladas que transportan un antígeno sobre su superficie o al menos parcialmente incluido dentro de la pared celular de modo que la preparación de pared celular de levadura, cuando se administra a un animal, estimula una respuesta inmunitaria deseada contra una diana de enfermedad.

Puede usarse cualquier cepa de levadura para producir un vehículo de levadura de la presente invención. Las levaduras son microorganismos unicelulares que pertenecen a una de tres clases: ascomicetos, basidiomicetos y hongos imperfectos. Una consideración para la selección de un tipo de levadura para su uso en un modulador inmunitario es la patogenia de la levadura. En una realización, la levadura es una cepa no patógena tal como *Saccharomyces cerevisiae*. La selección de una cepa de levadura no patógena minimiza cualquier efecto adverso al individuo al que se administra el vehículo de levadura. Sin embargo, puede usarse levadura patógena si puede anularse la patogenia de la levadura por cualquier medio conocido por un experto en la materia (por ejemplo, cepas mutantes). De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se usan cepas de levadura no patógenas.

Los géneros de cepas de levadura que pueden usarse en la invención incluyen, pero sin limitación, *Saccharomyces*, *Candida* (que puede ser patógena), *Cryptococcus*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Schizosaccharomyces* y *Yarrowia*. En un aspecto, los géneros de levadura se seleccionan de *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, *Pichia* o *Schizosaccharomyces* y, en un aspecto, se usa *Saccharomyces*. Las especies de cepas de levadura que pueden usarse en la invención incluyen, pero sin limitación, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Candida albicans*, *Candida kefir*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Hansenula anomala*, *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus var. lactis*, *Pichia pastoris*, *Rhodotorula rubra*, *Schizosaccharomyces pombe*, y *Yarrowia lipolytica*. Debe apreciarse que varias de estas especies incluyen una diversidad de subespecies, tipos, subtipos, etc. que se pretende que estén incluidos dentro de las especies mencionadas anteriormente. En un aspecto, las especies de levadura usadas en la invención incluye *S. cerevisiae*, *C. albicans*, *H. polymorpha*, *P. pastoris* y *S. pombe*. *S. cerevisiae* es útil ya que es relativamente fácil de manipular y es "generalmente reconocida como segura" o "GRAS" para su uso como aditivos alimenticios (GRAS, norma 62FR18938 propuesta por la FDA, 17 de abril de 1997). Una realización de la presente invención es una cepa de levadura que puede replicar plásmidos a un número de copias particularmente alto, tal como una cepa cir^o de *S. cerevisiae*. La cepa de *S. cerevisiae* es una de dichas cepas que puede mantener vectores de expresión que permiten expresar uno o más antígenos diana y/o una o más proteínas de fusión de antígeno y/u otras proteínas a altos niveles. Además, puede usarse cualquier cepa de levadura mutante en la presente invención, incluyendo las que muestran modificaciones postraduccionales

reducidas de antígenos diana expresados u otras proteínas, tales como mutaciones en las enzimas que amplían la glucosilación ligada a N.

5 En una realización, un vehículo de levadura de la presente invención puede fusionarse con el tipo celular al que se suministra el vehículo de levadura y antígeno/agente, tal como una célula dendrítica o macrófago, efectuando de este modo suministro particularmente eficaz del vehículo de levadura y, en muchas realizaciones, el o los antígenos u otro agente, al tipo celular. Como se usa en el presente documento, la fusión de un vehículo de levadura con un tipo celular diana se refiere a la capacidad de la membrana celular de levadura, o partícula de la misma, para fusionarse con la membrana del tipo celular diana (por ejemplo, célula dendrítica o macrófago), lo que conduce a la formación de sincicios. Como se usa en el presente documento, un sincicio es una masa multinucleada de protoplasma producida por la fusión de células. Se ha mostrado que varias proteínas de superficie vírica (incluyendo las de virus de la inmunodeficiencia tales como VIH, virus de la gripe, poliovirus y adenovirus) y otros fusógenos (tales como los implicados en fusiones entre óvulos y espermatozoides) son capaces de efectuar fusión entre dos membranas (es decir, entre membranas celulares víricas y de mamíferos o entre membranas celulares de mamífero). Debe observarse, sin embargo, que la incorporación de un resto de dirección en el vehículo de levadura, aunque puede ser deseable en algunas circunstancias, no es necesaria. En el caso de vehículos de levadura que expresan antígenos de forma extracelular, esto puede ser una ventaja adicional de los vehículos de levadura de la presente invención. En general, los vehículos de levadura útiles en la presente invención son captados fácilmente por células dendríticas (así como otras células, tales como macrófagos).

10 En la mayoría de las realizaciones de la invención, la composición de inmunoterapia basada en levadura incluye al menos un antígeno, dominio inmunogénico del mismo o epítipo del mismo. Los antígenos contemplados para su uso en esta invención incluyen cualquier antígeno de Ad-36 o dominio inmunogénico del mismo, incluyendo mutantes, variantes y agonistas de proteínas de Ad-36 o dominios de las mismas, contra las que se desea provocar una respuesta inmunitaria con el fin de inmunizar profiláctica o terapéuticamente un hospedador contra infección por Ad-36.

15 Como se ha analizado anteriormente, las composiciones de la invención incluyen al menos un antígeno de Ad-36 y/o al menos un dominio inmunogénico de al menos un antígeno de Ad-36 para inmunizar a un sujeto. En algunas realizaciones, el antígeno es una proteína de fusión, varios ejemplos de la cual se han descrito anteriormente.

20 Opcionalmente, se producen proteínas, incluyendo proteínas de fusión, que se usan como un componente de la composición inmunoterapéutica basada en levadura de la invención usando construcciones que son particularmente útiles para mejorar la expresión de antígenos heterólogos en levadura. Normalmente, la o las proteínas o el o los péptidos antigénicos deseados se fusionan en su extremo amino terminal a: (a) un péptido sintético específico que estabiliza la expresión de la proteína de fusión en el vehículo de levadura o evita la modificación postraducciona de la proteína de fusión expresada (dichos péptidos se describen en detalle, por ejemplo, en la publicación de patente de los Estados Unidos n.º 2004-0156858 A1, publicada el 12 de agosto de 2004); (b) al menos una parte de una proteína de levadura endógena, en donde cualquier compañero de fusión proporciona estabilidad mejorada de la expresión de la proteína en la levadura y/o evita la modificación postraducciona de las proteínas por las células de levadura (dichas proteínas también se describen en detalle, por ejemplo, en la publicación de patente de los Estados Unidos n.º 2004-0156858 A1, mencionado anteriormente); y/o (c) al menos una parte de una proteína de levadura que provoca que la proteína de fusión se exprese sobre la superficie de la levadura (por ejemplo, una proteína Aga, descrita en más detalle en el presente documento). Además, la presente invención incluye opcionalmente el uso de péptidos que se fusionan al extremo C de la construcción que codifica el antígeno, particularmente para su uso en la selección e identificación de la proteína. Dichos péptidos incluyen, pero sin limitación, cualquier péptido sintético o natural, tal como un marcador peptídico (por ejemplo, 6X His) o cualquier otro marcador epitópico corto. Los péptidos adheridos al extremo C de un antígeno según la invención pueden usarse con o sin la adición de los péptidos N-terminales analizados anteriormente.

25 En una realización, un péptido sintético útil en una proteína de fusión se une al extremo N del antígeno, consistiendo el péptido en al menos dos posiciones de aminoácido que son heterólogas para el antígeno, en donde el péptido estabiliza la expresión de la proteína de fusión en el vehículo de levadura o evita la modificación postraducciona de la proteína de fusión expresada. El péptido sintético y la parte N-terminal del antígeno juntos forman una proteína de fusión que tiene los siguientes requisitos: (1) el resto de aminoácido en la posición uno de la proteína de fusión es una metionina (es decir, el primer aminoácido en el péptido sintético es una metionina); (2) el resto de aminoácido en la posición dos de la proteína de fusión no es una glicina o una prolina (es decir, el segundo aminoácido en el péptido sintético no es una glicina o una prolina); (3) ninguna de las posiciones de aminoácidos en las posiciones 2-6 de la proteína de fusión es una metionina (es decir, los aminoácidos en las posiciones 2-6, sean parte del péptido sintético o de la proteína, si el péptido sintético es de menos de 6 aminoácidos, no incluyen una metionina); y (4) ninguno de los aminoácidos en las posiciones 2-6 de la proteína de fusión es una lisina o una arginina (es decir, los aminoácidos en las posiciones 2-6, sean parte del péptido sintético o de la proteína, si el péptido sintético es de menos de 5 aminoácidos, no incluyen una lisina o una arginina). El péptido sintético puede ser tan corto como de dos aminoácidos, pero en un aspecto, es de 2-6 aminoácidos (incluyendo 3, 4, 5 aminoácidos), y puede ser de más de 6 aminoácidos, en números enteros, hasta aproximadamente 200 aminoácidos, 300 aminoácidos, 400 aminoácidos, 500 aminoácidos o más.

En una realización, una proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos de M-X2-X3-X4-X5-X6, en donde M es metionina; en donde X2 es cualquier aminoácido excepto glicina, prolina, lisina o arginina; en donde X3 es cualquier aminoácido excepto metionina, lisina o arginina; en donde X4 es cualquier aminoácido excepto metionina, lisina o arginina; en donde X5 es cualquier aminoácido excepto metionina, lisina o arginina; y en donde X6 es cualquier aminoácido excepto metionina, lisina o arginina. En una realización, el resto X6 es una prolina. Una secuencia sintética ejemplar que potencia la estabilidad de expresión de un antígeno en una célula de levadura y/o evita la modificación postraduccional de la proteína en la levadura incluye la secuencia M-A-D-E-A-P (por ejemplo, SEQ ID NO: 58). Otra secuencia sintética ejemplar con las mismas propiedades es MV. Además de la estabilidad potenciada del producto de expresión, este compañero de fusión no parece afectar de forma negativa a la respuesta inmunitaria contra el antígeno inmunizante de la construcción. Además, los péptidos de fusión sintéticos pueden diseñarse para proporcionar un epítipo que pueda ser reconocido por un agente de selección, tal como un anticuerpo.

En un aspecto de la invención, el vehículo de levadura se manipula de modo que el antígeno se exprese o se proporcione por suministro o translocación de un producto proteínico expresado, parcial o completamente, sobre la superficie del vehículo de levadura (expresión extracelular). Un método para conseguir este aspecto de la invención es usar un brazo espaciador para colocar una o más proteínas sobre la superficie del vehículo de levadura. Por ejemplo, se puede usar un brazo espaciador para crear una proteína de fusión del antígeno o antígenos u otra proteína de interés con una proteína que dirija el antígeno o antígenos u otra proteína de interés a la pared celular de levadura. Por ejemplo, una de dichas proteínas que puede usarse para dirigir otras proteínas es una proteína de levadura (por ejemplo, la proteína 2 de pared celular (cwp2), Aga2, Pir4 o la proteína Flo1) que posibilita que el antígeno o antígenos u otra proteína se dirija a la pared celular de levadura de modo que el antígeno u otra proteína esté ubicado sobre la superficie de la levadura. Pueden usarse proteínas diferentes de proteínas de levadura para el brazo espaciador; sin embargo, para cualquier proteína del brazo espaciador, es mucho más deseable que la respuesta inmunogénica se dirija contra el antígeno diana en lugar de la proteína del brazo espaciador. Por tanto, si se usan otras proteínas para el brazo espaciador, entonces la proteína del brazo espaciador que se usa no debe generar una gran respuesta inmunitaria contra la propia proteína del brazo espaciador de modo que la respuesta inmunitaria contra el antígeno o antígenos diana se sobrepase. Un experto en la materia debe enfocarse a una respuesta inmunitaria pequeña contra la proteína del brazo espaciador respecto a la respuesta inmunitaria para el antígeno o antígenos diana. Los brazos espaciadores pueden construirse para que tengan sitios de escisión (por ejemplo, sitios de escisión por proteasa) que permitan que el antígeno se elimine fácilmente o se retire por procesamiento de la levadura, si se desea. Puede usarse cualquier método conocido de determinación de la magnitud de las respuestas inmunitarias (por ejemplo, producción de anticuerpos, ensayos líticos, etc.) y son fácilmente conocidos por los expertos en la materia.

Otro método para ubicar el antígeno o antígenos diana u otras proteínas a exponer sobre la superficie de la levadura es usar secuencias señal tales como glucosilfosfatidil inositol (GPI) para anclar la diana a la pared celular de levadura. Como alternativa, la ubicación puede conseguirse anexando secuencias señal que dirijan el antígeno o antígenos u otras proteínas de interés a la ruta de secreción mediante translocación al retículo endoplásmico (RE) de modo que el antígeno se una a una proteína que se une a la pared celular (por ejemplo, cwp).

En un aspecto, la proteína del brazo espaciador es una proteína de levadura. La proteína de levadura puede consistir en entre aproximadamente dos y aproximadamente 800 aminoácidos de una proteína de levadura. En una realización, la proteína de levadura es de aproximadamente 10 a 700 aminoácidos. En otra realización, la proteína de levadura es de aproximadamente 40 a 600 aminoácidos. Otras realizaciones de la invención incluyen la proteína de levadura que es de al menos 250 aminoácidos, al menos 300 aminoácidos, al menos 350 aminoácidos, al menos 400 aminoácidos, al menos 450 aminoácidos, al menos 500 aminoácidos, al menos 550 aminoácidos, al menos 600 aminoácidos o al menos 650 aminoácidos. En una realización, la proteína de levadura es de al menos 450 aminoácidos de longitud. Otra consideración para optimizar la expresión en superficie del antígeno, si se desea, es si la combinación del antígeno y el brazo espaciador debe expresarse como un monómero o como dímero o como trímero, o incluso más unidades conectadas entre sí. Este uso de monómeros, dímeros, trímeros, etc. permite un espaciado o plegamiento apropiado del antígeno de modo que alguna parte, si no todo, del antígeno se presenta sobre la superficie del vehículo de levadura de una manera que lo hace más inmunogénico.

El uso de proteínas de levadura puede estabilizar la expresión de las proteínas de fusión en el vehículo de levadura, evita la modificación postraduccional de la proteína de fusión expresada y/o dirige la proteína de fusión a un compartimento particular en la levadura (por ejemplo, a expresarse sobre la superficie celular de la levadura). Para el suministro en la ruta de secreción de la levadura, las proteínas de levadura ejemplares para su uso incluyen, pero sin limitación: Aga (incluyendo, pero sin limitación, Agal y/o Aga2); SUC2 (invertasa de levadura); secuencia líder señal de factor alfa; CPY; CWp2p para su localización y retención en la pared celular; genes BUD para la localización en la gema celular de levadura durante la fase inicial de la formación de células descendientes; Flo1p; Pir2p; y Pir4p.

Pueden usarse otras secuencias para dirigir, retener y/o estabilizar la proteína a otras partes del vehículo de levadura, por ejemplo, en el citosol o la mitocondria o el retículo endoplásmico o el núcleo. Los ejemplos de proteína de levadura adecuada que pueden usarse para cualquiera de las realizaciones anteriores incluyen, pero sin

limitación, productos génicos de TK, AF, SEC7; fosfoenolpiruvato carboxiquinasa PCK1, fosfogliceroquinasa PGK y triosa fosfato isomerasa TPI para su expresión reprimible en glucosa y localización citosólica; las proteínas de choque térmico SSA1, SSA3, SSA4, SSC1, cuya expresión se induce y cuyas proteínas son más termoestables tras exposición de las células a tratamiento por calor; la proteína mitocondrial CYC1 para su importación a la mitocondria; ACT1.

En una realización, el antígeno de Ad-36 se une en el extremo N a una proteína de levadura, tal como una secuencia prepro de factor alfa (también denominada secuencia líder señal del factor alfa, cuya secuencia de aminoácidos se ejemplifica en el presente documento por la SEQ ID NO: 56 o SEQ ID NO: 57. Otras secuencias para la secuencia prepro de factor alfa de levadura son conocidas en la técnica y están abarcadas para su uso en la presente invención. Sin quedar ligado a teoría alguna, los inventores creen que una ventaja de utilizar secuencia prepro de factor alfa en una proteína de fusión basada en levadura es la minimización de proteólisis de la proteína, ya que la proteína se inmoviliza separada de proteasomas citosólicos.

Los métodos de producción de vehículos de levadura y expresión, combinación y/o asociación de vehículos de levadura con antígenos y/u otras proteínas y/o agentes de interés para producir composiciones de inmunoterapia basadas en levadura están contemplados por la invención.

Según la presente invención, la expresión "complejo de vehículo de levadura-antígeno" o "complejo de levadura-antígeno" se usa de forma genérica para describir cualquier asociación de un vehículo de levadura con un antígeno, y puede usarse indistintamente con "composición de inmunoterapia basada en levadura" cuando dicha composición se usa para provocar una respuesta inmunitaria como se ha descrito anteriormente. Dicha asociación incluye la expresión del antígeno por la levadura (una levadura recombinante), la introducción de un antígeno en una levadura, la adhesión física del antígeno a la levadura, y mezcla de la levadura y el antígeno juntos, tal como en un tampón u otra solución o formulación. Estos tipos de complejos se describen en detalle a continuación.

En una realización, una célula de levadura usada para preparar el vehículo de levadura se transfecta con una molécula de ácido nucleico heteróloga que codifica una proteína (por ejemplo, el antígeno) de modo que la proteína sea expresada por la célula de levadura. Dicha levadura también se denomina en el presente documento levadura recombinante o vehículo de levadura recombinante. La célula de levadura entonces puede cargarse en la célula dendrítica como una célula intacta, o la célula de levadura puede inactivarse, o puede derivatizarse tal como por formación de esferoplastos, citoplastos, células vacías o partículas subcelulares de levadura, cualquiera de las cuales va seguida por carga del derivado en la célula dendrítica. Los esferoplastos de levadura también pueden transfectarse directamente con una molécula de ácido nucleico recombinante (por ejemplo, el esferoplasto se produce a partir de una levadura completa y después se transfecta) para producir un esferoplasto recombinante que expresa un antígeno u otra proteína.

En un aspecto, una célula de levadura o esferoplasto de levadura usado para preparar el vehículo de levadura se transfecta con una molécula de ácido nucleico heteróloga que codifica el o los antígenos u otra proteína de modo que el antígeno u otra proteína sea expresada de forma recombinante por la célula de levadura o esferoplasto de levadura. En este aspecto, la célula de levadura o esferoplasto de levadura que expresa de forma recombinante el o los antígenos u otra proteína se usa para producir un vehículo de levadura que comprende un citoplasto de levadura, una célula vacía de levadura o una partícula de membrana de levadura o partícula de pared celular de levadura, o fracción de la misma.

En general, el vehículo de levadura y el antígeno o antígenos y/u otros agentes pueden asociarse por cualquier técnica descrita en el presente documento. En un aspecto, el vehículo de levadura se cargó de forma intracelular con el antígeno o antígenos y/o agente o agentes. En otro aspecto, el antígeno o antígenos y/o el agente o agentes se adhirieron covalente o no covalentemente al vehículo de levadura. En otro aspecto más, el vehículo de levadura y el antígeno o antígenos y/o el agente o agentes se asociaron por mezcla. En otro aspecto, y en una realización, el antígeno o antígenos y/o el agente o agentes se expresan de forma recombinante por el vehículo de levadura o por la célula de levadura o esferoplasto de levadura del que se obtuvo el vehículo de levadura.

Varios antígenos y/u otras proteínas para producir por un vehículo de levadura de la presente invención es cualquiera de varios antígenos y/u otras proteínas que pueden producirse de forma razonable por un vehículo de levadura, y típicamente varía de al menos uno a al menos aproximadamente 6 o más, incluyendo de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 antígenos heterólogos y/u otras proteínas.

La expresión de un antígeno u otra proteína en un vehículo de levadura de la presente invención se consigue usando técnicas conocidas por los expertos en la materia. Brevemente, una molécula de ácido nucleico que codifica al menos un antígeno deseado u otra proteína se inserta en un vector de expresión de tal manera que la molécula de ácido nucleico se une de forma operativa a una secuencia de control de la transcripción para que pueda lograr la expresión constitutiva o regulada de la molécula de ácido nucleico cuando se transforme en una célula de levadura hospedadora. Las moléculas de ácido nucleico que codifican uno o más antígenos y/u otras proteínas pueden ser uno o más vectores de expresión unidos de forma operativa a una o más secuencias de control de la expresión. Son secuencias de control de la expresión particularmente importantes las que controlan el inicio de la transcripción, tales

como secuencias promotoras y de activación cadena arriba. Cualquier promotor de levadura adecuado puede usarse en la presente invención y los expertos en la materia conocen una diversidad de dichos promotores. Los promotores para la expresión en *Saccharomyces cerevisiae* incluyen, pero sin limitación, promotores de genes que codifican las siguientes proteínas de levadura: alcohol deshidrogenasa I (ADH1) o II (ADH2), CUP1, fosfoglicerato quinasa (PGK), 5 triosa fosfato isomerasa (TPI), factor de elongación traduccional EF-1 alfa (TEF2), gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, (GAPDH; también denominada TDH3, para triosa fosfato deshidrogenasa), galactocinasa (GAL1), galactosa-1-fosfato uridil-transferasa (GAL7), UDP-galactosa epimerasa (GAL10), citocromo c1 (CYC1), proteína Sec7 (SEC7) y fosfatasa ácida (PHO5), incluyendo promotores híbridos tales como los promotores ADH2/GAPDH y CYC1/GAL10, e incluyendo el promotor ADH2/GAPDH, que se induce cuando las concentraciones de glucosa en la 10 célula son bajas (por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,2 por ciento), así como el promotor de CUP1 y el promotor de TEF2. Análogamente, se conocen varias secuencias de activación cadena arriba (UAS), también denominadas potenciadores. Las secuencias de activación cadena arriba para la expresión en *Saccharomyces cerevisiae* incluyen, pero sin limitación, las UAS de genes que codifican las siguientes proteínas: PCK1, TPI, TDH3, CYC1, ADH1, ADH2, SUC2, GAL1, GAL7 y GAL10, así como otras UAS activadas por el 15 producto génico de GAL4, usándose la UAS de ADH2 en un aspecto. Ya que la UAS de ADH2 se activa por el producto génico de ADR1, puede ser preferible sobreexpresar el gen de ADR1 cuando un gen heterólogo se une de forma operativa a la UAS de ADH2. Las secuencias de terminación de la transcripción para la expresión en *Saccharomyces cerevisiae* incluyen las secuencias de terminación de los genes de factor- α , GAPDH y CYC1.

20 Las secuencias de control de la transcripción para expresar genes en levaduras metiltróficas incluyen las regiones de control de la transcripción de los genes que codifican la alcohol oxidasa y la formiato deshidrogenasa.

La transfección de una molécula de ácido nucleico en una célula de levadura según la presente invención puede 25 conseguirse por cualquier método por el que pueda introducirse una molécula de ácido nucleico en la célula e incluye, pero sin limitación, difusión, transporte activo, sonicación en baño, electroporación, microinyección, lipofección, adsorción y fusión de protoplastos. Las moléculas de ácido nucleico transfectadas pueden integrarse en un cromosoma de levadura o mantenerse en vectores extracromosómicos usando técnicas conocidas por los expertos en la materia. Los ejemplos de vehículos de levadura que portan dichas moléculas de ácido nucleico se divulgan en detalle en el presente documento. Como se ha analizado anteriormente, también pueden producirse 30 citoplastos de levadura, células vacías de levadura y partículas de membrana de levadura o preparaciones de pared celular de forma recombinante transfectando microorganismos de levadura intactos o esferoplastos de levadura con moléculas de ácido nucleico deseadas, que producen el antígeno en los mismos, y después manipulan adicionalmente los microorganismos o esferoplastos usando técnicas conocidas por los expertos en la materia para producir citoplastos, células vacías o extracto de membrana de levadura subcelular o fracciones de los mismos que 35 contienen antígenos deseados u otras proteínas.

Las condiciones eficaces para la producción de vehículos de levadura recombinantes y la expresión del antígeno y/u otra proteína por el vehículo de levadura incluyen un medio eficaz en que puede cultivarse una cepa de levadura. Un 40 medio eficaz es típicamente un medio acuoso que comprende fuentes asimilables de carbohidrato, nitrógeno y fosfato, así como sales, minerales, metales y otros nutrientes apropiados, tales como vitaminas y factores de crecimiento. El medio puede comprender nutrientes complejos o puede ser un medio mínimo definido. Las cepas de levadura de la presente invención pueden cultivarse en una diversidad de recipientes, incluyendo, pero sin limitación, biorreactores, matraces de Erlenmeyer, tubos de ensayo, placas de microtitulación y placas de Petri. El cultivo se realiza a una temperatura, pH y contenido de oxígeno apropiados para la cepa de levadura. Dichas condiciones de 45 cultivo pertenecen a la experiencia de los expertos habituales en la materia (véase, por ejemplo, Guthrie *et al.* (eds.), 1991, *Methods in Enzymology*, vol. 194, Academic Press, San Diego).

En algunos aspectos de la invención, las levaduras se cultivan en condiciones de pH neutro y, particularmente, en un medio mantenido a un nivel de pH de al menos 5,5, concretamente no se permite que el pH del medio de cultivo 50 descienda por debajo de pH 5,5. En otros aspectos, la levadura se cultiva a un nivel de pH mantenido a aproximadamente 5,5. En otros aspectos, la levadura se cultiva a un nivel de pH mantenido a aproximadamente 5,6, 5,7, 5,8, o 5,9. En otro aspecto, la levadura se cultiva a un nivel de pH mantenido a aproximadamente 6. En otro aspecto, la levadura se cultiva a un nivel de pH mantenido a aproximadamente 6,5. En otros aspectos, la levadura se cultiva a un nivel de pH mantenido a aproximadamente 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 o 7,0. En otros 55 aspectos, la levadura se cultiva a un nivel de pH mantenido a aproximadamente 7, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9 u 8,0. El nivel de pH es importante en el cultivo de levadura. Un experto en la materia apreciará que el proceso de cultivo incluye no solamente el inicio del cultivo de levadura sino también el mantenimiento del cultivo. Como se sabe que el cultivo de levadura se vuelve ácido (es decir, reduce el pH) a lo largo del tiempo, debe tenerse cuidado de supervisar el nivel de pH durante el proceso de cultivo. Aún se contemplan cultivos celulares de levadura por los que el nivel de pH del medio desciendo por debajo de 6 en el alcance de la invención siempre que el pH del 60 medio se lleve hasta al menos 5,5 en algún momento durante el proceso de cultivo. Por tanto, cuanto más tiempo se cultive la levadura en un medio que esté a pH 5,5 o más, mejores serán los resultados con respecto a obtener levadura con características deseables.

65 Como se usa en el presente documento, el uso general de la expresión "pH neutro" se refiere a un intervalo de pH entre aproximadamente pH 5,5 y aproximadamente pH 8 y, en un aspecto, entre aproximadamente pH 6 y

aproximadamente pH 8. Un experto en la materia apreciará que pueden producirse fluctuaciones mínimas (por ejemplo, décimas o centésimas) cuando se mide con un pehachímetro. Por tanto, el uso de pH neutro para cultivar células de levadura significa que las células de levadura se cultivan en pH neutro durante la mayoría del tiempo que están en cultivo. El uso de un pH neutro en el cultivo de levaduras promueve varios efectos biológicos que son características deseables para usar la levadura como vehículos para inmunomodulación. En un aspecto, el cultivo de la levadura en pH neutro permite un buen crecimiento de la levadura sin ningún efecto negativo sobre el tiempo de generación celular (por ejemplo, ralentización del tiempo de duplicación). La levadura puede continuar creciendo hasta altas densidades sin perder su elasticidad de pared celular. En otro aspecto, el uso de un pH neutro permite la producción de levadura con paredes celulares elásticas y/o levaduras que son sensibles a enzimas de digestión de la pared celular (por ejemplo, glucanasa) a todas las densidades de recolección. Este rasgo es deseable porque la levadura con paredes celulares flexibles puede inducir respuestas inmunitarias poco habituales, tal como promoviendo la secreción de citocinas (por ejemplo, interferón- γ (IFN- γ)) en las células que albergan la levadura. Además, se produce mayor accesibilidad a los antígenos localizados en la pared celular por dichos métodos de cultivo. En otro aspecto, el uso de pH neutro para algunos antígenos permite liberar el antígeno unido por disulfuro por tratamiento con ditioneitol (DTT) que no es posible cuando dicha levadura que expresa antígeno se cultiva en medio a pH inferior (por ejemplo, pH 5). Por último, en otro aspecto, la levadura cultivada usando las metodologías de pH neutro, provoca aumento de la producción de al menos citocinas de tipo TH1 incluyendo, pero sin limitación, IFN- γ , interleucina-12 (IL-12) e IL-2 y también pueden inducir aumento de la producción de otras citocinas, tales como citocinas proinflamatorias (por ejemplo, IL-6).

En una realización, el control de la cantidad de glucosilación de la levadura se usa para controlar la expresión de antígenos por la levadura, particularmente en la superficie. La cantidad de glucosilación de la levadura puede afectar a la inmunogenicidad y antigenicidad del antígeno expresado en la superficie, ya que los restos de azúcar tienden a ser voluminosos. Por tanto, la existencia de restos de azúcar sobre la superficie de levadura y su influencia sobre el espacio tridimensional alrededor del antígeno o antígenos diana debe considerarse en la modulación de la levadura según la invención. Puede usarse cualquier método para reducir la cantidad de glucosilación de la levadura (o aumentarla, si se desea). Por ejemplo, se podría usar una cepa mutante de levadura que se ha seleccionado para tener baja glucosilación (por ejemplo mutantes *mnn1*, *och1* y *mnn9*), o se podría eliminar por mutación las secuenciasceptoras de glucosilación en el antígeno diana. Como alternativa, se podría usar una levadura con patrones de glucosilación abreviados, por ejemplo, *Pichia*. También se puede tratar la levadura usando métodos para reducir o alterar la glucosilación.

En una realización de la presente invención, como alternativa a la expresión de un antígeno u otra proteína de forma recombinante en el vehículo de levadura, se carga el vehículo de levadura de forma intracelular con la proteína o péptido, o con carbohidratos u otras moléculas que sirven como antígeno y/o son útiles como agentes inmunomoduladores o modificadores de la respuesta biológica según la invención. Posteriormente, el vehículo de levadura, que ahora contiene el antígeno y/u otras proteínas de forma intracelular, puede administrarse a un individuo o cargarse en un vehículo tal como una célula dendrítica. Los péptidos y proteínas pueden insertarse directamente en vehículos de levadura de la presente invención por técnicas conocidas por los expertos en la materia, tales como por difusión, transporte activo, fusión de liposomas, electroporación, fagocitosis, ciclos de congelación-descongelación y sonicación en baño. Los vehículos de levadura que pueden cargarse directamente con péptidos, proteínas, carbohidratos u otras moléculas incluyen levaduras intactas, así como esferoplastos, células vacías o citoplastos, que pueden cargarse con antígenos y otros agentes después de la producción. Como alternativa, la levadura intacta puede cargarse con el antígeno y/o agente, y después pueden prepararse a partir de la misma esferoplastos, células vacías, citoplastos o partículas subcelulares. Cualquiera de varios agentes y/u otros agentes puede cargarse en un vehículo de levadura en esta realización, de al menos 1, 2, 3, 4 o cualquier número entero hasta cientos o miles de antígenos y/u otros agentes, tal como se proporcionaría por la carga de un microorganismo o partes del mismo, por ejemplo.

En otra realización de la presente invención, un antígeno y/u otro agente se adhiere físicamente al vehículo de levadura. La adhesión física del antígeno y/u otro agente al vehículo de levadura puede conseguirse por cualquier método adecuado en la técnica, incluyendo métodos de asociación covalente y no covalente que incluyen, pero sin limitación, reticulación química del antígeno y/u otro agente a la superficie exterior del vehículo de levadura o unión biológica del antígeno y/u otro agente a la superficie exterior del vehículo de levadura, tal como usando un anticuerpo u otro compañero de unión. La reticulación química puede conseguirse, por ejemplo, por métodos que incluyen unión de glutaraldehído, marcaje de fotoafinidad, tratamiento con carbodiimidias, tratamiento con productos químicos que pueden unir enlaces disulfuro y tratamiento con otros productos químicos reticulantes convencionales en la técnica. Como alternativa, un producto químico puede ponerse en contacto con el vehículo de levadura que altera la carga de la bicapa lipídica de la membrana de levadura o la composición de la pared celular de modo que la superficie exterior de la levadura tiene mayor probabilidad de fusionarse o unirse a antígenos y/u otro agente que tenga características de carga particulares. También pueden incorporarse agentes de dirección tales como anticuerpos, péptidos de unión, receptores solubles y otros ligandos a un antígeno como una proteína de fusión o asociarse de otro modo con un antígeno para la unión del antígeno al vehículo de levadura.

Cuando el antígeno u otra proteína se expresa en o se adhiere físicamente a la superficie de la levadura, pueden seleccionarse cuidadosamente brazos espaciadores, en un aspecto, para optimizar u otra expresión de antígeno u

otra proteína o contenido sobre la superficie. El tamaño del brazo o brazos espaciadores puede afectar a la cantidad de antígeno u otra proteína que se expone para la unión en la superficie de la levadura. Por tanto, dependiendo del antígeno o antígenos u otra proteína o proteínas que se estén usando, un experto en la materia seleccionará un brazo espaciador que logre el espaciado apropiado para el antígeno u otra proteína en la superficie de levadura. En una realización, el brazo espaciador es una proteína de levadura de al menos 450 aminoácidos. Los brazos espaciadores se han analizado en detalle anteriormente.

En otra realización más, el vehículo de levadura y el antígeno u otra proteína se asocian entre sí por un mecanismo de unión no específico o no covalente más pasivo, tal como por mezcla suave del vehículo de levadura y el antígeno u otra proteína juntos en un tampón u otra formulación adecuada (por ejemplo, mezcla).

En una realización de la invención, el vehículo de levadura y el antígeno u otra proteína se cargan ambos de forma intracelular en un vehículo tal como una célula dendrítica o macrófago para formar la composición terapéutica o vacuna de la presente invención. Como alternativa, puede cargarse un antígeno u otra proteína en una célula dendrítica en ausencia del vehículo de levadura.

En una realización, la levadura intacta (con o sin expresión de antígenos heterólogos u otras proteínas) puede molerse o procesarse de una manera que produzca preparaciones de pared celular de levadura, partículas de membrana de levadura o fragmentos de levadura (es decir, no intactos) y los fragmentos de levadura pueden, en algunas realizaciones, proporcionarse o administrarse con otras composiciones que incluyen antígenos (por ejemplo, vacunas de ADN, vacunas de subunidad de proteína, patógenos muertos o inactivados) para potenciar las respuestas inmunitarias. Por ejemplo, puede usarse tratamiento enzimático, tratamiento químico o fuerza física (por ejemplo, corte mecánico o sonicación) para descomponer la levadura en partes que se usan como adyuvante.

En una realización de la invención, los vehículos de levadura útiles en la invención incluyen vehículos de levadura que se han eliminado o inactivado. La eliminación o inactivación de la levadura puede conseguirse por cualquiera de una diversidad de métodos adecuados conocidos en la técnica. Por ejemplo, la inactivación por calor de una levadura es una manera convencional de inactivar la levadura, y un experto en la materia puede controlar los cambios estructurales del antígeno diana, si se desea, por métodos convencionales conocidos en la técnica. Como alternativa, pueden usarse otros métodos de inactivación de la levadura, tales como métodos químicos, eléctricos, radiactivos o de UV. Véase, por ejemplo, la metodología analizada en libros de texto convencionales de cultivo de levadura tales como *Methods of Enzymology*, Vol. 194, Cold Spring Harbor Publishing (1990). Cualquiera de las estrategias de inactivación usadas debe tener en cuenta la estructura secundaria, terciaria o cuaternaria del antígeno diana y conservar dicha estructura para optimizar su inmunogenicidad.

Los vehículos de levadura pueden formularse en composiciones de inmunoterapia basados en levadura o productos de la presente invención, incluyendo preparaciones para administrar a un sujeto directamente o cargados en primer lugar en un vehículo tal como una célula dendrítica, usando varias técnicas conocidas por los expertos en la materia. Por ejemplo, los vehículos de levadura pueden secarse por liofilización. Las formulaciones que comprenden vehículos de levadura también pueden presentarse empaquetando la levadura en una pastilla o un comprimido, tal como se hace para la levadura usada en operaciones de panadería o cervecería. Además, los vehículos de levadura pueden mezclarse con un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como un tampón isotónico que se tolera por un hospedador o célula hospedadora. Los ejemplos de dichos excipientes incluyen agua, solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa, solución de Hank y otras soluciones salinas acuosas fisiológicamente equilibradas. También pueden usarse vehículos no acuosos, tales como aceites fijos, aceite de sésamo, oleato de etilo o triglicéridos. Otras formulaciones útiles incluyen suspensiones que contienen agentes potenciadores de la viscosidad, tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol, glicerol o dextrano. Los excipientes también pueden contener cantidades mínimas de aditivos, tales como sustancias que potencian la isotonicidad y la estabilidad química. Los ejemplos de tampones incluyen tampón de fosfato, tampón de bicarbonato y tampón Tris, mientras que los ejemplos de conservantes incluyen timerosal, m- u o-cresol, formalina y alcohol bencílico. Las formulaciones convencionales pueden ser soluciones inyectables líquidas o sólidas que pueden recogerse en un líquido adecuado como una suspensión o solución para inyección. Por tanto, en una formulación que no es líquida, el excipiente puede comprender, por ejemplo, dextrosa, albúmina de suero humano y/o conservantes a los que puede añadirse agua o solución salina estéril antes de la administración.

En una realización de la presente invención, una composición puede incluir agentes adicionales, que también pueden denominarse compuestos modificadores de la respuesta biológica, o la capacidad para producir dichos agentes/modificadores. Por ejemplo, un vehículo de levadura puede transfectarse o cargarse con al menos un antígeno y al menos un agente/compuesto modificador de la respuesta biológica, o una composición de la invención puede administrarse junto con al menos un agente/modificador de la respuesta biológica. Los modificadores de la respuesta biológica incluyen adyuvantes y otros compuestos que pueden modular las respuestas inmunitarias, que pueden denominarse compuestos inmunomoduladores, así como compuestos que modifican la actividad biológica de otro compuesto o agente, tal como un agente inmunoterapéutico basado en levadura, sin estar limitada dicha actividad biológica a los efectos del sistema inmunitario. Determinados compuestos inmunomoduladores pueden estimular una respuesta inmunitaria protectora mientras que otros pueden suprimir una respuesta inmunitaria perjudicial, y si un inmunomodulador es útil en combinación con un producto inmunoterapéutico basado en levadura

dado puede depender, al menos en parte, de la patología o afección para tratar o prevenir, y/o del individuo que se vaya a tratar. Determinados modificadores de la respuesta biológica potencian preferentemente una respuesta inmunitaria mediada por células mientras que otros potencian preferentemente una respuesta inmunitaria humoral (es decir, pueden estimular una respuesta inmunitaria en la que hay un nivel aumentado de inmunidad mediada por células en comparación con la inmunidad humoral, o viceversa). Determinados modificadores de la respuesta biológica tienen una o más propiedades en común con las propiedades biológicas de productos inmunoterapéuticos basados en levadura o potencian o complementan las propiedades biológicas de productos inmunoterapéuticos basados en levadura. Hay varias técnicas conocidas por los expertos en la materia para medir la estimulación o supresión de las respuestas inmunitarias, así como para diferenciar las respuestas inmunitarias mediadas por células de las respuestas inmunitarias humorales, y para diferenciar un tipo de respuesta mediada por células de otra (por ejemplo, una respuesta TH17 frente a una respuesta TH1).

Los agentes/modificadores de la respuesta biológica útiles en la invención pueden incluir, pero sin limitación, citocinas, quimiocinas, hormonas, derivados lipídicos, péptidos, proteínas, polisacáridos, fármacos de molécula pequeña, anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos (incluyendo, pero sin limitación, anticuerpos anticitocina, anticuerpos antirreceptor de citocina, anticuerpos antiquimiocina), vitaminas, polinucleótidos, restos de unión a ácido nucleico, aptámeros y modulares del crecimiento. Algunos agentes adecuados incluyen, pero sin limitación, IL-1 o agonistas de IL-1 o de IL-1R, anti-IL-1 u otros antagonistas de IL-1; IL-6 o agonistas de IL-6 o de IL-6R, anti-IL-6 u otros antagonistas de IL-6; IL-12 o agonistas de IL-12 o de IL-12R, anti-IL-12 u otros antagonistas de IL-12; IL-17 o agonistas de IL-17 o de IL-17R, anti-IL-17 u otros antagonistas de IL-17; IL-21 o agonistas de IL-21 o de IL-21R, anti-IL-21 u otros antagonistas de IL-21; IL-22 o agonistas de IL-22 o de IL-22R, anti-IL-22 u otros antagonistas de IL-22; IL-23 o agonistas de IL-23 o de IL-23R, anti-IL-23 u otros antagonistas de IL-23; IL-25 o agonistas de IL-25 o de IL-25R, anti-IL-25 u otros antagonistas de IL-25; IL-27 o agonistas de IL-27 o de IL-27R, anti-IL-27 u otros antagonistas de IL-27; interferón de tipo I (incluyendo IFN- α) o agonistas o antagonistas de interferón de tipo I o un receptor del mismo; interferón de tipo II (incluyendo IFN- γ) o agonistas o antagonistas de interferón de tipo II o un receptor del mismo; anti-CD40, CD40L, anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, para liberar linfocitos T anérgicos); coestimuladores de linfocitos T (por ejemplo, anti-CD137, anti-CD28, anti-CD40); alemtuzumab (por ejemplo CAMPATH®), denileuquina diftotox (por ejemplo, ONTAK®); anti-CD4; anti-CD25; anti-PD-1, anti-PD-L1, anti-PD-L2; agentes que bloquean FOXP3 (por ejemplo, para anular la actividad/eliminar linfocitos T reguladores CD4+/CD25+); ligando Flt3, imiquimod (ALDARA™), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF); factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), sargramostim (Leukine®); hormonas incluyendo, sin limitación, prolactina y hormona del crecimiento; agonistas del receptor de tipo Toll (TLR), incluyendo pero sin limitación agonistas de TLR-2, agonistas de TLR-4, agonistas de TLR-7 y agonistas de TLR-9; antagonistas de TLR, incluyendo pero sin limitación antagonistas de TLR-2, antagonistas de TLR-4, antagonistas de TLR-7 y antagonistas de TLR-9; agentes antiinflamatorios e inmunomoduladores, incluyendo, pero sin limitación, inhibidores de COX-2 (por ejemplo, Celecoxib, AINE), glucocorticoides, estatinas y talidomida y análogos de la misma incluyendo IMiD™ (que son análogos estructurales y funcionales de talidomida (por ejemplo, REVLIMID® (lenalidomida), ACTIMID® (pomalidomida)); agentes proinflamatorios, tales como componentes fúngicos o bacterianos o cualquier citocina o quimiocina proinflamatoria; vacunas inmunoterapéuticas incluyendo, pero sin limitación, vacunas basadas en virus, vacunas basadas en bacterias o vacunas basadas en anticuerpos; y cualquier otro inmunomodulador, inmunopotenciador, agente antiinflamatorio y/o agente proinflamatorio. Se contempla cualquier combinación de dichos agentes por la invención, y cualquiera de dichos agentes combinado con o administrado en un protocolo con (por ejemplo, simultáneamente, secuencialmente o en otros formatos con) un producto inmunoterapéutico basado en levadura es una composición abarcada por la invención. Dichos agentes son bien conocidos en la técnica. Estos agentes pueden usarse en solitario o en combinación con otros agentes descritos en el presente documento.

Los agentes pueden incluir agonistas o antagonistas de una proteína o péptido dado o dominio del mismo. Como se usa en el presente documento, un "agonista" es cualquier compuesto o agente, incluyendo sin limitación moléculas pequeñas, proteínas, péptidos, anticuerpos, agentes de unión a ácido nucleico, etc., que se une a un receptor o ligando y produce o desencadena una respuesta, que puede incluir agentes que imitan la acción de una sustancia de origen natural que se une al receptor o ligando. Un "antagonista" es cualquier compuesto o agente, incluyendo sin limitación moléculas pequeñas, proteínas, péptidos, anticuerpos, agentes de unión a ácido nucleico, etc., que bloquea o inhibe o reduce la acción de un agonista.

Las composiciones de la invención pueden incluir además o pueden administrarse con (simultáneamente, secuencialmente o intermitentemente con) cualquier otro compuesto o composición que sea útil para prevenir o tratar una infección por Ad-36 o cualquier compuesto que trate o mejore cualquier síntoma de infección por Ad-36. Además, las composiciones de la invención pueden usarse junto con otras composiciones inmunoterapéuticas, incluyendo inmunoterapia profiláctica y/o terapéutica.

La divulgación también incluye un kit que comprende cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento, o cualquiera de los componentes individuales de las composiciones descritas en el presente documento. Los kits pueden incluir reactivos adicionales e instrucciones o indicaciones escritas para usar cualquiera de las composiciones de la invención para prevenir o tratar la infección por Ad-36 y/u obesidad o sobrepeso que está o puede asociarse con dicha infección.

Métodos para administración o uso de composiciones de la invención

Las composiciones de la invención, que, en una realización, incluyen composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura descritas anteriormente, así como proteínas de fusión de Ad-36 descritas en el presente documento y moléculas de ácido nucleico recombinante tales como proteínas de fusión de Ad-36 y otras composiciones que comprenden dichas composiciones basadas en levadura, proteínas de fusión o moléculas recombinantes descritas en el presente documento, pueden usarse en una diversidad de métodos *in vivo* e *in vitro*, incluyendo, pero sin limitación, métodos y usos para tratar y/o prevenir la infección por Ad-36 y/u obesidad, exceso de peso (por ejemplo, sobrepeso clínico) o hipertrofia de tejido adiposo anómala asociada con infección por Ad-36, otros síntomas y afecciones asociados con infección por Ad-36 y/o exceso de peso o hipertrofia de tejido adiposo anómala, en ensayos de diagnóstico para Ad-36 o para producir anticuerpos contra Ad-36.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un método para tratar la infección por Ad-36 y/o para prevenir, mejorar o tratar al menos un síntoma o secuelas de infección crónica por Ad-36, en un individuo o población de individuos. En un aspecto, la divulgación se refiere a un método para reducir o prevenir la obesidad, el exceso de peso o la hipertrofia del tejido adiposo anómala que se asocia con la infección por Ad-36, reduciendo, deteniendo o previniendo, la infección por Ad-36. El método incluye la etapa de administrar a un individuo o una población de individuos que están, pueden estar o pueden llegar a estar, infectados con Ad-36, una composición inmunoterapéutica de la invención. En un aspecto, la composición es una composición inmunoterapéutica que comprende uno o más antígenos de Ad-36 (proteínas de Ad-36 y/o dominios inmunogénicos de las mismas), incluyendo cualquiera de los antígenos de Ad-36 (incluyendo cualquier proteína de fusión) como se describe en el presente documento. En un aspecto, la composición inmunoterapéutica es una composición inmunoterapéutica basada en levadura. En un aspecto, la composición incluye una proteína de fusión que comprende antígenos de Ad-36 como se describe en el presente documento, o molécula de ácido nucleico recombinante que codifica dichos antígenos. En una realización, el individuo o la población de individuos tiene infección por Ad-36 (está infectado actualmente con Ad-36 o al menos tiene pruebas de estar infectado). En una realización, el individuo o la población de individuos tiene sobrepeso o está obeso y, en otra realización, el individuo o la población de individuos no tiene sobrepeso o no está obeso. En un aspecto, el individuo o la población de individuos se trata adicionalmente con al menos un compuesto terapéutico o protocolo terapéutico para el tratamiento de infección por Ad-36 o útil para el tratamiento de una afección asociada con infección por Ad-36, incluyendo, pero sin limitación, obesidad, sobrepeso, hipertrofia de tejido adiposo anómala, diabetes de tipo II o síntomas de estas afecciones. Los compuestos terapéuticos adicionales adecuados incluyen, pero sin limitación, fármacos antivíricos de acción directa y/o interferones y/u otros agentes inmunoterapéuticos o inmunomoduladores y/o insulina. Los protocolos terapéuticos adicionales adecuados incluyen, pero sin limitación, la administración de dichos agentes, programas de dieta y programas de ejercicio.

Otra realización de la divulgación se refiere a un método para inmunizar a un individuo o población de individuos contra Ad-36 para prevenir la infección por Ad-36, prevenir la infección crónica por Ad-36 y/o reducir la gravedad de la infección por Ad-36 en el individuo o población de individuos. El método incluye la etapa de administrar a un individuo o población de individuos que no está infectado con Ad-36 (o que se cree que no está infectado con Ad-36 o no se sabe que esté o haya estado infectado con Ad-36) una composición de la invención. En un aspecto, la composición es una composición inmunoterapéutica que comprende uno o más antígenos de Ad-36 como se describe en el presente documento, incluyendo una composición inmunoterapéutica basada en levadura. En un aspecto, la composición incluye una proteína de fusión que comprende antígenos de Ad-36 como se describe en el presente documento, o molécula de ácido nucleico recombinante que codifica dicha proteína de fusión.

Como se usa en el presente documento, la expresión "tratar" una infección por Ad-36, o cualquier permutación de la misma (por ejemplo, "tratado para infección por Ad-36", etc.) se refiere en general a aplicar o administrar una composición de la invención una vez se ha producido la infección (aguda o crónica), con el objetivo de reducir o eliminar el título vírico detectable, conseguir seroconversión como se mide por el desarrollo de anticuerpos con Ad-36 que reflejan una eliminación del virus, reducción en al menos un síntoma producido por la infección en el individuo (por ejemplo, reducción del IMC, reducción del peso corporal, reducción de la tasa de aumento de peso, reducción de la adiposidad, etc.), retardo o prevención de la aparición y/o gravedad de los síntomas y/o secuelas posteriores causadas por la infección, reducción del daño orgánico o fisiológico sistémico resultante de la infección, mejora de la función orgánica o sistémica que se vio influida negativamente por la infección, mejora de las respuestas inmunitarias contra el virus, mejora de las respuestas inmunitarias a largo plazo contra el virus y/o mejora de la salud general del individuo o población de individuos. "Prevenir" una infección por Ad-36 o cualquier permutación de la misma (por ejemplo, "prevención de infección por Ad-36", etc.), se refiere en general a aplicar o administrar una composición de la invención antes de que se haya producido una infección con Ad-36, con el objetivo de prevenir la infección por Ad-36, prevenir la infección crónica por Ad-36 (es decir, posibilitar que un individuo elimine una infección aguda por Ad-36 sin intervención adicional) o al menos reducir la gravedad y/o duración de la infección y/o el daño fisiológico causado por la infección crónica, y/o reducir la tasa de aumento de peso, en un individuo o población de individuos si la infección se produce posteriormente.

Según la presente invención, el índice de masa corporal, o IMC, se usa habitualmente para determinar un grado de exceso de peso (por ejemplo, sobrepeso) y obesidad, aunque no es una medida directa de la grasa corporal. Es una

medida del peso en relación con la altura de un individuo y puede calcularse en unidades inglesas o del sistema métrico. Según los centros de control y prevención de enfermedades (CDC), se considera que un adulto que tiene un índice de masa corporal (IMC) entre 25 y 29,9 tiene sobrepeso. Se considera que un adulto que tiene un IMC de 30 o más es obeso. Para niños y adolescentes, los intervalos de IMC por encima de un peso normal tienen diferentes marcadores y tienen en cuenta diferencias normales en la grasa corporal entre niños y niñas y diferencias en la grasa corporal a diversas edades. El "sobrepeso" en niños y adolescentes de 2-19 años de edad se define como un IMC en o por encima del 85^o percentil y menor del 95^o percentil para niños de la misma edad y sexo. La obesidad de niños y adolescentes de 2-19 años de edad se define como un IMC a o por encima del 95^o percentil para niños de la misma edad y sexo. Como se usa en el presente documento, la expresión "exceso de peso" se usa en general para hacer referencia a un peso que es mayor que el que se considera sano para un individuo de una edad, sexo y/o altura dados, que tiene típicamente al menos "sobrepeso" como ha definido el CDC u otra institución de salud público y como se expone en el presente documento. En consecuencia, la referencia a "exceso de peso" puede usarse indistintamente en referencia a "sobrepeso" o "tener sobrepeso". Están disponibles calculadoras del IMC para niños y adolescentes, así como adultos, a través de los centros para el control y la prevención de enfermedades, por ejemplo, y puede usarse para determinar el IMC para una edad, altura y pesos específicos (para niños y adolescentes, para adultos, se consideran la altura y el peso) y recomiendan el percentil de peso para el individuo si es un niño o adolescente, y recomiendan además si el individuo se considera potencialmente con sobrepeso u obeso según los patrones actuales para niños, adolescentes y adultos.

Según la invención, la referencia a "tejido adiposo anómalo", "tejido adiposo hipertrófico" o "hipertrofia de tejido adiposo anómala", se refiere a un aumento de peso de tejido adiposo (adiposidad) o crecimiento de adipocitos que es anómalo y típicamente se presenta como un lipoma benigno o un depósito de tejido adiposo en una localización anatómica poco habitual. El tejido adiposo anómalo se distingue por lo tanto de la obesidad, ya que un individuo puede no ser clínicamente obeso, pero tener áreas de tejido adiposo anómalo o hipertrofia de tejido adiposo. El tejido adiposo anómalo es, por ejemplo, una afección asociada con la infección por VIH.

Preferentemente, el uso de una composición inmunoterapéutica de la invención da como resultado la prevención de obesidad o exceso de aumento de peso, en una reducción del peso aumentado o una tasa reducida de aumento de peso en individuos que están infectados o se infectan con Ad-36 y/o en una reducción de la probabilidad de ser obeso o tener sobrepeso, en un individuo que está infectado o se infecta con el virus pero en la actualidad no tiene sobrepeso ni es obeso. En un individuo adulto con un IMC de 30 o más, o en un niño o adolescente de 2-19 años de edad con un IMC a o aproximadamente el 95^o percentil para niños/adolescentes de la misma edad y sexo, en un aspecto de la invención, el uso de una composición inmunoterapéutica de la invención da como resultado una reducción de IMC en el individuo hasta menos de 30 para dichos adultos o menos del 95^o percentil para dichos niños o adolescentes. En un individuo adulto con un IMC de entre 25 y 29,9, o en un niño o adolescente de 2-19 años de edad con un IMC a o aproximadamente el 85^o percentil para niños/adolescentes de la misma edad y sexo, en un aspecto de la invención, el uso de una composición inmunoterapéutica de la invención da como resultado una reducción de IMC hasta menos de 25 para dichos adultos o hasta menos del 85^o percentil para dichos niños o adolescentes.

La eficacia, o efectividad, de una composición inmunoterapéutica de la invención también puede definirse como un cambio estadísticamente significativo, o tendencia estadística, hacia el beneficio del paciente en uno cualquiera o más parámetros medibles o detectables asociado con infección por Ad-36 o afecciones ligadas a dicha infección, en un individuo que recibe la composición inmunoterapéutica, en comparación con un valor de control para el parámetro que se evalúa. En un aspecto de la invención, un cambio clínicamente relevante puede medirse como un cambio de porcentaje hacia el beneficio del paciente en comparación con una evaluación previa, y puede ser 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 % o mayor. El beneficio también puede medirse como un cambio en la pendiente de una curva a lo largo del tiempo en comparación con un control (por ejemplo, un cambio en la pendiente de peso corporal o la tasa de aumento de peso representada a lo largo del tiempo antes, durante o después del tratamiento).

Los parámetros para evaluar para la determinación de la eficacia de una composición de la invención incluyen, pero sin limitación, carga vírica, eliminación vírica, hipertrofia de tejido adiposo, peso corporal, IMC, tasa de aumento de peso, grasa corporal total, colesterol en suero, triglicéridos, tensión arterial, tolerancia a la glucosa, sensibilidad a la insulina y respuestas inmunitarias, incluyendo respuestas de linfocitos T específicas de Ad-36 y respuestas de anticuerpos neutralizantes. El valor de control puede seleccionarse de cualquier valor de control adecuado, incluyendo, pero sin limitación, una o más mediciones previas del parámetro en el mismo individuo; una medición del parámetro como un promedio o una media en una población de individuos que cumplen criterios similares para sexo, edad, peso y/u otros estados clínicos; o un valor de referencia proporcionado en forma de información almacenada con respecto a un nivel basal previamente determinado para el parámetro dado. Dicha forma de información almacenada puede incluir, por ejemplo, pero sin limitación, un diagrama de referencia, listado o archivo electrónico de datos poblacionales o individuales con respecto a individuos "sanos" (control negativo) o individuos obesos o con sobrepeso o individuos infectados con Ad-36 que no se han curado o tratado (control positivo); un diagrama médico para los datos de registro individuales de evaluaciones previas; o cualquier otra fuente de datos con respecto a niveles basales que son útiles para la evaluación de la eficacia del tratamiento.

Según la invención, un "nivel basal" es un nivel de control, y en algunas realizaciones (pero no todas las

realizaciones, dependiendo del método), un nivel normal, de un criterio de valoración o parámetro clínico dado con el que puede compararse un nivel de ensayo del criterio de valoración o parámetro clínico dado. La expresión "control negativo" usada en referencia a un nivel basal de dicho criterio de valoración o parámetro clínico se refiere típicamente a un nivel basal establecido en una muestra del paciente o de una población de individuos que se cree que son normales (es decir, no infectados con Ad-36, sin sobrepeso, no obesos, no anómalos con respecto al criterio de valoración que se ensaye). En una realización, puede establecerse un nivel basal o control a partir de un individuo al inicio del tratamiento terapéutico o preventivo de modo que el estado del individuo pueda supervisarse a lo largo del tiempo y/o de modo que la eficacia de un protocolo terapéutico o profiláctico dado pueda evaluarse a lo largo del tiempo (de forma continua o intermitente). Un "control positivo" puede incluir cualquier control que confirme la detección positiva del parámetro o criterio de valoración clínico que se asocie con infección por Ad-36 y/u obesidad o exceso de peso, u otro criterio de valoración asociado.

Se conocen en la técnica métodos para la detección de virus Ad-36 y se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2007/120362, WO 2010 011440, WO 2007/064836 y WO 98/44946. La presencia de ADN vírico puede determinarse mediante métodos convencionales incluyendo, pero sin limitación, secuenciación de ADN, hibridación de oligonucleótidos o amplificación por PCR. También se ha descrito la detección de anticuerpos o proteínas de Ad-36 que se unen con anticuerpos de Ad-36 y dichos métodos están abarcados por la divulgación. La unión puede medirse usando una diversidad de métodos convencionales en la técnica, incluyendo, pero sin limitación: transferencia Western, inmunotransferencia, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), radioinmunoensayo (RIA), inmunoprecipitación, resonancia de plasmón superficial, quimioluminiscencia, polarización fluorescente, fosforescencia, análisis inmunohistoquímica, espectrometría de masas de desorción/ionización por láser asistida por matriz-tiempo de vuelo (MALDI-TOF), microcitometría, micromatriz, microscopia, separación de células activadas por fluorescencia (FACS) y citometría de flujo.

La presente divulgación incluye el suministro (administración, inmunización) de una composición inmunoterapéutica de la invención, incluyendo una composición de inmunoterapia basada en levadura, a un sujeto. El proceso de administración puede realizarse *ex vivo* o *in vivo*, pero típicamente se realiza *in vivo*. La administración *ex vivo* se refiere a realizar parte de la etapa reguladora fuera del paciente, tal como administrando una composición de la presente invención a una población de células (células dendríticas) retiradas de un paciente en condiciones tales que un vehículo de levadura, uno o más antígenos y cualquier otro agente o composición se carguen en la célula, y devolviendo las células al paciente. La composición terapéutica de la presente invención puede devolverse a un paciente, o administrarse a un paciente, por cualquier modo adecuado de administración.

La administración de una composición puede ser sistémica, a la mucosa y/o proximal a la ubicación del sitio diana (por ejemplo, cerca de un sitio de infección o tejido diana, tal como tejido adiposo). Las vías adecuadas de administración serán evidentes para los expertos en la materia, dependiendo del tipo de afección para prevenir o tratar, el antígeno usado y/o la población celular o tejido diana. Diversos métodos aceptables de administración incluyen, pero sin limitación, administración intravenosa, administración intraperitoneal, administración intramuscular, administración intraganglionar, administración intracoronaria, administración intraarterial (por ejemplo, en una arteria carótida), administración subcutánea, suministro transdérmico, administración intratraqueal, administración intraarticular, administración intraventricular, inhalación (por ejemplo, aerosol), administración intracraneal, intraespinal, intraocular, ótica, intranasal, oral, pulmonar, impregnación de un catéter e inyección directa en un tejido. En un aspecto, las vías de administración incluyen: intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica, intraganglionar, intramuscular, transdérmica, inhalada, intranasal, oral, intraocular, intraarticular, intracraneal e intravertebral. El suministro parenteral puede incluir vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intrapleural, intrapulmonar, intravenosa, subcutánea, por catéter auricular y catéter venoso. El suministro ótico puede incluir gotas para el oído, el suministro intranasal puede incluir gotas para la nariz o inyección intranasal y el suministro intraocular puede incluir colirios. El suministro por aerosol (inhalación) también puede realizarse usando métodos convencionales en la técnica, (véase, por ejemplo, Stribling *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 189:11277-11281,1992). Otras vías de administración que modulan la inmunidad de la mucosa pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones víricas. Dichas vías incluyen vías bronquial, intradérmica, intramuscular, intranasal, otra vía de inhalación, rectal, subcutánea, tópica, transdérmica, vaginal y uretral. En un aspecto, una composición inmunoterapéutica de la invención se administra por vía subcutánea. En un aspecto, la composición inmunoterapéutica se administra directamente al tejido adiposo.

Con respecto a las composiciones de inmunoterapia basadas en levadura de la invención, en general, una única dosis adecuada es una dosis que puede proporcionar de forma eficaz un vehículo de levadura y un antígeno (si se incluye) a un tipo celular, tejido o región dados del cuerpo del paciente en una cantidad eficaz para provocar una respuesta inmunitaria específica de antígeno contra uno o más antígenos o epítomos de Ad-36, cuando se administra una o más veces durante un periodo de tiempo adecuado. Por ejemplo, en una realización, una dosis única de un vehículo de levadura de la presente invención es de aproximadamente 1×10^5 a aproximadamente 5×10^7 equivalentes de células de levadura por kilogramo de peso corporal del organismo al que se está administrando la composición. En un aspecto, una dosis única de un vehículo de levadura de la presente invención es de aproximadamente 0,1 U.L. (1×10^6 células) a aproximadamente 100 U.L. (1×10^9 células) por dosis (es decir, por organismo), incluyendo cualquier dosis intermedia, en incrementos de $0,1 \times 10^6$ células (es decir $1,1 \times 10^6$, $1,2 \times 10^6$, $1,3 \times 10^6$...). En una realización, las dosis incluyen dosis entre 1 U.L. y 40 U.L. u 80 U.L. y en un aspecto, entre 10

U.L. y 40 U.L. u 80 U.L. En una realización, las dosis se administran en diferentes sitios en el individuo, pero durante el mismo periodo de dosificación. Por ejemplo, puede administrarse una dosis de 40 U.L. mediante inyección de dosis de 10 U.L. a cuatro sitios diferentes en el individuo durante un periodo de dosificación, o puede administrarse una dosis de 20 U.L. inyectando dosis de 5 U.L. a cuatro sitios diferentes en el individuo, o inyectando dosis de 10 U.L. a dos sitios diferentes en el individuo, durante el mismo periodo de dosificación. La invención incluye la administración de una cantidad de la composición de inmunoterapia basada en levadura (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 U.L. o más) a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más sitios diferentes en un individuo para formar una única dosis. Una unidad de levadura (U.L.) es 1×10^7 células de levadura.

- 5
- 10 Se administran "reforzadores" o "refuerzos" de una composición terapéutica, por ejemplo, cuando la respuesta inmunitaria contra el antígeno ha menguado o según lo necesario para proporcionar una respuesta inmunitaria o inducir una respuesta de memoria contra un antígeno o antígenos particulares. Los reforzadores pueden administrarse con un intervalo desde aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 semanas, hasta mensualmente, hasta bimensualmente, hasta trimestralmente, hasta anualmente, hasta varios años después de la administración original.
- 15 En una realización, una pauta de administración es una en que se administran de aproximadamente 1×10^5 a aproximadamente 5×10^7 equivalentes de células de levadura de una composición por kg de peso corporal del organismo al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más veces durante un periodo de tiempo desde semanas, hasta meses, hasta años. En una realización, las dosis se administran semanalmente para 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más dosis, seguidas por dosis mensuales según lo necesario para conseguir la inhibición o eliminación deseada del virus Ad-36.
- 20

En un aspecto de la divulgación, se administran uno o más agentes terapéuticos adicionales de forma secuencial con la composición de inmunoterapia basada en levadura (por ejemplo, un antivírico de acción directa, una composición nutracéutica, o similares). En otra realización, se administran uno o más agentes terapéuticos adicionales antes de administrar la composición de inmunoterapia basada en levadura. En otra realización, se administra uno o más agentes terapéuticos adicionales después de administrar la composición de inmunoterapia basada en levadura. En una realización, se administran uno o más agentes terapéuticos adicionales en dosis alternas con la composición de inmunoterapia basada en levadura, o en un protocolo en que la composición basada en levadura se administra a intervalos prescritos entre o con una o más dosis consecutivas de los agentes adicionales, o viceversa. En una realización, la composición de inmunoterapia basada en levadura se administra en una o más dosis durante un periodo de tiempo antes de comenzar la administración de los agentes adicionales. En otras palabras, la composición inmunoterapéutica basada en levadura se administra como una monoterapia durante un periodo de tiempo, y después se añade la administración del agente, de forma simultánea con nuevas dosis de inmunoterapia basada en levadura, o de un modo alterno con la inmunoterapia basada en levadura. Como alternativa, el agente puede administrarse durante un periodo de tiempo antes de empezar la administración de la composición de inmunoterapia basada en levadura. En un aspecto, la levadura se modifica técnicamente para expresar o portar el agente, o una levadura diferente se modifica técnicamente o se produce para expresar o portar el agente.

- 25
- 30 En el método de la presente divulgación, las composiciones y composiciones terapéuticas pueden administrarse a un animal, incluyendo cualquier vertebrado, y particularmente cualquier miembro de la clase de vertebrados, mamíferos, incluyendo, sin limitación, primates, roedores, ganado y mascotas domésticas. El ganado incluye mamíferos para consumir o que producen productos útiles (por ejemplo, ovejas para producción de lana). Los mamíferos para tratar o proteger incluyen seres humanos, perros, gatos, ratones, ratas, cabras, ovejas, ganado bovino, caballos y cerdos.
- 40
- 45

Un "individuo" es un vertebrado, tal como un mamífero, incluyendo sin limitación un ser humano. Los mamíferos incluyen, pero sin limitación, animales de granja, animales para el deporte, mascotas, primates, ratones y ratas. El término "individuo" puede usarse indistintamente con el término "animal", "sujeto" o "paciente".

- 50 *Técnicas generales útiles en la invención*

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique otra cosa, técnicas convencionales de biología molecular (incluyendo técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica, química de ácidos nucleicos e inmunología, que son bien conocidas por los expertos en la materia. Dichas técnicas se explican completamente en la bibliografía, tal como, *Methods of Enzymology*, Vol. 194, Guthrie *et al.*, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1990); *Biology and activities of yeasts*, Skinner, *et al.*, eds., Academic Press (1980); *Methods in yeast genetics: a laboratory course manual*, Rose *et al.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1990); *The Yeast Saccharomyces: Cell Cycle and Cell Biology*, Pringle *et al.*, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1997); *The Yeast Saccharomyces: Gene Expression*, Jones *et al.*, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1993); *The Yeast Saccharomyces: Genome Dynamics, Protein Synthesis, and Energetics*, Broach *et al.*, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1992); *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, segunda edición (Sambrook *et al.*, 1989) y *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, tercera edición (Sambrook y Russel, 2001), (conjuntamente denominado en este documento "Sambrook"); *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel *et al.*, eds., 1987, incluyendo los suplementos hasta 2001); RCP: *The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis *et al.*, eds., 1994); Harlow y Lane (1988), *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, Nueva York; Harlow y

- 60
- 65

Lane (1999) *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (conjuntamente denominado en este documento "Harlow y Lane"), Beaucage *et al.* eds., *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2000); Casarett and Doull's *Toxicology The Basic Science of Poisons*, C. Klaassen, ed., 6.^a edición (2001), y *Vaccines*, S. Plotkin, W. Orenstein y P. Offit, eds., Quinta Edición (2008).

Definiciones generales

Como se usa en el presente documento, el término "análogo" se refiere a un compuesto químico que es estructuralmente similar a otro compuesto, pero difiere ligeramente en la composición (como en el remplazo de un átomo por un átomo de un elemento diferente o en la presencia de un grupo funcional particular, o el remplazo de un grupo funcional por otro grupo funcional). Por tanto, un análogo es un compuesto que es similar o comparable en su función y aspecto, pero tiene una estructura u origen diferente con respecto al compuesto de referencia.

Las expresiones "sustituido", "derivado sustituido" y "derivado", cuando se usan para describir un compuesto, significan que al menos un hidrógeno unido al compuesto sin sustituir está remplazado con un átomo o un resto químico diferente.

Aunque un derivado tiene una estructura física similar al compuesto precursor, el derivado puede tener diferentes propiedades químicas y/o biológicas que el compuesto precursor. Dichas propiedades pueden incluir, pero sin limitación, actividad aumentada o disminuida del compuesto precursor, nueva actividad en comparación con el compuesto precursor, biodisponibilidad potenciada o disminuida, eficacia potenciada o disminuida, estabilidad potenciada o disminuida *in vitro* y/o *in vivo*, y/o propiedades de absorción potenciadas o disminuidas.

En general, la expresión "biológicamente activo" indica que un compuesto (incluyendo una proteína o péptido) tiene al menos una actividad detectable que tiene un efecto sobre los procesos metabólicos u otros procesos de una célula u organismo, medidos u observados *in vivo* (es decir, en un entorno fisiológico natural) o *in vitro* (es decir, en condiciones de laboratorio).

Según la presente invención, el término "modular" puede usarse indistintamente con "regular" y se refiere en general a regulación positiva o regulación negativa de una actividad particular. Como se usa en el presente documento, la expresión "regular positivamente" puede usarse en general para describir cualquiera de: provocar, iniciar, incrementar, aumentar, reforzar, mejorar, potenciar, amplificar, promover o proporcionar, con respecto a una actividad particular. De manera similar, la expresión "regular negativamente" puede usarse en general para describir cualquiera de: disminuir, reducir, inhibir, mejorar, menguar, minimizar, bloquear o prevenir, con respecto a una actividad particular.

En una realización de la presente invención, cualquiera de las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento puede producirse con al menos uno, y hasta aproximadamente 20, aminoácidos heterólogos adicionales que flanquean cada uno de los extremos C y/o N-terminales de la secuencia de aminoácidos especificada. Puede indicarse que la proteína o polipéptido resultante "consiste esencialmente en" la secuencia de aminoácidos especificada. Según la presente invención, los aminoácidos heterólogos son una secuencia de aminoácidos que no se encuentran de forma natural (es decir, no se encuentran en la naturaleza, *in vivo*) flanqueando la secuencia de aminoácidos especificada, o que no están relacionados con la función de la secuencia de aminoácidos especificada, o que no estarían codificados por los nucleótidos que flanquean la secuencia de ácido nucleico de origen natural que codifica la secuencia de aminoácidos específica según se produce en el gen, si dichos nucleótidos en la secuencia de origen natural se tradujeran usando el uso convencional de codones para el organismo del que se obtiene la secuencia de aminoácidos dada. De manera similar, la expresión "que consiste esencialmente en", cuando se usa con referencia a una secuencia de ácido nucleico en el presente documento, se refiere a una secuencia de ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos especificada que puede estar flanqueada por al menos uno y hasta aproximadamente 60, nucleótidos heterólogos adicionales en cada uno del extremo 5' y/o 3' de la secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos especificada. Los nucleótidos heterólogos no se encuentran de forma natural (es decir, no se encuentran en la naturaleza, *in vivo*) flanqueando la secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos especificada según se produce en el gen natural o no codifican una proteína que confiere ninguna función adicional a la proteína o cambia la función de la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos especificada.

Según la presente invención, la expresión "se une selectivamente a" se refiere a la capacidad de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno o compañero de unión de la presente invención de unirse preferentemente a proteínas especificadas. Más específicamente, la expresión "se une selectivamente" se refiere a la unión específica de una proteína a otra (por ejemplo, un anticuerpo, fragmento del mismo o compañero de unión para un antígeno), en donde el nivel de unión, medido por cualquier ensayo convencional (por ejemplo, un inmunoensayo), es estadísticamente significativamente mayor que el control de fondo para el ensayo. Por ejemplo, cuando se realiza un inmunoensayo, los controles típicamente incluyen un pocillo/tubo de reacción que contiene anticuerpo o fragmento de unión a antígeno solo (es decir, en ausencia de antígeno), en donde una cantidad de reactividad (por ejemplo, unión no específica al pocillo) por el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo en ausencia del antígeno

se considera el fondo. La unión puede medirse usando una diversidad de métodos convencionales en la técnica incluyendo inmunoensayos enzimáticos (por ejemplo, ELISA, ensayos de inmunotransferencia, etc.).

5 La referencia a una proteína o polipéptido usado en la presente invención incluye proteínas de longitud completa, proteínas de fusión o cualquier fragmento, dominio (estructural, funcional o inmunogénico), epítipo conformacional u homólogo de dichas proteínas. Una proteína aislada, según la presente invención, es una proteína (incluyendo un polipéptido o péptido) que se ha retirado de su medio natural (es decir, que se ha sometido a manipulación humana) y puede incluir proteínas purificadas, proteínas parcialmente purificadas, proteínas producidas de forma recombinante y proteínas producidas de forma sintética, por ejemplo. Por tanto, "aislado" no refleja el grado en que se ha purificado la proteína. Preferentemente, una proteína aislada de la presente invención se produce de forma recombinante. Según la presente invención, los términos "modificación" y "mutación" pueden usarse indistintamente, particularmente con respecto a las modificaciones/mutaciones de la secuencia de aminoácidos de las proteínas o partes de las mismas (o secuencias de ácido nucleico) descritas en el presente documento.

15 Como se usa en el presente documento, el término "homólogo" se usa para hacer referencia a una proteína o péptido que difiere de una proteína o péptido de origen natural (es decir, la proteína "prototipo" o "de tipo silvestre") por modificaciones menores de la proteína o péptido de origen natural, pero que mantiene la proteína básica y la estructura de cadena lateral de la forma de origen natural. Dichos cambios incluyen, pero sin limitación: cambios en una o varias cadenas laterales de aminoácidos; cambios en uno o varios aminoácidos, incluyendo supresiones (por ejemplo, una versión truncada de la proteína o péptido), inserciones y/o sustituciones; cambios en la estequiometría de uno o varios átomos; y/o derivatizaciones menores, incluyendo, pero sin limitación: metilación, glucosilación, fosforilación, acetilación, miristoilación, prenilación, palmitación, amidación y/o adición de glucosilfosfatidil inositol. Un homólogo puede tener propiedades potenciadas, disminuidas o sustancialmente similares en comparación con la proteína o péptido de origen natural. Un homólogo puede incluir un agonista de una proteína o un antagonista de una proteína. Pueden producirse homólogos usando técnicas conocidas en este campo para la producción de proteínas incluyendo, pero sin limitación, modificaciones directas de la proteína de origen natural aislada, síntesis directa de proteínas o modificaciones de la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína usando, por ejemplo, técnicas de ADN recombinante o clásicas para efectuar mutagénesis aleatoria o dirigida.

30 Un homólogo de una proteína dada puede comprender, consistir esencialmente en, o consistir en, una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente 45 %, o al menos aproximadamente 50 %, o al menos aproximadamente 55 %, o al menos aproximadamente 60 %, o al menos aproximadamente 65 %, o al menos aproximadamente 70 %, o al menos aproximadamente 75 %, o al menos aproximadamente 80 %, o al menos aproximadamente 85 %, o al menos aproximadamente 90 %, o al menos aproximadamente 95 % idéntica, o al menos aproximadamente 95 % idéntica, o al menos aproximadamente 96 % idéntica, o al menos aproximadamente 97 % idéntica, o al menos aproximadamente 98 % idéntica, o al menos aproximadamente 99 % idéntica (o cualquier porcentaje de identidad entre 45 % y 99 %, en incrementos de números enteros), a la secuencia de aminoácidos de la proteína de referencia. En una realización, el homólogo comprende, consiste esencialmente en o consiste en, una secuencia de aminoácidos que es menos de 100 % idéntica, menos de aproximadamente 99 % idéntica, menos de aproximadamente 98 % idéntica, menos de aproximadamente 97 % idéntica, menos de aproximadamente 96 % idéntica, menos de aproximadamente 95 % idéntica y así sucesivamente, en incrementos de 1 %, hasta menos de aproximadamente 70 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de origen natural de la proteína de referencia.

45 Como se usa en el presente documento, a menos que se especifique otra cosa, una referencia a un porcentaje (%) de identidad se refiere a una evaluación de la homología que se realiza usando: (1) una búsqueda de homología BLAST 2.0 Basic BLAST usando blastp para búsquedas de aminoácidos y blastn para búsquedas de ácido nucleico con parámetros por defecto convencionales, en donde la secuencia de consulta se filtra para regiones de baja complejidad por defecto (descrito en Altschul, S.F., Madden, T.L., Schääffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. y Lipman, D.J. (1997) "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs." Nucleic Acids Res. 25:3389-3402); (2) una alineación BLAST 2 (usando los parámetros descritos posteriormente); 50 (3) y/o PSI-BLAST con los parámetros por defecto convencionales (BLAST por iteraciones de posición específica). Se aprecia que debido a algunas diferencias en los parámetros convencionales entre BLAST 2.0 Basic BLAST y BLAST 2, podría reconocerse que dos secuencias específicas tienen homología significativa usando el programa BLAST 2, mientras que una búsqueda realizada en BLAST 2.0 Basic BLAST usando una de las secuencias como secuencia de consulta puede no identificar la segunda secuencia en las mejores coincidencias. Además, PSI-BLAST proporciona una versión automatizada, fácil de usar, de una búsqueda "de perfil", que es una manera sensible de buscar homólogos de secuencia. El programa en primer lugar realiza una búsqueda en base de datos de BLAST con huecos. El programa PSI-BLAST usa la información de cualquier alineación significativa devuelta para construir una matriz de valores específica de posición, que reemplaza la secuencia de consulta para la siguiente ronda de búsqueda en base de datos. Por lo tanto, debe entenderse que el porcentaje de identidad puede determinarse usando uno cualquiera de estos programas.

65 Las secuencias específicas pueden alinearse entre sí usando la secuencia BLAST 2 como se describe en Tatusova y Madden, (1999), "Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences", FEMS Microbiol Lett. 174:247-250. La alineación de secuencias BLAST 2 se realiza en blastp o blastn usando el algoritmo BLAST 2.0 para realizar una búsqueda de BLAST con huecos (BLAST 2.0) entre las dos secuencias permitiendo la

introducción de huecos (supresiones e inserciones) en la alineación resultante. Por razones de claridad en este documento, se realiza una alineación de secuencia BLAST 2 usando los siguientes parámetros por defecto convencionales.

5 Para blastn, usando la matriz 0 BLOSUM62:

Recompensa por coincidencia = 1
 Penalización por falta de coincidencia = -2
 Penalizaciones por abertura de hueco (5) y extensión de hueco (2)
 10 disminución por hueco x (50) expectativa (10) tamaño de palabra (11) filtro (activo)

Para blastp, usando la matriz 0 BLOSUM62:

15 Penalizaciones por abertura de hueco (11) y extensión de hueco (1)
 disminución por hueco x (50) expectativa (10) tamaño de palabra (3) filtro (activo).

Una molécula de ácido nucleico aislada es una molécula de ácido nucleico que se ha retirado de su medio natural (es decir, que se ha sometido a manipulación humana), siendo su medio natural el genoma o cromosoma en que se encuentra la molécula de ácido nucleico en la naturaleza. Por tanto, "aislada" no refleja necesariamente el grado en que se ha purificado la molécula de ácido nucleico, sino que indica que la molécula no incluye un genoma completo o un cromosoma completo en que se encuentra la molécula de ácido nucleico en la naturaleza. Una molécula de ácido nucleico aislada puede incluir un gen. Una molécula de ácido nucleico aislada que incluye un gen no es un fragmento de un cromosoma que incluye dicho gen, sino que en su lugar incluye la región codificante y regiones reguladoras asociadas con el gen, pero no genes adicionales que se encuentran de forma natural en el mismo cromosoma. Una molécula de ácido nucleico aislada también puede incluir partes de un gen. Una molécula de ácido nucleico aislada también puede incluir una secuencia de ácido nucleico específica flanqueada por (es decir, en el extremo 5' y/o 3' de la secuencia) ácidos nucleicos adicionales que no flanquean normalmente la secuencia de ácido nucleico específica en la naturaleza (es decir, secuencias heterólogas). La molécula de ácido nucleico aislada puede incluir ADN, ARN (por ejemplo, ARNm) o derivados de ADN o ARN (por ejemplo, ADNc). Aunque la expresión "molécula de ácido nucleico" se refiere principalmente a la molécula de ácido nucleico física y la expresión "secuencia de ácido nucleico" se refiere principalmente a la secuencia de nucleótidos en la molécula de ácido nucleico, las dos expresiones pueden usarse indistintamente, especialmente con respecto a una molécula de ácido nucleico, o una secuencia de ácido nucleico, que puede codificar una proteína o dominio de una proteína.

Una molécula de ácido nucleico recombinante es una molécula que puede incluir al menos una de cualquier secuencia de ácido nucleico que codifique una cualquiera o más proteínas descritas en este documento unida de forma operativa a al menos una de cualquier secuencia de control de la transcripción que pueda regular de forma eficaz la expresión de la molécula o moléculas de ácido nucleico en la célula para transfectar. Aunque la expresión "molécula de ácido nucleico" se refiere principalmente a la molécula de ácido nucleico física y la expresión "secuencia de ácido nucleico" se refiere principalmente a la secuencia de nucleótidos en la molécula de ácido nucleico, las dos expresiones pueden usarse indistintamente, especialmente con respecto a una molécula de ácido nucleico, o una secuencia de ácido nucleico, que puede codificar una proteína. Además, la expresión "molécula recombinante" se refiere principalmente a una molécula de ácido nucleico unida de forma operativa a una secuencia de control de la transcripción, pero puede usarse indistintamente con la expresión "molécula de ácido nucleico" que se administra a un animal.

Una molécula de ácido nucleico recombinante incluye un vector recombinante, que es cualquier secuencia de ácido nucleico, típicamente una secuencia heteróloga, que esté unida de forma operativa a la molécula de ácido nucleico aislada que codifica una proteína de fusión de la presente invención, que puede posibilitar la producción recombinante de la proteína de fusión, y que puede suministrar la molécula de ácido nucleico a la célula hospedadora según la presente invención. Dicho vector puede contener secuencias de ácido nucleico que no se encuentran de forma natural adyacentes a las moléculas de ácido nucleico aisladas para insertar en el vector. El vector puede ser de ARN o ADN, procariota o eucariota, y preferiblemente en la presente invención, es un virus o un plásmido. Los vectores recombinantes pueden usarse en la clonación, secuenciación y/o manipulación de otra manera de moléculas de ácido nucleico, y pueden usarse en el suministro de dichas moléculas (por ejemplo, como en una composición de ADN o una composición basada en vector vírico). Los vectores recombinantes se usan preferiblemente en la expresión de moléculas de ácido nucleico, y también pueden denominarse vectores de expresión. Los vectores recombinantes preferidos pueden expresarse en una célula hospedadora transfectada.

En una molécula recombinante de la presente invención, las moléculas de ácido nucleico se unen de forma operativa a vectores de expresión que contienen secuencias reguladoras tales como secuencias de control de la transcripción, secuencias de control de la traducción, orígenes de replicación y otras secuencias reguladoras que son compatibles con la célula hospedadora y que controlan la expresión de las moléculas de ácido nucleico de la presente invención. En particular, las moléculas recombinantes de la presente invención incluyen moléculas de ácido nucleico que están unidas de forma operativa a una o más secuencias de control de la expresión. La expresión "unida de forma operativa" se refiere a unir una molécula de ácido nucleico a una secuencia de control de la expresión de una

manera tal que la molécula se expresa cuando se transfecta (es decir, se transforma, transduce o transfecta) en una célula hospedadora.

Según la presente invención, el término "transfección" se usa para hacer referencia a cualquier método por el que pueda insertarse una molécula de ácido nucleico exógena (es decir, una molécula de ácido nucleico recombinante) en una célula. El término "transformación" puede usarse indistintamente con el término "transfección" cuando dicho término se usa para hacer referencia a la introducción de moléculas de ácido nucleico en células microbianas, tales como algas, bacterias y levaduras. En sistemas microbianos, el término "transformación" se usa para describir un cambio hereditario debido a la adquisición de ácidos nucleicos exógenos por el microorganismo y es esencialmente sinónimo del término "transfección." Por lo tanto, las técnicas de transfección incluyen, pero sin limitación, transformación, tratamiento químico de células, bombardeo de partículas, electroporación, microinyección, lipofección, adsorción, infección y fusión de protoplastos.

Los siguientes resultados experimentales se proporcionan con fines de ilustración y no se pretende que limiten el alcance de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Diseño y producción de producto inmunoterapéutico basado en levadura

El siguiente ejemplo describe el diseño y producción de varias composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura diferentes para el tratamiento o prevención de la infección por adenovirus-36 (Ad-36).

En estos experimentos, se modificaron técnicamente levaduras (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*) para que expresaran diversas proteínas de fusión de Ad-36 bajo el control del promotor inducible por cobre, *CUP1*, o el promotor *TEF2*. Brevemente, para producir cada uno de los productos inmunoterapéuticos basados en levadura en este Ejemplo, se preparó ADN que codificaba antígeno de Ad-36 como se expone para cada proteína de fusión posteriormente, se optimizaron sus codones para expresión en levadura y después se digirió con *SpeI* y *NotI* y se insertó detrás del promotor *CUP1* (pGI-100) o el promotor *TEF2* (pTK57-1), como se indica para cada construcción posteriormente, en vectores de expresión de 2 µm de levadura. Los plásmidos resultantes se introdujeron en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* W303α por transfección con acetato de litio/poli-etilenglicol, y se seleccionaron los transfectantes primarios en placas mínimas sólidas que carecían de uracilo (UDM; medio de retirada de uridina). Otras cepas de levadura, especies de levadura o géneros de levadura pueden usarse en productos inmunoterapéuticos basados en levadura de la invención; *Saccharomyces cerevisiae* W303α es una cepa ejemplar. Las colonias se volvieron a sembrar en estrías en UDM o ULDM (medio de retirada de uridina y leucina) y se dejaron crecer durante 3 días a 30° C. Se inocularon cultivos líquidos que carecían de uridina (U2) o que carecían de uridina y leucina (UL2) desde placas y se dejaron crecer cultivos de inicio durante 20 h a 30 °C, 250 rpm. Si se desea, aunque no se ha usado para estos experimentos, puede inocularse medio de pH tamponado que contiene 4,2 g/l de Bis-Tris (BT-U2; BT-UL2). Los cultivos primarios se usaron para inocular cultivos finales de la misma formulación y se continuó el crecimiento hasta que se alcanzó una densidad de 1,1 a 4,0 U.L./ml.

Para cepas de *TEF2* (expresión constitutiva), después se recogieron células, se lavaron y se termoinactivaron a 56 °C durante 1 h en PBS. Para cepas de *CUP1* (expresión inducible), se indujo expresión en el mismo medio con sulfato de cobre 0,375 mM durante 5 h a 30 °C, 250 rpm. Se recogieron células, se lavaron y se termoinactivaron a 56 °C durante 1 h en PBS.

Después de la termoinactivación de cultivos de *TEF2* y *CUP1*, las células se lavaron tres veces con PBS. La expresión total de proteínas se midió mediante un ensayo de precipitación de TCA/unión de nitrocelulosa y se midió la expresión de proteínas de fusión de Ad-36 mediante transferencia Western usando un anticuerpo monoclonal antimarcador his (véase Figs. 1 y 2). Como se describe a continuación, las Figs. 1 y 2 mostraron que la composición de inmunoterapia basada en levadura de la invención expresó la proteína de fusión de Ad-36 bien usando ambos promotores, y usando dos secuencias N-terminales en las proteínas de fusión (SEQ ID NO: 56 o SEQ ID NO: 58) y se identificaron fácilmente mediante transferencia Western.

Receta para medio líquido U2:

- 20 g/l de glucosa
- 6,7 g/l de base nitrogenada de levadura que contiene sulfato de amonio
- 0,04 mg/ml de cada uno de histidina, leucina, triptófano y adenina

Receta para medio líquido UL2:

- 20 g/l de glucosa
- 6,7 g/l de base nitrogenada de levadura que contiene sulfato de amonio

- 0,04 mg/ml de cada uno de histidina, triptófano y adenina

Se produjeron varios productos inmunoterapéuticos basados en levadura que expresaban proteínas de fusión de Ad-36 en este experimento. Un producto inmunoterapéutico basado en levadura, indicado en la Fig. 1 como "FIB", se diseñó para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes seleccionadas de la proteína de fibra de Ad-36 (la proteína de fibra de Ad-36 completa está representada por la SEQ ID NO: 34), fusionada en su extremo N con un péptido sintético representado por la SEQ ID NO: 58. Se modificaron técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresaran esta proteína bajo el control del promotor *TEF2*. La proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 42: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 42); (2) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-72 de la SEQ ID NO: 42; (3) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 73-97 de la SEQ ID NO: 42; (4) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 98-194 de la SEQ ID NO: 42; (5) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 195-224 de la SEQ ID NO: 42; y (6) un marcador de hexahistidina (posiciones 225-230 de la SEQ ID NO: 42). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio. Se optimizaron los codones de la secuencia de ácido nucleico que codificaba la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 42 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresaba esta proteína de fusión se produjo como se ha descrito anteriormente.

La expresión de esta proteína de fusión de fibra de Ad-36 en levadura se muestra en la Fig. 1 (FIB). El nivel de expresión estimado de la proteína de fusión fue de 1704 ng/U.L.

Otro producto inmunoterapéutico basado en levadura, indicado en la Fig. 2 como "aFL-Fib" se diseñó para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes de la proteína de fibra de Ad-36 (la proteína de fibra de Ad-36 completa está representada por la SEQ ID NO: 34) fusionada en su extremo N con un líder de señal de factor alfa de levadura (SEQ ID NO: 56). Se modificaron técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresaran esta proteína bajo el control del promotor *CUP1*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 48: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 48); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 48); (3) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-157 de la SEQ ID NO: 48; (4) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 158-182 de la SEQ ID NO: 48; (5) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 183-279 de la SEQ ID NO: 48; (6) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 280-309 de la SEQ ID NO: 48; y (7) un marcador de hexahistidina (posiciones 310-315 de la SEQ ID NO: 48). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; el ejemplo proporcionado en el presente documento es ejemplar. Se optimizaron los codones de la secuencia de ácido nucleico que codificaba la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 48 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresaba esta proteína de fusión se produjo como se ha descrito anteriormente.

La expresión de esta proteína de fusión de fibra de Ad-36 en levadura se muestra en la Fig. 2 (aFL-FIB). El nivel de expresión estimado de la proteína de fusión fue de 14.854 ng/U.L.

Otro producto inmunoterapéutico basado en levadura, indicado en la Fig. 1 como "HEX", se diseñó para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes de la proteína de hexón de Ad-36 (la proteína de hexón de Ad-36 completa está representada por la SEQ ID NO: 18) fusionada en su extremo N con un péptido sintético representado por la SEQ ID NO: 58. Se modificaron técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresaran esta proteína bajo el control del promotor *TEF2*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 43: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 43); (2) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-89 de la SEQ ID NO: 43; (3) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 90-141 de la SEQ ID NO: 43;

(4) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 142-153 de la SEQ ID NO: 43; (5) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 154-194 de la SEQ ID NO: 43; y (6) un marcador de hexahistidina (posiciones 195-200 de la SEQ ID NO: 43). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio. Se optimizaron los codones de la secuencia de ácido nucleico que codificaba la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 43 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresaba esta proteína de fusión se produjo como se ha descrito anteriormente.

La expresión de esta proteína de fusión de hexón de Ad-36 en levadura se muestra en la Fig. 1 (HEX). El nivel de expresión estimado de esta proteína fue de 1981 ng/U.L.

Otro producto inmunoterapéutico basado en levadura, indicado en la Fig. 2 como "aFL-Hexón" se diseñó para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes de la proteína de hexón de Ad-36 (la proteína de hexón de Ad-36 completa está representada por la SEQ ID NO: 18) fusionada con una secuencia señal líder de factor alfa de levadura (SEQ ID NO: 56). Se modificaron técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresaran esta proteína bajo el control del promotor *CUP1*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 50: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 50); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 50); (3) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-174 de la SEQ ID NO: 50; (4) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 175-226 de la SEQ ID NO: 50; (5) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 227-238 de la SEQ ID NO: 50; (6) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 239-279 de la SEQ ID NO: 50; y (7) un marcador de hexahistidina (posiciones 280-285 de la SEQ ID NO: 50). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio. Se optimizaron los codones de la secuencia de ácido nucleico que codificaba la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 50 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresaba esta proteína de fusión se produjo como se ha descrito anteriormente.

La expresión de esta proteína de fusión de hexón de Ad-36 en levadura se muestra en la Fig. 2 (aFL-Hexón). El nivel de expresión estimado de esta proteína fue de 19.695 ng/U.L.

Otro producto inmunoterapéutico basado en levadura, indicado en la Fig. 2 como "aFL-Hexón-F", se diseñó para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende la proteína de hexón de Ad-36 de longitud completa (la proteína de hexón completa está representada por la SEQ ID NO: 18) fusionada en su extremo N con secuencia líder de factor alfa de levadura (SEQ ID NO: 56). Se modificaron técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresaran esta proteína bajo el control del promotor *TEF2*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 52: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 52); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 52); (3) las posiciones 2-944 de hexón de Ad-36 (posiciones 2-944 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-1034 de la SEQ ID NO: 52; y (3) un marcador de hexahistidina (posiciones 1035-1040 de la SEQ ID NO: 52). Esta construcción contiene epítopos del MHC de clase I demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 204-214 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 404-412 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 795-803 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 928-936 de la SEQ ID NO: 52; o posiciones 994-1000 de la SEQ ID NO: 52) y epítopos del MHC de clase II demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 100-110 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 116-126 de la SEQ ID NO: 52; 406-420 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 458-468 de la SEQ ID NO: 52; posiciones 792-803 de la SEQ ID NO: 52; o posiciones 947-957 de la SEQ ID NO: 52). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio. Se optimizaron los codones de la secuencia de ácido nucleico que codificaba la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 44 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresaba esta proteína de fusión se produjo como se ha descrito anteriormente.

La expresión de esta proteína de fusión de hexón de Ad-36 en levadura se muestra en la Fig. 2 (aFL-Hexón-F). El nivel de expresión estimado de esta proteína fue de 25.315 ng/U.L.

Otro producto inmunoterapéutico basado en levadura, indicado en la Fig. 1 como "CRAG", se diseñó para expresar

una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes de las proteínas CR1 α y CR1 γ de Ad-36 (la proteína CR1 α completa está representada por la SEQ ID NO: 26 y la proteína CR1 γ completa está representada por la SEQ ID NO: 29), fusionada en su extremo N con un péptido sintético representado por la SEQ ID NO: 58. Se modificaron técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresaran esta proteína bajo el control del promotor *TEF2*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 47: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 47); (2) las posiciones 18-60 de CR1 α (posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-49 de la SEQ ID NO: 47; (3) las posiciones 123-157 de CR1 α de Ad-36 (posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 50-84 de la SEQ ID NO: 47; (4) las posiciones 19-60 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 85-126 de la SEQ ID NO: 47; (5) las posiciones 83-116 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 127-160 de la SEQ ID NO: 47; y (6) un marcador de hexahistidina (posiciones 161-166 de la SEQ ID NO: 47). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio. Se optimizaron los codones de la secuencia de ácido nucleico que codificaba la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 43 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresaba esta proteína de fusión se produjo como se ha descrito anteriormente.

La expresión de esta proteína de fusión de CR1 α -CR1 γ de Ad-36 se muestra en la Fig. 1 (CRAG). El nivel de expresión estimado de esta proteína fue de 3341 ng/U.L.

Otro producto inmunoterapéutico basado en levadura, indicado como "aFL-CRAG" en la Fig. 2, se diseñó para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes de las proteínas CR1 α y CR1 γ de Ad-36 (la proteína CR1 α completa está representada por la SEQ ID NO: 26 y la proteína CR1 γ completa está representada por la SEQ ID NO: 29), fusionada en su extremo N con secuencia líder de factor alfa de levadura (SEQ ID NO: 56). Se modificaron técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresaran esta proteína bajo el control del promotor *CUP1*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 54: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar o potenciar la expresión (SEQ ID NO: 56 o posiciones 1 a 89 de la SEQ ID NO: 54); (2) un espaciador/conector de dos aminoácidos (Thr-Ser) para facilitar la clonación y manipulación de las secuencias (posiciones 90 a 91 de la SEQ ID NO: 54); (3) las posiciones 18-60 de CR1 α (posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 92-134 de la SEQ ID NO: 54; (4) las posiciones 123-157 de CR1 α de Ad-36 (posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 135-169 de la SEQ ID NO: 54; (5) las posiciones 19-60 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 170-211 de la SEQ ID NO: 54; (6) las posiciones 83-116 de CR1 γ de Ad-36 (posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 212-245 de la SEQ ID NO: 54; y (7) un marcador de hexahistidina (posiciones 246-251 de la SEQ ID NO: 54). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio. Se optimizaron los codones de la secuencia de ácido nucleico que codificaba la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 54 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresaba esta proteína de fusión se produjo como se ha descrito anteriormente. La expresión de esta proteína de fusión de CR1 α -CR1 γ de Ad-36 se muestra en la Fig. 2 (aFL-CRAG). El nivel de expresión estimado de esta proteína fue de 16.154 ng/U.L.

Los inventores han diseñado composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura adicionales y estas se producen usando los mismos protocolos descritos anteriormente. Por ejemplo, se diseña otro producto inmunoterapéutico basado en levadura para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende la proteína de hexón de Ad-36 de longitud completa (la proteína de hexón completa está representada por la SEQ ID NO: 18), fusionada en su extremo N con un péptido sintético representado por la SEQ ID NO: 58. Se modifican técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresen esta proteína bajo el control del promotor *TEF2* o *CUP1*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 44: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 44); (2) las posiciones 2-944 de hexón de Ad-36 (posiciones 2-944 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-949 de la SEQ ID NO: 44; y (3) un marcador de hexahistidina (posiciones 950-955 de la SEQ ID NO: 44). Esta construcción contiene epítopos del MHC de clase I demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 119-129 de la SEQ ID NO:44; posiciones 319-327 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 710-718 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 843-851 de la SEQ ID NO: 44; o posiciones 909-915 de la SEQ ID NO:44) y epítopos del MHC de clase II demostrados o potenciales (por ejemplo, las posiciones 15-25 de la SEQ ID NO:44; posiciones 31-41 de la SEQ ID NO: 44; 321-335 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 373-383 de la SEQ ID NO: 44; posiciones 707-718 de la SEQ ID NO: 44; o posiciones 862-872 de la SEQ ID NO: 44). Los segmentos de

aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; el ejemplo proporcionado en el presente documento es ejemplar. Se optimizan los codones de una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 44 para expresión en levadura, y un producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresa esta proteína de fusión se produce como se ha descrito anteriormente.

Se diseña otro producto inmunoterapéutico basado en levadura para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes de las proteínas de fibra y hexón de Ad-36 (proteína completa representada por la SEQ ID NO: 34 (fibra) y la SEQ ID NO: 18 (hexón)), fusionado en su extremo N con un péptido sintético representado por la SEQ ID NO: 58. Se modifican técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresen esta proteína bajo el control del promotor *TEF2* o *CUP1*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 45: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 45); (2) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-72 de la SEQ ID NO: 45; (3) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 73-97 de la SEQ ID NO: 45; (4) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 98-194 de la SEQ ID NO: 45; (5) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 195-224 de la SEQ ID NO: 45; (6) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 225-307 de la SEQ ID NO: 45; (7) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 308-359 de la SEQ ID NO: 45; (8) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 360-371 de la SEQ ID NO: 45; (9) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 372-412 de la SEQ ID NO: 45; y (10) un marcador de hexahistidina (posiciones 413-418 de la SEQ ID NO: 45). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; el ejemplo proporcionado en el presente documento es ejemplar. Se optimizan los codones de una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 45 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresa esta proteína de fusión se produce como se ha descrito anteriormente.

Se diseña otro producto inmunoterapéutico basado en levadura para expresar una proteína de fusión de Ad-36 como un único polipéptido que comprende partes de las proteínas de hexón y fibra de Ad-36 (proteína completa representada por la SEQ ID NO: 18 (hexón) y la SEQ ID NO: 34 (fibra)) fusionada en su extremo N con un péptido sintético representado por la SEQ ID NO: 58. Se modifican técnicamente *Saccharomyces cerevisiae* para que expresen esta proteína bajo el control del promotor *TEF2* o *CUP1*. Esta proteína de fusión tiene los siguientes elementos de secuencia fusionados en fase desde el extremo N al C, representados por la SEQ ID NO: 46: (1) un péptido N-terminal para conferir resistencia a degradación por el proteasoma y estabilizar la expresión (posiciones 1 a 6 de la SEQ ID NO: 46); (2) las posiciones 136-218 de hexón de Ad-36 (posiciones 136-218 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 7-89 de la SEQ ID NO: 46; (3) las posiciones 235-285 de hexón de Ad-36 (posiciones 235-285 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 90-141 de la SEQ ID NO: 46; (4) las posiciones 297-308 de hexón de Ad-36 (posiciones 297-308 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 142-153 de la SEQ ID NO: 46; (5) las posiciones 410-450 de hexón de Ad-36 (posiciones 410-450 de la SEQ ID NO: 18 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 154-194 de la SEQ ID NO: 46; (6) las posiciones 71-136 de fibra de Ad-36 (posiciones 71-136 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 195-260 de la SEQ ID NO: 46; (7) las posiciones 145-169 de fibra de Ad-36 (posiciones 145-169 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 261-285 de la SEQ ID NO: 46; (8) las posiciones 290-313 de fibra de Ad-36 (posiciones 290-313 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 286-382 de la SEQ ID NO: 46; (9) las posiciones 334-363 de fibra de Ad-36 (posiciones 334-363 de la SEQ ID NO: 34 o una secuencia correspondiente de otra cepa o aislado de Ad-36), correspondientes a las posiciones 383-412 de la SEQ ID NO: 46; y (10) un marcador de hexahistidina (posiciones 413-418 de la SEQ ID NO: 46). Los segmentos de aminoácidos usados en esta proteína de fusión pueden modificarse mediante el uso de aminoácidos adicionales que flanquean uno de los extremos de cualquier dominio; el ejemplo proporcionado en el presente documento es ejemplar. Se optimizan los codones de una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la SEQ ID NO: 46 para expresión en levadura, y el producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresa esta proteína de fusión se produce como se ha descrito anteriormente.

Ejemplo 2**Infección/replicación de Ad-36 en células madre de rata y células A549**

5 El siguiente ejemplo describe la capacidad de Ad-36 para infectar preadipocitos primarios y células A549. Este experimento demuestra que la reserva vírica que se pretende usar en experimentos *in vivo* descritos en los ejemplos posteriores es biológicamente activa y puede infectar células diana de relevancia *in vitro*. Ad-36 es un virus de ADN y carece de ARNm. No se produce transcripción de genes de Ad-36 en ARNm a no ser que el virus haya infectado una célula hospedadora de mamífero. La presencia de ARNm de Ad-36 en las células diana es por lo tanto una
10 prueba directa de infección y replicación vírica.

Se añadió reserva vírica de Ad-36 purificada a células madre procedentes de tejido adiposo de rata (ASC) y a células A549 (línea celular de carcinoma de pulmón humano que es una célula hospedadora natural para adenovirus humanos) en cultivo a una multiplicidad de infección (MOI) de 5. Quince horas después de la adición vírica, se aisló
15 ARN total de las células diana y se sometió a PCR de transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) con SYBR green fluorescente diseñado para medir específicamente la tasa de amplificación por PCR de E1A, E4 orf1 y ARNm de Hexón. La expresión relativa de estos genes se determinó para dianas infectadas con simulación o infectadas por Ad-36. Los resultados, mostrados en la Fig. 3 (ASC) y la Fig. 4 (A549) muestran que los genes de E1A y Hexón se expresaron en ambas dianas celulares y que E4 Orf1 se expresó específicamente en células A549. La expresión
20 génica requirió la adición de Ad-36, ya que las células infectadas con simulación solamente mostraron niveles de fondo de señal en todas las reacciones.

Ejemplo 3**25 Estudio piloto de ratas-cinética de Ad36 e infección de tejidos adiposos viscerales**

El siguiente ejemplo describe la capacidad de la reserva de Ad-36 para infectar ratas *in vivo* y evalúa: i) la dosis óptima de Ad-36 que da lugar a inoculación vírica con éxito, conocida de otro modo como 'toma vírica'; ii) la cinética de la fase virémica sanguínea de infección; iii) la capacidad del virus para infectar el tejido adiposo visceral.
30

Antes de la presente invención, hasta donde alcanza el conocimiento de los inventores, no ha habido ningún experimento de cinética o dosificación o estudios de localización de grasas disponibles que fuera suficientemente robusto para establecer un modelo animal óptimo de infección por Ad-36 que fuera útil para evaluar la eficacia de la vacuna profiláctica y terapéutica. En consecuencia, los siguientes experimentos se diseñaron para proporcionar esta información y para establecer un modelo relevante y útil para estudiar la infección por Ad-36 (aguda y crónica). Brevemente, las ratas se inyectaron de forma intraperitoneal con PBS solamente o partículas víricas de Ad-36 purificadas a 3 dosis (10^7 , 10^8 o 10^9 unidades formadoras de placas (UFP)), según el protocolo mostrado en la Tabla 2. Se tomaron muestras de sangre de ratas los días 0 (antes de la exposición) y los días 1 después de la exposición (20 h) y los días 2 y 4 después de la exposición. Se preparó ADN de virus de 100 ml de plasma usando el kit de virus QIAAMP® MINELUTE® (Qiagen), y el nivel de ADN vírico se estimó mediante PCR cuantitativa (qPCR) en tiempo real que presentaba una sonda específica de ADN de hexón de Ad-36. Se obtuvieron estimaciones del número de copias víricas mediante interpolación frente a una curva patrón producida con plásmido de hexón purificado de número de copias conocido. A las dos semanas después de la exposición, las ratas se sacrificaron, se disecó la grasa visceral y se aisló ADN total del tejido graso usando un método de precipitación de proteinasa K/isopropanol.
45 El ADN se sometió a PCR de dos ciclos anidada que presenta cebadores de PCR específicos de ADN de hexón.

Tabla 2

Grupo	N.º de ratas	Dosis de Ad36 (UFP)	P.V. totales inyectadas	Vía	Extracciones sanguíneas (días después de la exposición)				Diseción de grasa corporal
					d0	d1	d2	d4	
A	2	0	0	i.p.	d0	d1	d2	d4	d14
B	2	10^7	$2,3 \times 10^9$	i.p.	d0	d1	d2	d4	d14
C	2	10^8	$2,3 \times 10^{10}$	i.p.	d0	d1	d2	d4	d14
D	2	10^9	$2,3 \times 10^{11}$	i.p.	d0	d1	d2	d4	d14

Se proporcionan resultados que muestran las copias de partículas víricas (P.V.) por ml de sangre a cada nivel de infección vírica en la Fig. 5 (Grupo A; control de simulación); Fig. 6 (Grupo B; 10^7 UFP de Ad-36); Fig. 7 (Grupo C; 10^8 UFP de Ad-36); y Fig. 8 (Grupo D; 10^9 UFP de Ad-36). La Fig. 9 muestra los resultados de PCR para detectar hexón de Ad-36 en grasa visceral. En conjunto, los resultados de estos experimentos demuestran que: 1) el nivel de virus Ad-36 en la sangre determinado por qPCR de hexón es máximo a la dosis de 10^9 UFP, y a las 20 h después de la exposición; y 2) el virus Ad-36 está presente en el tejido adiposo visceral de todas las ratas a las 2 semanas después de la exposición a las dosis de 10^8 y 10^9 UFP, mientras que a la dosis de 10^7 UFP, el virus fue detectable de forma robusta en el tejido adiposo de solamente una de las dos ratas. Estos datos muestran que la reserva de
55

Ad-36 purificado que se ha mostrado que infecta preadipocitos primarios en cultivo en el Ejemplo 2 también es infecciosa *in vivo* y confirman informes publicados (por ejemplo, Pasarica *et al*, 2008) de que Ad-36 infecta tejidos adiposos viscerales. Ya que los niveles máximos de viremia se produjeron con inyección de 10^9 UFP (véase Fig. 8), esta dosis se seleccionó para exposición de ratas en los experimentos de vacunación de inmunoterapia basada en levadura descritos en los siguientes ejemplos. En consecuencia, estos datos se usaron para establecer un sistema modelo de rata optimizado de infección por Ad-36 para el ensayo de vacunas profilácticas y terapéuticas (inmunoterapia).

Ejemplo 4

Efecto de la administración profiláctica de Tarmogens de Ad-36 en el modelo de rata de infección por Ad-36

El siguiente ejemplo describe el uso de productos inmunoterapéuticos de adenovirus 36 (Ad-36) basados en levadura en modelo profiláctico de rata de obesidad relacionada con adenovirus.

En la bibliografía se ha estudiado un modelo de rata (Dhurandhar *et al*, Obesity 11:1905, 2006) en el que ratas infectadas por Ad36 obtuvieron un peso corporal y peso de panículos adiposos significativamente mayores a las 30 semanas después de la inoculación que ratas de control infectadas con simulación. Los pesos de los panículos adiposos epidídimo-inguinal, retroperitoneal y visceral del grupo infectado fueron mayores que los de las ratas de control de PBS en 60 %, 46 % y 86 %, respectivamente ($p < 0,00001$). Los presentes inventores han mejorado este modelo de rata para los fines de evaluar vacunas profilácticas y terapéuticas, como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 3.

El siguiente experimento describe un estudio para determinar si la administración profiláctica de las composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura descrita en el Ejemplo 1 previene o reduce el grado o la tasa de aumento de peso inducido por Ad-36.

Se inmunizaron cohortes de ratas ($n=18$ /grupo) por vía subcutánea (s.c.) con composiciones inmunoterapéuticas de Ad-36 basadas en levadura (vacunas), administradas en cuatro sitios diferentes con 20 millones de células de levadura (2 U.L.) en 0,1 ml por sitio. En estos experimentos, se usaron dos composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura diferentes. "Ad-aFL-CRAG" es el producto inmunoterapéutico basado en levadura descrito en el Ejemplo 1 anterior que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende antígenos de CR1 α y CR1 γ de Ad-36, teniendo estos antígenos una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 55, que se une en el extremo N con una secuencia líder de factor alfa, para formar una proteína de fusión completa que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54. "Ad-aFL-HEX-Completo" es el producto inmunoterapéutico basado en levadura descrito en el Ejemplo 1 anterior que expresa una proteína de fusión de Ad-36 que comprende un antígeno de hexón de longitud casi completa, teniendo el antígeno una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53, que se une en el extremo N con una secuencia líder de factor alfa, para formar una proteína de fusión completa que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52. La dosificación fue una vez por semana durante 3 semanas y después, tras un descanso de dos semanas, las ratas se expusieron por vía intraperitoneal a Ad-36 (10^9 UFP), que se estableció en el Ejemplo 3 que es una dosis vírica óptima para evaluar la infección por Ad-36. Después se realizó inmunización una vez a la semana durante hasta 30 semanas después de la exposición. Las cohortes experimentales se muestran en la Tabla 3. Los grupos de control adicionales incluyen un grupo de ratas que reciben solamente PBS (sin tratamiento previo o "PBS") y un grupo de ratas inmunizadas con composiciones de levadura de control (levadura de "vector vacío" o "YVEC", que son levaduras transfectadas con un vector que no contiene un inserto de antígeno; es decir, estas levaduras no expresan un antígeno o antígenos de Ad-36).

Tabla 3

Grupo	Inmunización preexposición	Exposición	Inmunización postexposición
A	PBS	PBS	PBS
B	PBS	Ad-36	PBS
C	YVEC	Ad-36	YVEC
D	Levadura-Ad-aFL-CRAG	Ad-36	Ad-aFL-CRAG
E	Levadura-Ad-aFL-HEX-Completo	Ad-36	Ad-aFL-HEX-Completo

Los animales se pesaron antes de la inmunización, antes de la exposición vírica y después bisemanalmente durante aproximadamente 30 semanas después de inoculación con virus. A lo largo del estudio se supervisaron el consumo de alimento y agua. Se recogió sangre en el momento basal, antes de la exposición vírica y semanalmente después de la exposición vírica para supervisar el ADN de Ad-36, colesterol, niveles de triglicéridos, corticosterona, anticuerpos neutralizantes para Ad-36 y otros parámetros (véase Ejemplo 5). Se realiza ensayo de tolerancia a la glucosa a intervalos seleccionados y también se miden los niveles de glucosa en orina. Se obtuvo sangre (500 μ l por

punto temporal) con anestesia de isofluroano de la vena de la cola. Al final del estudio, los animales se sacrificaron y se recoge tejido adiposo para medir los niveles víricos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). También puede realizarse PCR en biopsias obtenidas durante el transcurso del estudio.

- 5 Este experimento se realizó en ratas Wistar exogámicas. Si, como se esperaba, el aumento de peso se previene o se reduce (o la tasa de aumento de peso se reduce) en ratas inmunizadas con inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura en comparación con ratas de control, se evaluarán ratas Wistar Furth endogámicas según el mismo protocolo o uno similar, ya que se esperaba que la rata fuera más susceptible a evaluación de la inmunidad de linfocitos T. También pueden realizarse experimentos adicionales para determinar el efecto de la dieta u otros factores junto con inmunoterapia (por ejemplo, administrando una dieta alta en grasa frente a una dieta normal).

15 La inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura se considera activa en este estudio si provoca, en comparación con controles de levadura de vector vacío o PBS, tendencias notables hacia la normalización de o resultado beneficioso (más sano, menos característico de obesidad o de tener o llegar a sobrepeso) en uno cualquiera o más de los siguientes parámetros para ratas infectadas por Ad-36: i) peso corporal o tasa de aumento de peso corporal; ii) porcentaje de grasa corporal o índice de masa corporal); iii) frecuencia o título de anticuerpos neutralizantes; iv) niveles de colesterol; v) triglicéridos en suero vi) corticosterona en suero; vii) niveles de glucosa en sangre y/u orina; viii) tolerancia a la glucosa; ix) título vírico de Ad-36 en sangre. Algunos de estos parámetros ya se han observado como indicadores positivos de la eficacia de inmunoterapia basada en levadura dirigida a Ad-36 en ratas inmunizadas (véase el siguiente análisis) a las 18 semanas después de la exposición, y se cree que muestran que la inmunoterapia basada en levadura que se dirige a Ad-36 es eficaz para reducir la tasa de aumento de peso de una manera específica de antígeno. Se espera que al final del estudio a las 30 semanas cuando el fenotipo inducido por Ad-36 surja completamente, los resultados demostrarán que la inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura es eficaz para reducir y/o prevenir el aumento de peso, reducir la tasa de aumento de peso y/o reducir o prevenir la adiposidad en ratas infectadas con Ad-36 de una manera específica de antígeno o específica de Ad-36, y esto puede estar acompañado de cambios en los parámetros bioquímicos mencionados, dada su asociación conocida con el fenotipo de obesidad.

30 Como se ha analizado anteriormente, el presente estudio está actualmente en la semana 18 después de la exposición vírica. No se anticipa que el aumento de peso inducido por virus en ratas de control sea medible en este punto temporal temprano basándose en el trabajo de Dhurandhar (Dhurandhar *et al* 2006). De acuerdo con esta expectativa, los datos de aumento de peso hasta la semana 18 muestran que la exposición a Ad-36 aún no ha provocado aumento de peso por encima de las ratas de control a las que se ha inyectado PBS. Sin embargo, el grupo de inmunización de aFL-CRAG Tarmogen ya tiene un aumento de peso general menor que ratas en los otros grupos, como se muestra en las Figs. 10, 11 y 12. Específicamente, la Fig. 10 es un diagrama de dispersión que muestra ratas individuales en cada uno de los grupos de inmunización, y que revela una clara tendencia en los grupos de inmunoterapia basados en levadura, y particularmente en las ratas inmunizadas con un producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresa CR1 α y CR1 γ de Ad-36, hacia una menor tasa de aumento de peso en comparación con ratas inmunizadas solamente con PBS (PBS) o con el control de levadura de "vector vacío" (YVEC). La Fig. 11 muestra la mediana del aumento de peso para cada grupo de animales a lo largo del tiempo. De nuevo, la tasa de aumento de peso reducida en comparación con controles en las ratas inmunizadas con producto inmunoterapéutico basado en levadura que expresa CR1 α y CR1 γ Ad-36 es evidente. La Fig. 12 ilustra dos puntos temporales individuales (4 semanas después de la exposición vírica y 12 semanas después de la exposición vírica) y, de nuevo, la tasa de aumento de peso reducida en ratas inmunizadas con inmunoterapia de Ad-36 de levadura en comparación con el control de PBS es evidente (los valores de p son relativos al control de PBS). Las barras de error en la Fig. 12 se generan basándose en la comparación con el grupo de control, inmunizado con PBS, expuesto al virus, y la significación estadística se mide también en comparación con este grupo.

50 En conjunto, Estos datos demuestran un efecto específico de Ad-36 y, particularmente, un efecto específico de antígeno CR1 α -CR1 γ de Ad-36, del producto inmunoterapéutico basado en levadura en el aumento de peso corporal, y uno que ha surgido antes de que sea siquiera aparente un fenotipo de obesidad emergente por Ad-36. Un diagrama del peso corporal en las semanas 4 y 12 muestra que este aumento de peso de ratas inmunizadas con aFL-CRAG es estadísticamente significativamente menor que el aumento de peso de YVEC (levadura de control) o ratas sin tratamiento previo (PBS) en estos puntos temporales (Fig. 12). Las ratas inmunizadas con la levadura que expresan una proteína de fusión basada en hexón muestran una tendencia hacia un fenotipo similar, aunque, en este punto temporal, la diferencia con respecto a los controles no es tan sustancial como para la levadura que expresa el antígeno CR1 α -CR1 γ . Por lo tanto, la inmunoterapia basada en levadura que se dirige a Ad-36 reduce la tasa de aumento de peso en un modelo animal de infección por Ad-36 crónica, y se espera que muestre aumento de peso reducido y beneficios adicionales, en comparación con los controles, con respecto a los otros parámetros analizados anteriormente a las 30 semanas después de la exposición.

Ejemplo 5***Cinética vírica en el estudio de inmunoterapia profiláctica basada en levadura de Ad-36 (rata)***

- 5 El siguiente experimento demuestra el uso del método descrito en el Ejemplo 4 para ensayar cinética vírica de Ad-36 en el torrente sanguíneo después de exposición vírica a Ad-36.

Brevemente, se extrajo ADN genómico sanguíneo de 100 µl de sangre de rata usando kit QIAamp de Qiagen. Se detectó ADN de Ad-36 mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), que presenta una sonda específica de gen de hexón único diseñado por los inventores. Los resultados, ilustrados en la Fig. 13, muestran que está presente ADN de Ad-36 de 10^6 a 10^9 copias por ml durante hasta 9 semanas después de la exposición y se eliminó de la sangre completamente a las 13 semanas después de exposición. Curiosamente, la variabilidad entre ratas de la carga de ADN vírico se reduce a lo largo del tiempo, alcanzando un mínimo justo antes de la eliminación. Sin quedar ligado a teoría alguna, los inventores creen que estos datos podrían reflejar la respuesta inmunitaria natural al virus, la respuesta inmunitaria inducida por inmunoterapia basada en levadura al virus, o alguna combinación de estos efectos.

Ejemplo 6***Experimento terapéutico de rata***

El siguiente ejemplo describe el uso de productos inmunoterapéuticos de Ad-36 basados en levadura en modelo terapéutico de rata de obesidad relacionada con adenovirus.

- 25 En el siguiente experimento, se evaluaron composiciones inmunoterapéuticas de Ad-36 basadas en levadura (vacunas) para determinar si la inmunización contra este virus usando inmunoterapia basada en levadura puede invertir la obesidad o al menos reducir el aumento de peso o la tasa de aumento de peso y adiposidad en ratas cuando la inmunización con composiciones de Ad-36 basadas en levadura se inicia después de infección por Ad-36 y posterior aumento de peso.

30 Las ratas se infectaron con Ad-36 (aproximadamente 1×10^9 UFP en 1 ml) mediante administración intraperitoneal, como se describe en el estudio profiláctico en el Ejemplo 4. Después de haberse establecido un fenotipo de obesidad emergente por Ad-36, se inmunizan grupos de ratas por vía subcutánea (s.c) con una de las dos composiciones inmunoterapéuticas de Ad-36 basadas en levadura (vacunas) descritas en el Ejemplo 4 anterior y en la Tabla 4 posterior, administrada en cuatro sitios diferentes, con 20 millones de células (2,0 U.L) s.c. en 0,1 ml por sitio. Se realizan vacunaciones una vez a la semana durante 2 semanas después de la exposición y después mensualmente durante hasta 30 semanas. Grupos de control adicionales incluyen un grupo de ratas inmunizadas con composiciones de levadura de control (levadura de "vector vacío", o YVEC, que no expresan el antígeno o los antígenos de Ad-36) y un grupo de ratas que recibió solamente PBS (sin tratamiento previo o PBS). En el presente ejemplo el grupo de control (B) es PBS.

Tabla 4

Grupo	Exposición	Inmunización postexposición
B	Ad-36	PBS
F	Ad-36	Ad-aFL-CRAG
H	Ad-36	Ad-aFL-HEX-Completo

- 45 Los animales se pesan antes de la infección vírica y después hasta bisemanalmente durante la duración de hasta 30 semanas del estudio. Además, se supervisan el consumo de alimento y agua. Se recoge sangre antes de la infección vírica y bisemanalmente para supervisar la carga vírica en suero, colesterol, niveles de triglicéridos, corticosterona, anticuerpos neutralizantes y los otros parámetros bioquímicos como se describe en el Ejemplo 5. Se realiza ensayo de tolerancia a la glucosa y se miden los niveles de glucosa en la orina. Se obtiene sangre (500 µl por punto temporal) con anestesia de isofluroano de la vena de la cola.

50 Al final del estudio, los animales se sacrificaron y se recoge tejido adiposo para medir los niveles víricos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). También puede realizarse PCR en biopsias obtenidas durante el transcurso del estudio.

- 55 Este experimento se realizó en ratas Wistar exogámicas. Si, como se esperaba, el aumento de peso adicional se previene o se reduce en ratas inmunizadas con inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura en comparación con ratas de control, se evaluarán ratas Wistar Furth endogámicas según el mismo protocolo o uno similar, ya que se espera que estas ratas endogámicas sean más susceptibles a evaluación de la inmunidad de linfocitos T. Experimentos adicionales también pueden determinar el efecto de la dieta u otros factores junto con inmunoterapia

(por ejemplo, administrando una dieta alta en grasa frente a una dieta normal).

La inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura se considera activa si provoca, en comparación con controles de levadura de vector vacío o PBS, tendencias notables hacia la normalización de cualquiera de los siguientes parámetros para ratas infectadas por Ad-36: i) peso corporal o tasa de aumento de peso corporal reducida; ii) porcentaje de grasa corporal o índice de masa corporal; iii) frecuencia o título de anticuerpos neutralizantes; iv) niveles de colesterol; v) corticosterona en suero; vi) triglicéridos en suero; vii) niveles de glucosa en sangre y/u orina; viii) tolerancia a la glucosa; ix) título vírico de Ad-36 en sangre. En resumen, se espera que la inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura sea eficaz para reducir o prevenir el aumento de peso y la adiposidad en ratas y esto puede acompañarse de cambios en los parámetros bioquímicos mencionados, dada su asociación conocida con el fenotipo de obesidad.

Ejemplo 7

15 **Efecto de vector de levadura en el apetito y el aumento de peso corporal de la rata**

El siguiente ejemplo describe un experimento diseñado para determinar si la inmunización de ratas con composiciones inmunoterapéuticas basadas en levadura de la invención afecta a la tasa de aumento de peso de ratas no infectadas (no infectadas con Ad-36) sin tratamiento previo. Este experimento se diseñó para identificar si hay un efecto basado en vector de levadura de vacunación de Tarmogen en el apetito o aumento de peso corporal que es independiente de la exposición a Ad-36. Dichos efectos en el apetito o el peso corporal, si se observan, no se considerarían específicos de antígeno, ya que no hay ningún antígeno vírico en el hospedador, y sería importante determinar antes de interpretar el efecto de la inmunización de Tarmogen de Ad-36 en el aumento de peso inducido por Ad-36.

Las ratas se inmunizaron con una de las composiciones de inmunoterapia basadas en levadura descritas en el Ejemplo 1 (Ad-Fib, cuya proteína de fusión está representada por la SEQ ID NO: 42) una vez a la semana, las semanas 1, 2, 7, 9 y 11. La vacunación fue en 4 sitios s.c. con 2 U.L. por sitio. Los animales se pesaron antes de la inmunización y bisemanalmente después de la vacunación. El consumo de dieta y peso corporal de las ratas se supervisaron durante este periodo. Los resultados, mostrados en la Fig. 14, muestran que no hubo ninguna diferencia en el consumo de alimentos entre el grupo inmunizado con levadura y el grupo de control. Además, la vacunación con levadura de fibra de Ad no cambió la tasa de aumento de peso corporal en comparación con ratas de control sin tratamiento previo, como se muestra en la Fig. 15. Estos datos demuestran que las vacunaciones de inmunoterapia basadas en levadura por sí solas (en ausencia del antígeno diana) no alteran el apetito o aumento de peso corporal de ratas. Estos resultados son coherentes con la observación de que no se cree que los efectos de inmunoterapia basada en levadura de Ad-36 en el peso corporal, cuando se observan en los experimentos de exposición a Ad-36 descritos anteriormente, sean atribuibles a un efecto generalizado de la levadura o el vector de levadura en el apetito o el metabolismo de las ratas.

40 **Ejemplo 8**

Distribución orgánica de Ad-36 después de inoculación intraperitoneal

El siguiente experimento demuestra la distribución de Ad-36 en órganos y tejidos importantes después de la infección vírica.

Este experimento es relevante para la especificidad/tropismo del virus y, hasta donde alcanza el conocimiento de los inventores, dichos análisis no se han realizado en ningún estudio tan tarde después de la exposición vírica. Por lo tanto, los siguientes experimentos se diseñaron para confirmar que los restos de Ad-36 en compartimentos grasos después del virus ya no son detectables en la sangre, y para indicar además tejidos u órganos donde la inmunoterapia basada en levadura puede ser activa. En un estudio publicado (Pasarica *et al.*, 2008), realizado a los 4 días después de la exposición, se encontró Ad-36 en casi todos los tejidos ensayados incluyendo el sistema nervioso central (SNC), el corazón, el pulmón, el hígado, el bazo, el riñón, la grasa visceral y otros órganos. En el presente estudio, la distribución por todo el órgano/cuerpo de Ad-36 se evaluó a las 15 semanas después de exposición al virus en una rata no inmunizada. Brevemente, se retiraron y aislaron órganos y tejidos importantes (incluyen sangre y células mononucleares de sangre periférica (PBMC)). Se extrajo ADN genómico de órgano y tejido de todas las muestras usando el kit QIAamp y se detectó ADN de Ad-36 con un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) anidada muy sensible. Los resultados, mostrados en la Fig. 16, indicaron que 15 semanas después de inoculación de virus, es detectable ADN de Ad-36 en los tejidos adiposos viscerales del epidídimo, retroperitoneal, omental y también en el bazo y el riñón. Sin embargo, estaba ausente ADN de Ad-36 del corazón, el hígado, el pulmón, el cerebro y la grasa subcutánea, así como los otros órganos/tejidos ensayados. Estos resultados, considerados en conjunto con los resultados anteriores de Pasarica *et al.*, muestran que Ad-36, aunque está ampliamente distribuido en la mayoría de órganos importantes pronto después de la exposición, se localiza más en compartimentos grasos, así como riñón y bazo, a las 15 semanas después de exposición vírica.

Ejemplo 9**Modelo de ratón-profiláctico**

5 El siguiente ejemplo describe el uso de productos inmunoterapéuticos de adenovirus 36 (Ad-36) basados en levadura en un modelo animal de obesidad relacionada con adenovirus.

10 Se ha descrito en la bibliografía un modelo de ratón por el que la infección de animales con Ad-36 humano ha provocado aumento de peso y aumento de la adiposidad (Dhurandhar *et al.* Int. J. Obesity 24:989, 2000). En esos estudios, se indujo un aumento estadísticamente significativo del peso de grasa corporal ($p < 0,02$) en ratones infectados por Ad36 en comparación con el grupo de control. Adicionalmente, 60 % de los ratones a los que se inyectó Ad-36 frente a 22 % de los controles se consideraron obesos cuando la obesidad se definió como > percentil 85 del grupo de control.

15 En el siguiente experimento, se evalúan composiciones inmunoterapéuticas de Ad-36 basadas en levadura (vacunas) para determinar si la inmunización contra este virus usado inmunoterapia basada en levadura puede prevenir la obesidad o al menos reducir el aumento de peso y la adiposidad asociados con infección por Ad-36.

20 Se inmunizan grupos de ratones por vía subcutánea (s.c.) con una composición inmunoterapéutica de Ad-36 basada en levadura (vacuna) administrada en de dos a cuatro sitios diferentes (de 1 a 20 millones de células (o 0,1-2,0 U.L.) s.c. en 0,1 ml por sitio), entre tres y seis veces a intervalos semanales. Después de la administración final, los ratones se expusieron a Ad-36 (aproximadamente 2×10^7 UFP en 0,1-0,2 ml) mediante administración intraperitoneal. Se inmunizan grupos experimentales de ratones (10-20 ratones por grupo) con una composición inmunoterapéutica de Ad-36 basada en levadura, por ejemplo, una de las composiciones de inmunoterapia basadas en levadura descritas en el Ejemplo 1. Los grupos de control adicionales incluyen un grupo de ratones inmunizados con composiciones de levadura de control (levadura de "vector vacío" que no expresa el antígeno o antígenos de Ad-36) y un grupo de ratones que reciben solamente PBS (sin tratamiento previo).

30 Los animales se pesaron antes del tratamiento, antes de la exposición vírica y después hasta dos veces por semana durante aproximadamente 22 semanas después de inoculación con virus. Además, se supervisan el consumo de alimento y agua. Se recoge sangre en el momento basal, antes de la exposición vírica y bisemanalmente después de la exposición para supervisar los niveles de colesterol, triglicéridos y para anticuerpos neutralizantes para Ad-36 en el suero. Se realiza ensayo de tolerancia a la glucosa y se miden los niveles de glucosa en la orina. Se obtiene sangre (200 μ l por punto temporal) con anestesia de isofluroano del plexo retroorbital. Al final del estudio, los animales se sacrificaron y se recoge tejido adiposo para medir los niveles víricos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). También puede realizarse PCR en biopsias obtenidas durante el transcurso del estudio.

40 El experimento se realiza inicialmente en ratones exogámicos (por ejemplo, ratones ICR o CD-1®). Si, como se esperaba, el aumento de peso se previene o se reduce en ratones inmunizados con inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura en comparación con ratones de control, se evalúan adicionalmente cepas endogámicas según el mismo protocolo o uno similar (por ejemplo, C57BL/6, BALB/c o C3H), ya que se espera que estos ratones sean más susceptibles a evaluación de la inmunidad de linfocitos T. Experimentos adicionales también pueden determinar el efecto de la dieta u otros factores junto con inmunoterapia (por ejemplo, administrando una dieta alta en grasa frente a una dieta normal).

45 La inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura es eficaz si la inmunización da como resultado una diferencia estadísticamente significativa en el peso corporal o aumento de peso corporal entre ratones inmunizados con Ad-36 de levadura y ratones de control (inmunizados con levadura de vector vacío o PBS) y/o al menos una diferencia doble de niveles de anticuerpos neutralizantes, y/o una reducción de más del 5 % en el porcentaje de grasa corporal, colesterol, triglicéridos, reducción de glucosa en la orina o niveles de glucosa reducidos mediante ensayo de tolerancia a la glucosa y/o reducción de títulos víricos de Ad-36, entre el grupo experimental y uno de los grupos de control (inmunizado con levadura de vector vacío o PBS). Se espera que la inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura sea eficaz para reducir o prevenir el aumento de peso y la adiposidad en ratones.

55

Ejemplo 10**Modelo de ratón-terapéutico**

60 El siguiente ejemplo describe el uso de productos inmunoterapéuticos de Ad-36 basados en levadura en un modelo animal de obesidad relacionada con adenovirus.

65 En el siguiente experimento, se evalúan composiciones inmunoterapéuticas de Ad-36 basadas en levadura (vacunas) para determinar si la inmunización contra este virus usando inmunoterapia basada en levadura puede invertir la obesidad o al menos reducir el aumento de peso y adiposidad en ratones cuando la inmunización con composiciones de Ad-36 basadas en levadura se inicia después de infección por Ad-36 y posterior aumento de peso.

Los ratones se infectaron con Ad-36 (aproximadamente 2×10^7 UFP en 0,1-0,2 ml) mediante administración intraperitoneal. Una vez que se ha establecido el aumento de peso, se inmunizarán grupos de ratones por vía subcutánea (s.c.) con una composición inmunoterapéutica de Ad-36 basada en levadura (vacuna) administrada en de dos a cuatro sitios diferentes (de 1 a 20 millones de células (0,1 a 2,0 U.L.) s.c. en 0,1 ml por sitio), entre tres y seis veces a intervalos semanales. Los grupos de control adicionales incluyen un grupo de ratones inmunizados con composiciones de levadura de control (levadura de "vector vacío" que no expresa el antígeno o antígenos de Ad-36) y un grupo de ratones que reciben solamente PBS (sin tratamiento previo).

Los animales se pesan antes de la infección vírica y después hasta dos veces a la semana durante la duración del estudio. Además, se supervisan el consumo de alimento y agua. Se recoge sangre antes de la infección vírica y bisemanalmente para supervisar los niveles de colesterol, triglicéridos y para anticuerpos neutralizantes para Ad-36 en el suero. Se realiza ensayo de tolerancia a la glucosa y se miden los niveles de glucosa en la orina. Se obtiene sangre (200 µl por punto temporal) con anestesia de isofluroano del plexo retroorbital.

Al final del estudio, los animales se sacrificaron y se recoge tejido adiposo para medir los niveles víricos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). También puede realizarse PCR en biopsias obtenidas durante el transcurso del estudio.

El experimento se realiza inicialmente en ratones exogámicos (por ejemplo, ratones ICR o CD-1®). Si, como se esperaba, el aumento de peso adicional se previene o se reduce en ratones inmunizados con inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura en comparación con ratones de control, se evalúan adicionalmente cepas endogámicas según el mismo protocolo o uno similar (por ejemplo, C57BL/6, BALB/c o C3H), ya que se espera que estos ratones sean más susceptibles a evaluación de la inmunidad de linfocitos T. Experimentos adicionales también pueden determinar el efecto de la dieta u otros factores junto con inmunoterapia (por ejemplo, administrando una dieta alta en grasa frente a una dieta normal).

La inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura es eficaz si la inmunización da como resultado una diferencia estadísticamente significativa en el peso corporal o aumento de peso corporal entre ratones inmunizados con Ad-36 de levadura y ratones de control (inmunizados con levadura de vector vacío o PBS) y/o al menos una diferencia doble de niveles de anticuerpos neutralizantes, y/o una reducción de más del 5 % en el porcentaje de grasa corporal, colesterol, triglicéridos en glucosa en la orina o niveles de glucosa reducidos mediante ensayo de tolerancia a la glucosa y/o reducción de títulos víricos de Ad-36 entre el grupo experimental y uno de los grupos de control (inmunizado con levadura de vector vacío o PBS). Se espera que la inmunización con una composición de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura sea eficaz para reducir o prevenir el aumento de peso adicional y la adiposidad en ratones.

Ejemplo 11

Tratamiento de infección por Ad-36 en seres humanos

El siguiente ejemplo describe un ensayo clínico para el tratamiento de infección por Ad-36 en sujetos adultos humanos.

Se realizará un ensayo clínico de fase 1 aleatorio en pacientes adultos y/o en pacientes pediátricos obesos con resultado de ensayo positivo para infección por adenovirus-36 y que tiene un IMC de al menos 25 (o pacientes pediátricos con IMC análogo/equivalente). Los grupos o ensayos adicionales incluyen adultos no obesos y/o sin sobrepeso y/o pacientes pediátricos con resultado de ensayo positivo para infección por adenovirus. Los sujetos se seleccionarán aleatoriamente en dos ramas. Los pacientes de la rama 1 recibirán al menos 12 semanas de inmunoterapia de Ad-36 basada en levadura (cualquier composición descrita en el Ejemplo 1) y seguirán un régimen de dieta y ejercicio prescrito. Los pacientes de la rama 2 recibirán un placebo (inyección de control de PBS o levadura vacía) y seguirán el mismo programa de dieta y ejercicio prescrito. Un criterio de valoración primario es la reducción del título vírico de Ad-36. Otro criterio de valoración es la seroconversión inmunitaria determinada por medición de la presencia de anticuerpos de Ad-36. Otro criterio de valoración es las respuestas inmunitarias celulares específicas de Ad-36 (que pueden incluir proliferación de linfocitos T, inducción de linfocitos Th1 y/o Th17 CD4+, inducción de linfocitos T CD8+ medida mediante ensayo de CTL o ensayo de citocinas y/o modulación de los números o la función de linfocitos T reguladores (Treg)). Los criterios de valoración secundarios adicionales incluyen una reducción del IMC, así como pérdida de peso relativa y pérdida de peso absoluto durante el tratamiento y durante el seguimiento longitudinal después de completarse la terapia.

60 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GlobelImmune, Inc.
Apelian, David
King, Thomas
65 Coeshott, Claire
Lu, Yingnian

<120> Composiciones y métodos para el tratamiento o prevención de infección por Adenovirus-36

<130> 3923-33-PCT

5 <150> 61/424472
<151> 17/12/2010

<160> 58

10 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 36604
<212> ADN

15 <213> Adenovirus de tipo 36

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)

20 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(17)

25 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(26)

30 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (800)..(800)

35 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (805)..(805)

40 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (813)..(814)

45 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (1402)..(1402)

50 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (1407)..(1407)

55 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (1415)..(1415)

60 <223> n es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (1976)..(1976)

65 <223> n es a, c, g o t

5
<220>
<221> misc_feature
<222> (1981)..(1981)
<223> n es a, c, g o t

10
<220>
<221> misc_feature
<222> (1989)..(1989)
<223> n es a, c, g o t

15
<220>
<221> misc_feature
<222> (3489)..(3489)
<223> n es a, c, g o t

20
<220>
<221> misc_feature
<222> (3492)..(3492)
<223> n es a, c, g o t

25
<220>
<221> misc_feature
<222> (3500)..(3500)
<223> n es a, c, g o t

30
<220>
<221> misc_feature
<222> (3917)..(3917)
<223> n es a, c, g o t

35
<220>
<221> misc_feature
<222> (3922)..(3922)
<223> n es a, c, g o t

40
<220>
<221> misc_feature
<222> (3930)..(3930)
<223> n es a, c, g o t

45
<220>
<221> misc_feature
<222> (3934)..(3934)
<223> n es a, c, g o t

50
<220>
<221> misc_feature
<222> (3936)..(3936)
<223> n es a, c, g o t

55
<220>
<221> misc_feature
<222> (5294)..(5294)
<223> n es a, c, g o t

60
<220>
<221> misc_feature
<222> (5297)..(5297)
<223> n es a, c, g o t

65
<220>
<221> misc_feature
<222> (5300)..(5300)
<223> n es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature
<222> (5303)..(5303)
<223> n es a, c, g o t

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (5311)..(5311)
<223> n es a, c, g o t

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (5315)..(5315)
<223> n es a, c, g o t

15 <220>
<221> misc_feature
<222> (5317)..(5317)
<223> n es a, c, g o t

20 <220>
<221> misc_feature
<222> (8860)..(8860)
<223> n es a, c, g o t

25 <220>
<221> misc_feature
<222> (8864)..(8864)
<223> n es a, c, g o t

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (8872)..(8873)
<223> n es a, c, g o t

35 <220>
<221> misc_feature
<222> (9274)..(9274)
<223> n es a, c, g o t

40 <220>
<221> misc_feature
<222> (9277)..(9277)
<223> n es a, c, g o t

45 <220>
<221> misc_feature
<222> (9281)..(9281)
<223> n es a, c, g o t

50 <220>
<221> misc_feature
<222> (9289)..(9289)
<223> n es a, c, g o t

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (9293)..(9293)
<223> n es a, c, g o t

60 <220>
<221> misc_feature
<222> (9295)..(9295)
<223> n es a, c, g o t

65 <220>
<221> misc_feature

<222> (11215)..(11215)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 5 <221> misc_feature
 <222> (11219)..(11219)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 10 <221> misc_feature
 <222> (11227)..(11227)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 15 <221> misc_feature
 <222> (12358)..(12358)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 20 <221> misc_feature
 <222> (12362)..(12362)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 25 <221> misc_feature
 <222> (12370)..(12370)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 30 <221> misc_feature
 <222> (14068)..(14068)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 35 <221> misc_feature
 <222> (14071)..(14071)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 40 <221> misc_feature
 <222> (14079)..(14079)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 45 <221> misc_feature
 <222> (15654)..(15654)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 50 <221> misc_feature
 <222> (15658)..(15658)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 55 <221> misc_feature
 <222> (15666)..(15666)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 60 <221> misc_feature
 <222> (16266)..(16266)
 <223> n es a, c, g o t

 <220>
 65 <221> misc_feature
 <222> (16270)..(16270)

<223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 5 <222> (16278)..(16278)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (17289)..(17289)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (17292)..(17292)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 20 <222> (17300)..(17300)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 25 <222> (17537)..(17537)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 30 <222> (17541)..(17541)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 35 <222> (17549)..(17549)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 40 <222> (18266)..(18266)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 45 <222> (18268)..(18268)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 50 <222> (18271)..(18271)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 55 <222> (18279)..(18279)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 60 <222> (21126)..(21126)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 65 <222> (21133)..(21133)
 <223> n es a, c, g o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (21141)..(21141)
 <223> n es a, c, g o t
 5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (21783)..(21783)
 <223> n es a, c, g o t
 10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (21788)..(21788)
 <223> n es a, c, g o t
 15
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (21796)..(21796)
 <223> n es a, c, g o t
 20
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (21800)..(21800)
 <223> n es a, c, g o t
 25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (23283)..(23283)
 <223> n es a, c, g o t
 30
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (23287)..(23287)
 <223> n es a, c, g o t
 35
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (23295)..(23295)
 <223> n es a, c, g o t
 40
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (25503)..(25503)
 <223> n es a, c, g o t
 45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (25507)..(25507)
 <223> n es a, c, g o t
 50
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (25515)..(25516)
 <223> n es a, c, g o t
 55
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (26047)..(26047)
 <223> n es a, c, g o t
 60
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (26051)..(26051)
 <223> n es a, c, g o t
 65
 <220>

<221> misc_feature
 <222> (26059)..(26059)
 <223> n es a, c, g o t

5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26482)..(26482)
 <223> n es a, c, g o t

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26486)..(26486)
 <223> n es a, c, g o t

15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26494)..(26494)
 <223> n es a, c, g o t

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27190)..(27190)
 <223> n es a, c, g o t

25

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27194)..(27194)
 <223> n es a, c, g o t

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27202)..(27202)
 <223> n es a, c, g o t

35

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27535)..(27535)
 <223> n es a, c, g o t

40

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27543)..(27543)
 <223> n es a, c, g o t

45

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27551)..(27551)
 <223> n es a, c, g o t

50

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28157)..(28157)
 <223> n es a, c, g o t

55

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28161)..(28161)
 <223> n es a, c, g o t

60

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28169)..(28169)
 <223> n es a, c, g o t

65

<220>
 <221> misc_feature

<222> (28652)..(28652)
 <223> n es a, c, g o t

5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (28659)..(28659)
 <223> n es a, c, g o t

10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (28667)..(28667)
 <223> n es a, c, g o t

15
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (29936)..(29936)
 <223> n es a, c, g o t

20
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (29944)..(29944)
 <223> n es a, c, g o t

25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (29952)..(29952)
 <223> n es a, c, g o t

30
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (30819)..(30819)
 <223> n es a, c, g o t

35
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (30827)..(30827)
 <223> n es a, c, g o t

40
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (30835)..(30835)
 <223> n es a, c, g o t

45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (31123)..(31123)
 <223> n es a, c, g o t

50
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (31131)..(31131)
 <223> n es a, c, g o t

55
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (31139)..(31139)
 <223> n es a, c, g o t

60
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (31526)..(31526)
 <223> n es a, c, g o t

65
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (31531)..(31531)

<223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 5 <222> (31539)..(31539)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (31943)..(31943)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (31946)..(31946)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 20 <222> (31949)..(31949)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 25 <222> (31952)..(31952)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 30 <222> (31960)..(31960)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 35 <222> (31964)..(31964)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 40 <222> (32127)..(32127)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 45 <222> (32132)..(32132)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 50 <222> (32140)..(32140)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 55 <222> (33268)..(33268)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 60 <222> (33272)..(33272)
 <223> n es a, c, g o t
 <220>
 <221> misc_feature
 65 <222> (33280)..(33280)
 <223> n es a, c, g o t

5
<220>
<221> misc_feature
<222> (33284)..(33284)
<223> n es a, c, g o t

10
<220>
<221> misc_feature
<222> (33286)..(33286)
<223> n es a, c, g o t

15
<220>
<221> misc_feature
<222> (33691)..(33691)
<223> n es a, c, g o t

20
<220>
<221> misc_feature
<222> (33695)..(33695)
<223> n es a, c, g o t

25
<220>
<221> misc_feature
<222> (33703)..(33703)
<223> n es a, c, g o t

30
<220>
<221> misc_feature
<222> (33707)..(33707)
<223> n es a, c, g o t

35
<220>
<221> misc_feature
<222> (34599)..(34599)
<223> n es a, c, g o t

40
<220>
<221> misc_feature
<222> (34603)..(34603)
<223> n es a, c, g o t

45
<220>
<221> misc_feature
<222> (34611)..(34611)
<223> n es a, c, g o t

50
<220>
<221> misc_feature
<222> (34615)..(34615)
<223> n es a, c, g o t

55
<220>
<221> misc_feature
<222> (35012)..(35012)
<223> n es a, c, g o t

60
<220>
<221> misc_feature
<222> (35016)..(35016)
<223> n es a, c, g o t

65
<220>
<221> misc_feature
<222> (35024)..(35024)
<223> n es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature
 <222> (35028)..(35028)
 <223> n es a, c, g o t

5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35404)..(35404)
 <223> n es a, c, g o t

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35408)..(35408)
 <223> n es a, c, g o t

15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35416)..(35416)
 <223> n es a, c, g o t

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35420)..(35420)
 <223> n es a, c, g o t

25

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35787)..(35787)
 <223> n es a, c, g o t

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35791)..(35791)
 <223> n es a, c, g o t

35

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35799)..(35799)
 <223> n es a, c, g o t

40

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (35803)..(35803)
 <223> n es a, c, g o t

45

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (36209)..(36209)
 <223> n es a, c, g o t

50

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (36213)..(36213)
 <223> n es a, c, g o t

55

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (36221)..(36221)
 <223> n es a, c, g o t

60

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (36225)..(36225)
 <223> n es a, c, g o t

65

<400> 1

ES 2 696 551 T3

cgcdsdacyr tnakrtdac ycatnntga gacacctgcg cttctacct tcaactgtgc	60
ccggcgacct ggctgtgatt atgctggagg actttgtgaa tacagttctg gaggacgaac	120
tgcattcaga gccatttgag ctgggacctt cacttcagga cctctatgat ctggaggtag	180
atgcccata tgacgacctt aacgaagagg ctgtgaattt aatattcca gaatctatga	240
ttcttcaggc tgacatagcc agtgaagcca tagttactcc tctacatact cccactctgc	300
ctccataacc tgaattggag gaggatgaag aaatagacct ccggtgctac gaggaaggtt	360
ttctcccag cgattcagag gacgaacagg gtgagcagca gatggctcta atctctgatt	420
tagcttgtgt gattgtggag gaacaagttg tgattgaaa atctaccgag ccagtacaag	480
gctgtaggaa ctgccagtat caccgggata agtccggaga cccgaacgct tctgcgctc	540
tgtgttacat gaaatctact ttcagcttta tttacagtcc ggtgtcagag gatgagtcac	600

ES 2 696 551 T3

caccctcaga agaagaccac cCGTctcccc ctgagctgtc aggcgaaacg cccctgcaag 660
 tgcacagacc caccCCagtc agagccagtg gcgagaggcg agcagctgta gaaaaaattg 720
 aggacttggt acatgacatg ggtggggatg aacctttgga cctgagcttg aaacgccccca 780
 ggaactagcg cdsdacyrtn akrtndacyc atnnatgaga cacctgcgcc ttctaccttc 840
 aactgtgccc ggcgacctgg ctgtgattat gctggaggac tttgtgaata cagttctgga 900
 ggacgaactg catccagagc catttgagct gggacctaca cttcaggacc tctatgatct 960
 ggaggtagat gcccatgatg acgaccctaa cgaagaggct gtgaatttaa tatttccaga 1020
 atctatgatt cttcaggctg acatagccag tgaagccata gttactcctc tacatactcc 1080
 cactctgcct cccatacctg aattggagga ggatgaagaa atagacctcc ggtgctacga 1140
 ggaaggtttt cctcccagcg attcagagga cgaacagggt ccggtgtcag aggatgagtc 1200
 atcaccctca gaagaagacc acccgtctcc ccctgagctg tcaggcgaaa cgcccctgca 1260
 agtgcacaga cccaccccag tcagagccag tggcgagagg cgagcagctg tagaaaaaat 1320
 tgaggacttg ttacatgaca tgggtgggga tgaacctttg gacctgagct tgaaacgccc 1380
 caggaactag cgcdsdacyr tnbkrtndac ycatnatgga tgtgtggact atccttgca 1440
 actttagcaa gacacgccgg cttgtagagg atagttcaga cgggtgctcc gggttctgga 1500
 gacactggtt tggaaactcct ctatctcgcc tgggtgatac agttaagaag gattataaag 1560
 aggaatttga aaatcttttt gctgactgct ctggtctgct agattctctg aatcttgcc 1620
 accagtcctt tttccaggaa agggactcct acagccttga ttttccagc ccagggcgca 1680
 ctacagccgg ggttgctttt gtggtttttc tggttgacaa atggagccag gacacccaac 1740
 tgagcagggg ctacatcctg gacttcgcag ccatgcacct gtggagggcc tggatcaggc 1800
 agcggggaca gagaatcttg aactactggc ttctacagcc agcagctccg ggtcttcttc 1860
 gtctacacag acaaacatcc atgttggagg aagaaatgag gcaggccatg gacgagaacc 1920
 cgaggagcgg cctggaccct cCGTcggaag aggagctgga ttgacgdsd acyrtnbkrt 1980
 ndacycatna tggagccagg acacccaact gagcaggggc tacatcctgg acttcgcagc 2040
 catgcacctg tggagggcct ggatcaggca gcggggacag agaatcttga actactggct 2100
 tctacagcca gcagctccgg gtcttcttcg tctacacaga caaacatcca tgttgaggga 2160
 agaaatgagg caggccatgg acgagaacct gaggagcggc ctggaccctc cgtcggaaga 2220
 ggagctggat tgaatcaggt atccagcctg taccagagc ttagcaaggt gctgacatcc 2280
 atggccaggg gagtgaagag ggagaggagc gatgggggta ataccgggat gatgaccgag 2340
 ctgactgcca gtctgatgaa tcggaagcgc ccagagcgcc ttacctggta cgagctacag 2400
 caggagtgca gggatgagat aggcctgatg caggataaat atggcctgga gcagataaaa 2460

ES 2 696 551 T3

acccattggt tgaaccaga tgaggattgg gaggaggcta ttaagaagta tgccaagata 2520
 gccctgcgcc cagattgcaa gtacatagtg accaagaccg tgaatatcag acatgcctgc 2580
 tacatctcgg ggaacggggc agaggtggtc atcgataccc tggacaaggc cgccttcagg 2640
 tgttgcatga tgggaatgag agcaggagtg atgaatatga attccatgat cttcatgaac 2700
 attaagttca atggagagaa gtttaatggg gtgctgttca tggccaacag ccacatgacc 2760
 ctgcatggct gcagcttctt cggtttcaac aacatgtgcg ccgaggtctg gggagctgct 2820
 aagatcaggg gatgtaagtt ttatggctgc tggatggggc tggtcggaag acccaagagc 2880
 gagatgtctg tgaagcagtg tgtgtttgag aaatgctacc tgggagtctc taccgagggc 2940
 aatgctagag tgagacactg ctcttccatg gagacgggct gcttctgcct ggtgaagggc 3000
 acggcctctc tgaagcataa tatggtgaag ggctgcacgg atgagcgcac gtacaacatg 3060
 ctgacctgcg attcgggggt ctgccatata ctgaagaaca tccatgtgac cccccacccc 3120
 agaaagaagt ggccagtgtt tgagaataac ctgctgatca agtgccatat gcacctgggt 3180
 gccagaaggg gcaccttcca gccgtaccag tgcaacttta gccagaccaa gctgctggtg 3240
 gagaacgatg ccttctccag ggtgaacctg aacggcatct ttgacatgga tgtctcggtg 3300
 tacaagatcc tgagatacga tgagaccaag tccagggctg gcgcttgca gtgccccggc 3360
 agacacacca ggatgcaacc agtggccctg gatgtgacag aggagctgag accagaccac 3420
 ctggtgatgg cctgtaccgg gaccgagttc agctccagtg gggaggacac agattagcgc 3480
 dsdacyrtnr tndacycatn atgaacggga ccggcggggc cttcgaaggg gggcttttta 3540
 gcccttattt gacaaccgca ctgccgggat gggccggagt tcgtcagaat gtgatgggat 3600
 ctacggtgga tgggcgcca gtgcttccag caaattcctc gaccatgacc tacgcgaccg 3660
 tggggagctc gtcgctcgac agcaaccgca cagccgcgcc agccgcagcc gccatgacag 3720
 cgacgagact ggcctcgagc tacatgcccc gcagcagcag tagcccctct gtgccagtt 3780
 ccatcatcgc cgaggagaaa ctgctggccc tgctggcaga gctggaagcc ctgagccgcc 3840
 agctggccgc cctgaccag caggtgtccg agctccgca gcaacagcag cagcaaaata 3900
 aatgacgds dacyrtnvar tndacycatn cmmntnatgg agacgcgagg gcgaagaccg 3960
 tgcccgtttc agcaccagca ggatgagtct caagcgcacc cttgcaagcg cccagcccgg 4020
 ggcccccccc ttcaccgtga cggagaccac actcacgagg accctgagac cctggaagga 4080
 catgacgctg gccgcgctgg acgccccatg tctcgtgccc tacagtcgca gtogtccaa 4140
 cccccgaaac gaggaagtct gctggatcga gatgccgtag agcacgtcac cgagctctgg 4200
 gaccgctgg agctcctctc gcagaccctc gccaaagatgc ccatggccga cggactcaag 4260
 ccctgaaaa actttgcttc cctgcaagag ctctctctcg tgggcgggga ccgcctctc 4320
 ggcgagctcg tccgggaaaa cctccaagtc agagacatgc tcaacgaggt ggccccctc 4380

ES 2 696 551 T3

ctccgggacg acggcagctg catgtccttg aactaccacc tgcaaccctg catcggggtc 4440
atctacggcc cgaccgggtg cggcaagtcc cagctgttga gaaacctgct ctctcgcag 4500
ctcatcacc cgcgcccgga aaccgttttt ttcatcgccc cgcaggtgga catgatcccc 4560
ccctccgaga tgaaagcctg ggagatgcag atctgtgagg ggaactttgc cccggggccc 4620
gaggaacta tcgtcccca atctggcacc ctccgcccc aattcattaa aatgtcttat 4680
gatgatctca cccaggagca taattacgat gtctctgacc ccagaaacgt ctttgccaaa 4740
gccgcagccc acgggcccac cgccatcatc atggatgagt gcatggaaaa cctgggcggg 4800
cacaagggcg tctccaaatt cttccacgca ttccctcca agttgcatga taagttcccc 4860
aagtgcacgg gctacaccgt cctggtggtc ctgcacaaca tgaaccccag gcgggatctg 4920
ggcggaaca ttgccaacct caagatccag gccaaactgc acatcatctc cccccgatg 4980
catccctccc agctcaaccg cttcgccaac acctacacca aggggctccc cgtggccatc 5040
agtctcctcc ttaaggacat catccagcac cagcccagc gccctgcta tgactggatc 5100
atctacaaca cgacccaga gcacgaggcc atgcagtggg gctacctcca cccccgggac 5160
gggctcatgc ccatgtacct caacatcaa tcccacctct accgggtcct ggaaaaaatc 5220
caccgcactc tcaatgatcg ggagaggtgg accaggcct accgcgcgcg aaaaaataaa 5280
taacgdsda cygnrtrtrn rndacycat ncmntnatg gccttggttc aaagtcacgg 5340
ggcccgtggt cttcacgcag aggcggcaga tccaggatgt caaccgccgc gtcgtcgcgc 5400
acgccagcgc tctcagggcg cagcaccggg acctgccga gcgccacgcc gacgtgcctc 5460
tgcccccct gccgcgggg ccggaaccgc cgctgccccc gggagcgcgt ccgcgacacc 5520
gcttctaaaa gcgcaccgcg gcacggtcgt ggccccgcgc agctacgggc tcatgcaatg 5580
cgtggacacg gccaccaact caccgtaga aatcaagtac catctgcatc tcaagcacgc 5640
cctcaccgcg ttctacgagg tcaacctcag aacctgccc ccggacctgg atctccgcga 5700
caccatggac agctccaac tgcgcgcct cgtcttcgct ctccgcccc gccgcgccga 5760
gatctggacc tggctcccgc gcgggctcgt cagcctctcc gtctcagagg agccccaggg 5820
tgagtccac gcaggcgaac atgaaaacca ccagccaggg ccgccactcc tgaagttcct 5880
cctcaagga cgcgctgtgt atctcgtgga tgaggtacag cccgtgcagc gctgcgagta 5940
ctgcggacgc ttttacaagc atcagacga gtgctcggtt cgccggcggg atttctactt 6000
tcatcacatc aacagccact cgtccaactg gtggcaggaa atccagttct tccaatcgg 6060
ctctcatcct cgcacggagc ggctctttgt cacctacgat gtagaaacct acacctggat 6120
ggggtccttc ggcaagcagc tcgtcccctt catgctggtc atgaaattct cccgggaccc 6180
cgagctggtc gccctcgcgc gcgatctcgc cgtgcgctta cgctgggatc gctgggagcg 6240

ES 2 696 551 T3

ggaccccctc accttctact gcgtcacacc cgaaaagatg gccgtgggccc agcagttccg 6300
 tctctttcgc gacgagctcc agaccctcat ggcccgcgag ctctgggctt ccttcatgca 6360
 agccaaccca catctccagg agtgggcgct cgagcagcac ggactgcaat gccccgagga 6420
 cctcacctac gaggagctca aaaagctgcc gcacatcaaa ggccgcccgc gattcatgga 6480
 actctacatc gtcgggcaca acatcaacgg cttcgacgag atcgtgctcg ccgcccaggt 6540
 catcaacaac cgagcctccg tcccgggccc tttccgcata acccgcaatt tcatgccgcg 6600
 ggagggaag attctcttca atgacgtcac tttcgctctg cctaaccccc tctcgaagaa 6660
 gcgcaccgat ttcgagctct gggagcacgg cggtcgcgac gactcggatt tcaagtacca 6720
 gttcttgaaa gtcattgtca gagacacctt cgccctgacg cacacctcgc tccgcaaggc 6780
 cgctcaagct tacgccctcc ccgtggagaa gggctgctgt ccctacaagg ccgtgaacca 6840
 tttctacatg ctgggctctt accgtgcgga cgatcgagga ttcccgcctcc gggagtactg 6900
 gaaggatgac gaggagtacg ccctcaaccg cgagctgtgg gagaagaaag gagaggcggg 6960
 ttatgacatc atccgcgaaa cgctggacta ctgtgccatg gacgtcctcg tcaccgccga 7020
 gctcgtcgc aagctgcaag actcctacgc gcacttcatc cgcgactcgg tccgcctgcc 7080
 tcacgcccac tttaacatct tccaacggcc caccatctcc tcaaactcgc acgcatctt 7140
 tcgccagatc gtcttccgcg ccgagcagcc ccagcgcacc aatctcggcc ccgccttctt 7200
 ggccccctcg cacgagttgt atgactacgt gcgcgccagc atccgcgggg ggcgctgta 7260
 tcccacctac atcggcatcc tctcggagcc catctatgtg tatgacatct gcggcatgta 7320
 cgcctccgcc ctcaacgcac ccatgccctg gggccgccc ctcaaccctt acgagcgcgc 7380
 gctggccgcc cgcgagtggc agatggcctt ggatgatgca tcctcaaaaa tcgattattt 7440
 tgacaaggaa ctctgtccgg gcatcttcac catcgatgcg gacccccctg acgagcatct 7500
 gcttgatgtg ctgccccgt tctgctcgcg caagggcggc agactctgct ggaccaacga 7560
 gccctgcgc ggcgaggtgg ccaccagcgt ggacctggtc accctgcata accgcggctg 7620
 gcgcgtcagg atcgtgcccg acgagcgcac caccgtcttc cccgaatgga agtgcgtcgc 7680
 gcgcgagtat gtccagctaa acatcgcggc caaggagcgc gccgaccgtg acaaaaatca 7740
 gaccatgaga tccatgcaca agcttctatc caacgccctc tatggctcct ttgccaccaa 7800
 gcttgacaat aaaaaaattg tcttttctga ccagatggat gaaagtctcc taaaaagcat 7860
 cgcggcaggg caggccaaca tcaaactctc ctcgtttcta gaaactgaca acctgagtgc 7920
 cgaggtcatg cccgctctag agaggaata cctaccccaa cagctggcgc tcgtggacag 7980
 cgacgcgaa gagagtgagg acgagcacag acccgcccc ttttataccc cccgctcggg 8040
 gacccccggt cacgtggcct acacctaca gccaatcacc ttcttgatg cggaggaggg 8100
 ggacatgtgt ctgcacacgg tggaaaagg ggacccccctg gtggacaacg accgctacc 8160

ES 2 696 551 T3

ctcgcacgtg gcctcctttg tcttggcgtg gacgcgcgcc tttgtctcag agtgggtccga 8220
gtttctctac gaggaggacc gcgggacgtc cctgcaggac aggcccatca agtccgtcta 8280
cggggacacc gacagcctgt ttgtcaccga gcgcgacac agactcatgg agacgcgagg 8340
taagaagcgc atcaaaaaga acgggggaaa actggttttt gaccccagac agcccagagct 8400
cacctggctc gtcgagtgcg agaccgtctg cgcccactgc ggagcggacg ccttcgcccc 8460
cgagtccgtt tttctcgcac ccaagctcta cgccctgcaa tcccttctct gtcccgctg 8520
cgggcgtctt tccaagggca agctccgcgc caagggccac gccgcccagg ccctcaacta 8580
cgagctcatg gtcaactgct atctcgcga gcgcgagggc gaagaccgtg cccgtttcag 8640
caccagcagg atgagtctca agcgcaccct tgcaagcgc cagcccgggg cccaccctt 8700
caccgtgacg gagaccacac tcacgcggac cctgagacc tgggaaggaca tgacgctggc 8760
cgcgctggac gcccatcgtc tcgtgcccta cagtcgcagt cgtcccaacc cccgaaacga 8820
ggaagtctgc tggatcgaga tgccgtagcg cdsdacyrtn krtndacyca tnnatgagag 8880
ccgattggga agaactggat ttcctgccac cagttggacg agtggctgtt gatgtgatga 8940
aagtagaat cccgccggcg aaccgagcac tcgtgctgat gcttgtaaaa gcgtccgcag 9000
tactcgcagc gctgcacggg ctgtacctca tccacgagat acacagcgcg tcccttgagg 9060
aggaacttca ggagtggcgg ccctggctgg tggttttcat gttcgcctgc gtgggactca 9120
ccctggggct cctcaggac ggagaggctg acgagcccgc gcgggagcca ggtccagatc 9180
tcggcgcggc gggggcggag agcgaagacg agggcgcgca gttgggagct gtccatggtg 9240
tcgcgagat ccaggggacg tgacgdsda cygnrtnrt ndacycatnc mmntnatggc 9300
cttgagcgtc aatgactgcg cgcgtctcac cggccagacc gtgccgacca tggattattt 9360
cctgccgctg cgcaacatct ggaaccgcgt ccgcgagttc ccgcgcgcct ccaccaccgc 9420
cgccggcatc acctggatgt cccgctacct ctacggctac caccgcctca tgctcgagga 9480
cctggccccg ggcgccgg ccaccagcg ctggccgctc taccgccagc cgcgccgca 9540
cttcctagtc ggctaccagt acctcgtgcg cacctgcaac gactacgtct tcgactcgcg 9600
cgccttctcg cggctcaggt actccgaggt cgtgcaacct ggctgcaga ccgtcaactg 9660
gtcgtcatg gccaactgca cctacaccat caacaccggg gcctaccacc gcttcgtcga 9720
catggatgac ttccaggaca ccctacccg cgtgcaacag gccatcctcg ccgagcgcgt 9780
cgtcgcgcgac ctggcgtcg tgcagccgct caggggcgtc ggggtcacc gcattggaaga 9840
ctccgcctcc gccagtgatg acattgaaag gctcatgcat gactactaca agaacctgag 9900
ccggtgtcag ggccaggcct ggggcatggc cgagcggctc cgcattccagc aagcgggacc 9960
caaggacctg gtcctcctcg ccaccatccg ccgccttaa aacgcctact tcaattacat 10020

ES 2 696 551 T3

catcagcaac cgcaattcta acagcgtcca cagggctgct acgtgtttga gcttaccttg 10080
 cgactgcgat tggctagacg ctttcctcga aagattctcc gatccggtcg atctcgacgc 10140
 gctcacgtcc octacaccgc aattgataag atgcatcgtc agcgcctat cgctgcccaa 10200
 cggggacccg cccattacc gggagatgac cggcggcgtc ttcacgctgc gtctcgcga 10260
 acggggtcgc gccgtcaccg aaacatgctc tcgcccgcgc ggggagatga tcgagcgctt 10320
 cgtcgaccgt ctcccgggtg gtcgccgtcg tcgtcgggccc cggccaccac caccgcccc 10380
 agaggaagaa atagaagaag aggtcgtcat ggaagaagag gaagaggagg aggtccccgg 10440
 ggatttcgag cgcgaggtgc gcgccaccat cgcgagctc atccggctcc tggaaagacga 10500
 gctcacggtc tcggcccgcg acgcccagtt tttcaacttc gccgtggatt tctacgaggc 10560
 catggaaagg ctggaggcca tcggcgacat cagcgagatg cccctgcgcc gctggatcat 10620
 gtacttcttc gtcaccgagc acatcgccac caccctcaac tacctcttcc agcgcctgcg 10680
 caactacgcc gtcttcacgc ggcacgtgga gctcaacctc gcgcaggtgg tcatgcgcgc 10740
 gcgcgacgcc gacggggacg tggctctacag ccgctctgg aacgagagcg gcctgggcgc 10800
 cttctcgcag ctaatgggtc gcatctcga tgacctcgcc gccaccgtgg agcgcgcggg 10860
 ccgcgcgat ctccaggagg aggagatcga gcagttcatg tccgagatcg cctaccagga 10920
 caactcgggc gacgtgcaag agatcctcgc tcaggccgcc gtcaatgacg ccgagattga 10980
 ttctgttgaa ctgtctttca ggttcaaagt cacggggccc gtggtcttca cgcagaggcg 11040
 gcagatccag gatgtcaacc gccgcgtcgt cgcgcacgcc agcgtctca gggcgcagca 11100
 ccgggacctg cccgagcgcc acgcccagct gcctctgccc cccctgcccg cggggccgga 11160
 accgccgctg ccgcccgggag cgcgtccgcg acaccgcttc taacgdsda cyrtnkrtnd 11220
 acycatnatg catcccgtcc tgcgccaaat gcgtcccacc cccccggcga ccaccgcgac 11280
 cgcggccgta acaggcgccg gcgctagcca gccacagaca gagatggact tggaaagagg 11340
 cgaagggtg gcgagactgg gggcgcctc cccggagcga ccccccgcg tgcagctgca 11400
 gaaggacgtg cgcggcgct acgtgcctgc gcagaacctg ttcaggacc gcagcgggga 11460
 ggagcccag gagatgcgcg actgccggtt tcgggggggc agggagctgc gcgagggcct 11520
 ggaccgccag cgcgtgctgc gcgacgagga tttcgagccg aacgagcaga cgggatcag 11580
 ccccgcgcg gcgcacgtgg cggcggccaa cctggtgacg gcctacgagc agacggtgaa 11640
 gcaggagcgc aacttcaaaa agagtttcaa caaccacgtg cgcacgctga tagcgcgcga 11700
 ggaggtggcc ctgggcctga tgcacctgtg ggacctggcg gaggccatcg tgcagaacct 11760
 ggacagcaag cctctgacgg cgcagctgtt cctggtggtg cagcacagca gggacaacga 11820
 ggcgttcagg gagggcgtgc tgaacatcgc cgagcccag ggtcgtggc tgctggagct 11880
 gatcaacatc ttgcagagca tcgtagtgca ggagcgcagc ctgagcctgg ccgagaaggt 11940

ES 2 696 551 T3

ggcgcgatc aactactcgg tgctgagcct gggcaagttt tacgcgcgca agatttacia 12000
 gacgccgtac gtgcccatag acaaggaggt gaagatagac agcttttaca tgcgcatggc 12060
 gctcaagggtg ctgacgctga gcgacgacct gggcgtgtat cgcaacgacc gcatccacia 12120
 ggccgtgagc acgagccggc ggcgcgagct gagcgaccgc gagctgatgc tgagcctgcg 12180
 ccggcgctg gtagggggcg ccgcccggcg cgaggagtcc tacttcgaca tggggggcga 12240
 cctgcattgg cagccgagcc ggcgcgcctt ggaggccgcc tacggtccag aggacttggg 12300
 tgaggatgag gaagaggagg aggatgcacc cgttgcgggg tactgacgcd sdacyrtnar 12360
 tndacycatn atgtcccagc aagccccgga ccccgccata agggcggcgc tgcaaagcca 12420
 gccgtccggt ctgacatcgg acgactggga ggccgcgatg caacgcatca tggccctgac 12480
 gaccgcaac cccgagtcct ttagacaaca gccgcaggcc aacagactct cggccattct 12540
 ggaggcgggtg gtcccctctc ggaccaacct cacgcacgag aaggtgctgg cgatcgtgaa 12600
 cgcgctggcg gagaacaagg ccatccgtcc cgacgaggcc gggctggtgt acaacgcctt 12660
 gctggagcgc gtgggcccgt acaacagcac gaacgtgcag tccaacctgg accgctggt 12720
 gacggacgtg cgcgaggccg tggcgcagcg cgagcggttc aagaacgagg gcctgggctc 12780
 gctggtggcg ctgaacgcct tcctggcgac gcagccggcg aacgtgccgc gagggcagga 12840
 cgattacacc aactttatca gcgcgctgcg gctgatggtg accgaggttc ccagagcga 12900
 ggtgtaccag tcgggcccgg actacttttt ccagacaagc cggcagggcc tgcaagcgg 12960
 gaacctgagt caggcttca agaacctgcg cgggctgtgg ggcgtgcagg cgcccgtggg 13020
 cgaccggtcg acggtgagca gcttgctgac gcccaactcg cggtgctgc tgctgctgat 13080
 cgcgcccttc accgacagcg gcagcgtgaa ccgcaactcg tacctgggcc acctgctgac 13140
 gctgtaccgc gaggccatag gccaggcgca ggtggacgag cagaccttc aggagatcac 13200
 gagcgtgagc cgcgcgctgg ggcagaacga caccgacagt ctgagggcca ccctgaactt 13260
 tttgctgaca aatagacagc agaagatccc ggcgagctac gcaactgctcg ccgaggagga 13320
 aaggatcctg agatatgtgc agcagagcgt agggctgttc ctgatgcagg agggtgccac 13380
 ccccagcgc gcgctggaca tgaccgcgcg caacatggaa cctagcatgt acgccgcaa 13440
 ccggccgttc atcaataagc tgatggacta cctgcaccgc gcggcggcca tgaacacgga 13500
 ctactttaca aacgccatat tgaaccgca ctggcttccg ccgcccgggt tctacacggg 13560
 cgagtacgac atgcccgacc ccaacgacgg gttcctgtgg gacgacgtgg acagcgggt 13620
 gttctcgccg acctttcaa agcgcagga ggcgcgccg agcgagggcg cgggggggag 13680
 gagcccctt cctagcttag ggagtttgca tagcttgccg ggctcgggta acagcggcag 13740
 ggtgagccgg ccgcgcttgc tgggcgagga cgagtacctg aacgactcgc tgctgcagcc 13800

ES 2 696 551 T3

gcccgggtc aagaacgcca tggccaataa cgggatagag agtctggtgg acaaactgaa 13860
ccgctggaag acctacgctc aggaccatag ggagcctgcg cccgcgccgc ggcgacagcg 13920
ccacgaccgg cagcggggcc tgggtgtgga cgacgaggac tcggccgacg atagcagcgt 13980
gttggaactg ggcgggagcg gtggggccaa cccgttcgcg catctgcagc ccagactggg 14040
gcgcggatg ttttgacgcd sdacyrtrt ndacycatna tgaggcgtgc ggtggtgtct 14100
tcctctctc ctccctcgta cgagagcgtg atggcgcagg cgaccctgga ggttccgttt 14160
gtgcctccgc ggtatatggc tcctacggag ggcagaaaca gcattcgta ctcgagctg 14220
gctccgcaat acgacaccac tcgctgttac ttggtggaca acaagtcggc ggacatcgct 14280
tcctgaact accaaaacga ccacagcaac ttctgacca cgggtggtgca gaacaacgat 14340
ttcaccctcg ccgaggccag cacgcagacg ataaattttg acgagcggtc gcggtggggc 14400
ggtgatctga agaccattct gcacaccaac atgccaatg tgaacgagta catggtcacc 14460
agcaagtta aggcgcggt gatggtggct agaaagcatc ccaaagatgt agatgccagt 14520
gattaagca aggatattct agagtataag tggtttgagt ttaccctgcc cgagggcaac 14580
tttccgaga ccatgaccat agacctgatg aacaacgcca tcttgaaaa ctacttgcaa 14640
gtggggcggc agaatggcgt gctggagagc gatatcggag tcaagtttga cagcaggaat 14700
ttcagactgg gctgggaccg ggtgaccaag ctggtgatgc caggggtcta cacctacgag 14760
gccttcacc cggacgtggt gctactgccg ggctgcgggg tggacttcac cgagagccgc 14820
ctgagcaacc tcctgggcat tcgcaagaag caacctttc aagagggctt cagaatcatg 14880
tatgaggatc tagaaggggg taacatcccc gctctcctgg ataccaaaa atatctggat 14940
agcaagaag aacttgagga tgctgccaag gaagctgcaa agcaacaggg agatggtgct 15000
gtcactagag gcgataccca cctcactgta gctcaagaaa aagcagctga aaaggagcta 15060
gtgatcgtac caattgaaaa ggatgagagc aacagaagtt acaacctgat caaggacacc 15120
catgacacc tgtaccgaag ctggtacctg tcctatacct acggggaccg cgagaagggg 15180
gtgcagtcgt ggacgctgct caccaccccg gacgtcacct ggggcgcgga gcaagtctac 15240
tggtcgctgc cggacctcat gcaagacccc gtcaccttc gctctacca gcaagtcagc 15300
aactaccctg tggtcggcgc cgagctcatg ccttccgcg ccaagagctt ttacaacgac 15360
ctcgccgtct actoccagct catccgcagc tacacctccc tcaccacgct cttcaaccgc 15420
ttccccgaca accagatcct ctgccgccc cccgcgcca ccatcaccac cgtcagtgaa 15480
aacgtgcctg ctctcacaga tcacgggacg cttccgctgc gcagcagtat ccgcgagtc 15540
cagcgagtga ccgtcactga cggcctgcgc cgcacctgtc cctacgtcta caaggccctg 15600
ggcatagtcg cgcgcgctg gctctccagt cgcaccttct aacgdsdac yrtnvrtnda 15660
cycatnatgt ctattctcat ctgcccagc aataaacacc gctggggtct tactaggccc 15720

ES 2 696 551 T3

agcaccatgt acggaggagc caagaagcgc tcccagcagc accccgtccg cgtccgcggt 15780
 cacttccgcg ctccctgggg agcttacaag cgggggcgca ctgccaccgc cgccgcgctg 15840
 cgcaccaccg tcgacgacgt catcgactcg gtggtcgccg acgcgcgcaa ctacaccccc 15900
 gccccctcca ccgtggacgc ggtcatcgac agcgtggtgg ccgacgcgcg cgactatgcc 15960
 agacgcaaga gccggcggcg acggatcgcc aggcgccacc ggagcacgcc cgccatgcgc 16020
 gccgcccggg ctctgctgcg ccgcgccaga cgcacgggcc gccgggcat gatgcgagcc 16080
 gcgcgccgcg ccgccactgc accccccgca ggcaggactc gcagacgagc ggccgccgcc 16140
 gctgccgcgg ccatctctag catgaccaga cccaggcgcg gaaacgtgta ctgggtgcgc 16200
 gactccgtca cgggcgtgcg cgtgcccgtg cgcaccctgc ctctctgtcc ctgacgdsd 16260
 acyrtnvrtn dacycatnat gtcaaagcgc aaaatcaagg aggagatgct ccaggctcgtc 16320
 gccccggaga tttaccgacc cccggaccag aaacccccgca aaatcaagcg ggttaaaaaa 16380
 aaggatgagg tggacgaggg ggcagtagag tttgtgcgcg agttcgtcc gcggcggcgc 16440
 gtaaattgga aggggcgag ggtgcagcgc gtgttgccgc ccggcacggc ggtggtgttc 16500
 acgcccggcg agcggtcctc ggtcaggagc aagcgtagct atgacgaggt gtacggcgac 16560
 gacgacatcc tggaccaggc ggcggagcgg gcgggcgagt tcgcctacgg gaagcggtcg 16620
 cgcgaagagg agctgatctc gctgccgctg gacgaaagca accccacgcc gagcctgaag 16680
 cccgtgacct tgcagcaggc gctgccccag gcggtgctgc tgccgagccg cggggtcaag 16740
 cgcgagggcg agagcatgta cccgaccatg cagatcatgg tgccaagcg ccggcgcgctg 16800
 gaggacgtgc tggacaccgt gaaaatggat gtggagcccg aggtcaaggt gcgccccatc 16860
 aagcaggtgg cgccgggctt gggcgtgag accgtggaca ttcagatccc caccgacatg 16920
 gatgtcgaca aaaaaccctc gaccagcatc gaggtgcaga ccgaccctg gctcccagcc 16980
 tccaccgcta ccgtctccac ttttaccgcc gccacggcta ccgagcctcc caggaggcga 17040
 agatggggcg ccgccagccg gctgatgccc aactacgtgt tgcaccttc catcatcccg 17100
 acgcccggct accgcggcac ccggtactac gccagccgca ggcgccagc cgccaaacgc 17160
 cgccgccgca ctgccaccog ccgccgtctg gccccgccc gcgtgcgccc cgtaaccacg 17220
 cgccggggcc gctcgctcgt tctgcccacc gtgcgctacc accccagcat cctttaacgc 17280
 dsdacyrtnr tndacycatn atggctctca ctgcccct gcgcatcccc gtcccgaatt 17340
 accgaggaag atcccgcgc aggagaggca tggcaggcag cggcctgaac cgccgcggc 17400
 ggcgggcat gcgcaggcgc ctgagtggcg ggtttctgcc cgcgctcatc ccataatcg 17460
 ccgcccgat ccggacgatc ccggcatag ctccggtg cgtgcaggcg tcgacgcgc 17520
 gttgacgds dacyrtnvrt ndacycatna tggaagacat caatthtgcg tcctggctc 17580

ES 2 696 551 T3

cgcgggcacgg cacgcggccg ttcattgggca cctggaacga gatcggcacc agccagctga 17640
 acggggggcgc cttcaattgg agcagtgtct ggagcgggct taaaaatttc ggctcgacgc 17700
 tccggaccta tgggaacaag gcctggaata gtagcacggg gcagttgta agggaaaagc 17760
 tcaaagacca gaacttccag cagaaggtgg tggacgggct ggcctcgggc attaacgggg 17820
 tgggtggacat cgcgaaccag gccgtgcagc gcgagataaa cagccgcctg gacccgcggc 17880
 cgcccacggt ggtggagatg gaagatgcaa ctcttcggcc gcccaaaggc gagaagcggc 17940
 cgcgggccga cgcggaggag acgatcctgc aggtggacga gccgccctcg tacgaggagg 18000
 ccgtcaaggc cggcatgcc accacgcgca tcatcgcgcc gctggccacg ggtgtaatga 18060
 aaccggccac ccttgacctg cctccaccac ccacgcccgc tccaccgaag gcagctccgg 18120
 ttgtgcaggc ccctccggtg ggcacggcg tgcgcgcgct ccccgccgc cgccaggccc 18180
 agaactggca gagcacgctg cacagtatcg tgggcctggg agtgaaaagt ctgaagcggc 18240
 gccgatgcta ttgacgdsd acyrtnhnrt ndacycatna tggccacccc ctcgatgatg 18300
 ccgcagtggg cgtacatgca catcgcgggg caggacgcct cggagtacct gagcccgggt 18360
 ctggtgcagt ttgcccgcgc cacogacacg tacttcagcc tgggcaacaa gtttaggaac 18420
 cccacggtgg ccccgacca tgatgtgacc acggaccggt cccagcgtct gacgctgcgc 18480
 ttcgtgcccg tggatcgca ggacaccacg tactcgtaca aggcgcgctt cactctggcc 18540
 gtgggcgaca accggtgct agacatggcc agcacgtact ttgacatccg cggcgtcctg 18600
 gaccgcggtc ccagcttcaa accctactcg ggcacggctt acaacagttt ggcccccaag 18660
 ggcgccccca actccagtca gtggactgac aaagaacggc aaaatggtgg acaaccacc 18720
 actacaaaag atgttacaaa aacattcgga gtagcagcca ggggagggct tcatattact 18780
 gataaaggac tacaatagg agaagatgaa aataacgagg atggtgaaga agagatatat 18840
 gcagacaaaa ctttccagcc agaacctcaa gtaggagagg aaaactggca agatactgat 18900
 gttttctatg gcggcagagc gcttaaaaag gaaacaaaa tgaaaccatg ctatggctct 18960
 tttgccagac ctaccaatga aaaaggaggt caagctaaat ttttaaatgg cgaaaacggt 19020
 caaccttcta aagatcaaga tattacatta gctttctttg atcttaaca aatgacact 19080
 ggaactactc aaaaccagcc agatggtgtc atgtacactg aaaatgtgta tctggaacc 19140
 ccagacaccc atgtggtgta caaacctggc aaggaagata caagctcgc tgctaacctt 19200
 acacaacagt ccatgcccac caggcccaac tacattggtt tcagggacaa ctttgtgggg 19260
 ctcatgtatt acaacagcac tggcaacatg ggtgtgctgg ctggtcaggc ctctcagttg 19320
 aatgctgtgg ttgacttgca agacagaaac accgagctgt cttatcagct cttgctagat 19380
 tctctgggtg acagaaccag atactttagc atgtggaatt ctgcggtgga cagctatgat 19440
 ccagatgtca ggatcattga gaatcacggt gttgaagatg agcttccaaa ttattgcttc 19500

ES 2 696 551 T3

ccactggatg gatctggcag caataccgca tatcaaggtg ttaaatatga aaacggagct 19560
 ggcaatggaa gctggaaagt agatggcgaa gttgcttctc agaatcagat cgccaagggc 19620
 aatctgtatg ccatggagat aaaccttcag gccaacctgt ggaagagttt tctgtactcg 19680
 aacgtggcgc tgtatctacc agactcctac aagtacacgc cggccaacat cacgctgccc 19740
 accaacacca acacctacga gtacatgaac ggccgcgtgg tggcaccctc gctggtggat 19800
 gcctatgtca acatcgggtgc ccgctggtcg ctggacccca tggacaacgt caacccttc 19860
 aaccaccacc gcaacgcggg tctgcgctac cgctccatgc ttctgggcaa cggccgctac 19920
 gtgcccttcc acatccaagt gcccctaaag ttctttgcca tcaagaacct gctcctgctt 19980
 cccggttcc acacctacga gtggaacttc cgcaaggatg tcaacatgat cctgcaaagt 20040
 tcctcggca acgacctgcg cgtcgacggc gcctccgtcc gcttcgacag cgtcaacctc 20100
 tatgccacct tcttccccat ggcgcacaac accgcctcca cccttgaagc catgctgcgc 20160
 aacgacacca acgaccagtc cttcaacgac tacctctcgg ccgccaacat gctctacca 20220
 atcccggcca aggccaccaa cgtgcccatc tccatccctc cgcgcaactg ggccgccttc 20280
 cgcggctgga gtttcacccg gctcaagacc aaggaaactc cctccctcgg ctcggtttc 20340
 gaccctact ttgtctactc gggctccatt ccctacctcg acggaacctt ctacctcaac 20400
 cacacctca agaaggtctc catcatgttc gactcctcgg tcagctggcc cggcaacgac 20460
 cggctgctca cgccgaacga gttcgagatc aagcgcagcg tcgacgggga gggctacaac 20520
 gtggcccaat gcaacatgac taaggactgg ttccctcgtcc agatgctctc tcattacaac 20580
 attggctacc agggcttcta cgtgcctgag ggttacaagg accgcatgta ctcttcttc 20640
 cgcaacttcc agcccatgag caggcaggtg gtcgatgaga tcaactaaa ggactacaag 20700
 gccgtcacc tgcccttcca gcacaacaac tcgggcttca ccggctacct cgcaccacc 20760
 atgctcagg ggcagccata ccccgccaac ttccctacc cgtcatcgg ccagacagcc 20820
 gtgccctccg tcaccagaa aaagttcctc tgcgacaggg tcatgtggcg catccccttc 20880
 tcagcaact tcatgtccat gggcgcctc accgacctgg gtcagaacat gctctacgcc 20940
 aactcggccc acgcgctcga catgacctc gaggtggacc ccatggatga gccaccctc 21000
 ctctatcttc tcttogaagt tttcgacgtg gtcagagtgc accagccgca ccgcccgtc 21060
 atcgaggccg tctacctgcg cacgcccttc tccgcccgaa acgccaccac ataacgdsd 21120
 acyrtnrtas rndacycat natgagcggc tccagcgaac gagagctcgc ggccatcgtg 21180
 cgcgacctgg gctgcgggcc ctactttttg ggaaccacg acaagcgtt ccctggcttc 21240
 ctgcgccggc acaagctggc ctgcgccatc gtcaacacgg ccggccgcga gaccggaggc 21300
 gtgcactggc tcgccttcgg ctggaaccgg cgctcgcgca cctgctacat gttcgacccc 21360

ES 2 696 551 T3

tttgggttct cggaccgcog gctcaagcag atttacagct tcgagtacga ggccatgctg 21420
 cgccgcagcg ccctggcctc ctcgcccgac cgctgtctca gcctcgagca gtccaccag 21480
 accgtgcagg ggcccgactc cgccgcctgc ggacttttct gttgcatggt cttgcatgcc 21540
 ttcgtgcaact ggcccgaccg acccatggac gggaacccca ccatgaactt gctgacgggg 21600
 gtgcccacag gcatgctaca atcgccacag gtgtgcccc aacctcggcg caaccaggag 21660
 gagctctacc gcttcctogc gcgcccactcc ccttactttc gatcccaccg cgccgccatc 21720
 gaacacgcca ccgcttttga caaaatgaaa caactgcgtg tatctcaata acgcdsdacy 21780
 rtdnrdnda ccatnncmmn tatggccggc ggagtcagg acgtgcggcg gttcatggag 21840
 cgagaggcca ctccgccccg gggccacggg tcggcgcgct atccgcccga gcaggagagg 21900
 agcccctcgc cgccacctcc tctgcccacc aagcgcogaa agtatcagcg ggtgggctcc 21960
 gggctctcgg aggaggacgt ggtccccgtg gacagccctc caaaaaagaa gcaagccaga 22020
 aagaccaagc atgtgacaaa ggtagacca gacgaagaga tgcccagga agacgccgtg 22080
 atcgtgggag tgggattcag ccagcctccg gttctgttga aggaaggcaa ggacggaaaa 22140
 cgcatcgtcg agcccgcgac ccccggtgtc ctgaacgtgc gcaaccctct gactctgcct 22200
 ctggtctcgt cctgggagaa gggcatggat accatgaacg tgctgatgga acgctaccgc 22260
 gtcgacagcg gcctgcgga tgcttacaag ctcatgccag agcagaccga gatcttcag 22320
 aagatgtgcc agacctggat gaacgaggag gcccgcggtc tgcaactgac cttcaccacc 22380
 cagaaagcct ttagcacctg catgggtcgc ctgttgcaag gttacatctt cagccacagc 22440
 gggatcgcgc ataagaactg ggagtgcacc ggatgcgccc tgtgggatca cggctgcacc 22500
 gaggtggaag gccagctcaa gtgtctgcat ggaacggtga tgatccacaa agaccacgtg 22560
 gtggagatgg atgtgaccag cgagaacgga cagcgcgcgc tgaaggagca acccagcaag 22620
 gccaaagtga ccgagaaccg ctggggacgg agcgtgggtc aactgaccag ccatgacgcg 22680
 cgctgctcgc tgcaggatgc cggttgcggg aataaccagt tcagcgggaa gagctgcggg 22740
 ctgtttttca gcgagggagc caaggcccag caagctttca aacagatctc ggctttgtc 22800
 aaggccctct acccgaatat gcagcgcggc gcgggatga tgctaagcc cattcaactgc 22860
 gagtgtaacc acaagcctca gagcgtgcc ttctggggc gccagctgtg caagatgacc 22920
 ccgtttggcc tgagcaacgc cgaggacctt gacaaggatc agatcaccga caagagcgtg 22980
 ctggccagtg tgaagtacc cagtctgatg gtgtccagc gctgcaacc cgtgtaccgc 23040
 aactcgcgcg cgcagagcac cggccccaac tgcgatttca agatctcgc cccggacatg 23100
 ctgggcgccc tgcagatgag ccggcgcgatg tggagcgaga ccttccccga gattccgggt 23160
 cccaaactgg tgatccccga gttcaagtgg cttcccaagt accagtaccg caacgtggcc 23220
 ctcccagcg cggcgcacaa cgacgagcgc gagaaccct tcgactttta acgcdsdacy 23280

ES 2 696 551 T3

rtnkrndac ycatnatgga ggagcagccg cgtaagcagg agcaggagga ggacttaacc 23340
 acccagcagc aaccctaaat cgagcaggac ctgggcttcg aagagccggc tcgtctagaa 23400
 cccccacagg atgaacagga gcacgagcaa gacgcaggcc aggaggagac cgacgctggg 23460
 ctcgagcatg gctacctggg aggagaggag gatgtgctgc tgaaacacct gcagcgcag 23520
 tccctcatcc tccgggacgc cctggccgac cggagcgaaa cccccctcag cgtcgaggag 23580
 ctgtgtcggg cctacgagct caacctcttc tcgccgcgcg tgcccccaa acgccagccc 23640
 aacggcacct gcgagcccaa cccgcgtctc aacttctatc ccgtctttgc ggtccccgag 23700
 gcccttgcca cctatcacat ctttttcaag aaccaaaga tccccgtctc ctgccgcgcc 23760
 aaccgcaacc gcgccgacgc gctcctcgtc ctggggcccg ggcgcgcgat acctgatatc 23820
 gcttccctgg aagaggtgcc caagatcttc gaagggtcgc gtcgggacga gacgcgcgcg 23880
 gcgaacgctc tgaagaaac agcagaggaa gagggtcaca ctagcgcctt ggtagagttg 23940
 gaaggcgaca acgccaggct ggtcgtgctc aagcgcagcg tcgagctcac cacttcgcc 24000
 taccgcccgc ttaacctccc gcccaaggtc atgcgtcgca tcatggatca gcttatcatg 24060
 ccccacatcg aggccatcga tgagacccaa gagcagcgcc ccgaggacgc ccggcccgtg 24120
 gtcagcgacg agatgctcgc gcgctggctc gggaccgcg acccccaggc tttggaacag 24180
 cggcgcaagc tgatgctggc cgtagtctcgt gtcaccctcg agctcgaatg catgcgccgc 24240
 ttcttctgcg accccgagac cctgcgcaag gtcgaggaga ccctgcacta cactttcaga 24300
 cacggtttcg tcaggcaagc ctgcaagatc tccaacgtgg agctgaccaa cctggtctcc 24360
 tgcttgggga tcctgcatga gaaccgcctg gggcagacag tgctccactc taccctgaag 24420
 ggcgaggcac ggcgggacta tgtccgcgac tgctctttc tctttctatg ccacacatgg 24480
 caagcagcca tgggcgtgtg gcagcagtgct ctcgaggacg agaacctgaa ggagctggac 24540
 aagcttcttg ctagaaacct taaaaagttg tggacgggct tcgacgagcg caccgtcggc 24600
 tcggacctgg ccgagatcgt tttccccgag cgcctgaggc atacgctgaa aggcgggctg 24660
 cccgacttca tgagccagag catgttgcaa aactaccgca ctttcattct cgagcgtcgt 24720
 ggtatcctgc ccgccacctg caacgccttc ccctccgact ttgtcccgtc gagctaccgc 24780
 gagtgtcccc cgccgctgtg gagccactgc tacctcttgc agctggctaa ctacatctcc 24840
 taccactcgg acgtgatcga ggacgtgagc ggcgaggggc tgctcgagtg cactgcccgc 24900
 tgcaacctgt gctccccgca ccgctccctg gtctgcaacc ccagctcct gagcgagacc 24960
 caggctcatcg gtaccttoga gctgcaaggt ccggagaagt ccaccgctcc gctgaaactc 25020
 acgccggggg tgtggacttc cgcgtacctg cgcaaatttg taccggaaga ctaccacgcc 25080
 catgagataa agttcttoga ggaccaatcg cgtccgcagc acgcggatct cacggcctgc 25140

ES 2 696 551 T3

gtcacacccc agggcgcgat cctcgcccaa ttgcatgccca tccaaaaatc cgcgaagag 25200
 tttcttctga aaaagggtag aggggtctac ctggaccccc agacggggcga ggtgctcaac 25260
 ccgggtctcc cccagcatgc cgaggaagaa gcaggagccg ctagtggagg agatggaaga 25320
 agaatgggac agccaggcag aggaggacga atgggaggag gagacagagg aggaagaatt 25380
 ggaagaggtg gaagaggagc aggcaacaga gcagcccgtc gccgcacat cgcgcccggc 25440
 agccccggcg gtcacggata caacctccgc tccggtcaag cctcctcgta gcgcdsdacy 25500
 rtnkrndac ycatnntatgc cgaggaagaa gcaggagccg ctagtggagg agatggaaga 25560
 agaatgggac agccaggcag aggaggacga atgggaggag gagacagagg aggaagaatt 25620
 ggaagaggtg gaagaggagc aggcaacaga gcagcccgtc gccgcacat cgcgcccggc 25680
 agccccggcg gtcacggata caacctccgc tccggtcaag cctcctcgta gatgggatcg 25740
 agtgaaggtg gacgctaaga aaaagcaagt aagaggagtc gccggaggag gcctgaggat 25800
 cgcggcgaac gagccctcga ccaccaggga gctgaggaac cggatcttcc cactcttta 25860
 tgccatTTTT cagcagagtc gaggtcagca gcaagagctc aaagtaaaaa atcggctctct 25920
 gcgctcgctc acccgagtt gcttgtacca caaaaacgaa gatcagctgc agcgactct 25980
 cgaagacgcc gaggtctgtg tccacaagta ctgcgcgctc actcttaag actaacgds 26040
 dacyrtnkrt ndacycatna tgccgaggaa gaagcaggag ccgctagtgg aggagatgga 26100
 agaagaatgg gacagccagg cagaggagga cgaatgggag gaggagacag aggaggaaga 26160
 attggaagag gtggaagagg agcaggcaac agagcagccc gtcgcccac catccgccc 26220
 ggcagccccg gcggtcacgg atacaacctc cgctccggtc aagcctcctc gtagatggga 26280
 tcgagtgaag ggtgacggtg agcacgagcg gcagggctac cgatcatgga gggcccacaa 26340
 agccgcatc atcgctgct tgcaagactg cggggggaac atcgctttcg cccgccccta 26400
 cctgctcttc caccgcgggg tgaacatccc ccgcaacgtg ttgcattact accgtcacct 26460
 tcacagctaa cgcdsdacyr tnvrndacy catnatgagc aaggagattc ccaccctta 26520
 catgtggagc tatcagcccc agatgggcct ggccgcccgc gcctcccagg actactccac 26580
 ccgcatgaac tggctcagtg ccggcccctc gatgatctca cgggtcaacg ggggtccgtaa 26640
 ccatcgaaac cagatattgt tggagcaggc ggcggtcaca tccacgcca gggcaaagct 26700
 caaccgctg aattggcct ccaccctggt gtatcaggaa atccccgggc cgactaccgt 26760
 actacttccg cgtgacgcac tggccgaagt ccgcatgact aactcaggtg tccagctggc 26820
 cggcgggcgt tcccggtgcc cgctccgccc acaatcgggt ataaaaacc tgatgatccg 26880
 aggagagggc acacagctca acgacgagtt ggtgagctct tcgatcggtc tgcgaccgga 26940
 cggagtgttc caactagccg gagccgggag atcatccttc actcccaacc aggcctacct 27000
 gaccttgagc agcagctctt cggagcctcg ctccggaggc atcggaacc tccagttcgt 27060

ES 2 696 551 T3

ggaggagttt gtgccctcgg tctacttcaa ccccttctcg ggatcgccag gcctctaccc 27120
 ggacgagttc ataccgaact tcgatgcagt gagagaagcg gtggacggct acgactgacg 27180
 cdsdacyrtn krtndacyca tnatgtccca tggtgactcg gctgagctcg ctcggttgag 27240
 gcatctggac cactgccgcc gcctgcgctg cttcgcccgg gagagctgcg gactcatcta 27300
 ctttgagctg cccgaggagc accccaacgg ccctgcacac ggagtacgga tcaccgtaga 27360
 gggcaccgcc gagtctcacc tggtcaggtt cttcacccag caacccttcc tggtcgagcg 27420
 ggaccggggc gccaccacct acaccgtcta ctgcatctgt cctaccccaa agttgcatga 27480
 gaatTTTTGC tgtactcttt gtggtgagtt taataaaagc tgacgdsda cyrtncraha 27540
 rtdacycat natgagaatt tttgctgtac tctttgtggt gagtttaata aaagctgaac 27600
 taagaaccta ctttggaatc ccttgtcgtc atcaaatcca caagaccatc aacttcacct 27660
 ttgaggaaca ggtgaacttt acctgcaagc cacacaagaa gtacgtcacc tggttttacc 27720
 agaaactac tctagcagta gccaacacct gctcgaacga cgggtgttctt cttccaaaca 27780
 atctcaccag tggactaact ttctcagtga aaagggcaaa gctaattctt catcgcccta 27840
 ttgtagaagg aacttaccag tgtcagagcg gaccttgctt ccacagttt actttggtga 27900
 acgttaccgg cagcagcaca gtcgctccag aaactaacct tctttctgat actaacactc 27960
 ctaaaaccgg aggtgagctc tgggttcctt ctctgacaga gggggtagt catattgaag 28020
 cggtcgggta tttgatttta ggggtggtcc tgggtgggtg catagcggtg ctatattacc 28080
 ttcttgcgtg ggtcgaatc aggtattta tctgctgggt cagacattgt ggggaggaac 28140
 catgacgds dacyrtnkrt ndacycatna tgaaggggct cttgctgatt atcctttccc 28200
 tggttggggg tttactggcc tgccacgaac agccacgatg taacatcacc acaggcaatg 28260
 agaggaacga ctgctctgta gtgatcaaat gcgagcacca gtgtcctctc aacattacat 28320
 tcaagaataa gaccatggga aatgtatggg tgggattctg gcaaccagga gatgagcaga 28380
 actacacggc cactatccat ggtagcgatg gaaatcacac tttcggtttc aaattcattt 28440
 ttgaagtcac gtgtgatata aactgcatg tggctagact tcatggcttg tggcccccta 28500
 ccaaggagaa catggttggg ttttcttgg cttttgtgat catggcctgt gcaatgtcag 28560
 gtctgctggt aggggctcta gtgtggttcc tgaagcgcaa gccaggtac ggaaatgagg 28620
 agaaggaaaa attgctataa cgcdsdacyr tnkcrbrtnd acycatnatg aatactttga 28680
 ccagtgtcgt gctgctctct cttttagtta ttaatgtgga atgtgccgat cctattctag 28740
 ttagtgtaga ttggggaaaa aatcttacat tagaggggtcc taaagaaaca ccagttgaat 28800
 ggtgggggtg aagaaacata caacaactgt gcatagggaa tcaaaccaaa cataaagagc 28860
 taagtcacag atgtaatgtc cagaacataa ctttactggt tgtaaatact agttttaatg 28920

ES 2 696 551 T3

gagactactt tgggtttaa aatgataaca gcggtatgaa acattataaa gtcacagtta 28980
taccocctaa accctccact cggaaacctc tttctcctcc aactatgta aacgcaacta 29040
tggggcaaaa cctaacatta gtggggcctg caaacattcc agttacttgg cttagtgaat 29100
atggcacggt gtgtgagggc aaaaaattt tgcacaaaaga attaaatcac acctgtaacg 29160
aacagaacct cacgttactg tttgttaata tgacacacaa cggaccatat tttggctttg 29220
acaaatacaa cattgataga gagcagtatg aggtttctat tattagtttg tttaaagttg 29280
gcgctggaca gaagaaaatt gggaaaggac agaaaaagga ggaaaagaca aaaccaaact 29340
ctagtgattt gggacaaaaga caatccagac caaagaaaaa agatattggt gaagaggtcc 29400
aatcaaaac aggagaaaat cgaacccttg ttggtccacc tggaaaagtt gattggatta 29460
aactttccag tggaaacaat aatgttctta agttgtgtaa tggcgacaag tatattaaac 29520
acacatgtga tggcaaaaat ttaacattaa ttaatgtgac tagaatttat gacggaactt 29580
attatggttc tagcaatgat ggctcaagtc attacaaaagt taccatctat gaattacaca 29640
aagttaataa aactaaatct atgottaagc catacactac aaaaagaact acagtgaatg 29700
caacagatga cagtgtcac aaaattgctt tgcagcagga aaataatggg caaacagaaa 29760
atgatcaaga atcaaaaatt ccatctgcta ctgtggcaat cgtgggggga gtgattgcgg 29820
gcttcataac tataatcatt gtcattctgt gctacatctg ctgccgcaag cgtcccaggg 29880
catacaataa tatggtagac cactactca gcttctctta ctgacgdsd acyrtnbkcr 29940
grndacyca tnatgaaggc tttcacagct tgcgttctga ttagcataat tacacttagt 30000
ttagcagcac ctaaaccaga agtatataca caagttaatg tcaactagggg tgggaatgct 30060
aactagatg gaccatttaa caataacaca tggacaagat atcatgatga tgggagaaaa 30120
aacggatgga tgaatatttg taaatgggtca gaccatcat acacatgtca tagtaatgga 30180
agccttagta tttttgcttt caacattagt tcaggtaaat ataaagttca aagttact 30240
aacagttata atggattaga tggttatgaa aaactgaaag ttaaaatggt taatctaaca 30300
gtaattgagc ctccaaccac tagagcacc accacagtta ggacaactaa ggaaacaaca 30360
cagcctacca ctgtaccac tacacatcca accaccag tcagtacaac tattgagacc 30420
actactcata ctacacagct agacacaaca gtgcagaata ctactttact gattgaattt 30480
ttactaagag ggaatgaaag tactactgat cagacagagg ctacctcaag tgccttcagc 30540
agtactgcaa atttaacttc gcttgcttgg actaatgaaa ccggagtatc attgatgcat 30600
ggccagcctt actcaggttt ggatattcaa attacttttc tggttgtctg tgggatcttt 30660
attcttgggt ttcttctgta ctttgtctgc tgcaaagcca gagagaaatc tagtaggcc 30720
atctacaggc cagtaatcgg ggaacctcag cctctccaag tggaaagggg tctaaggaat 30780
cttctcttct ctttttcagt atggtgacgc dsdacyrtnb krdartndac ycatnatgat 30840

ES 2 696 551 T3

tcctaggttc	ttcctattta	acatcctctt	ctgtctcttc	aacatctgcg	ctgccttcgc	30900
ggcogtctcg	cacgcctcgc	ccgactgtct	cgggcccttc	cccacctacc	tcctctttgc	30960
cctgctcacc	tgcacctgcg	tctgcagcat	tgtctgcctg	gtcgtcacct	tcctgcagct	31020
catcgactgg	tgctgcgcg	gttacaatta	tctccaccac	agtcccgaat	acagggacaa	31080
gaacgtagcc	agaatcttaa	ggctcatctg	acgcdsdacy	rtnbkrdbrt	ndacycatna	31140
tgcagactct	gctgatactg	ctatccctcc	tctcccctgc	ccttgctgac	tgtaaatttg	31200
cggacatatg	gaatttctta	gactgttatc	aagagaaaat	ggatatgcct	tcctattact	31260
tggtgattgt	gggtgtagtc	atggctctgt	cctgcacttt	ctttgctatc	atgatctacc	31320
cctgttttga	tctcggctgg	aactctgttg	aggcattcac	atacacacta	gaaagcagtt	31380
cactagcctc	cacgcccga	cccacaccgc	ctccccgcag	aatcagttc	cccctgattc	31440
agtacttaga	agagccccct	ccccggcccc	cttccactgt	tagctacttt	cacataaccg	31500
goggggatga	ctgacgdsd	acyrtnbkrt	ndacycatna	tgactgacca	ccacctggac	31560
ctcgagatgg	acggccaggc	ctccgagcag	cgcacctctg	aactgcgcgt	ccgtcagcag	31620
caggagcggg	ccgccaagga	gctcctcgat	gccatcaaca	tccaccagtg	caagaagggc	31680
atcttctgcc	tggtcaaaca	ggcaaagatc	acctacgagc	tcgtgtccaa	cggcaaacag	31740
catcgctca	cctatgagat	gccccagcag	aagcagaagt	tcacctgcat	ggtgggcgtc	31800
aaccccatag	tcacaccca	gcagtcgggc	gagaccagcg	gctgcatcca	ctgctcctgc	31860
gaaagccccg	agtgcactca	ctccctcctc	aagacccttt	gcggacttcg	cgacctcctc	31920
cccatgaact	gacgdsdac	ygnrtnrtnr	tndacycatn	cmmntatgaa	aattgtggac	31980
caggaatttg	acatcccttt	caaggtgtgg	aggaagttcg	ccgcccgcgg	gggactggag	32040
taccagagct	gggaggaggg	taccgaggtg	ctgctgaaca	actacaccag	agacatactt	32100
tcagatttca	agtaacgds	dacyrtnbrr	tndacycatn	atgtcaaaga	ggctccgggt	32160
ggaagatgac	ttcaaccccc	tctaccctca	tggctacgcg	cggaatcaga	atatcccctt	32220
cctcactccc	ccctttgtct	cctccgatgg	attccaaaac	ttccccctg	gggtcctgtc	32280
actcaaactg	gctgatccaa	tcgccatcgc	caatgggaat	gtctcactca	aggtgggagg	32340
gggactcact	gtagaacaac	agtctggaaa	actgagtggtg	gatactaagg	cacccttgca	32400
agttgcaaat	gacaacaaat	tggagctatc	ttatgatgat	ccatttaagg	tagagaataa	32460
caaacttgga	attaagctg	gccatggttt	agcagttgta	actaaagaaa	acacaagtct	32520
tcctagtcta	gttggaacac	ttgtagtttt	aactggaaaa	ggaataggta	ctggatcaag	32580
tgcacatgga	ggaactattg	atgtaagact	tggtgaagga	ggtgggttat	catttgatga	32640
aaaaggagac	ttagtagctt	gggacaaaaa	aatgatata	cgcacccttt	ggacaacacc	32700

ES 2 696 551 T3

tgatccttct ccaaattgca aagttgaaac agcaagagac tcaaagctaa ccttagcact 32760
 tacaaaatgt ggtagtcaaa ttttggccac tgtatcttta cttggttgta cgggcaaata 32820
 tgctattata agtgacacag tcaacccaaa gcagttctct attaagttac tgtttaatga 32880
 caaggggtgt ttgttaagtg actcaaactct tgatgggaca tattggaact atagaagcaa 32940
 caataacaac ataggcactc cttataaaga ggctgttggt tttatgcaa gcacaacagc 33000
 ttatcctaag ccaaccaaca acaccagcac agatccggat aaaaaagtga gtcaaggtaa 33060
 aaataaaatt gtaagcaata tttatcttgg aggagaggta tatcaaccag gatttattgt 33120
 tgttaaattt aatcaggaaa ctgatgcaa ttgtgcatac tctattacat ttgattttgg 33180
 atggggtaag gtgtataagg atcctatacc atatgatacc tcttctttta ctttctcata 33240
 tatcgctcaa gaatgacgd sdacyrtnrr tndacycatn cmmntnatga gcaccgagga 33300
 acaatcgacc tcgctccgcc atcatccata ccgaggggcc cgtttaccac gatctgagga 33360
 ggagaccagg gcctcactga ctgaacaaca cccctgctg cccgattgtg atcatgctga 33420
 atatcataat actgtgacct tggactgtga ggcccgttg gaagactttt cagaggacgg 33480
 cttcatctca atcaccgatc cccgtttggc tcgccaggaa actgtgtgga ttatagacac 33540
 taaatccagt tcccgcacta atcagaacat tcccctatth aaggccacc gtgctgagag 33600
 aattgtttac actgtgaaat gggctggtgg tgggagactg actaccctg ctggtgtaaa 33660
 aatcaataaa gatacatgac gcdsdacyrt nkrtndacyc atncmmntat gagcaccgag 33720
 gaacaatcga cctcgctcog ccatcatcca taccgcaggg cccgtttacc acgatctgag 33780
 gaggagacca gggcctcact gactgaacaa caccctctgc tgcccgattg tgatcatgct 33840
 gaatatcata atgtaagttc tgtccgtgga ttaccatgtg ctgctggctt taccctgctc 33900
 caagagtttc cagtcccctg ggatatgatc ctgacccag aggaaataaa aattttaaaa 33960
 agatgtatgt cagtgtgct gtgccccgct accctggact tggtgagagc tcagatggtg 34020
 agcgggtacg agcgtggat cctgcattgc cactgttctg ccccggtctc cctgcagtgc 34080
 cgggcccggag gcaccctgct ggccgtgtgg ttcaggagag tcatttacgg tgcatgttc 34140
 aaccagcgtc tcccctggta ccgccagatt gtgaacagaa acatgccaa agagatcatg 34200
 tatatggca gtgtgttcat gaggggcagg cacctgatat actgccgat ttggtatgat 34260
 ggtcacgtgg gttccatcat cccaacatg agctttggct ggagcaccct gaattatggg 34320
 ctgctgaata acatggtgat tatgtgctgc acttactgtg agaacatgag cgagatcagg 34380
 atgaggtgct gtgcccagc caccaggaga ctgatgctga aggctgtggg gatcatagtc 34440
 agagagactt gcgatcccga tcccatctgc agcagccgca ccgagccccg gcggcagaga 34500
 ctgttgaggg cgctgatgga gaggcacaga cccatcctgt tttccgagta tgaatctgtg 34560
 cgttcttctc attccaccag actgtgacgc dsdacyrtnk rtndacycat ncmntatgt 34620

ES 2 696 551 T3

gctgctggct ttaccctgct ccaagagttt ccagtcccct gggatatgat cctgacccca 34680
gaggaaataa aaattttaaa aagatgtatg tcagtgtgcc tgtgccccgc taccctggac 34740
ttggtgagag ctacagatggt gagcgggtac gagcgtgga tcctgcattg ccaactgttcg 34800
tccccgggct ccctgcagtg ccgggcggga ggcaccctgc tggccgtgtg gttcaggaga 34860
gtcatttacg ggtgcatggt caaccagcgc ttcccctggt accgccagat tgtgaacaga 34920
aacatgccca aagagatcat gtatatgggc agtgtgttca tgaggggcag gcacctgata 34980
tactgccgca tttggtatga cgcdsdacyr tnrrndacy catncmmnta tggttcttcc 35040
aatcctgcc aagccccctc tgaatgatag acaaggcagc attaactgga tggggatggc 35100
ctacagagtc ctggctgatg tgatgagggg aattcgcagc gacgggcttt ttgtttcatc 35160
agatgcagag gaacttctcc agaaccttcg ggaatggatg tacttcagtt ggatgactga 35220
gcggcagcag cgaaaggacg gacggaggag gggatatctgc tgttccccggg ccactttctg 35280
ctggcagaag tacgacaagg tacgcaagag ggtgcactac aatgagcacc gaggaacaat 35340
cgacctcgt ccgccatcat ccataccgca gggcccgttt accacgatct gacgdsdac 35400
yrtnrnda cyatncmmn tatgaaggtc tgcctgctta tgaaggtgga gggggcgtg 35460
tgggagcttt tcaacatgtg tggagtggac ttacaccaac agttttagc gataattcaa 35520
ggctggaaaa acgaaaatta cctggggatg gttcaggact gtaatatgat gattgaggag 35580
caggatggcg ggcccgttt taatgtgctg ttgtttctgg atgtacgtg ggagcctctg 35640
ctggaagcca cagtagagca ccttgagaat cgcataattt ttgatttggc tgtctgtttc 35700
caccaaaaca gtggaggaga gagtgccac ctccgtgacc tgaattttat attgctgcgc 35760
gaccgtttgg agtaacgds dacyrtnrr ndacyatnc mmntatgctt gagcggcgcg 35820
gtgtcagcta ccacattgtg gtccctgggg ccctagtac ttatttagag gacttttcca 35880
ttactgctat gattaaagag cacctacctc gctttatcac tcacctctg gaaggaatca 35940
ccggtgacac aaagagagct tattccagca tgcagttttt gggggctaata tatggagctc 36000
taagatactc cctcacgctt gccagtccaa cgcttagccc tggctctgac ttggcatctg 36060
tagtggccga ggacttgagt gactttttac agctaact gagacgcgag ctacgggcag 36120
agggcagaaa ctcatgaaat cttgttgttt tgaacacgct gcaggttgtg gagcagccag 36180
atctgttct attatgacgc dsdacyrtnr rndacycat nmmntatgg ctgaatctct 36240
gtagctttc atagatagcc ctggagggat cgctcccgtc caggaagggg ctagcaatag 36300
atatacttc ttttgccccg aatctttcca cattcctccg catgggggtga tattgcttca 36360
cctcagagt agcgtgctgg ttcctactgg atatcagggc agatttatgg ccttgaatga 36420
ctacatgcc aggggcatac taaccagtc cgatgtgata tttgccggga gaagacatga 36480

ES 2 696 551 T3

```
tctctctgtg ctgctcttta accacacgga ccgatTTTTg tatgtccgcg agggccaccc 36540
agtgggaacc ctgctgctgg agagagtgat ttttccttca gtgagaatag ccaccctggt 36600
ttag 36604
```

5 <210> 2
<211> 253
<212> PRT
<213> Adenovirus de tipo 36
<400> 2

ES 2 696 551 T3

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

Val Ile Met Leu Glu Asp Phe Val Asn Thr Val Leu Glu Asp Glu Leu
20 25 30

His Pro Glu Pro Phe Glu Leu Gly Pro Thr Leu Gln Asp Leu Tyr Asp
35 40 45

Leu Glu Val Asp Ala His Asp Asp Asp Pro Asn Glu Glu Ala Val Asn
50 55 60

Leu Ile Phe Pro Glu Ser Met Ile Leu Gln Ala Asp Ile Ala Ser Glu
65 70 75 80

Ala Ile Val Thr Pro Leu His Thr Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro Glu
85 90 95

Leu Glu Glu Asp Glu Glu Ile Asp Leu Arg Cys Tyr Glu Glu Gly Phe
100 105 110

Pro Pro Ser Asp Ser Glu Asp Glu Gln Gly Glu Gln Gln Met Ala Leu
115 120 125

Ile Ser Asp Leu Ala Cys Val Ile Val Glu Glu Gln Val Val Ile Glu
130 135 140

Lys Ser Thr Glu Pro Val Gln Gly Cys Arg Asn Cys Gln Tyr His Arg
145 150 155 160

Asp Lys Ser Gly Asp Pro Asn Ala Ser Cys Ala Leu Cys Tyr Met Lys
165 170 175

Ser Thr Phe Ser Phe Ile Tyr Ser Pro Val Ser Glu Asp Glu Ser Ser
180 185 190

Pro Ser Glu Glu Asp His Pro Ser Pro Pro Glu Leu Ser Gly Glu Thr

ES 2 696 551 T3

195 200 205

Pro Leu Gln Val His Arg Pro Thr Pro Val Arg Ala Ser Gly Glu Arg
210 215 220

Arg Ala Ala Val Glu Lys Ile Glu Asp Leu Leu His Asp Met Gly Gly
225 230 235 240

Asp Glu Pro Leu Asp Leu Ser Leu Lys Arg Pro Arg Asn
245 250

- <210> 3
- <211> 191
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 3

ES 2 696 551 T3

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

Val Ile Met Leu Glu Asp Phe Val Asn Thr Val Leu Glu Asp Glu Leu
 20 25 30

His Pro Glu Pro Phe Glu Leu Gly Pro Thr Leu Gln Asp Leu Tyr Asp
 35 40 45

Leu Glu Val Asp Ala His Asp Asp Asp Pro Asn Glu Glu Ala Val Asn
 50 55 60

Leu Ile Phe Pro Glu Ser Met Ile Leu Gln Ala Asp Ile Ala Ser Glu
 65 70 75 80

Ala Ile Val Thr Pro Leu His Thr Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro Glu
 85 90 95

Leu Glu Glu Asp Glu Glu Ile Asp Leu Arg Cys Tyr Glu Glu Gly Phe
 100 105 110

Pro Pro Ser Asp Ser Glu Asp Glu Gln Gly Pro Val Ser Glu Asp Glu
 115 120 125

Ser Ser Pro Ser Glu Glu Asp His Pro Ser Pro Pro Glu Leu Ser Gly
 130 135 140

Glu Thr Pro Leu Gln Val His Arg Pro Thr Pro Val Arg Ala Ser Gly
 145 150 155 160

Glu Arg Arg Ala Ala Val Glu Lys Ile Glu Asp Leu Leu His Asp Met
 165 170 175

Gly Gly Asp Glu Pro Leu Asp Leu Ser Leu Lys Arg Pro Arg Asn
 180 185 190

- <210> 4
- <211> 182
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 4

ES 2 696 551 T3

Met Asp Val Trp Thr Ile Leu Ala Asp Phe Ser Lys Thr Arg Arg Leu
 1 5 10 15

Val Glu Asp Ser Ser Asp Gly Cys Ser Gly Phe Trp Arg His Trp Phe
 20 25 30

Gly Thr Pro Leu Ser Arg Leu Val Tyr Thr Val Lys Lys Asp Tyr Lys
 35 40 45

Glu Glu Phe Glu Asn Leu Phe Ala Asp Cys Ser Gly Leu Leu Asp Ser
 50 55 60

Leu Asn Leu Gly His Gln Ser Leu Phe Gln Glu Arg Val Leu His Ser
 65 70 75 80

Leu Asp Phe Ser Ser Pro Gly Arg Thr Thr Ala Gly Val Ala Phe Val
 85 90 95

Val Phe Leu Val Asp Lys Trp Ser Gln Asp Thr Gln Leu Ser Arg Gly
 100 105 110

Tyr Ile Leu Asp Phe Ala Ala Met His Leu Trp Arg Ala Trp Ile Arg
 115 120 125

Gln Arg Gly Gln Arg Ile Leu Asn Tyr Trp Leu Leu Gln Pro Ala Ala
 130 135 140

Pro Gly Leu Leu Arg Leu His Arg Gln Thr Ser Met Leu Glu Glu Glu
 145 150 155 160

Met Arg Gln Ala Met Asp Glu Asn Pro Arg Ser Gly Leu Asp Pro Pro
 165 170 175

Ser Glu Glu Glu Leu Asp
 180

<210> 5
 <211> 495
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 5

5

ES 2 696 551 T3

Met Glu Pro Gly His Pro Thr Glu Gln Gly Leu His Pro Gly Leu Arg
1 5 10 15

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

Leu Glu Leu Leu Ala Ser Thr Ala Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser
35 40 45

Thr Gln Thr Asn Ile His Val Gly Gly Arg Asn Glu Ala Gly His Gly
50 55 60

Arg Glu Pro Glu Glu Arg Pro Gly Pro Ser Val Gly Arg Gly Ala Gly
65 70 75 80

Leu Asn Gln Val Ser Ser Leu Tyr Pro Glu Leu Ser Lys Val Leu Thr
85 90 95

Ser Met Ala Arg Gly Val Lys Arg Glu Arg Ser Asp Gly Gly Asn Thr
100 105 110

Gly Met Met Thr Glu Leu Thr Ala Ser Leu Met Asn Arg Lys Arg Pro
115 120 125

Glu Arg Leu Thr Trp Tyr Glu Leu Gln Gln Glu Cys Arg Asp Glu Ile
130 135 140

Gly Leu Met Gln Asp Lys Tyr Gly Leu Glu Gln Ile Lys Thr His Trp
145 150 155 160

Leu Asn Pro Asp Glu Asp Trp Glu Glu Ala Ile Lys Lys Tyr Ala Lys
165 170 175

Ile Ala Leu Arg Pro Asp Cys Lys Tyr Ile Val Thr Lys Thr Val Asn
180 185 190

Ile Arg His Ala Cys Tyr Ile Ser Gly Asn Gly Ala Glu Val Val Ile
195 200 205

Asp Thr Leu Asp Lys Ala Ala Phe Arg Cys Cys Met Met Gly Met Arg
210 215 220

Ala Gly Val Met Asn Met Asn Ser Met Ile Phe Met Asn Ile Lys Phe

ES 2 696 551 T3

225						230						235				240
Asn	Gly	Glu	Lys	Phe	Asn	Gly	Val	Leu	Phe	Met	Ala	Asn	Ser	His	Met	
				245					250					255		
Thr	Leu	His	Gly	Cys	Ser	Phe	Phe	Gly	Phe	Asn	Asn	Met	Cys	Ala	Glu	
			260					265					270			
Val	Trp	Gly	Ala	Ala	Lys	Ile	Arg	Gly	Cys	Lys	Phe	Tyr	Gly	Cys	Trp	
		275					280					285				
Met	Gly	Val	Val	Gly	Arg	Pro	Lys	Ser	Glu	Met	Ser	Val	Lys	Gln	Cys	
	290					295					300					
Val	Phe	Glu	Lys	Cys	Tyr	Leu	Gly	Val	Ser	Thr	Glu	Gly	Asn	Ala	Arg	
305					310					315					320	
Val	Arg	His	Cys	Ser	Ser	Met	Glu	Thr	Gly	Cys	Phe	Cys	Leu	Val	Lys	
				325					330					335		
Gly	Thr	Ala	Ser	Leu	Lys	His	Asn	Met	Val	Lys	Gly	Cys	Thr	Asp	Glu	
			340					345					350			
Arg	Met	Tyr	Asn	Met	Leu	Thr	Cys	Asp	Ser	Gly	Val	Cys	His	Ile	Leu	
		355					360					365				
Lys	Asn	Ile	His	Val	Thr	Ser	His	Pro	Arg	Lys	Lys	Trp	Pro	Val	Phe	
	370					375					380					
Glu	Asn	Asn	Leu	Leu	Ile	Lys	Cys	His	Met	His	Leu	Gly	Ala	Arg	Arg	
385					390					395					400	
Gly	Thr	Phe	Gln	Pro	Tyr	Gln	Cys	Asn	Phe	Ser	Gln	Thr	Lys	Leu	Leu	
				405					410					415		
Leu	Glu	Asn	Asp	Ala	Phe	Ser	Arg	Val	Asn	Leu	Asn	Gly	Ile	Phe	Asp	
			420					425					430			
Met	Asp	Val	Ser	Val	Tyr	Lys	Ile	Leu	Arg	Tyr	Asp	Glu	Thr	Lys	Ser	
		435				440						445				
Arg	Val	Arg	Ala	Cys	Glu	Cys	Gly	Gly	Arg	His	Thr	Arg	Met	Gln	Pro	
	450					455					460					
Val	Ala	Leu	Asp	Val	Thr	Glu	Glu	Leu	Arg	Pro	Asp	His	Leu	Val	Met	
465					470					475					480	

ES 2 696 551 T3

Ala Cys Thr Gly Thr Glu Phe Ser Ser Ser Gly Glu Asp Thr Asp
 485 490 495

5 <210> 6
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 6

Met Asn Gly Thr Gly Gly Ala Phe Glu Gly Gly Leu Phe Ser Pro Tyr
 1 5 10 15

Leu Thr Thr Arg Leu Pro Gly Trp Ala Gly Val Arg Gln Asn Val Met
 20 25 30

Gly Ser Thr Val Asp Gly Arg Pro Val Leu Pro Ala Asn Ser Ser Thr
 35 40 45

Met Thr Tyr Ala Thr Val Gly Ser Ser Ser Leu Asp Ser Thr Ala Ala
 50 55 60

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Met Thr Ala Thr Arg Leu Ala Ser Ser
 65 70 75 80

Tyr Met Pro Ser Ser Ser Ser Ser Pro Ser Val Pro Ser Ser Ile Ile
 85 90 95

Ala Glu Glu Lys Leu Leu Ala Leu Leu Ala Glu Leu Glu Ala Leu Ser
 100 105 110

Arg Gln Leu Ala Ala Leu Thr Gln Gln Val Ser Glu Leu Arg Glu Gln
 115 120 125

10 Gln Gln Gln Gln Asn Lys
 130

15 <210> 7
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 7

ES 2 696 551 T3

Met Glu Thr Arg Gly Arg Arg Pro Cys Pro Phe Gln His Gln Gln Asp
1 5 10 15

Glu Ser Gln Ala His Pro Cys Lys Arg Pro Ala Arg Gly Pro Pro Leu
20 25 30

His Arg Asp Gly Asp His Thr His Ala Asp Pro Glu Thr Leu Glu Gly

ES 2 696 551 T3

	35		40		45														
His	Asp	Ala	Gly	Arg	Ala	Gly	Arg	Pro	Ser	Ser	Arg	Ala	Leu	Gln	Ser				
	50					55					60								
Gln	Ser	Ser	Gln	Pro	Pro	Lys	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Asp	Arg	Asp	Ala				
	65				70					75					80				
Val	Glu	His	Val	Thr	Glu	Leu	Trp	Asp	Arg	Leu	Glu	Leu	Leu	Ser	Gln				
				85					90					95					
Thr	Leu	Ala	Lys	Met	Pro	Met	Ala	Asp	Gly	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn				
			100					105					110						
Phe	Ala	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Leu	Ser	Leu	Gly	Gly	Asp	Arg	Leu	Leu				
		115					120					125							
Gly	Glu	Leu	Val	Arg	Glu	Asn	Leu	Gln	Val	Arg	Asp	Met	Leu	Asn	Glu				
	130					135					140								
Val	Ala	Pro	Leu	Leu	Arg	Asp	Asp	Gly	Ser	Cys	Met	Ser	Leu	Asn	Tyr				
	145				150					155					160				
His	Leu	Gln	Pro	Val	Ile	Gly	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Thr	Gly	Cys	Gly				
				165					170					175					
Lys	Ser	Gln	Leu	Leu	Arg	Asn	Leu	Leu	Ser	Ser	Gln	Leu	Ile	Thr	Pro				
			180					185					190						
Ala	Pro	Glu	Thr	Val	Phe	Phe	Ile	Ala	Pro	Gln	Val	Asp	Met	Ile	Pro				
		195					200					205							
Pro	Ser	Glu	Met	Lys	Ala	Trp	Glu	Met	Gln	Ile	Cys	Glu	Gly	Asn	Phe				
	210					215					220								
Ala	Pro	Gly	Pro	Glu	Gly	Thr	Ile	Val	Pro	Gln	Ser	Gly	Thr	Leu	Arg				
	225				230					235					240				
Pro	Lys	Phe	Ile	Lys	Met	Ser	Tyr	Asp	Asp	Leu	Thr	Gln	Glu	His	Asn				
				245					250					255					
Tyr	Asp	Val	Ser	Asp	Pro	Arg	Asn	Val	Phe	Ala	Lys	Ala	Ala	Ala	His				
			260					265					270						
Gly	Pro	Ile	Ala	Ile	Ile	Met	Asp	Glu	Cys	Met	Glu	Asn	Leu	Gly	Gly				
		275					280					285							

ES 2 696 551 T3

His Lys Gly Val Ser Lys Phe Phe His Ala Phe Pro Ser Lys Leu His
 290 295 300

Asp Lys Phe Pro Lys Cys Thr Gly Tyr Thr Val Leu Val Val Leu His
 305 310 315 320

Asn Met Asn Pro Arg Arg Asp Leu Gly Gly Asn Ile Ala Asn Leu Lys
 325 330 335

Ile Gln Ala Lys Leu His Ile Ile Ser Pro Arg Met His Pro Ser Gln
 340 345 350

Leu Asn Arg Phe Ala Asn Thr Tyr Thr Lys Gly Leu Pro Val Ala Ile
 355 360 365

Ser Leu Leu Leu Lys Asp Ile Ile Gln His His Ala Gln Arg Pro Cys
 370 375 380

Tyr Asp Trp Ile Ile Tyr Asn Thr Thr Pro Glu His Glu Ala Met Gln
 385 390 395 400

Trp Cys Tyr Leu His Pro Arg Asp Gly Leu Met Pro Met Tyr Leu Asn
 405 410 415

Ile Gln Ser His Leu Tyr Arg Val Leu Glu Lys Ile His Arg Thr Leu
 420 425 430

Asn Asp Arg Glu Arg Trp Thr Arg Ala Tyr Arg Ala Arg Lys Asn Lys
 435 440 445

<210> 8
 <211> 1176
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36

5

<400> 8

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

Ala Asp Pro Gly Cys Gln Pro Pro Arg Arg Arg Ala Arg Gln Arg Ser
 20 25 30

Gln Gly Ala Ala Pro Gly Pro Ala Arg Ala Pro Arg Arg Arg Ala Ser
 35 40 45

Ala Ala Pro Ala Arg Gly Ala Gly Thr Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala
 50 55 60

10

ES 2 696 551 T3

Ser Ala Thr Pro Leu Leu Lys Ala His Arg Gly Thr Val Val Ala Pro
 65 70 75 80
 Arg Ser Tyr Gly Leu Met Gln Cys Val Asp Thr Ala Thr Asn Ser Pro
 85 90 95
 Val Glu Ile Lys Tyr His Leu His Leu Lys His Ala Leu Thr Arg Phe
 100 105 110
 Tyr Glu Val Asn Leu Arg Thr Leu Pro Pro Asp Leu Asp Leu Arg Asp
 115 120 125
 Thr Met Asp Ser Ser Gln Leu Arg Ala Leu Val Phe Ala Leu Arg Pro
 130 135 140
 Arg Arg Ala Glu Ile Trp Thr Trp Leu Pro Arg Gly Leu Val Ser Leu
 145 150 155 160
 Ser Val Leu Glu Glu Pro Gln Gly Glu Ser His Ala Gly Glu His Glu
 165 170 175
 Asn His Gln Pro Gly Pro Pro Leu Leu Lys Phe Leu Leu Lys Gly Arg
 180 185 190
 Ala Val Tyr Leu Val Asp Glu Val Gln Pro Val Gln Arg Cys Glu Tyr
 195 200 205
 Cys Gly Arg Phe Tyr Lys His Gln His Glu Cys Ser Val Arg Arg Arg
 210 215 220
 Asp Phe Tyr Phe His His Ile Asn Ser His Ser Ser Asn Trp Trp Gln
 225 230 235 240
 Glu Ile Gln Phe Phe Pro Ile Gly Ser His Pro Arg Thr Glu Arg Leu
 245 250 255
 Phe Val Thr Tyr Asp Val Glu Thr Tyr Thr Trp Met Gly Ser Phe Gly
 260 265 270
 Lys Gln Leu Val Pro Phe Met Leu Val Met Lys Phe Ser Gly Asp Pro
 275 280 285
 Glu Leu Val Ala Leu Ala Arg Asp Leu Ala Val Arg Leu Arg Trp Asp
 290 295 300
 Arg Trp Glu Arg Asp Pro Leu Thr Phe Tyr Cys Val Thr Pro Glu Lys
 305 310 315 320

ES 2 696 551 T3

Met Ala Val Gly Gln Gln Phe Arg Leu Phe Arg Asp Glu Leu Gln Thr
 325 330 335

Leu Met Ala Arg Glu Leu Trp Ala Ser Phe Met Gln Ala Asn Pro His
 340 345 350

Leu Gln Glu Trp Ala Leu Glu Gln His Gly Leu Gln Cys Pro Glu Asp
 355 360 365

Leu Thr Tyr Glu Glu Leu Lys Lys Leu Pro His Ile Lys Gly Arg Pro
 370 375 380

Arg Phe Met Glu Leu Tyr Ile Val Gly His Asn Ile Asn Gly Phe Asp
 385 390 395 400

Glu Ile Val Leu Ala Ala Gln Val Ile Asn Asn Arg Ala Ser Val Pro
 405 410 415

Gly Pro Phe Arg Ile Thr Arg Asn Phe Met Pro Arg Ala Gly Lys Ile
 420 425 430

Leu Phe Asn Asp Val Thr Phe Ala Leu Pro Asn Pro Leu Ser Lys Lys
 435 440 445

Arg Thr Asp Phe Glu Leu Trp Glu His Gly Gly Cys Asp Asp Ser Asp
 450 455 460

Phe Lys Tyr Gln Phe Leu Lys Val Met Val Arg Asp Thr Phe Ala Leu
 465 470 475 480

Thr His Thr Ser Leu Arg Lys Ala Ala Gln Ala Tyr Ala Leu Pro Val
 485 490 495

Glu Lys Gly Cys Cys Pro Tyr Lys Ala Val Asn His Phe Tyr Met Leu
 500 505 510

Gly Ser Tyr Arg Ala Asp Asp Arg Gly Phe Pro Leu Arg Glu Tyr Trp
 515 520 525

Lys Asp Asp Glu Glu Tyr Ala Leu Asn Arg Glu Leu Trp Glu Lys Lys
 530 535 540

Gly Glu Ala Gly Tyr Asp Ile Ile Arg Glu Thr Leu Asp Tyr Cys Ala
 545 550 555 560

Met Asp Val Leu Val Thr Ala Glu Leu Val Ala Lys Leu Gln Asp Ser
 565 570 575

ES 2 696 551 T3

Tyr Ala His Phe Ile Arg Asp Ser Val Arg Leu Pro His Ala His Phe
 580 585 590
 Asn Ile Phe Gln Arg Pro Thr Ile Ser Ser Asn Ser His Ala Ile Phe
 595 600 605
 Arg Gln Ile Val Phe Arg Ala Glu Gln Pro Gln Arg Thr Asn Leu Gly
 610 615 620
 Pro Ala Phe Leu Ala Pro Ser His Glu Leu Tyr Asp Tyr Val Arg Ala
 625 630 635 640
 Ser Ile Arg Gly Gly Arg Cys Tyr Pro Thr Tyr Ile Gly Ile Leu Ser
 645 650 655
 Glu Pro Ile Tyr Val Tyr Asp Ile Cys Gly Met Tyr Ala Ser Ala Leu
 660 665 670
 Thr His Pro Met Pro Trp Gly Pro Pro Leu Asn Pro Tyr Glu Arg Ala
 675 680 685
 Leu Ala Ala Arg Glu Trp Gln Met Ala Leu Asp Asp Ala Ser Ser Lys
 690 695 700
 Ile Asp Tyr Phe Asp Lys Glu Leu Cys Pro Gly Ile Phe Thr Ile Asp
 705 710 715 720
 Ala Asp Pro Pro Asp Glu His Leu Leu Asp Val Leu Pro Pro Phe Cys
 725 730 735
 Ser Arg Lys Gly Gly Arg Leu Cys Trp Thr Asn Glu Pro Leu Arg Gly
 740 745 750
 Glu Val Ala Thr Ser Val Asp Leu Val Thr Leu His Asn Arg Gly Trp
 755 760 765
 Arg Val Arg Ile Val Pro Asp Glu Arg Thr Thr Val Phe Pro Glu Trp
 770 775 780
 Lys Cys Val Ala Arg Glu Tyr Val Gln Leu Asn Ile Ala Ala Lys Glu
 785 790 795 800
 Arg Ala Asp Arg Asp Lys Asn Gln Thr Met Arg Ser Ile Ala Lys Leu
 805 810 815
 Leu Ser Asn Ala Leu Tyr Gly Ser Phe Ala Thr Lys Leu Asp Asn Lys

ES 2 696 551 T3

	820		825		830														
Lys	Ile	Val	Phe	Ser	Asp	Gln	Met	Asp	Glu	Ser	Leu	Leu	Lys	Ser	Ile				
	835						840					845							
Ala	Ala	Gly	Gln	Ala	Asn	Ile	Lys	Ser	Ser	Ser	Phe	Leu	Glu	Thr	Asp				
	850					855					860								
Asn	Leu	Ser	Ala	Glu	Val	Met	Pro	Ala	Leu	Glu	Arg	Glu	Tyr	Leu	Pro				
865					870					875					880				
Gln	Gln	Leu	Ala	Leu	Val	Asp	Ser	Asp	Ala	Glu	Glu	Ser	Glu	Asp	Glu				
				885					890					895					
His	Arg	Pro	Ala	Pro	Phe	Tyr	Thr	Pro	Pro	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	His				
			900					905					910						
Val	Ala	Tyr	Thr	Tyr	Lys	Pro	Ile	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Glu	Glu	Gly				
		915					920					925							
Asp	Met	Cys	Leu	His	Thr	Val	Glu	Lys	Val	Asp	Pro	Leu	Val	Asp	Asn				
	930					935					940								
Asp	Arg	Tyr	Pro	Ser	His	Val	Ala	Ser	Phe	Val	Leu	Ala	Trp	Thr	Arg				
945					950					955					960				
Ala	Phe	Val	Ser	Glu	Trp	Ser	Glu	Phe	Leu	Tyr	Glu	Glu	Asp	Arg	Gly				
				965					970					975					
Thr	Ser	Leu	Gln	Asp	Arg	Pro	Ile	Lys	Ser	Val	Tyr	Gly	Asp	Thr	Asp				
			980					985					990						
Ser	Leu	Phe	Val	Thr	Glu	Arg	Gly	His	Arg	Leu	Met	Glu	Thr	Arg	Gly				
		995					1000					1005							
Lys	Lys	Arg	Ile	Lys	Lys	Asn	Gly	Gly	Lys	Leu	Val	Phe	Asp	Pro					
	1010					1015					1020								
Glu	Gln	Pro	Glu	Leu	Thr	Trp	Leu	Val	Glu	Cys	Glu	Thr	Val	Cys					
	1025					1030					1035								
Ala	His	Cys	Gly	Ala	Asp	Ala	Phe	Ala	Pro	Glu	Ser	Val	Phe	Leu					
	1040					1045					1050								
Ala	Pro	Lys	Leu	Tyr	Ala	Leu	Gln	Ser	Leu	Leu	Cys	Pro	Ala	Cys					
	1055					1060					1065								

ES 2 696 551 T3

Gly Arg Ser Ser Lys Gly Lys Leu Arg Ala Lys Gly His Ala Ala
 1070 1075 1080

Glu Ala Leu Asn Tyr Glu Leu Met Val Asn Cys Tyr Leu Ala Asp
 1085 1090 1095

Ala Gln Gly Glu Asp Arg Ala Arg Phe Ser Thr Ser Arg Met Ser
 1100 1105 1110

Leu Lys Arg Thr Leu Ala Ser Ala Gln Pro Gly Ala His Pro Phe
 1115 1120 1125

Thr Val Thr Glu Thr Thr Leu Thr Arg Thr Leu Arg Pro Trp Lys
 1130 1135 1140

Asp Met Thr Leu Ala Ala Leu Asp Ala His Arg Leu Val Pro Tyr
 1145 1150 1155

Ser Arg Ser Arg Pro Asn Pro Arg Asn Glu Glu Val Cys Trp Ile
 1160 1165 1170

Glu Met Pro
 1175

5 <210> 9
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 9

ES 2 696 551 T3

Met Ala Leu Ser Val Asn Asp Cys Ala Arg Leu Thr Gly Gln Thr Val
 1 5 10 15

Pro Thr Met Asp Tyr Phe Leu Pro Leu Arg Asn Ile Trp Asn Arg Val
 20 25 30

Arg Glu Phe Pro Arg Ala Ser Thr Thr Ala Ala Gly Ile Thr Trp Met
 35 40 45

Ser Arg Tyr Leu Tyr Gly Tyr His Arg Leu Met Leu Glu Asp Leu Ala
 50 55 60

Pro Gly Ala Pro Ala Thr Gln Arg Trp Pro Leu Tyr Arg Gln Pro Pro
 65 70 75 80

Pro His Phe Leu Val Gly Tyr Gln Tyr Leu Val Arg Thr Cys Asn Asp
 85 90 95

Tyr Val Phe Asp Ser Arg Ala Phe Ser Arg Leu Arg Tyr Ser Glu Val
 100 105 110

Val Gln Pro Gly Leu Gln Thr Val Asn Trp Ser Leu Met Ala Asn Cys
 115 120 125

Thr Tyr Thr Ile Asn Thr Gly Ala Tyr His Arg Phe Val Asp Met Asp
 130 135 140

Asp Phe Gln Asp Thr Leu Thr Arg Val Gln Gln Ala Ile Leu Ala Glu
 145 150 155 160

Arg Val Val Ala Asp Leu Ala Leu Val Gln Pro Leu Arg Gly Val Gly
 165 170 175

ES 2 696 551 T3

Val Thr Arg Met Glu Asp Ser Ala Ser Ala Ser Asp Asp Ile Glu Arg
180 185 190

Leu Met His Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ser Arg Cys Gln Gly Gln Ala
195 200 205

Trp Gly Met Ala Glu Arg Leu Arg Ile Gln Gln Ala Gly Pro Lys Asp
210 215 220

Leu Val Leu Leu Ala Thr Ile Arg Arg Leu Lys Asn Ala Tyr Phe Asn
225 230 235 240

Tyr Ile Ile Ser Asn Arg Asn Ser Asn Ser Val His Arg Ala Ala Thr
245 250 255

Cys Leu Ser Leu Pro Cys Asp Cys Asp Trp Leu Asp Ala Phe Leu Glu
260 265 270

Arg Phe Ser Asp Pro Val Asp Leu Asp Ala Leu Thr Ser Pro Thr Pro
275 280 285

Gln Leu Ile Arg Cys Ile Val Ser Ala Leu Ser Leu Pro Asn Gly Asp
290 295 300

Pro Pro His Tyr Arg Glu Met Thr Gly Gly Val Phe Thr Leu Arg Pro
305 310 315 320

Arg Glu Arg Gly Arg Ala Val Thr Glu Thr Met Arg Arg Arg Arg Gly
325 330 335

Glu Met Ile Glu Arg Phe Val Asp Arg Leu Pro Val Arg Arg Arg Arg
340 345 350

Arg Arg Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Glu Glu Glu Ile Glu Glu
355 360 365

Glu Val Val Met Glu Glu Glu Glu Glu Glu Val Pro Gly Asp Phe
370 375 380

Glu Arg Glu Val Arg Ala Thr Ile Ala Glu Leu Ile Arg Leu Leu Glu
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Val Ser Ala Arg Asn Ala Gln Phe Phe Asn Phe Ala
405 410 415

Val Asp Phe Tyr Glu Ala Met Glu Arg Leu Glu Ala Ile Gly Asp Ile
420 425 430

ES 2 696 551 T3

Ser Glu Met Pro Leu Arg Arg Trp Ile Met Tyr Phe Phe Val Thr Glu
 435 440 445

His Ile Ala Thr Thr Leu Asn Tyr Leu Phe Gln Arg Leu Arg Asn Tyr
 450 455 460

Ala Val Phe Thr Arg His Val Glu Leu Asn Leu Ala Gln Val Val Met
 465 470 475 480

Arg Ala Arg Asp Ala Asp Gly Asp Val Val Tyr Ser Arg Val Trp Asn
 485 490 495

Glu Ser Gly Leu Gly Ala Phe Ser Gln Leu Met Gly Arg Ile Ser Asn
 500 505 510

Asp Leu Ala Ala Thr Val Glu Arg Ala Gly Arg Gly Asp Leu Gln Glu
 515 520 525

Glu Glu Ile Glu Gln Phe Met Ser Glu Ile Ala Tyr Gln Asp Asn Ser
 530 535 540

Gly Asp Val Gln Glu Ile Leu Arg Gln Ala Ala Val Asn Asp Ala Glu
 545 550 555 560

Ile Asp Ser Val Glu Leu Ser Phe Arg Phe Lys Val Thr Gly Pro Val
 565 570 575

Val Phe Thr Gln Arg Arg Gln Ile Gln Asp Val Asn Arg Arg Val Val
 580 585 590

Ala His Ala Ser Ala Leu Arg Ala Gln His Arg Asp Leu Pro Glu Arg
 595 600 605

His Ala Asp Val Pro Leu Pro Pro Leu Pro Ala Gly Pro Glu Pro Pro
 610 615 620

Leu Pro Pro Gly Ala Arg Pro Arg His Arg Phe
 625 630 635

- <210> 11
- <211> 372
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 11

5

Met His Pro Val Leu Arg Gln Met Arg Pro Thr Pro Pro Ala Thr Thr
 1 5 10 15

10

ES 2 696 551 T3

Ala Thr Ala Ala Val Thr Gly Ala Gly Ala Ser Gln Pro Gln Thr Glu
 20 25 30

Met Asp Leu Glu Glu Gly Glu Gly Leu Ala Arg Leu Gly Ala Pro Ser
 35 40 45

Pro Glu Arg His Pro Arg Val Gln Leu Gln Lys Asp Val Arg Pro Ala
 50 55 60

Tyr Val Pro Ala Gln Asn Leu Phe Arg Asp Arg Ser Gly Glu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Glu Met Arg Asp Cys Arg Phe Arg Ala Gly Arg Glu Leu Arg Glu
 85 90 95

Gly Leu Asp Arg Gln Arg Val Leu Arg Asp Glu Asp Phe Glu Pro Asn
 100 105 110

Glu Gln Thr Gly Ile Ser Pro Ala Arg Ala His Val Ala Ala Ala Asn
 115 120 125

Leu Val Thr Ala Tyr Glu Gln Thr Val Lys Gln Glu Arg Asn Phe Gln
 130 135 140

Lys Ser Phe Asn Asn His Val Arg Thr Leu Ile Ala Arg Glu Glu Val
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Leu Met His Leu Trp Asp Leu Ala Glu Ala Ile Val Gln
 165 170 175

Asn Pro Asp Ser Lys Pro Leu Thr Ala Gln Leu Phe Leu Val Val Gln
 180 185 190

His Ser Arg Asp Asn Glu Ala Phe Arg Glu Ala Leu Leu Asn Ile Ala
 195 200 205

Glu Pro Glu Gly Arg Trp Leu Leu Glu Leu Ile Asn Ile Leu Gln Ser
 210 215 220

Ile Val Val Gln Glu Arg Ser Leu Ser Leu Ala Glu Lys Val Ala Ala
 225 230 235 240

Ile Asn Tyr Ser Val Leu Ser Leu Gly Lys Phe Tyr Ala Arg Lys Ile
 245 250 255

Tyr Lys Thr Pro Tyr Val Pro Ile Asp Lys Glu Val Lys Ile Asp Ser
 260 265 270

ES 2 696 551 T3

Phe Tyr Met Arg Met Ala Leu Lys Val Leu Thr Leu Ser Asp Asp Leu
275 280 285

Gly Val Tyr Arg Asn Asp Arg Ile His Lys Ala Val Ser Thr Ser Arg
290 295 300

Arg Arg Glu Leu Ser Asp Arg Glu Leu Met Leu Ser Leu Arg Arg Ala
305 310 315 320

Leu Val Gly Gly Ala Ala Gly Gly Glu Glu Ser Tyr Phe Asp Met Gly
325 330 335

Ala Asp Leu His Trp Gln Pro Ser Arg Arg Ala Leu Glu Ala Ala Tyr
340 345 350

Gly Pro Glu Asp Leu Asp Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Ala Pro
355 360 365

Val Ala Gly Tyr
370

- <210> 12
- <211> 561
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 12

ES 2 696 551 T3

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

Gln Pro Ser Gly Leu Ala Ser Asp Asp Trp Glu Ala Ala Met Gln Arg
 20 25 30

Ile Met Ala Leu Thr Thr Arg Asn Pro Glu Ser Phe Arg Gln Gln Pro
 35 40 45

Gln Ala Asn Arg Leu Ser Ala Ile Leu Glu Ala Val Val Pro Ser Arg
 50 55 60

Thr Asn Pro Thr His Glu Lys Val Leu Ala Ile Val Asn Ala Leu Ala
 65 70 75 80

Glu Asn Lys Ala Ile Arg Pro Asp Glu Ala Gly Leu Val Tyr Asn Ala
 85 90 95

Leu Leu Glu Arg Val Gly Arg Tyr Asn Ser Thr Asn Val Gln Ser Asn
 100 105 110

ES 2 696 551 T3

Leu Asp Arg Leu Val Thr Asp Val Arg Glu Ala Val Ala Gln Arg Glu
 115 120 125
 Arg Phe Lys Asn Glu Gly Leu Gly Ser Leu Val Ala Leu Asn Ala Phe
 130 135 140
 Leu Ala Thr Gln Pro Ala Asn Val Pro Arg Gly Gln Asp Asp Tyr Thr
 145 150 155 160
 Asn Phe Ile Ser Ala Leu Arg Leu Met Val Thr Glu Val Pro Gln Ser
 165 170 175
 Glu Val Tyr Gln Ser Gly Pro Asp Tyr Phe Phe Gln Thr Ser Arg Gln
 180 185 190
 Gly Leu Gln Thr Val Asn Leu Ser Gln Ala Phe Lys Asn Leu Arg Gly
 195 200 205
 Leu Trp Gly Val Gln Ala Pro Val Gly Asp Arg Ser Thr Val Ser Ser
 210 215 220
 Leu Leu Thr Pro Asn Ser Arg Leu Leu Leu Leu Ile Ala Pro Phe
 225 230 235 240
 Thr Asp Ser Gly Ser Val Asn Arg Asn Ser Tyr Leu Gly His Leu Leu
 245 250 255
 Thr Leu Tyr Arg Glu Ala Ile Gly Gln Ala Gln Val Asp Glu Gln Thr
 260 265 270
 Phe Gln Glu Ile Thr Ser Val Ser Arg Ala Leu Gly Gln Asn Asp Thr
 275 280 285
 Asp Ser Leu Arg Ala Thr Leu Asn Phe Leu Leu Thr Asn Arg Gln Gln
 290 295 300
 Lys Ile Pro Ala Gln Tyr Ala Leu Ser Ala Glu Glu Glu Arg Ile Leu
 305 310 315 320
 Arg Tyr Val Gln Gln Ser Val Gly Leu Phe Leu Met Gln Glu Gly Ala
 325 330 335
 Thr Pro Ser Ala Ala Leu Asp Met Thr Ala Arg Asn Met Glu Pro Ser
 340 345 350
 Met Tyr Ala Ala Asn Arg Pro Phe Ile Asn Lys Leu Met Asp Tyr Leu

ES 2 696 551 T3

	355		360		365														
His	Arg	Ala	Ala	Ala	Met	Asn	Thr	Asp	Tyr	Phe	Thr	Asn	Ala	Ile	Leu				
	370					375					380								
Asn	Pro	His	Trp	Leu	Pro	Pro	Pro	Gly	Phe	Tyr	Thr	Gly	Glu	Tyr	Asp				
385					390				395						400				
Met	Pro	Asp	Pro	Asn	Asp	Gly	Phe	Leu	Trp	Asp	Asp	Val	Asp	Ser	Ala				
				405					410					415					
Val	Phe	Ser	Pro	Thr	Phe	Gln	Lys	Arg	Gln	Glu	Ala	Pro	Pro	Ser	Glu				
			420					425					430						
Gly	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Pro	Phe	Pro	Ser	Leu	Gly	Ser	Leu	His	Ser				
		435					440					445							
Leu	Pro	Gly	Ser	Val	Asn	Ser	Gly	Arg	Val	Ser	Arg	Pro	Arg	Leu	Leu				
	450					455					460								
Gly	Glu	Asp	Glu	Tyr	Leu	Asn	Asp	Ser	Leu	Leu	Gln	Pro	Pro	Arg	Val				
465					470					475					480				
Lys	Asn	Ala	Met	Ala	Asn	Asn	Gly	Ile	Glu	Ser	Leu	Val	Asp	Lys	Leu				
				485					490					495					
Asn	Arg	Trp	Lys	Thr	Tyr	Ala	Gln	Asp	His	Arg	Glu	Pro	Ala	Pro	Ala				
			500					505					510						
Pro	Arg	Arg	Gln	Arg	His	Asp	Arg	Gln	Arg	Gly	Leu	Val	Trp	Asp	Asp				
		515					520					525							
Glu	Asp	Ser	Ala	Asp	Asp	Ser	Ser	Val	Leu	Asp	Leu	Gly	Gly	Ser	Gly				
	530					535					540								
Gly	Ala	Asn	Pro	Phe	Ala	His	Leu	Gln	Pro	Arg	Leu	Gly	Arg	Arg	Met				
545					550					555					560				

Phe

<210> 13
 <211> 520
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36

5

<400> 13

ES 2 696 551 T3

Met Arg Arg Ala Val Val Ser Ser Ser Pro Pro Pro Ser Tyr Glu Ser

ES 2 696 551 T3

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

ES 2 696 551 T3

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

ES 2 696 551 T3

Arg Val Leu Ser Ser Arg Thr Phe
515 520

- 5
<210> 14
<211> 195
<212> PRT
<213> Adenovirus de tipo 36

<400> 14

ES 2 696 551 T3

Met Ser Ile Leu Ile Ser Pro Ser Asn Asn Thr Gly Trp Gly Leu Thr
 1 5 10 15

Arg Pro Ser Thr Met Tyr Gly Gly Ala Lys Lys Arg Ser Gln Gln His
 20 25 30

Pro Val Arg Val Arg Gly His Phe Arg Ala Pro Trp Gly Ala Tyr Lys
 35 40 45

Arg Gly Arg Thr Ala Thr Ala Ala Val Arg Thr Thr Val Asp Asp
 50 55 60

Val Ile Asp Ser Val Val Ala Asp Ala Arg Asn Tyr Thr Pro Ala Pro
 65 70 75 80

Ser Thr Val Asp Ala Val Ile Asp Ser Val Val Ala Asp Ala Arg Asp
 85 90 95

Tyr Ala Arg Arg Lys Ser Arg Arg Arg Arg Ile Ala Arg Arg His Arg
 100 105 110

Ser Thr Pro Ala Met Arg Ala Ala Arg Ala Leu Leu Arg Arg Ala Arg
 115 120 125

Arg Thr Gly Arg Arg Ala Met Met Arg Ala Ala Arg Arg Ala Ala Thr
 130 135 140

Ala Pro Pro Ala Gly Arg Thr Arg Arg Arg Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 145 150 155 160

Ala Ala Ile Ser Ser Met Thr Arg Pro Arg Arg Gly Asn Val Tyr Trp
 165 170 175

Val Arg Asp Ser Val Thr Gly Val Arg Val Pro Val Arg Thr Arg Pro
 180 185 190

Pro Arg Pro
 195

5

- <210> 15
- <211> 332
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 15

ES 2 696 551 T3

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

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

Lys Lys Lys Asp Glu Val Asp Glu Gly Ala Val Glu Phe Val Arg Glu
 35 40 45

Phe Ala Pro Arg Arg Arg Val Asn Trp Lys Gly Arg Arg Val Gln Arg
 50 55 60

Val Leu Arg Pro Gly Thr Ala Val Val Phe Thr Pro Gly Glu Arg Ser
 65 70 75 80

Ser Val Arg Ser Lys Arg Ser Tyr Asp Glu Val Tyr Gly Asp Asp Asp
 85 90 95

Ile Leu Asp Gln Ala Ala Glu Arg Ala Gly Glu Phe Ala Tyr Gly Lys
 100 105 110

Arg Ser Arg Glu Glu Glu Leu Ile Ser Leu Pro Leu Asp Glu Ser Asn
 115 120 125

Pro Thr Pro Ser Leu Lys Pro Val Thr Leu Gln Gln Val Leu Pro Gln
 130 135 140

Ala Val Leu Leu Pro Ser Arg Gly Val Lys Arg Glu Gly Glu Ser Met
 145 150 155 160

Tyr Pro Thr Met Gln Ile Met Val Pro Lys Arg Arg Arg Val Glu Asp
 165 170 175

Val Leu Asp Thr Val Lys Met Asp Val Glu Pro Glu Val Lys Val Arg
 180 185 190

Pro Ile Lys Gln Val Ala Pro Gly Leu Gly Val Gln Thr Val Asp Ile
 195 200 205

Gln Ile Pro Thr Asp Met Asp Val Asp Lys Lys Pro Ser Thr Ser Ile
 210 215 220

ES 2 696 551 T3

Glu Val Gln Thr Asp Pro Trp Leu Pro Ala Ser Thr Ala Thr Val Ser
225 230 235 240

Thr Phe Thr Ala Ala Thr Ala Thr Glu Pro Pro Arg Arg Arg Arg Trp
245 250 255

Gly Ala Ala Ser Arg Leu Met Pro Asn Tyr Val Leu His Pro Ser Ile
260 265 270

Ile Pro Thr Pro Gly Tyr Arg Gly Thr Arg Tyr Tyr Ala Ser Arg Arg
275 280 285

Arg Pro Ala Ala Lys Arg Arg Arg Arg Thr Ala Thr Arg Arg Arg Leu
290 295 300

Ala Pro Ala Arg Val Arg Arg Val Thr Thr Arg Arg Gly Arg Ser Leu
305 310 315 320

Val Leu Pro Thr Val Arg Tyr His Pro Ser Ile Leu
325 330

<210> 16

<211> 74

5 <212> PRT

<213> Adenovirus de tipo 36

<400> 16

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

Arg Ser Arg Arg Arg Arg Gly Met Ala Gly Ser Gly Leu Asn Arg Arg
20 25 30

Arg Arg Arg Ala Met Arg Arg Arg Leu Ser Gly Gly Phe Leu Pro Ala
35 40 45

Leu Ile Pro Ile Ile Ala Ala Ala Ile Gly Thr Ile Pro Gly Ile Ala
50 55 60

Ser Val Ala Leu Gln Ala Ser Gln Arg Arg
65 70

10

<210> 17

<211> 234

<212> PRT

15 <213> Adenovirus de tipo 36

<400> 17

ES 2 696 551 T3

Met Glu Asp Ile Asn Phe Ala Ser Leu Ala Pro Arg His Gly Thr Arg
 1 5 10 15

Pro Phe Met Gly Thr Trp Asn Glu Ile Gly Thr Ser Gln Leu Asn Gly
 20 25 30

Gly Ala Phe Asn Trp Ser Ser Val Trp Ser Gly Leu Lys Asn Phe Gly
 35 40 45

Ser Thr Leu Arg Thr Tyr Gly Asn Lys Ala Trp Asn Ser Ser Thr Gly
 50 55 60

Gln Leu Leu Arg Glu Lys Leu Lys Asp Gln Asn Phe Gln Gln Lys Val
 65 70 75 80

Val Asp Gly Leu Ala Ser Gly Ile Asn Gly Val Val Asp Ile Ala Asn
 85 90 95

Gln Ala Val Gln Arg Glu Ile Asn Ser Arg Leu Asp Pro Arg Pro Pro
 100 105 110

Thr Val Val Glu Met Glu Asp Ala Thr Leu Pro Pro Pro Lys Gly Glu
 115 120 125

Lys Arg Pro Arg Pro Asp Ala Glu Glu Thr Ile Leu Gln Val Asp Glu
 130 135 140

Pro Pro Ser Tyr Glu Glu Ala Val Lys Ala Gly Met Pro Thr Thr Arg
 145 150 155 160

Ile Ile Ala Pro Leu Ala Thr Gly Val Met Lys Pro Ala Thr Leu Asp
 165 170 175

Leu Pro Pro Pro Pro Thr Pro Ala Pro Pro Lys Ala Ala Pro Val Val
 180 185 190

Gln Ala Pro Pro Val Ala Thr Ala Val Arg Arg Val Pro Ala Arg Arg
 195 200 205

Gln Ala Gln Asn Trp Gln Ser Thr Leu His Ser Ile Val Gly Leu Gly
 210 215 220

Val Lys Ser Leu Lys Arg Arg Arg Cys Tyr
 225 230

<210> 18
 <211> 944

<212> PRT

<213> Adenovirus de tipo 36

<400> 18

5

ES 2 696 551 T3

Met Ala Thr Pro Ser Met Met Pro Gln Trp Ala Tyr Met His Ile Ala
1 5 10 15

Gly Gln Asp Ala Ser Glu Tyr Leu Ser Pro Gly Leu Val Gln Phe Ala
20 25 30

Arg Ala Thr Asp Thr Tyr Phe Ser Leu Gly Asn Lys Phe Arg Asn Pro
35 40 45

Thr Val Ala Pro Thr His Asp Val Thr Thr Asp Arg Ser Gln Arg Leu
50 55 60

Thr Leu Arg Phe Val Pro Val Asp Arg Glu Asp Thr Thr Tyr Ser Tyr
65 70 75 80

Lys Ala Arg Phe Thr Leu Ala Val Gly Asp Asn Arg Val Leu Asp Met
85 90 95

Ala Ser Thr Tyr Phe Asp Ile Arg Gly Val Leu Asp Arg Gly Pro Ser
100 105 110

Phe Lys Pro Tyr Ser Gly Thr Ala Tyr Asn Ser Leu Ala Pro Lys Gly
115 120 125

Ala Pro Asn Ser Ser Gln Trp Thr Asp Lys Glu Arg Gln Asn Gly Gly
130 135 140

Gln Pro Pro Thr Thr Lys Asp Val Thr Lys Thr Phe Gly Val Ala Ala
145 150 155 160

Arg Gly Gly Leu His Ile Thr Asp Lys Gly Leu Gln Ile Gly Glu Asp
165 170 175

Glu Asn Asn Glu Asp Gly Glu Glu Glu Ile Tyr Ala Asp Lys Thr Phe
180 185 190

Gln Pro Glu Pro Gln Val Gly Glu Glu Asn Trp Gln Asp Thr Asp Val
195 200 205

Phe Tyr Gly Gly Arg Ala Leu Lys Lys Glu Thr Lys Met Lys Pro Cys
210 215 220

Tyr Gly Ser Phe Ala Arg Pro Thr Asn Glu Lys Gly Gly Gln Ala Lys
225 230 235 240

ES 2 696 551 T3

Phe Leu Asn Gly Glu Asn Gly Gln Pro Ser Lys Asp Gln Asp Ile Thr
 245 250 255
 Leu Ala Phe Phe Asp Leu Lys Gln Asn Asp Thr Gly Thr Thr Gln Asn
 260 265 270
 Gln Pro Asp Val Val Met Tyr Thr Glu Asn Val Tyr Leu Glu Thr Pro
 275 280 285
 Asp Thr His Val Val Tyr Lys Pro Gly Lys Glu Asp Thr Ser Ser Ala
 290 295 300
 Ala Asn Leu Thr Gln Gln Ser Met Pro Asn Arg Pro Asn Tyr Ile Gly
 305 310 315 320
 Phe Arg Asp Asn Phe Val Gly Leu Met Tyr Tyr Asn Ser Thr Gly Asn
 325 330 335
 Met Gly Val Leu Ala Gly Gln Ala Ser Gln Leu Asn Ala Val Val Asp
 340 345 350
 Leu Gln Asp Arg Asn Thr Glu Leu Ser Tyr Gln Leu Leu Leu Asp Ser
 355 360 365
 Leu Gly Asp Arg Thr Arg Tyr Phe Ser Met Trp Asn Ser Ala Val Asp
 370 375 380
 Ser Tyr Asp Pro Asp Val Arg Ile Ile Glu Asn His Gly Val Glu Asp
 385 390 395 400
 Glu Leu Pro Asn Tyr Cys Phe Pro Leu Asp Gly Ser Gly Ser Asn Thr
 405 410 415
 Ala Tyr Gln Gly Val Lys Tyr Glu Asn Gly Ala Gly Asn Gly Ser Trp
 420 425 430
 Lys Val Asp Gly Glu Val Ala Ser Gln Asn Gln Ile Ala Lys Gly Asn
 435 440 445
 Leu Tyr Ala Met Glu Ile Asn Leu Gln Ala Asn Leu Trp Lys Ser Phe
 450 455 460
 Leu Tyr Ser Asn Val Ala Leu Tyr Leu Pro Asp Ser Tyr Lys Tyr Thr
 465 470 475 480
 Pro Ala Asn Ile Thr Leu Pro Thr Asn Thr Asn Thr Tyr Glu Tyr Met
 485 490 495

ES 2 696 551 T3

Asn Gly Arg Val Val Ala Pro Ser Leu Val Asp Ala Tyr Val Asn Ile
 500 505 510
 Gly Ala Arg Trp Ser Leu Asp Pro Met Asp Asn Val Asn Pro Phe Asn
 515 520 525
 His His Arg Asn Ala Gly Leu Arg Tyr Arg Ser Met Leu Leu Gly Asn
 530 535 540
 Gly Arg Tyr Val Pro Phe His Ile Gln Val Pro Gln Lys Phe Phe Ala
 545 550 555 560
 Ile Lys Asn Leu Leu Leu Leu Pro Gly Ser Tyr Thr Tyr Glu Trp Asn
 565 570 575
 Phe Arg Lys Asp Val Asn Met Ile Leu Gln Ser Ser Leu Gly Asn Asp
 580 585 590
 Leu Arg Val Asp Gly Ala Ser Val Arg Phe Asp Ser Val Asn Leu Tyr
 595 600 605
 Ala Thr Phe Phe Pro Met Ala His Asn Thr Ala Ser Thr Leu Glu Ala
 610 615 620
 Met Leu Arg Asn Asp Thr Asn Asp Gln Ser Phe Asn Asp Tyr Leu Ser
 625 630 635 640
 Ala Ala Asn Met Leu Tyr Pro Ile Pro Ala Lys Ala Thr Asn Val Pro
 645 650 655
 Ile Ser Ile Pro Ser Arg Asn Trp Ala Ala Phe Arg Gly Trp Ser Phe
 660 665 670
 Thr Arg Leu Lys Thr Lys Glu Thr Pro Ser Leu Gly Ser Gly Phe Asp
 675 680 685
 Pro Tyr Phe Val Tyr Ser Gly Ser Ile Pro Tyr Leu Asp Gly Thr Phe
 690 695 700
 Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe Asp Ser Ser
 705 710 715 720
 Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Thr Pro Asn Glu Phe Glu
 725 730 735
 Ile Lys Arg Ser Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala Gln Cys Asn

ES 2 696 551 T3

			740						745							750
Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val	Gln	Met	Leu	Ser	His	Tyr	Asn	Ile	
		755					760					765				
Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr	Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	
	770					775					780					
Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg	Gln	Val	Val	Asp	Glu	
785					790					795					800	
Ile	Asn	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Lys	Ala	Val	Thr	Leu	Pro	Phe	Gln	His	Asn	
				805					810					815		
Asn	Ser	Gly	Phe	Thr	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr	Met	Arg	Gln	Gly	Gln	
			820					825					830			
Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Phe	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly	Gln	Thr	Ala	Val	
		835					840					845				
Pro	Ser	Val	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp	Arg	Val	Met	Trp	Arg	
	850					855					860					
Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	
865					870					875					880	
Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His	Ala	Leu	Asp	Met	Thr	
				885					890					895		
Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu	Pro	Thr	Leu	Leu	Tyr	Leu	Leu	Phe	
			900				905						910			
Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val	His	Gln	Pro	His	Arg	Gly	Val	Ile	
		915					920					925				
Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr	
	930					935					940					

<210> 19
 <211> 209
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 19

5

ES 2 696 551 T3

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

Gly Cys Gly Pro Tyr Phe Leu Gly Thr His Asp Lys Arg Phe Pro Gly
 20 25 30

Phe Leu Ala Gly Asp Lys Leu Ala Cys Ala Ile Val Asn Thr Ala Gly
 35 40 45

Arg Glu Thr Gly Gly Val His Trp Leu Ala Phe Gly Trp Asn Pro Arg
 50 55 60

Ser Arg Thr Cys Tyr Met Phe Asp Pro Phe Gly Phe Ser Asp Arg Arg
 65 70 75 80

Leu Lys Gln Ile Tyr Ser Phe Glu Tyr Glu Ala Met Leu Arg Arg Ser
 85 90 95

Ala Leu Ala Ser Ser Pro Asp Arg Cys Leu Ser Leu Glu Gln Ser Thr
 100 105 110

Gln Thr Val Gln Gly Pro Asp Ser Ala Ala Cys Gly Leu Phe Cys Cys
 115 120 125

Met Phe Leu His Ala Phe Val His Trp Pro Asp Arg Pro Met Asp Gly
 130 135 140

Asn Pro Thr Met Asn Leu Leu Thr Gly Val Pro Asn Gly Met Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Pro Gln Val Leu Pro Thr Leu Arg Arg Asn Gln Glu Glu Leu Tyr
 165 170 175

Arg Phe Leu Ala Arg His Ser Pro Tyr Phe Arg Ser His Arg Ala Ala
 180 185 190

Ile Glu His Ala Thr Ala Phe Asp Lys Met Lys Gln Leu Arg Val Ser
 195 200 205

Gln

<210> 20
 <211> 489
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 20

5

ES 2 696 551 T3

Met Ala Gly Gly Ser Gln Asp Val Arg Arg Phe Met Glu Arg Glu Ala
1 5 10 15

Thr Pro Pro Arg Gly His Gly Ser Ala Arg Tyr Pro Pro Glu Gln Glu

ES 2 696 551 T3

			20					25					30			
Arg	Ser	Pro	Ser	Pro	Pro	Pro	Pro	Leu	Pro	Thr	Lys	Arg	Arg	Lys	Tyr	
		35					40					45				
Gln	Arg	Val	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	Glu	Glu	Asp	Val	Val	Pro	Val	Asp	
	50					55					60					
Ser	Pro	Pro	Lys	Lys	Lys	Gln	Ala	Arg	Lys	Thr	Lys	His	Val	Thr	Lys	
65					70					75					80	
Val	Asp	Pro	Asp	Glu	Glu	Met	Pro	Gln	Glu	Asp	Ala	Val	Ile	Val	Gly	
				85					90					95		
Val	Gly	Phe	Ser	Gln	Pro	Pro	Val	Leu	Leu	Lys	Glu	Gly	Lys	Asp	Gly	
			100					105					110			
Lys	Arg	Ile	Val	Glu	Pro	Ala	Thr	Pro	Gly	Val	Leu	Asn	Val	Arg	Asn	
		115					120					125				
Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Leu	Val	Ser	Ser	Trp	Glu	Lys	Gly	Met	Asp	Thr	
	130					135					140					
Met	Asn	Val	Leu	Met	Glu	Arg	Tyr	Arg	Val	Asp	Ser	Gly	Leu	Arg	Asp	
145					150					155					160	
Ala	Tyr	Lys	Leu	Met	Pro	Glu	Gln	Thr	Glu	Ile	Phe	Gln	Lys	Met	Cys	
				165					170					175		
Gln	Thr	Trp	Met	Asn	Glu	Glu	Ala	Arg	Gly	Leu	Gln	Leu	Thr	Phe	Thr	
			180					185					190			
Thr	Gln	Lys	Ala	Phe	Ser	Thr	Val	Met	Gly	Arg	Leu	Leu	Gln	Gly	Tyr	
		195					200					205				
Ile	Phe	Ser	His	Ser	Gly	Ile	Ala	His	Lys	Asn	Trp	Glu	Cys	Thr	Gly	
	210					215					220					
Cys	Ala	Leu	Trp	Asp	His	Gly	Cys	Thr	Glu	Val	Glu	Gly	Gln	Leu	Lys	
225					230					235					240	
Cys	Leu	His	Gly	Thr	Val	Met	Ile	His	Lys	Asp	His	Val	Val	Glu	Met	
				245					250					255		
Asp	Val	Thr	Ser	Glu	Asn	Gly	Gln	Arg	Ala	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ser	
			260					265					270			

ES 2 696 551 T3

Lys Ala Lys Val Thr Gln Asn Arg Trp Gly Arg Ser Val Val Gln Leu
 275 280 285

Thr Ser His Asp Ala Arg Cys Cys Val Gln Asp Ala Gly Cys Gly Asn
 290 295 300

Asn Gln Phe Ser Gly Lys Ser Cys Gly Leu Phe Phe Ser Glu Gly Ala
 305 310 315 320

Lys Ala Gln Gln Ala Phe Lys Gln Ile Ser Ala Phe Val Lys Ala Leu
 325 330 335

Tyr Pro Asn Met Gln Arg Gly Ala Gly Met Met Leu Met Pro Ile His
 340 345 350

Cys Glu Cys Asn His Lys Pro Gln Ser Val Pro Phe Leu Gly Arg Gln
 355 360 365

Leu Cys Lys Met Thr Pro Phe Gly Leu Ser Asn Ala Glu Asp Leu Asp
 370 375 380

Lys Asp Gln Ile Thr Asp Lys Ser Val Leu Ala Ser Val Lys Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Leu Met Val Phe Gln Cys Cys Asn Pro Val Tyr Arg Asn Ser Arg
 405 410 415

Ala Gln Ser Thr Gly Pro Asn Cys Asp Phe Lys Ile Ser Ala Pro Asp
 420 425 430

Met Leu Gly Ala Leu Gln Met Ser Arg Arg Met Trp Ser Glu Thr Phe
 435 440 445

Pro Glu Ile Pro Val Pro Lys Leu Val Ile Pro Glu Phe Lys Trp Leu
 450 455 460

Pro Lys Tyr Gln Tyr Arg Asn Val Ala Leu Pro Ser Ala Ala His Asn
 465 470 475 480

Asp Glu Arg Glu Asn Pro Phe Asp Phe
 485

<210> 21
 <211> 731
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 21

5

ES 2 696 551 T3

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

His Glu Gln Pro Lys Ile Glu Gln Asp Leu Gly Phe Glu Glu Pro Ala
20 25 30

Arg Leu Glu Pro Pro Gln Asp Glu Gln Glu His Glu Gln Asp Ala Gly
35 40 45

Gln Glu Glu Thr Asp Ala Gly Leu Glu His Gly Tyr Leu Gly Gly Glu
50 55 60

Glu Asp Val Leu Leu Lys His Leu Gln Arg Gln Ser Leu Ile Leu Arg
65 70 75 80

Asp Ala Leu Ala Asp Arg Ser Glu Thr Pro Leu Ser Val Glu Glu Leu
85 90 95

Cys Arg Ala Tyr Glu Leu Asn Leu Phe Ser Pro Arg Val Pro Pro Lys
100 105 110

Arg Gln Pro Asn Gly Thr Cys Glu Pro Asn Pro Arg Leu Asn Phe Tyr
115 120 125

Pro Val Phe Ala Val Pro Glu Ala Leu Ala Thr Tyr His Ile Phe Phe
130 135 140

Lys Asn Gln Lys Ile Pro Val Ser Cys Arg Ala Asn Arg Thr Arg Ala
145 150 155 160

Asp Ala Leu Leu Ala Leu Gly Pro Gly Ala Arg Ile Pro Asp Ile Ala
165 170 175

Ser Leu Glu Glu Val Pro Lys Ile Phe Glu Gly Leu Gly Arg Asp Glu
180 185 190

Thr Arg Ala Ala Asn Ala Leu Lys Glu Thr Ala Glu Glu Glu Gly His
195 200 205

Thr Ser Ala Leu Val Glu Leu Glu Gly Asp Asn Ala Arg Leu Val Val
210 215 220

Leu Lys Arg Ser Val Glu Leu Thr His Phe Ala Tyr Pro Ala Val Asn
225 230 235 240

Leu Pro Pro Lys Val Met Arg Arg Ile Met Asp Gln Leu Ile Met Pro
245 250 255

ES 2 696 551 T3

His Ile Glu Ala Ile Asp Glu Thr Gln Glu Gln Arg Pro Glu Asp Ala
 260 265 270

Arg Pro Val Val Ser Asp Glu Met Leu Ala Arg Trp Leu Gly Thr Arg
 275 280 285

Asp Pro Gln Ala Leu Glu Gln Arg Arg Lys Leu Met Leu Ala Val Val
 290 295 300

Leu Val Thr Leu Glu Leu Glu Cys Met Arg Arg Phe Phe Cys Asp Pro
 305 310 315 320

Glu Thr Leu Arg Lys Val Glu Glu Thr Leu His Tyr Thr Phe Arg His
 325 330 335

Gly Phe Val Arg Gln Ala Cys Lys Ile Ser Asn Val Glu Leu Thr Asn
 340 345 350

Leu Val Ser Cys Leu Gly Ile Leu His Glu Asn Arg Leu Gly Gln Thr
 355 360 365

Val Leu His Ser Thr Leu Lys Gly Glu Ala Arg Arg Asp Tyr Val Arg
 370 375 380

Asp Cys Val Phe Leu Phe Leu Cys His Thr Trp Gln Ala Ala Met Gly
 385 390 395 400

Val Trp Gln Gln Cys Leu Glu Asp Glu Asn Leu Lys Glu Leu Asp Lys
 405 410 415

Leu Leu Ala Arg Asn Leu Lys Lys Leu Trp Thr Gly Phe Asp Glu Arg
 420 425 430

Thr Val Ala Ser Asp Leu Ala Glu Ile Val Phe Pro Glu Arg Leu Arg
 435 440 445

His Thr Leu Lys Gly Gly Leu Pro Asp Phe Met Ser Gln Ser Met Leu
 450 455 460

Gln Asn Tyr Arg Thr Phe Ile Leu Glu Arg Ser Gly Ile Leu Pro Ala
 465 470 475 480

Thr Cys Asn Ala Phe Pro Ser Asp Phe Val Pro Leu Ser Tyr Arg Glu
 485 490 495

Cys Pro Pro Pro Leu Trp Ser His Cys Tyr Leu Leu Gln Leu Ala Asn
 500 505 510

ES 2 696 551 T3

Tyr Ile Ser Tyr His Ser Asp Val Ile Glu Asp Val Ser Gly Glu Gly
 515 520 525
 Leu Leu Glu Cys His Cys Arg Cys Asn Leu Cys Ser Pro His Arg Ser
 530 535 540
 Leu Val Cys Asn Pro Gln Leu Leu Ser Glu Thr Gln Val Ile Gly Thr
 545 550 555 560
 Phe Glu Leu Gln Gly Pro Glu Lys Ser Thr Ala Pro Leu Lys Leu Thr
 565 570 575
 Pro Gly Leu Trp Thr Ser Ala Tyr Leu Arg Lys Phe Val Pro Glu Asp
 580 585 590
 Tyr His Ala His Glu Ile Lys Phe Phe Glu Asp Gln Ser Arg Pro Gln
 595 600 605
 His Ala Asp Leu Thr Ala Cys Val Ile Thr Gln Gly Ala Ile Leu Ala
 610 615 620
 Gln Leu His Ala Ile Gln Lys Ser Arg Gln Glu Phe Leu Leu Lys Lys
 625 630 635 640
 Gly Arg Gly Val Tyr Leu Asp Pro Gln Thr Gly Glu Val Leu Asn Pro
 645 650 655
 Gly Leu Pro Gln His Ala Glu Glu Glu Ala Gly Ala Ala Ser Gly Gly
 660 665 670
 Asp Gly Arg Arg Met Gly Gln Pro Gly Arg Gly Gly Arg Met Gly Gly
 675 680 685
 Gly Asp Arg Gly Gly Arg Ile Gly Arg Gly Gly Arg Gly Ala Gly Asn
 690 695 700
 Arg Ala Ala Arg Arg Arg Thr Ile Arg Ala Gly Ser Pro Gly Gly His
 705 710 715 720
 Gly Tyr Asn Leu Arg Ser Gly Gln Ala Ser Ser
 725 730

- 5
- <210> 22
 - <211> 172
 - <212> PRT
 - <213> Adenovirus de tipo 36
 - <400> 22

ES 2 696 551 T3

Met Pro Arg Lys Lys Gln Glu Pro Leu Val Glu Glu Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

Trp Asp Ser Gln Ala Glu Glu Asp Glu Trp Glu Glu Glu Thr Glu Glu
20 25 30

Glu Glu Leu Glu Glu Val Glu Glu Glu Gln Ala Thr Glu Gln Pro Val
35 40 45

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

Ala Pro Val Lys Pro Pro Arg Arg Trp Asp Arg Val Lys Gly Asp Ala
65 70 75 80

Lys Lys Lys Gln Val Arg Gly Val Ala Gly Gly Gly Leu Arg Ile Ala
85 90 95

Ala Asn Glu Pro Ser Thr Thr Arg Glu Leu Arg Asn Arg Ile Phe Pro
100 105 110

Thr Leu Tyr Ala Ile Phe Gln Gln Ser Arg Gly Gln Gln Gln Glu Leu
115 120 125

Lys Val Lys Asn Arg Ser Leu Arg Ser Leu Thr Arg Ser Cys Leu Tyr
130 135 140

His Lys Asn Glu Asp Gln Leu Gln Arg Thr Leu Glu Asp Ala Glu Ala
145 150 155 160

Leu Phe His Lys Tyr Cys Ala Leu Thr Leu Lys Asp
165 170

<210> 23

<211> 136

5 <212> PRT

<213> Adenovirus de tipo 36

<400> 23

Met Pro Arg Lys Lys Gln Glu Pro Leu Val Glu Glu Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

Trp Asp Ser Gln Ala Glu Glu Asp Glu Trp Glu Glu Glu Thr Glu Glu
20 25 30

Glu Glu Leu Glu Glu Val Glu Glu Glu Gln Ala Thr Glu Gln Pro Val
35 40 45

10

ES 2 696 551 T3

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

Ala Pro Val Lys Pro Pro Arg Arg Trp Asp Arg Val Lys Gly Asp Gly
65 70 75 80

Lys His Glu Arg Gln Gly Tyr Arg Ser Trp Arg Ala His Lys Ala Ala
85 90 95

Ile Ile Ala Cys Leu Gln Asp Cys Gly Gly Asn Ile Ala Phe Ala Arg
100 105 110

Arg Tyr Leu Leu Phe His Arg Gly Val Asn Ile Pro Arg Asn Val Leu
115 120 125

His Tyr Tyr Arg His Leu His Ser
130 135

<210> 24
<211> 227
<212> PRT
<213> Adenovirus de tipo 36

5

<400> 24

Met Ser Lys Glu Ile Pro Thr Pro Tyr Met Trp Ser Tyr Gln Pro Gln
1 5 10 15

Met Gly Leu Ala Ala Gly Ala Ser Gln Asp Tyr Ser Thr Arg Met Asn
20 25 30

Trp Leu Ser Ala Gly Pro Ser Met Ile Ser Arg Val Asn Gly Val Arg
35 40 45

Asn His Arg Asn Gln Ile Leu Leu Glu Gln Ala Ala Val Thr Ser Thr
50 55 60

Pro Arg Ala Lys Leu Asn Pro Arg Asn Trp Pro Ser Thr Leu Val Tyr
65 70 75 80

Gln Glu Ile Pro Gly Pro Thr Thr Val Leu Leu Pro Arg Asp Ala Leu
85 90 95

Ala Glu Val Arg Met Thr Asn Ser Gly Val Gln Leu Ala Gly Gly Ala
100 105 110

Ser Arg Cys Pro Leu Arg Pro Gln Ser Gly Ile Lys Thr Leu Met Ile
115 120 125

10

ES 2 696 551 T3

Arg Gly Arg Gly Thr Gln Leu Asn Asp Glu Leu Val Ser Ser Ser Ile
 130 135 140

Gly Leu Arg Pro Asp Gly Val Phe Gln Leu Ala Gly Ala Gly Arg Ser
 145 150 155 160

Ser Phe Thr Pro Asn Gln Ala Tyr Leu Thr Leu Gln Ser Ser Ser Ser
 165 170 175

Glu Pro Arg Ser Gly Gly Ile Gly Thr Leu Gln Phe Val Glu Glu Phe
 180 185 190

Val Pro Ser Val Tyr Phe Asn Pro Phe Ser Gly Ser Pro Gly Leu Tyr
 195 200 205

Pro Asp Glu Phe Ile Pro Asn Phe Asp Ala Val Arg Glu Ala Val Asp
 210 215 220

Gly Tyr Asp
 225

- <210> 25
- <211> 106
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36

5

<400> 25

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

His Cys Arg Arg Leu Arg Cys Phe Ala Arg Glu Ser Cys Gly Leu Ile
 20 25 30

Tyr Phe Glu Leu Pro Glu Glu His Pro Asn Gly Pro Ala His Gly Val
 35 40 45

Arg Ile Thr Val Glu Gly Thr Ala Glu Ser His Leu Val Arg Phe Phe
 50 55 60

Thr Gln Gln Pro Phe Leu Val Glu Arg Asp Arg Gly Ala Thr Thr Tyr
 65 70 75 80

Thr Val Tyr Cys Ile Cys Pro Thr Pro Lys Leu His Glu Asn Phe Cys
 85 90 95

Cys Thr Leu Cys Gly Glu Phe Asn Lys Ser
 100 105

10

ES 2 696 551 T3

<210> 26
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36

5

<400> 26

```

Met Arg Ile Phe Ala Val Leu Phe Val Val Ser Leu Ile Lys Ala Glu
 1           5           10           15

Leu Arg Thr Tyr Phe Gly Ile Pro Cys Arg His Gln Ile His Lys Thr
      20           25           30

Ile Asn Phe Thr Phe Glu Glu Gln Val Asn Phe Thr Cys Lys Pro His
      35           40           45

Lys Lys Tyr Val Thr Trp Phe Tyr Gln Asn Thr Thr Leu Ala Val Ala
 50           55           60

Asn Thr Cys Ser Asn Asp Gly Val Leu Leu Pro Asn Asn Leu Thr Ser
65           70           75           80

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

Ile Val Glu Gly Thr Tyr Gln Cys Gln Ser Gly Pro Cys Phe His Ser
      100          105          110

Phe Thr Leu Val Asn Val Thr Gly Ser Ser Thr Val Ala Pro Glu Thr
      115          120          125

Asn Leu Leu Ser Asp Thr Asn Thr Pro Lys Thr Gly Gly Glu Leu Trp
130          135          140

Val Pro Ser Leu Thr Glu Gly Gly Ser His Ile Glu Ala Val Gly Tyr
145          150          155          160

Leu Ile Leu Gly Val Val Leu Gly Gly Cys Ile Ala Val Leu Tyr Tyr
      165          170          175

Leu Pro Cys Trp Val Glu Ile Arg Val Phe Ile Cys Trp Val Arg His
      180          185          190

Cys Gly Glu Glu Pro
      195
    
```

10

<210> 27
 <211> 156
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36

ES 2 696 551 T3

<400> 27

```

Met Lys Gly Leu Leu Leu Ile Ile Leu Ser Leu Val Gly Gly Leu Leu
1           5           10           15

Ala Cys His Glu Gln Pro Arg Cys Asn Ile Thr Thr Gly Asn Glu Arg
           20           25           30

Asn Asp Cys Ser Val Val Ile Lys Cys Glu His Gln Cys Pro Leu Asn
           35           40           45

Ile Thr Phe Lys Asn Lys Thr Met Gly Asn Val Trp Val Gly Phe Trp
50           55           60

Gln Pro Gly Asp Glu Gln Asn Tyr Thr Val Thr Ile His Gly Ser Asp
65           70           75           80

Gly Asn His Thr Phe Gly Phe Lys Phe Ile Phe Glu Val Met Cys Asp
           85           90           95

Ile Thr Leu His Val Ala Arg Leu His Gly Leu Trp Pro Pro Thr Lys
           100          105          110

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

Met Ser Gly Leu Leu Val Gly Ala Leu Val Trp Phe Leu Lys Arg Lys
130           135          140

Pro Arg Tyr Gly Asn Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu
145           150          155

```

5 <210> 28
 <211> 418
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36

10 <400> 28

```

Met Asn Thr Leu Thr Ser Val Val Leu Leu Ser Leu Leu Val Ile Asn
1           5           10           15

Val Glu Cys Ala Asp Pro Ile Leu Val Ser Val Asp Trp Gly Lys Asn
           20           25           30

Leu Thr Leu Glu Gly Pro Lys Glu Thr Pro Val Glu Trp Trp Gly Gly
35           40           45

```

ES 2 696 551 T3

Arg Asn Ile Gln Gln Leu Cys Ile Gly Asn Gln Thr Lys His Lys Glu
50 55 60

Leu Ser His Arg Cys Asn Val Gln Asn Ile Thr Leu Leu Phe Val Asn
65 70 75 80

Thr Ser Phe Asn Gly Asp Tyr Phe Gly Phe Lys Asn Asp Asn Ser Gly
85 90 95

Met Lys His Tyr Lys Val Thr Val Ile Pro Pro Lys Pro Ser Thr Arg
100 105 110

Lys Pro Leu Ser Pro Pro His Tyr Val Asn Ala Thr Met Gly Gln Asn
115 120 125

Leu Thr Leu Val Gly Pro Ala Asn Ile Pro Val Thr Trp Leu Ser Glu
130 135 140

Tyr Gly Thr Leu Cys Glu Gly Lys Lys Ile Leu His Lys Glu Leu Asn
145 150 155 160

His Thr Cys Asn Glu Gln Asn Leu Thr Leu Leu Phe Val Asn Met Thr
165 170 175

His Asn Gly Pro Tyr Phe Gly Phe Asp Lys Tyr Asn Ile Asp Arg Glu
180 185 190

Gln Tyr Glu Val Ser Ile Ile Ser Leu Phe Lys Val Gly Ala Gly Gln
195 200 205

Lys Lys Ile Gly Lys Gly Gln Lys Lys Glu Glu Lys Thr Lys Pro Asn
210 215 220

Ser Ser Asp Leu Gly Gln Arg Gln Ser Arg Pro Lys Lys Lys Asp Ile
225 230 235 240

Val Glu Glu Val Gln Ile Lys Thr Gly Glu Asn Arg Thr Leu Val Gly
245 250 255

Pro Pro Gly Lys Val Asp Trp Ile Lys Leu Ser Ser Gly Asn Asn Asn
260 265 270

Val Leu Lys Leu Cys Asn Gly Asp Lys Tyr Ile Lys His Thr Cys Asp
275 280 285

Gly Gln Asn Leu Thr Leu Ile Asn Val Thr Arg Ile Tyr Asp Gly Thr
290 295 300

ES 2 696 551 T3

Tyr Tyr Gly Ser Ser Asn Asp Gly Ser Ser His Tyr Lys Val Thr Ile
305 310 315 320

Tyr Glu Leu His Lys Val Asn Lys Thr Lys Ser Met Leu Lys Pro Tyr
325 330 335

Thr Thr Lys Arg Thr Thr Val Asn Ala Thr Asp Asp Ser Ala His Lys
340 345 350

Ile Ala Leu Gln Gln Glu Asn Asn Gly Gln Thr Glu Asn Asp Gln Glu
355 360 365

Ser Lys Ile Pro Ser Ala Thr Val Ala Ile Val Val Gly Val Ile Ala
370 375 380

Gly Phe Ile Thr Ile Ile Ile Val Ile Leu Cys Tyr Ile Cys Cys Arg
385 390 395 400

Lys Arg Pro Arg Ala Tyr Asn Asn Met Val Asp Pro Leu Leu Ser Phe
405 410 415

Ser Tyr

- <210> 29
- <211> 284
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36

5

<400> 29

Met Lys Ala Phe Thr Ala Cys Val Leu Ile Ser Ile Ile Thr Leu Ser
1 5 10 15

Leu Ala Ala Pro Lys Pro Glu Val Tyr Thr Gln Val Asn Val Thr Arg
20 25 30

Gly Gly Asn Ala Thr Leu Asp Gly Pro Phe Asn Asn Asn Thr Trp Thr
35 40 45

Arg Tyr His Asp Asp Gly Arg Lys Asn Gly Trp Met Asn Ile Cys Lys
50 55 60

Trp Ser Asp Pro Ser Tyr Thr Cys His Ser Asn Gly Ser Leu Ser Ile
65 70 75 80

Phe Ala Phe Asn Ile Ser Ser Gly Lys Tyr Lys Val Gln Ser Tyr Thr
85 90 95

10

ES 2 696 551 T3

Asn Ser Tyr Asn Gly Leu Asp Gly Tyr Glu Lys Leu Glu Val Lys Met
 100 105 110

Phe Asn Leu Thr Val Ile Glu Pro Pro Thr Thr Arg Ala Pro Thr Thr
 115 120 125

Val Arg Thr Thr Lys Glu Thr Thr Gln Pro Thr Thr Val Pro Thr Thr
 130 135 140

His Pro Thr Thr Thr Val Ser Thr Thr Ile Glu Thr Thr Thr His Thr
 145 150 155 160

Thr Gln Leu Asp Thr Thr Val Gln Asn Thr Thr Leu Leu Ile Glu Phe
 165 170 175

Leu Leu Arg Gly Asn Glu Ser Thr Thr Asp Gln Thr Glu Ala Thr Ser
 180 185 190

Ser Ala Phe Ser Ser Thr Ala Asn Leu Thr Ser Leu Ala Trp Thr Asn
 195 200 205

Glu Thr Gly Val Ser Leu Met His Gly Gln Pro Tyr Ser Gly Leu Asp
 210 215 220

Ile Gln Ile Thr Phe Leu Val Val Cys Gly Ile Phe Ile Leu Val Val
 225 230 235 240

Leu Leu Tyr Phe Val Cys Cys Lys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Arg Pro
 245 250 255

Ile Tyr Arg Pro Val Ile Gly Glu Pro Gln Pro Leu Gln Val Glu Gly
 260 265 270

Gly Leu Arg Asn Leu Leu Phe Ser Phe Ser Val Trp
 275 280

<210> 30
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 30

Met Ile Pro Arg Phe Phe Leu Phe Asn Ile Leu Phe Cys Leu Phe Asn
 1 5 10 15

Ile Cys Ala Ala Phe Ala Ala Val Ser His Ala Ser Pro Asp Cys Leu
 20 25 30

5

10

ES 2 696 551 T3

Gly Pro Phe Pro Thr Tyr Leu Leu Phe Ala Leu Leu Thr Cys Thr Cys
 35 40 45
 Val Cys Ser Ile Val Cys Leu Val Val Thr Phe Leu Gln Leu Ile Asp
 50 55 60
 Trp Cys Cys Ala Arg Tyr Asn Tyr Leu His His Ser Pro Glu Tyr Arg
 65 70 75 80
 Asp Lys Asn Val Ala Arg Ile Leu Arg Leu Ile
 85 90

5

<210> 31
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 31

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

10

<210> 32
 <211> 130
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 32

15

ES 2 696 551 T3

Met Thr Asp His His Leu Asp Leu Glu Met Asp Gly Gln Ala Ser Glu
 1 5 10 15

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

Lys Glu Leu Leu Asp Ala Ile Asn Ile His Gln Cys Lys Lys Gly Ile
 35 40 45

Phe Cys Leu Val Lys Gln Ala Lys Ile Thr Tyr Glu Leu Val Ser Asn
 50 55 60

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

Phe Thr Cys Met Val Gly Val Asn Pro Ile Val Ile Thr Gln Gln Ser
 85 90 95

Gly Glu Thr Ser Gly Cys Ile His Cys Ser Cys Glu Ser Pro Glu Cys
 100 105 110

Ile Tyr Ser Leu Leu Lys Thr Leu Cys Gly Leu Arg Asp Leu Leu Pro
 115 120 125

Met Asn
 130

5 <210> 33
 <211> 49
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 33

Met Lys Ile Val Asp Gln Glu Phe Asp Ile Pro Phe Lys Val Trp Arg
 1 5 10 15

Lys Phe Ala Ala Arg Arg Gly Leu Glu Tyr Gln Ser Trp Glu Glu Gly
 20 25 30

Thr Glu Val Leu Leu Asn Asn Tyr Thr Arg Asp Ile Leu Ser Asp Phe
 35 40 45

10 Lys
 15 <210> 34
 <211> 371
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36

ES 2 696 551 T3

<400> 34

Met Ser Lys Arg Leu Arg Val Glu Asp Asp Phe Asn Pro Val Tyr Pro
 1 5 10 15

Tyr Gly Tyr Ala Arg Asn Gln Asn Ile Pro Phe Leu Thr Pro Pro Phe
 20 25 30

Val Ser Ser Asp Gly Phe Gln Asn Phe Pro Pro Gly Val Leu Ser Leu
 35 40 45

Lys Leu Ala Asp Pro Ile Ala Ile Ala Asn Gly Asn Val Ser Leu Lys
 50 55 60

Val Gly Gly Gly Leu Thr Val Glu Gln Gln Ser Gly Lys Leu Ser Val
 65 70 75 80

Asp Thr Lys Ala Pro Leu Gln Val Ala Asn Asp Asn Lys Leu Glu Leu
 85 90 95

Ser Tyr Asp Asp Pro Phe Lys Val Glu Asn Asn Lys Leu Gly Ile Lys
 100 105 110

Ala Gly His Gly Leu Ala Val Val Thr Lys Glu Asn Thr Ser Leu Pro
 115 120 125

Ser Leu Val Gly Thr Leu Val Val Leu Thr Gly Lys Gly Ile Gly Thr
 130 135 140

Gly Ser Ser Ala His Gly Gly Thr Ile Asp Val Arg Leu Gly Glu Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Leu Ser Phe Asp Glu Lys Gly Asp Leu Val Ala Trp Asp Lys
 165 170 175

Lys Asn Asp Thr Arg Thr Leu Trp Thr Thr Pro Asp Pro Ser Pro Asn
 180 185 190

Cys Lys Val Glu Thr Ala Arg Asp Ser Lys Leu Thr Leu Ala Leu Thr
 195 200 205

Lys Cys Gly Ser Gln Ile Leu Ala Thr Val Ser Leu Leu Val Val Thr
 210 215 220

Gly Lys Tyr Ala Ile Ile Ser Asp Thr Val Asn Pro Lys Gln Phe Ser
 225 230 235 240

ES 2 696 551 T3

Ile Lys Leu Leu Phe Asn Asp Lys Gly Val Leu Leu Ser Asp Ser Asn
 245 250 255

Leu Asp Gly Thr Tyr Trp Asn Tyr Arg Ser Asn Asn Asn Asn Ile Gly
 260 265 270

Thr Pro Tyr Lys Glu Ala Val Gly Phe Met Pro Ser Thr Thr Ala Tyr
 275 280 285

Pro Lys Pro Thr Asn Asn Thr Ser Thr Asp Pro Asp Lys Lys Val Ser
 290 295 300

Gln Gly Lys Asn Lys Ile Val Ser Asn Ile Tyr Leu Gly Gly Glu Val
 305 310 315 320

Tyr Gln Pro Gly Phe Ile Val Val Lys Phe Asn Gln Glu Thr Asp Ala
 325 330 335

Asn Cys Ala Tyr Ser Ile Thr Phe Asp Phe Gly Trp Gly Lys Val Tyr
 340 345 350

Lys Asp Pro Ile Pro Tyr Asp Thr Ser Ser Phe Thr Phe Ser Tyr Ile
 355 360 365

Ala Gln Glu
 370

<210> 35
 <211> 130
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36
 <400> 35

5

ES 2 696 551 T3

Met Ser Thr Glu Glu Gln Ser Thr Ser Leu Arg His His Pro Tyr Arg
 1 5 10 15

Arg Ala Arg Leu Pro Arg Ser Glu Glu Glu Thr Arg Ala Ser Leu Thr
 20 25 30

Glu Gln His Pro Leu Leu Pro Asp Cys Asp His Ala Glu Tyr His Asn
 35 40 45

Thr Val Thr Leu Asp Cys Glu Ala Arg Leu Glu Asp Phe Ser Glu Asp
 50 55 60

Gly Phe Ile Ser Ile Thr Asp Pro Arg Leu Ala Arg Gln Glu Thr Val
 65 70 75 80

Trp Ile Ile Asp Thr Lys Ser Ser Ser Arg Thr Asn Gln Asn Ile Pro
 85 90 95

Leu Phe Lys Ala Thr Arg Ala Glu Arg Ile Val Tyr Thr Val Lys Trp
 100 105 110

Ala Gly Gly Gly Arg Leu Thr Thr Arg Ala Gly Val Lys Ile Asn Lys
 115 120 125

Asp Thr
 130

- 5 <210> 36
- <211> 292
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36

- 10 <400> 36

ES 2 696 551 T3

Met Ser Thr Glu Glu Gln Ser Thr Ser Leu Arg His His Pro Tyr Arg
 1 5 10 15

Arg Ala Arg Leu Pro Arg Ser Glu Glu Glu Thr Arg Ala Ser Leu Thr
 20 25 30

Glu Gln His Pro Leu Leu Pro Asp Cys Asp His Ala Glu Tyr His Asn
 35 40 45

Val Ser Ser Val Arg Gly Leu Pro Cys Ala Ala Gly Phe Thr Leu Leu
 50 55 60

Gln Glu Phe Pro Val Pro Trp Asp Met Ile Leu Thr Pro Glu Glu Ile
 65 70 75 80

Lys Ile Leu Lys Arg Cys Met Ser Val Cys Leu Cys Pro Ala Thr Leu
 85 90 95

Asp Leu Val Arg Ala Gln Met Val Ser Gly Tyr Glu Arg Trp Ile Leu
 100 105 110

His Cys His Cys Ser Ser Pro Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ala Gly Gly
 115 120 125

Thr Leu Leu Ala Val Trp Phe Arg Arg Val Ile Tyr Gly Cys Met Phe
 130 135 140

Asn Gln Arg Phe Pro Trp Tyr Arg Gln Ile Val Asn Arg Asn Met Pro
 145 150 155 160

ES 2 696 551 T3

Lys Glu Ile Met Tyr Met Gly Ser Val Phe Met Arg Gly Arg His Leu
 165 170 175

Ile Tyr Cys Arg Ile Trp Tyr Asp Gly His Val Gly Ser Ile Ile Pro
 180 185 190

Asn Met Ser Phe Gly Trp Ser Thr Leu Asn Tyr Gly Leu Leu Asn Asn
 195 200 205

Met Val Ile Met Cys Cys Thr Tyr Cys Glu Asn Met Ser Glu Ile Arg
 210 215 220

Met Arg Cys Cys Ala Arg Arg Thr Arg Arg Leu Met Leu Lys Ala Val
 225 230 235 240

Gly Ile Ile Val Arg Glu Thr Cys Asp Pro Asp Pro Ile Cys Ser Ser
 245 250 255

Arg Thr Glu Pro Arg Arg Gln Arg Leu Leu Arg Ala Leu Met Glu Arg
 260 265 270

His Arg Pro Ile Leu Phe Ser Glu Tyr Glu Ser Val Arg Ser Ser His
 275 280 285

Ser Thr Arg Leu
 290

5

- <210> 37
- <211> 127
- <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 37

ES 2 696 551 T3

Met Cys Cys Trp Leu Tyr Pro Ala Pro Arg Val Ser Ser Pro Leu Gly
 1 5 10 15

Tyr Asp Pro Asp Pro Arg Gly Asn Lys Asn Phe Lys Lys Met Tyr Val
 20 25 30

Ser Val Pro Val Pro Arg Tyr Pro Gly Leu Gly Glu Ser Ser Asp Gly
 35 40 45

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

Leu Pro Ala Val Pro Gly Gly Arg His Pro Ala Gly Arg Val Val Gln
 65 70 75 80

Glu Ser His Leu Arg Val His Val Gln Pro Ala Leu Pro Leu Val Pro
 85 90 95

Pro Asp Cys Glu Gln Lys His Ala Gln Arg Asp His Val Tyr Gly Gln
 100 105 110

Cys Val His Glu Gly Gln Ala Pro Asp Ile Leu Pro His Leu Val
 115 120 125

5 <210> 38
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Adenovirus de tipo 36

10 <400> 38

ES 2 696 551 T3

Met Val Leu Pro Ile Leu Pro Pro Pro Pro Leu Asn Asp Arg Gln Gly
 1 5 10 15

Ser Ile Asn Trp Met Gly Met Ala Tyr Arg Val Leu Ala Asp Val Met
 20 25 30

Arg Gly Ile Arg Met Asp Gly Leu Phe Val Ser Ser Asp Ala Glu Glu
 35 40 45

Leu Leu Gln Asn Leu Arg Glu Trp Met Tyr Phe Ser Trp Met Thr Glu
 50 55 60

Arg Gln Gln Arg Lys Asp Gly Arg Arg Arg Gly Ile Cys Cys Ser Arg
 65 70 75 80

Ala Thr Phe Cys Trp Gln Lys Tyr Asp Lys Val Arg Lys Arg Val His
 85 90 95

Tyr Asn Glu His Arg Gly Thr Ile Asp Leu Ala Pro Pro Ser Ser Ile
 100 105 110

Pro Gln Gly Pro Phe Thr Thr Ile
 115 120

- <210> 39
- <211> 117
- 5 <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 39

Met Lys Val Cys Leu Leu Met Lys Val Glu Gly Ala Leu Trp Glu Leu
 1 5 10 15

10

ES 2 696 551 T3

Phe Asn Met Cys Gly Val Asp Leu His Gln Gln Phe Val Ala Ile Ile
 20 25 30

Gln Gly Trp Lys Asn Glu Asn Tyr Leu Gly Met Val Gln Asp Cys Asn
 35 40 45

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

Phe Leu Asp Val Arg Val Glu Pro Leu Leu Glu Ala Thr Val Glu His
 65 70 75 80

Leu Glu Asn Arg Ile Ile Phe Asp Leu Ala Val Cys Phe His Gln Asn
 85 90 95

Ser Gly Gly Glu Arg Cys His Leu Arg Asp Leu Asn Phe Ile Leu Leu
 100 105 110

Arg Asp Arg Leu Glu
 115

<210> 40

<211> 130

5 <212> PRT

<213> Adenovirus de tipo 36

<400> 40

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

Leu Val Thr Tyr Leu Glu Asp Phe Ser Ile Thr Ala Met Ile Lys Glu
 20 25 30

His Leu Pro Arg Phe Ile Thr His Leu Leu Glu Gly Ile Thr Gly Asp
 35 40 45

Thr Lys Arg Ala Tyr Ser Ser Met Gln Phe Leu Gly Ala Asn Tyr Gly
 50 55 60

Ala Leu Arg Tyr Ser Leu Thr Leu Ala Ser Pro Thr Leu Ser Pro Gly
 65 70 75 80

Ser Asp Leu Ala Ser Val Val Ala Glu Asp Leu Ser Asp Phe Leu Gln
 85 90 95

Leu Thr Leu Arg Arg Glu Leu Arg Ala Glu Gly Arg Asn Ser Leu Asn
 100 105 110

10

ES 2 696 551 T3

Leu Val Val Leu Asn Thr Leu Gln Val Val Glu Gln Pro Asp Leu Leu
 115 120 125

Leu Leu
 130

- <210> 41
- <211> 125
- 5 <212> PRT
- <213> Adenovirus de tipo 36
- <400> 41

Met Ala Glu Ser Leu Tyr Ala Phe Ile Asp Ser Pro Gly Gly Ile Ala
 1 5 10 15

Pro Val Gln Glu Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Ile Phe Phe Cys Pro Glu
 20 25 30

Ser Phe His Ile Pro Pro His Gly Val Ile Leu Leu His Leu Arg Val
 35 40 45

Ser Val Leu Val Pro Thr Gly Tyr Gln Gly Arg Phe Met Ala Leu Asn
 50 55 60

Asp Tyr His Ala Arg Gly Ile Leu Thr Gln Ser Asp Val Ile Phe Ala
 65 70 75 80

Gly Arg Arg His Asp Leu Ser Val Leu Leu Phe Asn His Thr Asp Arg
 85 90 95

Phe Leu Tyr Val Arg Glu Gly His Pro Val Gly Thr Leu Leu Leu Glu
 100 105 110

Arg Val Ile Phe Pro Ser Val Arg Ile Ala Thr Leu Val
 115 120 125

- <210> 42
- <211> 230
- 15 <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Polipéptido sintético
- 20 <400> 42

ES 2 696 551 T3

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

Asp Thr Lys Ala Pro Leu Gln Val Ala Asn Asp Asn Lys Leu Glu Leu
20 25 30

Ser Tyr Asp Asp Pro Phe Lys Val Glu Asn Asn Lys Leu Gly Ile Lys
35 40 45

Ala Gly His Gly Leu Ala Val Val Thr Lys Glu Asn Thr Ser Leu Pro
50 55 60

Ser Leu Val Gly Thr Leu Val Val Gly Ser Ser Ala His Gly Gly Thr
65 70 75 80

Ile Asp Val Arg Leu Gly Glu Gly Gly Gly Leu Ser Phe Asp Glu Lys
85 90 95

Gly Thr Val Ser Leu Leu Val Val Thr Gly Lys Tyr Ala Ile Ile Ser
100 105 110

Asp Thr Val Asn Pro Lys Gln Phe Ser Ile Lys Leu Leu Phe Asn Asp
115 120 125

Lys Gly Val Leu Leu Ser Asp Ser Asn Leu Asp Gly Thr Tyr Trp Asn
130 135 140

Tyr Arg Ser Asn Asn Asn Asn Ile Gly Thr Pro Tyr Lys Glu Ala Val
145 150 155 160

Gly Phe Met Pro Ser Thr Thr Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Asn Asn Thr
165 170 175

Ser Thr Asp Pro Asp Lys Lys Val Ser Gln Gly Lys Asn Lys Ile Val
180 185 190

Ser Asn Thr Asp Ala Asn Cys Ala Tyr Ser Ile Thr Phe Asp Phe Gly
195 200 205

Trp Gly Lys Val Tyr Lys Asp Pro Ile Pro Tyr Asp Thr Ser Ser Phe
210 215 220

His His His His His His
225 230

<210> 43
<211> 200

ES 2 696 551 T3

<212> PRT
<213> Artificial

5 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 43

```

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

Pro Pro Thr Thr Lys Asp Val Thr Lys Thr Phe Gly Val Ala Ala Arg
          20           25           30

Gly Gly Leu His Ile Thr Asp Lys Gly Leu Gln Ile Gly Glu Asp Glu
          35           40           45

Asn Asn Glu Asp Gly Glu Glu Glu Ile Tyr Ala Asp Lys Thr Phe Gln
 50           55           60

Pro Glu Pro Gln Val Gly Glu Glu Asn Trp Gln Asp Thr Asp Val Phe
65           70           75           80

Tyr Gly Gly Arg Ala Leu Lys Lys Glu Glu Lys Gly Gly Gln Ala Lys
          85           90           95

Phe Leu Asn Gly Glu Asn Gly Gln Pro Ser Lys Asp Gln Asp Ile Thr
          100          105          110

Leu Ala Phe Phe Asp Leu Lys Gln Asn Asp Thr Gly Thr Thr Gln Asn
          115          120          125

Gln Pro Asp Val Val Met Tyr Thr Glu Asn Val Tyr Leu Gly Lys Glu
          130          135          140

Asp Thr Ser Ser Ala Ala Asn Leu Thr Asp Gly Ser Gly Ser Asn Thr
145          150          155          160

Ala Tyr Gln Gly Val Lys Tyr Glu Asn Gly Ala Gly Asn Gly Ser Trp
          165          170          175

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

Leu Tyr His His His His His His
          195          200

```

10 <210> 44
<211> 955

<212> PRT
<213> Artificial

5 <220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 44

ES 2 696 551 T3

Met Ala Asp Glu Ala Pro Ala Thr Pro Ser Met Met Pro Gln Trp Ala
1 5 10 15

Tyr Met His Ile Ala Gly Gln Asp Ala Ser Glu Tyr Leu Ser Pro Gly
20 25 30

Leu Val Gln Phe Ala Arg Ala Thr Asp Thr Tyr Phe Ser Leu Gly Asn
35 40 45

Lys Phe Arg Asn Pro Thr Val Ala Pro Thr His Asp Val Thr Thr Asp
50 55 60

Arg Ser Gln Arg Leu Thr Leu Arg Phe Val Pro Val Asp Arg Glu Asp
65 70 75 80

Thr Thr Tyr Ser Tyr Lys Ala Arg Phe Thr Leu Ala Val Gly Asp Asn
85 90 95

Arg Val Leu Asp Met Ala Ser Thr Tyr Phe Asp Ile Arg Gly Val Leu
100 105 110

Asp Arg Gly Pro Ser Phe Lys Pro Tyr Ser Gly Thr Ala Tyr Asn Ser
115 120 125

Leu Ala Pro Lys Gly Ala Pro Asn Ser Ser Gln Trp Thr Asp Lys Glu
130 135 140

Arg Gln Asn Gly Gly Gln Pro Pro Thr Thr Lys Asp Val Thr Lys Thr
145 150 155 160

Phe Gly Val Ala Ala Arg Gly Gly Leu His Ile Thr Asp Lys Gly Leu
165 170 175

Gln Ile Gly Glu Asp Glu Asn Asn Glu Asp Gly Glu Glu Glu Ile Tyr
180 185 190

Ala Asp Lys Thr Phe Gln Pro Glu Pro Gln Val Gly Glu Glu Asn Trp
195 200 205

Gln Asp Thr Asp Val Phe Tyr Gly Gly Arg Ala Leu Lys Lys Glu Thr
210 215 220

Lys Met Lys Pro Cys Tyr Gly Ser Phe Ala Arg Pro Thr Asn Glu Lys
225 230 235 240

Gly Gly Gln Ala Lys Phe Leu Asn Gly Glu Asn Gly Gln Pro Ser Lys
245 250 255

ES 2 696 551 T3

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

ES 2 696 551 T3

Ala Tyr Val Asn Ile Gly Ala Arg Trp Ser Leu Asp Pro Met Asp Asn
515 520 525

Val Asn Pro Phe Asn His His Arg Asn Ala Gly Leu Arg Tyr Arg Ser
530 535 540

Met Leu Leu Gly Asn Gly Arg Tyr Val Pro Phe His Ile Gln Val Pro
545 550 555 560

Gln Lys Phe Phe Ala Ile Lys Asn Leu Leu Leu Leu Pro Gly Ser Tyr
565 570 575

Thr Tyr Glu Trp Asn Phe Arg Lys Asp Val Asn Met Ile Leu Gln Ser
580 585 590

Ser Leu Gly Asn Asp Leu Arg Val Asp Gly Ala Ser Val Arg Phe Asp
595 600 605

Ser Val Asn Leu Tyr Ala Thr Phe Phe Pro Met Ala His Asn Thr Ala
610 615 620

Ser Thr Leu Glu Ala Met Leu Arg Asn Asp Thr Asn Asp Gln Ser Phe
625 630 635 640

Asn Asp Tyr Leu Ser Ala Ala Asn Met Leu Tyr Pro Ile Pro Ala Lys
645 650 655

Ala Thr Asn Val Pro Ile Ser Ile Pro Ser Arg Asn Trp Ala Ala Phe
660 665 670

Arg Gly Trp Ser Phe Thr Arg Leu Lys Thr Lys Glu Thr Pro Ser Leu
675 680 685

Gly Ser Gly Phe Asp Pro Tyr Phe Val Tyr Ser Gly Ser Ile Pro Tyr
690 695 700

Leu Asp Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile
705 710 715 720

Met Phe Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Thr
725 730 735

Pro Asn Glu Phe Glu Ile Lys Arg Ser Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn
740 745 750

Val Ala Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu

ES 2 696 551 T3

755		760		765											
Ser	His	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr
	770					775					780				
Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg
785					790					795					800
Gln	Val	Val	Asp	Glu	Ile	Asn	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Lys	Ala	Val	Thr	Leu
				805					810					815	
Pro	Phe	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Thr	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr
			820					825					830		
Met	Arg	Gln	Gly	Gln	Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Phe	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile
		835					840					845			
Gly	Gln	Thr	Ala	Val	Pro	Ser	Val	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp
	850					855					860				
Arg	Val	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly
865					870					875					880
Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His
				885					890					895	
Ala	Leu	Asp	Met	Thr	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu	Pro	Thr	Leu
			900					905					910		
Leu	Tyr	Leu	Leu	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val	His	Gln	Pro
		915					920					925			
His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala
	930					935					940				
Gly	Asn	Ala	Thr	Thr	His										
945					950									955	

<210> 45
 <211> 418
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10

<400> 45

ES 2 696 551 T3

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

ES 2 696 551 T3

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

Pro Pro Thr Thr Lys Asp Val Thr Lys Thr Phe Gly Val Ala Ala Arg
 20 25 30

Gly Gly Leu His Ile Thr Asp Lys Gly Leu Gln Ile Gly Glu Asp Glu
 35 40 45

ES 2 696 551 T3

Asn Asn Glu Asp Gly Glu Glu Glu Ile Tyr Ala Asp Lys Thr Phe Gln
 50 55 60
 Pro Glu Pro Gln Val Gly Glu Glu Asn Trp Gln Asp Thr Asp Val Phe
 65 70 75 80
 Tyr Gly Gly Arg Ala Leu Lys Lys Glu Glu Lys Gly Gly Gln Ala Lys
 85 90 95
 Phe Leu Asn Gly Glu Asn Gly Gln Pro Ser Lys Asp Gln Asp Ile Thr
 100 105 110
 Leu Ala Phe Phe Asp Leu Lys Gln Asn Asp Thr Gly Thr Thr Gln Asn
 115 120 125
 Gln Pro Asp Val Val Met Tyr Thr Glu Asn Val Tyr Leu Gly Lys Glu
 130 135 140
 Asp Thr Ser Ser Ala Ala Asn Leu Thr Asp Gly Ser Gly Ser Asn Thr
 145 150 155 160
 Ala Tyr Gln Gly Val Lys Tyr Glu Asn Gly Ala Gly Asn Gly Ser Trp
 165 170 175
 Lys Val Asp Gly Glu Val Ala Ser Gln Asn Gln Ile Ala Lys Gly Asn
 180 185 190
 Leu Tyr Val Glu Gln Gln Ser Gly Lys Leu Ser Val Asp Thr Lys Ala
 195 200 205
 Pro Leu Gln Val Ala Asn Asp Asn Lys Leu Glu Leu Ser Tyr Asp Asp
 210 215 220
 Pro Phe Lys Val Glu Asn Asn Lys Leu Gly Ile Lys Ala Gly His Gly
 225 230 235 240
 Leu Ala Val Val Thr Lys Glu Asn Thr Ser Leu Pro Ser Leu Val Gly
 245 250 255
 Thr Leu Val Val Gly Ser Ser Ala His Gly Gly Thr Ile Asp Val Arg
 260 265 270
 Leu Gly Glu Gly Gly Gly Leu Ser Phe Asp Glu Lys Gly Thr Val Ser
 275 280 285
 Leu Leu Val Val Thr Gly Lys Tyr Ala Ile Ile Ser Asp Thr Val Asn

ES 2 696 551 T3

290		295		300																		
Pro	Lys	Gln	Phe	Ser	Ile	Lys	Leu	Leu	Phe	Asn	Asp	Lys	Gly	Val	Leu							
305					310					315					320							
Leu	Ser	Asp	Ser	Asn	Leu	Asp	Gly	Thr	Tyr	Trp	Asn	Tyr	Arg	Ser	Asn							
				325					330					335								
Asn	Asn	Asn	Ile	Gly	Thr	Pro	Tyr	Lys	Glu	Ala	Val	Gly	Phe	Met	Pro							
			340					345					350									
Ser	Thr	Thr	Ala	Tyr	Pro	Lys	Pro	Thr	Asn	Asn	Thr	Ser	Thr	Asp	Pro							
		355					360					365										
Asp	Lys	Lys	Val	Ser	Gln	Gly	Lys	Asn	Lys	Ile	Val	Ser	Asn	Thr	Asp							
	370					375					380											
Ala	Asn	Cys	Ala	Tyr	Ser	Ile	Thr	Phe	Asp	Phe	Gly	Trp	Gly	Lys	Val							
385					390					395					400							
Tyr	Lys	Asp	Pro	Ile	Pro	Tyr	Asp	Thr	Ser	Ser	Phe	His	His	His	His							
				405					410					415								
His	His																					

<210> 47
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10

<400> 47

ES 2 696 551 T3

Met Ala Asp Glu Ala Pro Arg Thr Tyr Phe Gly Ile Pro Cys Arg His
 1 5 10 15

Gln Ile His Lys Thr Ile Asn Phe Thr Phe Glu Glu Gln Val Asn Phe
 20 25 30

Thr Cys Lys Pro His Lys Lys Tyr Val Thr Trp Phe Tyr Gln Asn Thr
 35 40 45

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

Lys Thr Gly Gly Glu Leu Trp Val Pro Ser Leu Thr Glu Gly Gly Ser
 65 70 75 80

His Ile Glu Ala Ala Pro Lys Pro Glu Val Tyr Thr Gln Val Asn Val
 85 90 95

Thr Arg Gly Gly Asn Ala Thr Leu Asp Gly Pro Phe Asn Asn Asn Thr
 100 105 110

Trp Thr Arg Tyr His Asp Asp Gly Arg Lys Asn Gly Trp Met Phe Asn
 115 120 125

Ile Ser Ser Gly Lys Tyr Lys Val Gln Ser Tyr Thr Asn Ser Tyr Asn
 130 135 140

Gly Leu Asp Gly Tyr Glu Lys Leu Glu Val Lys Met Phe Asn Leu Thr
 145 150 155 160

His His His His His His
 165

5 <210> 48
 <211> 315
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Polipéptido sintético

<400> 48

ES 2 696 551 T3

Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
 1 5 10 15

Ala Ser Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Asp Glu Thr Ala Gln
 20 25 30

Ile Pro Ala Glu Ala Val Ile Gly Tyr Leu Asp Leu Glu Gly Asp Phe
 35 40 45

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

Phe Ile Asn Thr Thr Ile Ala Ser Ile Ala Ala Lys Glu Glu Gly Val
 65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Arg Glu Ala Glu Ala Thr Ser Val Glu Gln Gln Ser
 85 90 95

Gly Lys Leu Ser Val Asp Thr Lys Ala Pro Leu Gln Val Ala Asn Asp
 100 105 110

ES 2 696 551 T3

Asn Lys Leu Glu Leu Ser Tyr Asp Asp Pro Phe Lys Val Glu Asn Asn
 115 120 125

Lys Leu Gly Ile Lys Ala Gly His Gly Leu Ala Val Val Thr Lys Glu
 130 135 140

Asn Thr Ser Leu Pro Ser Leu Val Gly Thr Leu Val Val Gly Ser Ser
 145 150 155 160

Ala His Gly Gly Thr Ile Asp Val Arg Leu Gly Glu Gly Gly Gly Leu
 165 170 175

Ser Phe Asp Glu Lys Gly Thr Val Ser Leu Leu Val Val Thr Gly Lys
 180 185 190

Tyr Ala Ile Ile Ser Asp Thr Val Asn Pro Lys Gln Phe Ser Ile Lys
 195 200 205

Leu Leu Phe Asn Asp Lys Gly Val Leu Leu Ser Asp Ser Asn Leu Asp
 210 215 220

Gly Thr Tyr Trp Asn Tyr Arg Ser Asn Asn Asn Asn Ile Gly Thr Pro
 225 230 235 240

Tyr Lys Glu Ala Val Gly Phe Met Pro Ser Thr Thr Ala Tyr Pro Lys
 245 250 255

Pro Thr Asn Asn Thr Ser Thr Asp Pro Asp Lys Lys Val Ser Gln Gly
 260 265 270

Lys Asn Lys Ile Val Ser Asn Thr Asp Ala Asn Cys Ala Tyr Ser Ile
 275 280 285

Thr Phe Asp Phe Gly Trp Gly Lys Val Tyr Lys Asp Pro Ile Pro Tyr
 290 295 300

Asp Thr Ser Ser Phe His His His His His His
 305 310 315

<210> 49
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

<400> 49

5

10

ES 2 696 551 T3

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

Gln Val Ala Asn Asp Asn Lys Leu Glu Leu Ser Tyr Asp Asp Pro Phe
 20 25 30

Lys Val Glu Asn Asn Lys Leu Gly Ile Lys Ala Gly His Gly Leu Ala
 35 40 45

Val Val Thr Lys Glu Asn Thr Ser Leu Pro Ser Leu Val Gly Thr Leu
 50 55 60

Val Val Gly Ser Ser Ala His Gly Gly Thr Ile Asp Val Arg Leu Gly
 65 70 75 80

Glu Gly Gly Gly Leu Ser Phe Asp Glu Lys Gly Thr Val Ser Leu Leu
 85 90 95

Val Val Thr Gly Lys Tyr Ala Ile Ile Ser Asp Thr Val Asn Pro Lys
 100 105 110

Gln Phe Ser Ile Lys Leu Leu Phe Asn Asp Lys Gly Val Leu Leu Ser
 115 120 125

Asp Ser Asn Leu Asp Gly Thr Tyr Trp Asn Tyr Arg Ser Asn Asn Asn
 130 135 140

Asn Ile Gly Thr Pro Tyr Lys Glu Ala Val Gly Phe Met Pro Ser Thr
 145 150 155 160

Thr Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Asn Asn Thr Ser Thr Asp Pro Asp Lys
 165 170 175

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

Cys Ala Tyr Ser Ile Thr Phe Asp Phe Gly Trp Gly Lys Val Tyr Lys
 195 200 205

Asp Pro Ile Pro Tyr Asp Thr Ser Ser Phe
 210 215

<210> 50
 <211> 285
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>

<223> Polipéptido sintético

<400> 50

ES 2 696 551 T3

Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15

Ala Ser Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Asp Glu Thr Ala Gln
20 25 30

Ile Pro Ala Glu Ala Val Ile Gly Tyr Leu Asp Leu Glu Gly Asp Phe
35 40 45

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

Phe Ile Asn Thr Thr Ile Ala Ser Ile Ala Ala Lys Glu Glu Gly Val
65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Arg Glu Ala Glu Ala Thr Ser Thr Asp Lys Glu Arg
85 90 95

Gln Asn Gly Gly Gln Pro Pro Thr Thr Lys Asp Val Thr Lys Thr Phe
100 105 110

Gly Val Ala Ala Arg Gly Gly Leu His Ile Thr Asp Lys Gly Leu Gln
115 120 125

Ile Gly Glu Asp Glu Asn Asn Glu Asp Gly Glu Glu Glu Ile Tyr Ala
130 135 140

Asp Lys Thr Phe Gln Pro Glu Pro Gln Val Gly Glu Glu Asn Trp Gln
145 150 155 160

Asp Thr Asp Val Phe Tyr Gly Gly Arg Ala Leu Lys Lys Glu Glu Lys
165 170 175

Gly Gly Gln Ala Lys Phe Leu Asn Gly Glu Asn Gly Gln Pro Ser Lys
180 185 190

Asp Gln Asp Ile Thr Leu Ala Phe Phe Asp Leu Lys Gln Asn Asp Thr
195 200 205

Gly Thr Thr Gln Asn Gln Pro Asp Val Val Met Tyr Thr Glu Asn Val
210 215 220

Tyr Leu Gly Lys Glu Asp Thr Ser Ser Ala Ala Asn Leu Thr Asp Gly
225 230 235 240

ES 2 696 551 T3

Ser Gly Ser Asn Thr Ala Tyr Gln Gly Val Lys Tyr Glu Asn Gly Ala
245 250 255

Gly Asn Gly Ser Trp Lys Val Asp Gly Glu Val Ala Ser Gln Asn Gln
260 265 270

Ile Ala Lys Gly Asn Leu Tyr His His His His His His
275 280 285

5 <210> 51
<211> 188
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Polipéptido sintético
<400> 51

ES 2 696 551 T3

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

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

Asp Lys Gly Leu Gln Ile Gly Glu Asp Glu Asn Asn Glu Asp Gly Glu
 35 40 45

Glu Glu Ile Tyr Ala Asp Lys Thr Phe Gln Pro Glu Pro Gln Val Gly
 50 55 60

Glu Glu Asn Trp Gln Asp Thr Asp Val Phe Tyr Gly Gly Arg Ala Leu
 65 70 75 80

Lys Lys Glu Glu Lys Gly Gly Gln Ala Lys Phe Leu Asn Gly Glu Asn
 85 90 95

Gly Gln Pro Ser Lys Asp Gln Asp Ile Thr Leu Ala Phe Phe Asp Leu
 100 105 110

Lys Gln Asn Asp Thr Gly Thr Thr Gln Asn Gln Pro Asp Val Val Met
 115 120 125

Tyr Thr Glu Asn Val Tyr Leu Gly Lys Glu Asp Thr Ser Ser Ala Ala
 130 135 140

Asn Leu Thr Asp Gly Ser Gly Ser Asn Thr Ala Tyr Gln Gly Val Lys
 145 150 155 160

Tyr Glu Asn Gly Ala Gly Asn Gly Ser Trp Lys Val Asp Gly Glu Val
 165 170 175

Ala Ser Gln Asn Gln Ile Ala Lys Gly Asn Leu Tyr
 180 185

<210> 52
 <211> 1040
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

<400> 52

5

10

ES 2 696 551 T3

Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
 1 5 10 15

Ala Ser Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Asp Glu Thr Ala Gln
 20 25 30

Ile Pro Ala Glu Ala Val Ile Gly Tyr Leu Asp Leu Glu Gly Asp Phe
 35 40 45

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

Phe Ile Asn Thr Thr Ile Ala Ser Ile Ala Ala Lys Glu Glu Gly Val
 65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Arg Glu Ala Glu Ala Thr Ser Ala Thr Pro Ser Met
 85 90 95

Met Pro Gln Trp Ala Tyr Met His Ile Ala Gly Gln Asp Ala Ser Glu
 100 105 110

Tyr Leu Ser Pro Gly Leu Val Gln Phe Ala Arg Ala Thr Asp Thr Tyr
 115 120 125

Phe Ser Leu Gly Asn Lys Phe Arg Asn Pro Thr Val Ala Pro Thr His
 130 135 140

Asp Val Thr Thr Asp Arg Ser Gln Arg Leu Thr Leu Arg Phe Val Pro
 145 150 155 160

Val Asp Arg Glu Asp Thr Thr Tyr Ser Tyr Lys Ala Arg Phe Thr Leu
 165 170 175

Ala Val Gly Asp Asn Arg Val Leu Asp Met Ala Ser Thr Tyr Phe Asp
 180 185 190

ES 2 696 551 T3

Ile Arg Gly Val Leu Asp Arg Gly Pro Ser Phe Lys Pro Tyr Ser Gly
 195 200 205

Thr Ala Tyr Asn Ser Leu Ala Pro Lys Gly Ala Pro Asn Ser Ser Gln
 210 215 220

Trp Thr Asp Lys Glu Arg Gln Asn Gly Gly Gln Pro Pro Thr Thr Lys
 225 230 235 240

Asp Val Thr Lys Thr Phe Gly Val Ala Ala Arg Gly Gly Leu His Ile
 245 250 255

Thr Asp Lys Gly Leu Gln Ile Gly Glu Asp Glu Asn Asn Glu Asp Gly
 260 265 270

Glu Glu Glu Ile Tyr Ala Asp Lys Thr Phe Gln Pro Glu Pro Gln Val
 275 280 285

Gly Glu Glu Asn Trp Gln Asp Thr Asp Val Phe Tyr Gly Gly Arg Ala
 290 295 300

Leu Lys Lys Glu Thr Lys Met Lys Pro Cys Tyr Gly Ser Phe Ala Arg
 305 310 315 320

Pro Thr Asn Glu Lys Gly Gly Gln Ala Lys Phe Leu Asn Gly Glu Asn
 325 330 335

Gly Gln Pro Ser Lys Asp Gln Asp Ile Thr Leu Ala Phe Phe Asp Leu
 340 345 350

Lys Gln Asn Asp Thr Gly Thr Thr Gln Asn Gln Pro Asp Val Val Met
 355 360 365

Tyr Thr Glu Asn Val Tyr Leu Glu Thr Pro Asp Thr His Val Val Tyr
 370 375 380

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

Ser Met Pro Asn Arg Pro Asn Tyr Ile Gly Phe Arg Asp Asn Phe Val
 405 410 415

Gly Leu Met Tyr Tyr Asn Ser Thr Gly Asn Met Gly Val Leu Ala Gly
 420 425 430

Gln Ala Ser Gln Leu Asn Ala Val Val Asp Leu Gln Asp Arg Asn Thr

ES 2 696 551 T3

	435		440		445														
Glu	Leu	Ser	Tyr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Gly	Asp	Arg	Thr	Arg				
	450						455				460								
Tyr	Phe	Ser	Met	Trp	Asn	Ser	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val				
465					470					475					480				
Arg	Ile	Ile	Glu	Asn	His	Gly	Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys				
				485					490					495					
Phe	Pro	Leu	Asp	Gly	Ser	Gly	Ser	Asn	Thr	Ala	Tyr	Gln	Gly	Val	Lys				
			500					505					510						
Tyr	Glu	Asn	Gly	Ala	Gly	Asn	Gly	Ser	Trp	Lys	Val	Asp	Gly	Glu	Val				
		515					520					525							
Ala	Ser	Gln	Asn	Gln	Ile	Ala	Lys	Gly	Asn	Leu	Tyr	Ala	Met	Glu	Ile				
	530					535					540								
Asn	Leu	Gln	Ala	Asn	Leu	Trp	Lys	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asn	Val	Ala				
545					550					555					560				
Leu	Tyr	Leu	Pro	Asp	Ser	Tyr	Lys	Tyr	Thr	Pro	Ala	Asn	Ile	Thr	Leu				
				565					570					575					
Pro	Thr	Asn	Thr	Asn	Thr	Tyr	Glu	Tyr	Met	Asn	Gly	Arg	Val	Val	Ala				
		580						585					590						
Pro	Ser	Leu	Val	Asp	Ala	Tyr	Val	Asn	Ile	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Leu				
		595					600					605							
Asp	Pro	Met	Asp	Asn	Val	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly				
	610					615					620								
Leu	Arg	Tyr	Arg	Ser	Met	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe				
625					630					635					640				
His	Ile	Gln	Val	Pro	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Asn	Leu	Leu	Leu				
				645					650					655					
Leu	Pro	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn				
			660					665					670						
Met	Ile	Leu	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Val	Asp	Gly	Ala				
		675					680					685							

ES 2 696 551 T3

Ser Val Arg Phe Asp Ser Val Asn Leu Tyr Ala Thr Phe Phe Pro Met
690 695 700

Ala His Asn Thr Ala Ser Thr Leu Glu Ala Met Leu Arg Asn Asp Thr
705 710 715 720

Asn Asp Gln Ser Phe Asn Asp Tyr Leu Ser Ala Ala Asn Met Leu Tyr
725 730 735

Pro Ile Pro Ala Lys Ala Thr Asn Val Pro Ile Ser Ile Pro Ser Arg
740 745 750

Asn Trp Ala Ala Phe Arg Gly Trp Ser Phe Thr Arg Leu Lys Thr Lys
755 760 765

Glu Thr Pro Ser Leu Gly Ser Gly Phe Asp Pro Tyr Phe Val Tyr Ser
770 775 780

Gly Ser Ile Pro Tyr Leu Asp Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe
785 790 795 800

Lys Lys Val Ser Ile Met Phe Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn
805 810 815

Asp Arg Leu Leu Thr Pro Asn Glu Phe Glu Ile Lys Arg Ser Val Asp
820 825 830

Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe
835 840 845

Leu Val Gln Met Leu Ser His Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr
850 855 860

Val Pro Glu Gly Tyr Lys Asp Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe
865 870 875 880

Gln Pro Met Ser Arg Gln Val Val Asp Glu Ile Asn Tyr Lys Asp Tyr
885 890 895

Lys Ala Val Thr Leu Pro Phe Gln His Asn Asn Ser Gly Phe Thr Gly
900 905 910

Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg Gln Gly Gln Pro Tyr Pro Ala Asn Phe
915 920 925

Pro Tyr Pro Leu Ile Gly Gln Thr Ala Val Pro Ser Val Thr Gln Lys
930 935 940

ES 2 696 551 T3

Lys Phe Leu Cys Asp Arg Val Met Trp Arg Ile Pro Phe Ser Ser Asn
945 950 955 960

Phe Met Ser Met Gly Ala Leu Thr Asp Leu Gly Gln Asn Met Leu Tyr
965 970 975

Ala Asn Ser Ala His Ala Leu Asp Met Thr Phe Glu Val Asp Pro Met
980 985 990

Asp Glu Pro Thr Leu Leu Tyr Leu Leu Phe Glu Val Phe Asp Val Val
995 1000 1005

Arg Val His Gln Pro His Arg Gly Val Ile Glu Ala Val Tyr Leu
1010 1015 1020

Arg Thr Pro Phe Ser Ala Gly Asn Ala Thr Thr His His His His
1025 1030 1035

His His
1040

<210> 53
<211> 943
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Polipéptido sintético

<400> 53

Ala Thr Pro Ser Met Met Pro Gln Trp Ala Tyr Met His Ile Ala Gly
1 5 10 15

Gln Asp Ala Ser Glu Tyr Leu Ser Pro Gly Leu Val Gln Phe Ala Arg
20 25 30

Ala Thr Asp Thr Tyr Phe Ser Leu Gly Asn Lys Phe Arg Asn Pro Thr
35 40 45

Val Ala Pro Thr His Asp Val Thr Thr Asp Arg Ser Gln Arg Leu Thr
50 55 60

Leu Arg Phe Val Pro Val Asp Arg Glu Asp Thr Thr Tyr Ser Tyr Lys
65 70 75 80

Ala Arg Phe Thr Leu Ala Val Gly Asp Asn Arg Val Leu Asp Met Ala
85 90 95

ES 2 696 551 T3

Ser Thr Tyr Phe Asp Ile Arg Gly Val Leu Asp Arg Gly Pro Ser Phe
 100 105 110

Lys Pro Tyr Ser Gly Thr Ala Tyr Asn Ser Leu Ala Pro Lys Gly Ala
 115 120 125

Pro Asn Ser Ser Gln Trp Thr Asp Lys Glu Arg Gln Asn Gly Gly Gln
 130 135 140

Pro Pro Thr Thr Lys Asp Val Thr Lys Thr Phe Gly Val Ala Ala Arg
 145 150 155 160

Gly Gly Leu His Ile Thr Asp Lys Gly Leu Gln Ile Gly Glu Asp Glu
 165 170 175

Asn Asn Glu Asp Gly Glu Glu Glu Ile Tyr Ala Asp Lys Thr Phe Gln
 180 185 190

Pro Glu Pro Gln Val Gly Glu Glu Asn Trp Gln Asp Thr Asp Val Phe
 195 200 205

Tyr Gly Gly Arg Ala Leu Lys Lys Glu Thr Lys Met Lys Pro Cys Tyr
 210 215 220

Gly Ser Phe Ala Arg Pro Thr Asn Glu Lys Gly Gly Gln Ala Lys Phe
 225 230 235 240

Leu Asn Gly Glu Asn Gly Gln Pro Ser Lys Asp Gln Asp Ile Thr Leu
 245 250 255

Ala Phe Phe Asp Leu Lys Gln Asn Asp Thr Gly Thr Thr Gln Asn Gln
 260 265 270

Pro Asp Val Val Met Tyr Thr Glu Asn Val Tyr Leu Glu Thr Pro Asp
 275 280 285

Thr His Val Val Tyr Lys Pro Gly Lys Glu Asp Thr Ser Ser Ala Ala
 290 295 300

Asn Leu Thr Gln Gln Ser Met Pro Asn Arg Pro Asn Tyr Ile Gly Phe
 305 310 315 320

Arg Asp Asn Phe Val Gly Leu Met Tyr Tyr Asn Ser Thr Gly Asn Met
 325 330 335

Gly Val Leu Ala Gly Gln Ala Ser Gln Leu Asn Ala Val Val Asp Leu
 340 345 350

ES 2 696 551 T3

Gln Asp Arg Asn Thr Glu Leu Ser Tyr Gln Leu Leu Leu Asp Ser Leu
 355 360 365

Gly Asp Arg Thr Arg Tyr Phe Ser Met Trp Asn Ser Ala Val Asp Ser
 370 375 380

Tyr Asp Pro Asp Val Arg Ile Ile Glu Asn His Gly Val Glu Asp Glu
 385 390 395 400

Leu Pro Asn Tyr Cys Phe Pro Leu Asp Gly Ser Gly Ser Asn Thr Ala
 405 410 415

Tyr Gln Gly Val Lys Tyr Glu Asn Gly Ala Gly Asn Gly Ser Trp Lys
 420 425 430

Val Asp Gly Glu Val Ala Ser Gln Asn Gln Ile Ala Lys Gly Asn Leu
 435 440 445

Tyr Ala Met Glu Ile Asn Leu Gln Ala Asn Leu Trp Lys Ser Phe Leu
 450 455 460

Tyr Ser Asn Val Ala Leu Tyr Leu Pro Asp Ser Tyr Lys Tyr Thr Pro
 465 470 475 480

Ala Asn Ile Thr Leu Pro Thr Asn Thr Asn Thr Tyr Glu Tyr Met Asn
 485 490 495

Gly Arg Val Val Ala Pro Ser Leu Val Asp Ala Tyr Val Asn Ile Gly
 500 505 510

Ala Arg Trp Ser Leu Asp Pro Met Asp Asn Val Asn Pro Phe Asn His
 515 520 525

His Arg Asn Ala Gly Leu Arg Tyr Arg Ser Met Leu Leu Gly Asn Gly
 530 535 540

Arg Tyr Val Pro Phe His Ile Gln Val Pro Gln Lys Phe Phe Ala Ile
 545 550 555 560

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

Arg Lys Asp Val Asn Met Ile Leu Gln Ser Ser Leu Gly Asn Asp Leu
 580 585 590

Arg Val Asp Gly Ala Ser Val Arg Phe Asp Ser Val Asn Leu Tyr Ala
 595 600 605

ES 2 696 551 T3

Thr Phe Phe Pro Met Ala His Asn Thr Ala Ser Thr Leu Glu Ala Met
 610 615 620
 Leu Arg Asn Asp Thr Asn Asp Gln Ser Phe Asn Asp Tyr Leu Ser Ala
 625 630 635 640
 Ala Asn Met Leu Tyr Pro Ile Pro Ala Lys Ala Thr Asn Val Pro Ile
 645 650 655
 Ser Ile Pro Ser Arg Asn Trp Ala Ala Phe Arg Gly Trp Ser Phe Thr
 660 665 670
 Arg Leu Lys Thr Lys Glu Thr Pro Ser Leu Gly Ser Gly Phe Asp Pro
 675 680 685
 Tyr Phe Val Tyr Ser Gly Ser Ile Pro Tyr Leu Asp Gly Thr Phe Tyr
 690 695 700
 Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe Asp Ser Ser Val
 705 710 715 720
 Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Thr Pro Asn Glu Phe Glu Ile
 725 730 735
 Lys Arg Ser Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala Gln Cys Asn Met
 740 745 750
 Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ser His Tyr Asn Ile Gly
 755 760 765
 Tyr Gln Gly Phe Tyr Val Pro Glu Gly Tyr Lys Asp Arg Met Tyr Ser
 770 775 780
 Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val Val Asp Glu Ile
 785 790 795 800
 Asn Tyr Lys Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Phe Gln His Asn Asn
 805 810 815
 Ser Gly Phe Thr Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg Gln Gly Gln Pro
 820 825 830
 Tyr Pro Ala Asn Phe Pro Tyr Pro Leu Ile Gly Gln Thr Ala Val Pro
 835 840 845
 Ser Val Thr Gln Lys Lys Phe Leu Cys Asp Arg Val Met Trp Arg Ile

ES 2 696 551 T3

850		855		860															
Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly				
865					870					875					880				
Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His	Ala	Leu	Asp	Met	Thr	Phe				
				885					890						895				
Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu	Pro	Thr	Leu	Leu	Tyr	Leu	Leu	Phe	Glu				
			900					905						910					
Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val	His	Gln	Pro	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu				
		915					920					925							
Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr					
	930					935					940								

<210> 54
 <211> 251
 <212> **PRT**
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Polipéptido sintético

10

<400> **54**

ES 2 696 551 T3

Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
 1 5 10 15

Ala Ser Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Asp Glu Thr Ala Gln
 20 25 30

Ile Pro Ala Glu Ala Val Ile Gly Tyr Leu Asp Leu Glu Gly Asp Phe
 35 40 45

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

Phe Ile Asn Thr Thr Ile Ala Ser Ile Ala Ala Lys Glu Glu Gly Val
 65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Arg Glu Ala Glu Ala Thr Ser Arg Thr Tyr Phe Gly
 85 90 95

Ile Pro Cys Arg His Gln Ile His Lys Thr Ile Asn Phe Thr Phe Glu
 100 105 110

Glu Gln Val Asn Phe Thr Cys Lys Pro His Lys Lys Tyr Val Thr Trp
 115 120 125

ES 2 696 551 T3

Phe Tyr Gln Asn Thr Thr Thr Val Ala Pro Glu Thr Asn Leu Leu Ser
 130 135 140

Asp Thr Asn Thr Pro Lys Thr Gly Gly Glu Leu Trp Val Pro Ser Leu
 145 150 155 160

Thr Glu Gly Gly Ser His Ile Glu Ala Ala Pro Lys Pro Glu Val Tyr
 165 170 175

Thr Gln Val Asn Val Thr Arg Gly Gly Asn Ala Thr Leu Asp Gly Pro
 180 185 190

Phe Asn Asn Asn Thr Trp Thr Arg Tyr His Asp Asp Gly Arg Lys Asn
 195 200 205

Gly Trp Met Phe Asn Ile Ser Ser Gly Lys Tyr Lys Val Gln Ser Tyr
 210 215 220

Thr Asn Ser Tyr Asn Gly Leu Asp Gly Tyr Glu Lys Leu Glu Val Lys
 225 230 235 240

Met Phe Asn Leu Thr His His His His His His
 245 250

<210> 55
 <211> 154
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Polipéptido sintético

<400> 55

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

Asn Phe Thr Phe Glu Glu Gln Val Asn Phe Thr Cys Lys Pro His Lys
 20 25 30

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

Thr Asn Leu Leu Ser Asp Thr Asn Thr Pro Lys Thr Gly Gly Glu Leu
 50 55 60

Trp Val Pro Ser Leu Thr Glu Gly Gly Ser His Ile Glu Ala Ala Pro
 65 70 75 80

5

10

ES 2 696 551 T3

Lys Pro Glu Val Tyr Thr Gln Val Asn Val Thr Arg Gly Gly Asn Ala
 85 90 95

Thr Leu Asp Gly Pro Phe Asn Asn Asn Thr Trp Thr Arg Tyr His Asp
 100 105 110

Asp Gly Arg Lys Asn Gly Trp Met Phe Asn Ile Ser Ser Gly Lys Tyr
 115 120 125

Lys Val Gln Ser Tyr Thr Asn Ser Tyr Asn Gly Leu Asp Gly Tyr Glu
 130 135 140

Lys Leu Glu Val Lys Met Phe Asn Leu Thr
 145 150

5 <210> 56
 <211> 89
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*
 <400> 56

Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
 1 5 10 15

Ala Ser Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Asp Glu Thr Ala Gln
 20 25 30

Ile Pro Ala Glu Ala Val Ile Gly Tyr Leu Asp Leu Glu Gly Asp Phe
 35 40 45

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

Phe Ile Asn Thr Thr Ile Ala Ser Ile Ala Ala Lys Glu Glu Gly Val
 65 70 75 80

10 Ser Leu Asp Lys Arg Glu Ala Glu Ala
 85

15 <210> 57
 <211> 89
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*
 <400> 57

Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
 1 5 10 15

20

ES 2 696 551 T3

Ala Leu Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Asp Glu Thr Ala Gln
20 25 30

Ile Pro Ala Glu Ala Val Ile Gly Tyr Leu Asp Leu Glu Gly Asp Phe
35 40 45

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

Phe Ile Asn Thr Thr Ile Ala Ser Ile Ala Ala Lys Glu Glu Gly Val
65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Arg Glu Ala Glu Ala
85

<210> 58
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 58

Met Ala Asp Glu Ala Pro
1 5

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunoterapéutica que comprende:
 - 5 a) un vehículo de levadura; y
 - b) una proteína de fusión que comprende un antígeno de adenovirus-36 (Ad-36) que comprende al menos un dominio inmunogénico de CR1 α y al menos un dominio inmunogénico de CR1 γ .
- 10 2. La composición inmunoterapéutica de la reivindicación 1, en donde el antígeno de Ad-36 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 55 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.
- 15 3. La composición inmunoterapéutica de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el antígeno de Ad-36 comprende una secuencia de aminoácidos que al menos 80 % idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.
- 20 4. La composición inmunoterapéutica de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el antígeno de Ad-36 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.
- 25 5. La composición inmunoterapéutica de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el antígeno de Ad-36 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95 % idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.
- 30 6. La composición inmunoterapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el antígeno de Ad-36 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.
- 35 7. La composición inmunoterapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el antígeno de Ad-36 comprende secuencias de Ad-36, en donde las secuencias de Ad-36 consisten en: las posiciones 19-60 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 83-116 de la SEQ ID NO: 29 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; las posiciones 18-60 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36; o las posiciones 123-157 de la SEQ ID NO: 26 o una secuencia correspondiente de otra cepa de Ad-36.
- 40 8. La composición inmunoterapéutica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
 - el antígeno de Ad-36 se expresa por el vehículo de levadura;
 - el vehículo de levadura es una levadura completa, termoinactivada; y/o
 - el vehículo de levadura es de *Saccharomyces cerevisiae*.
- 45 9. Una proteína de fusión que comprende al menos un dominio inmunogénico de CR1 α de Ad-36 y al menos un dominio inmunogénico de CR1 γ de Ad-36.
- 50 10. La proteína de fusión de la reivindicación 9, en donde la proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de: la SEQ ID NO: 55, la SEQ ID NO: 54 o la SEQ ID NO: 47.
- 55 11. Una molécula de ácido nucleico recombinante que codifica la proteína de fusión de la reivindicación 9 o la reivindicación 10.
- 60 12. Una célula aislada transfectada con la molécula de ácido nucleico recombinante de la reivindicación 11.
- 65 13. Una composición que comprende la proteína de fusión de la reivindicación 9 o la reivindicación 10, la molécula de ácido nucleico recombinante de la reivindicación 11 o la célula aislada de la reivindicación 12.
14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o 13, para su uso para tratar la infección por Ad-36.
15. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o 13, para su uso para prevenir la infección por Ad-36.
16. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o 13, para su uso para reducir la tasa de aumento de peso en un individuo infectado con Ad-36.
17. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o 13, para su uso para provocar una respuesta inmunitaria de Ad-36 en un individuo.

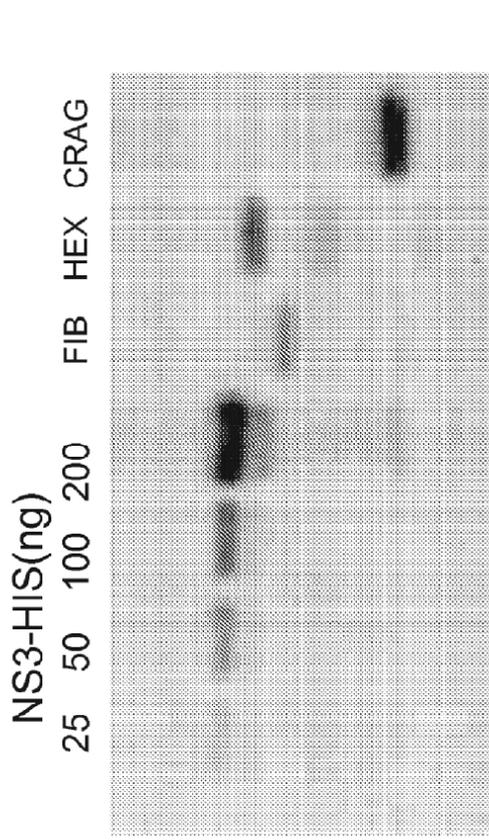


Fig. 1

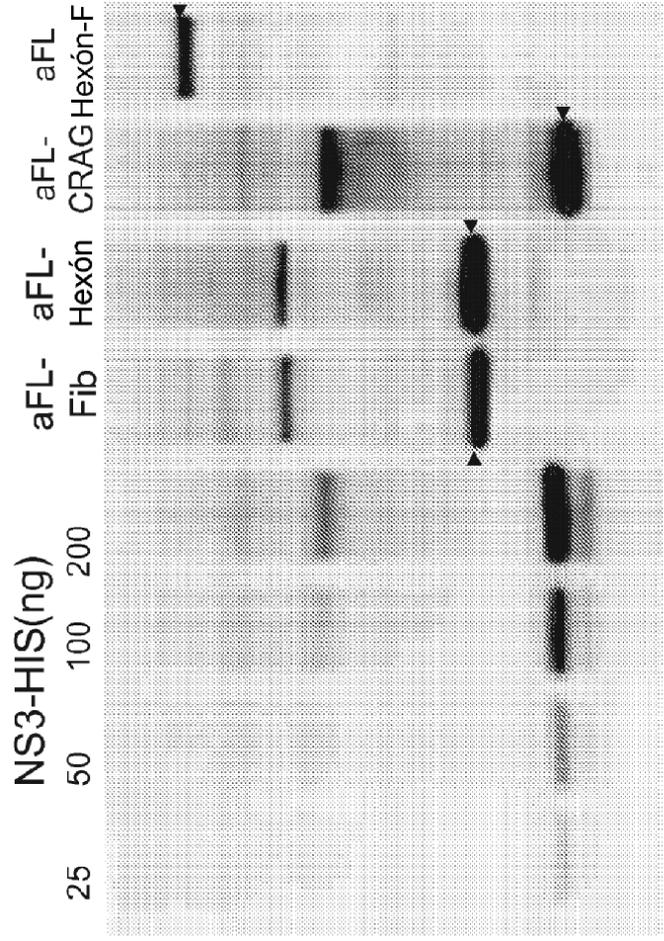


Fig. 2

Fig. 3

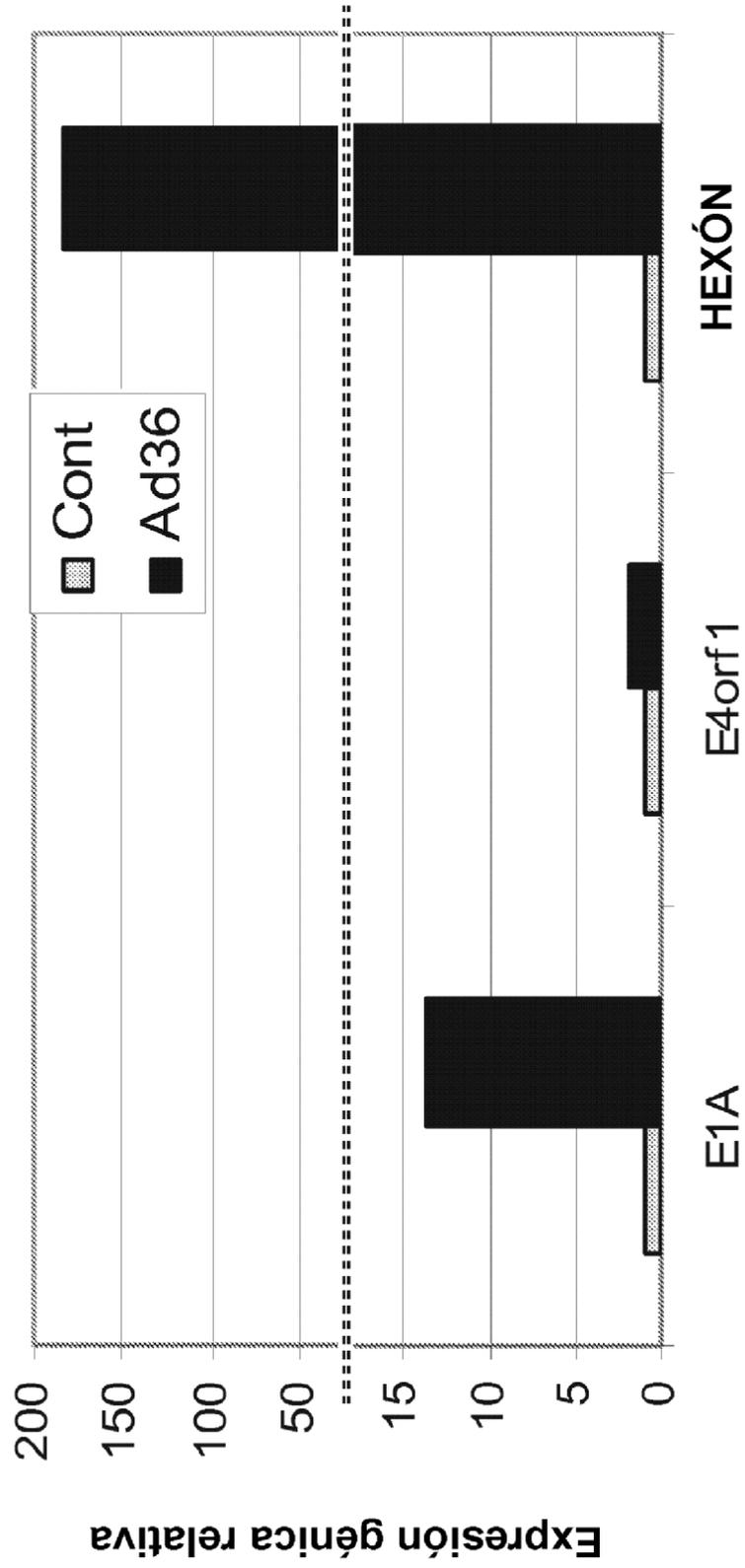


Fig. 4

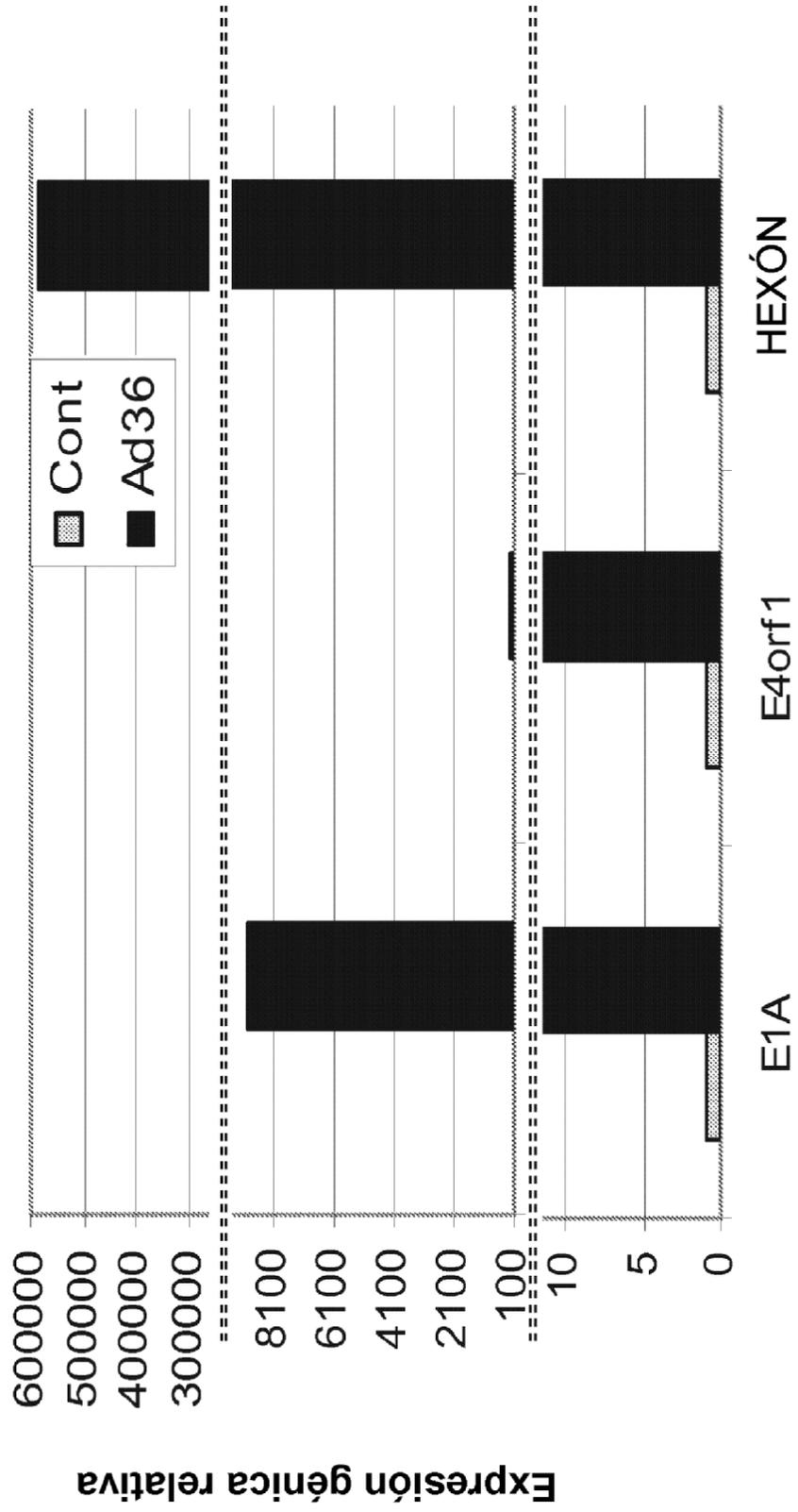
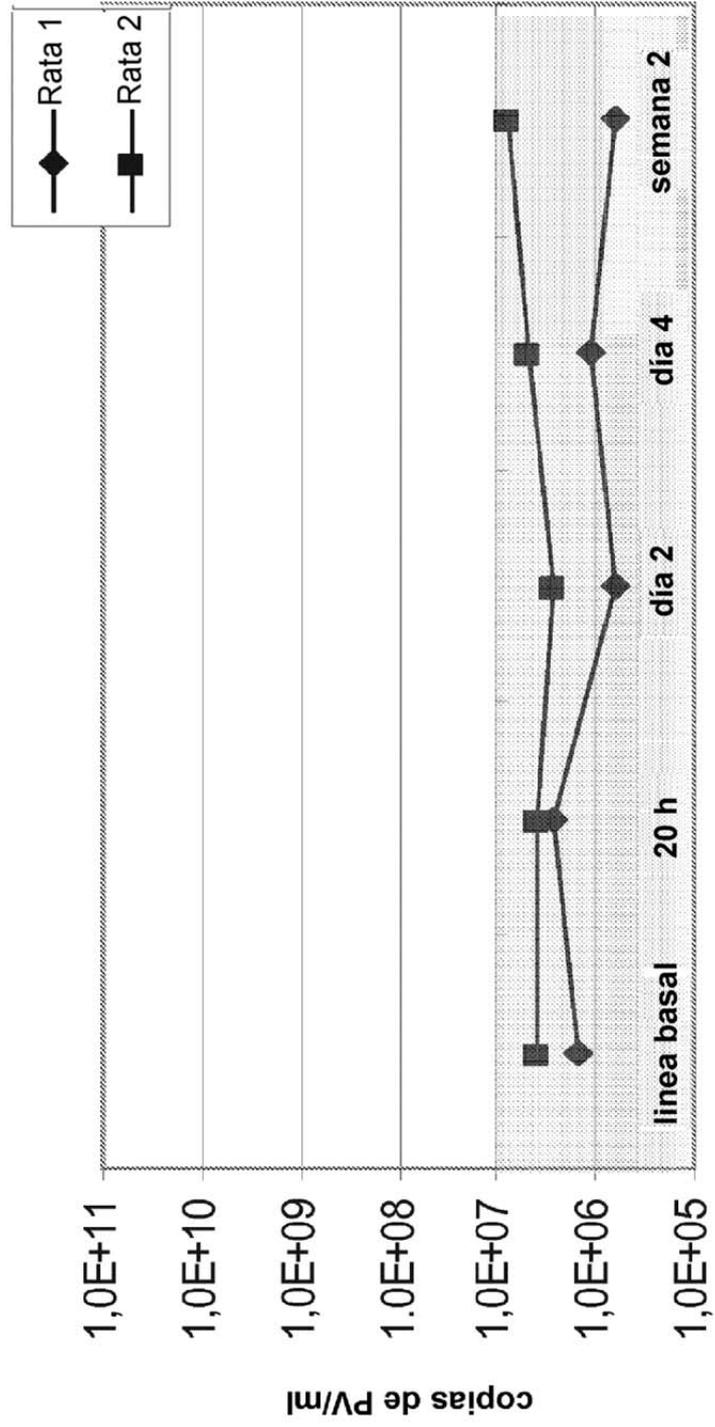
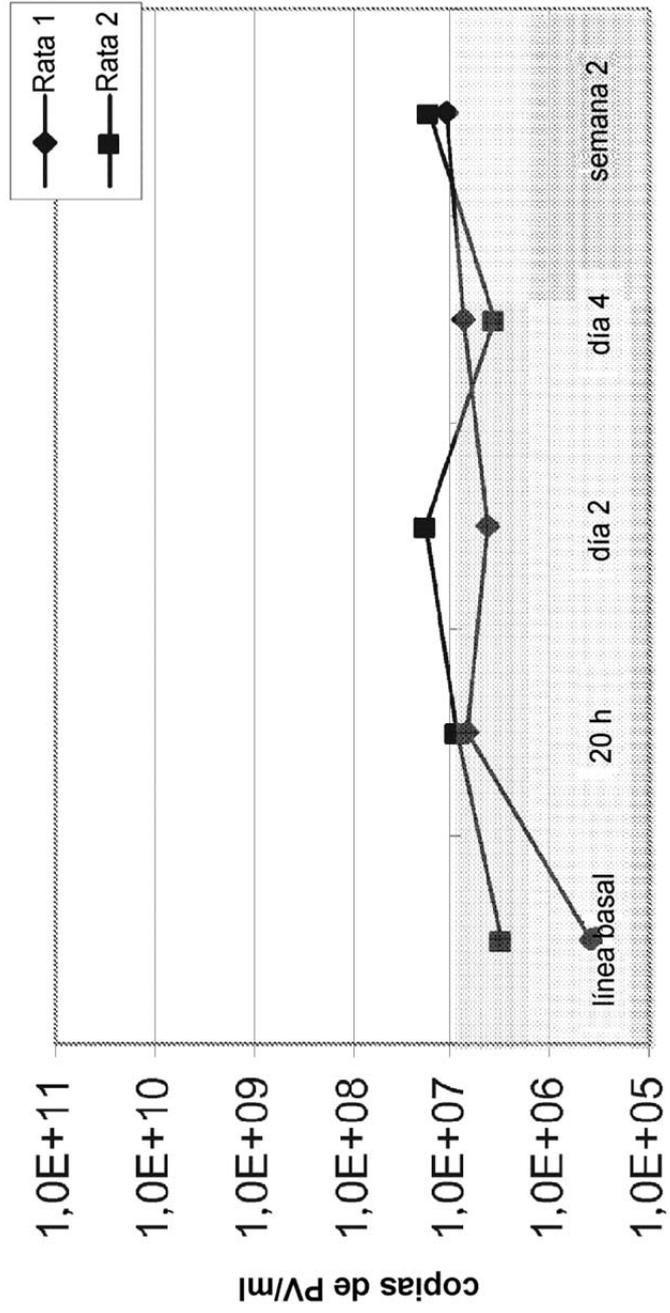


Fig. 5



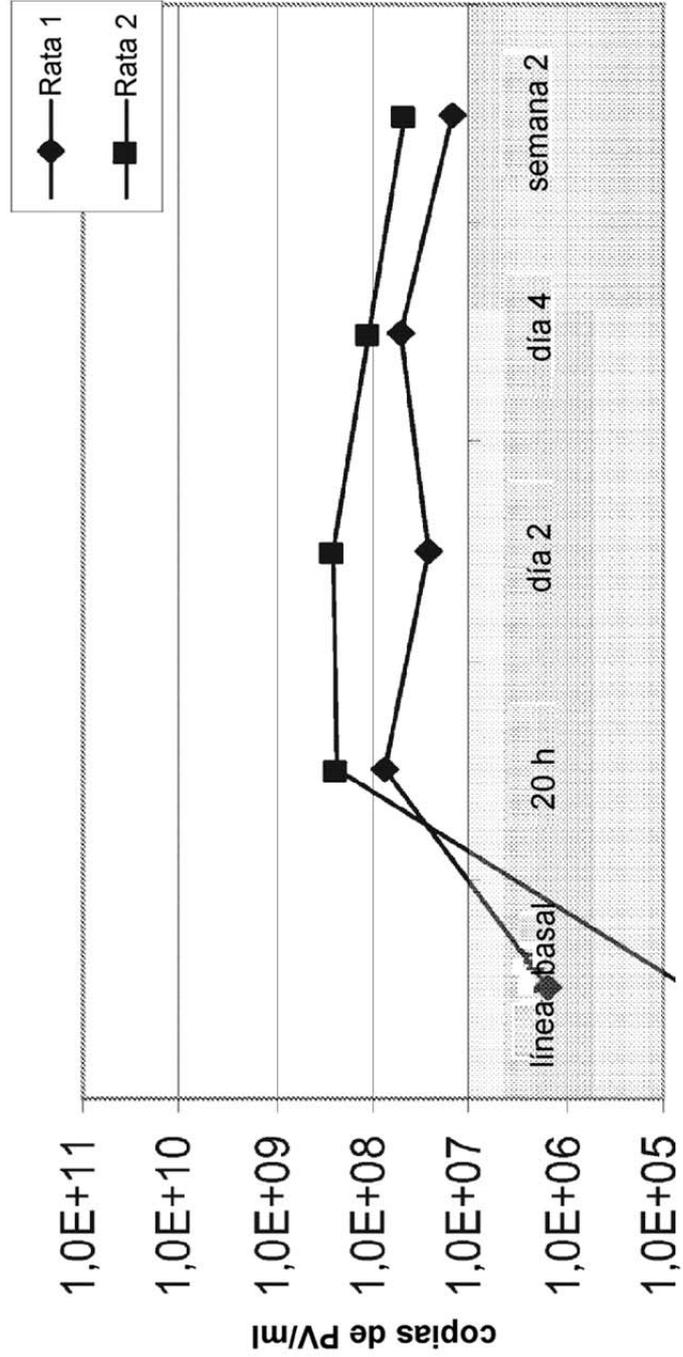
Tiempo - Control Simulado

Fig. 6



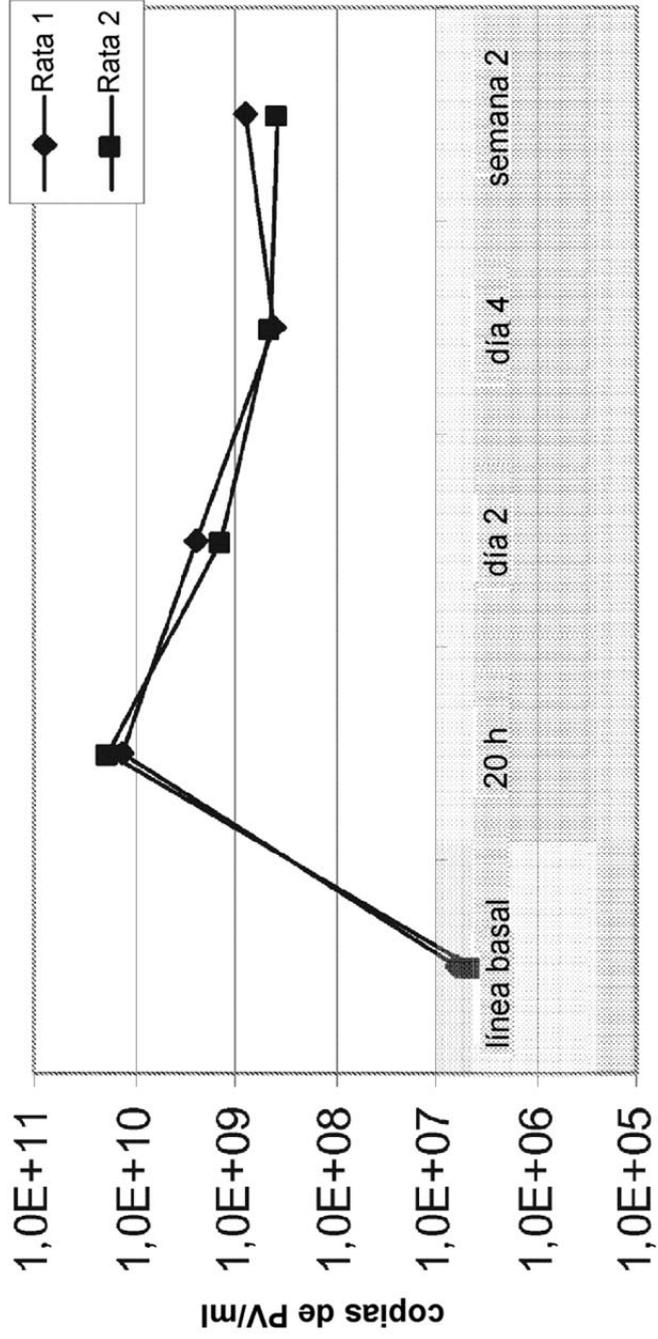
Tiempo Después de la Inyección de Ad36 - 10⁷UFP de Ad36

Fig. 7



Tiempo Después de la Inyección de Ad36 - 10⁸ UFP de Ad36

Fig. 8



Tiempo Después de la Inyección de Ad36 - 10 UFP^o de Ad36

Fig. 9

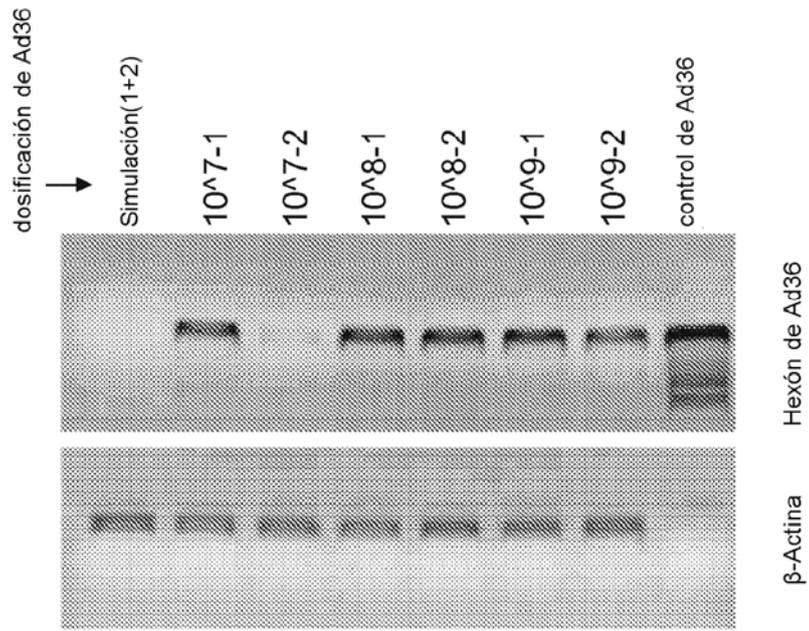


Fig. 11

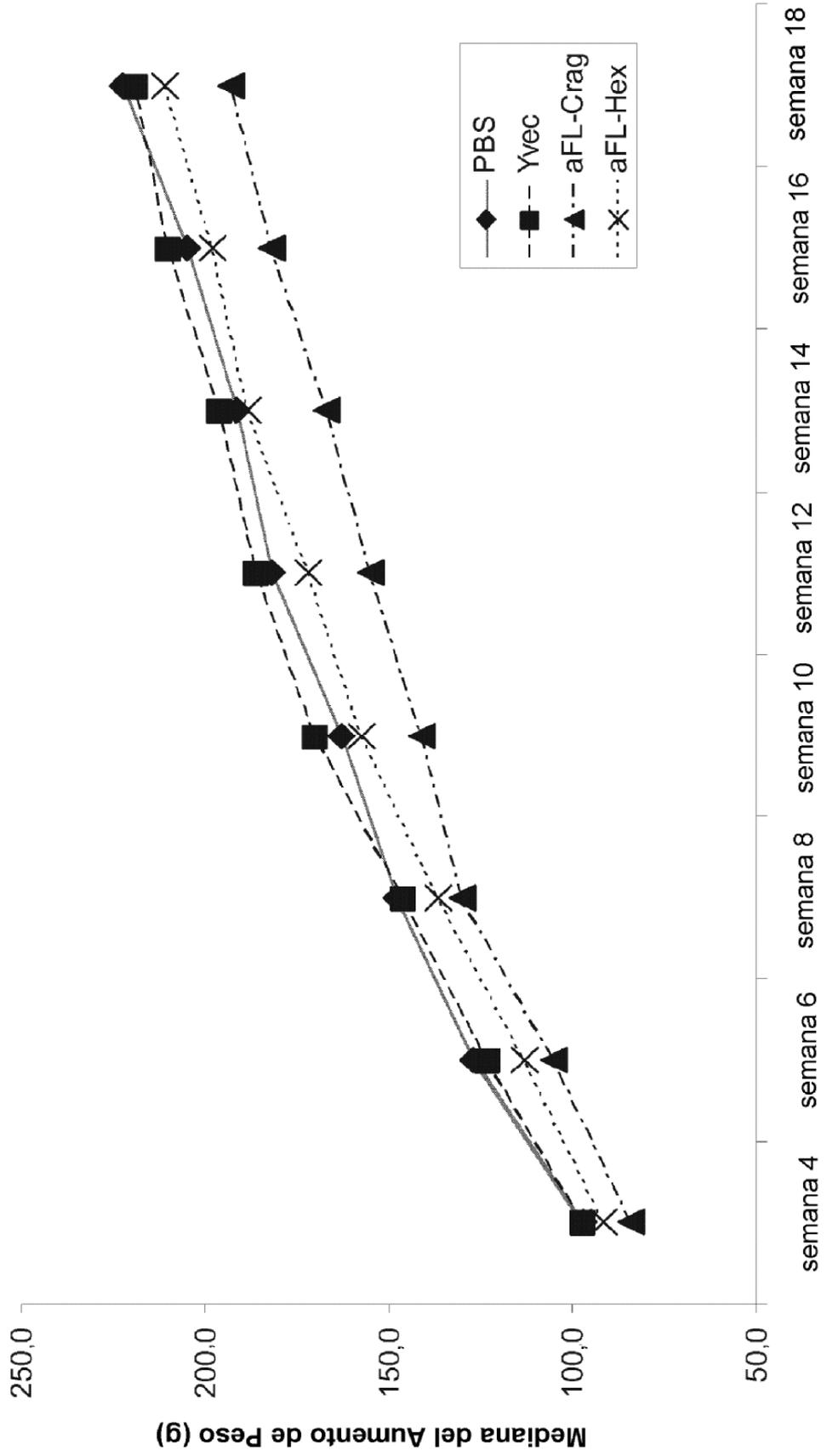


Fig. 12

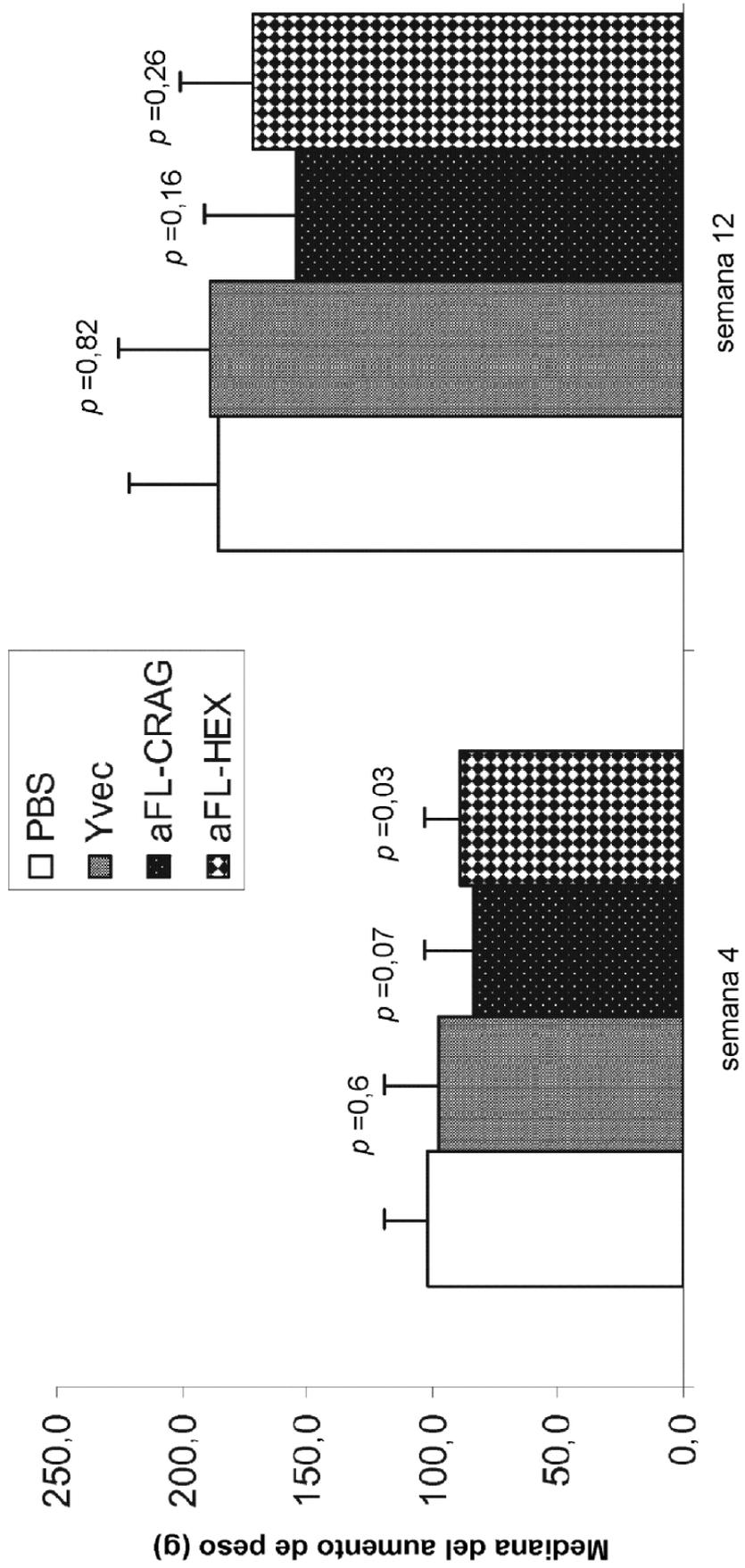


Fig. 13

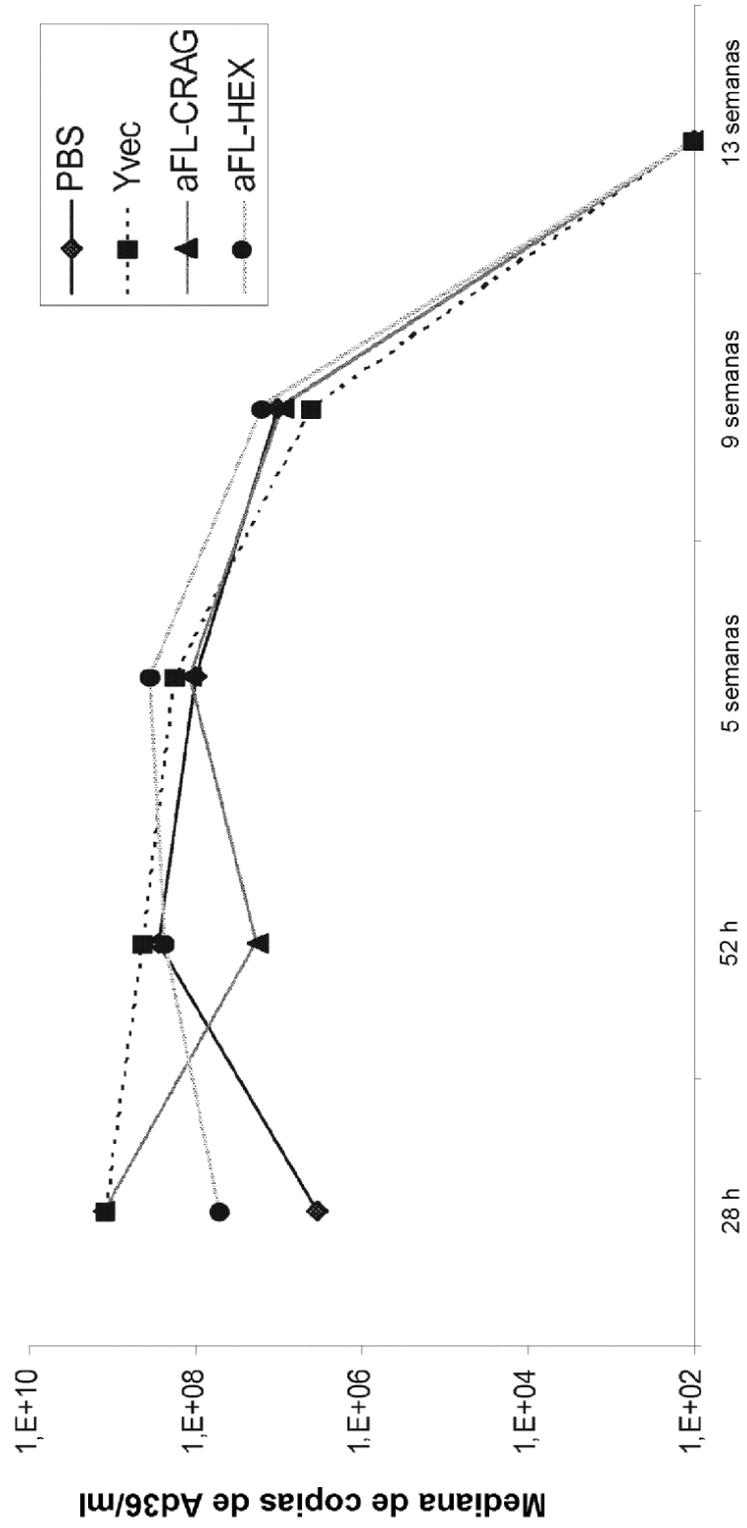


Fig. 14

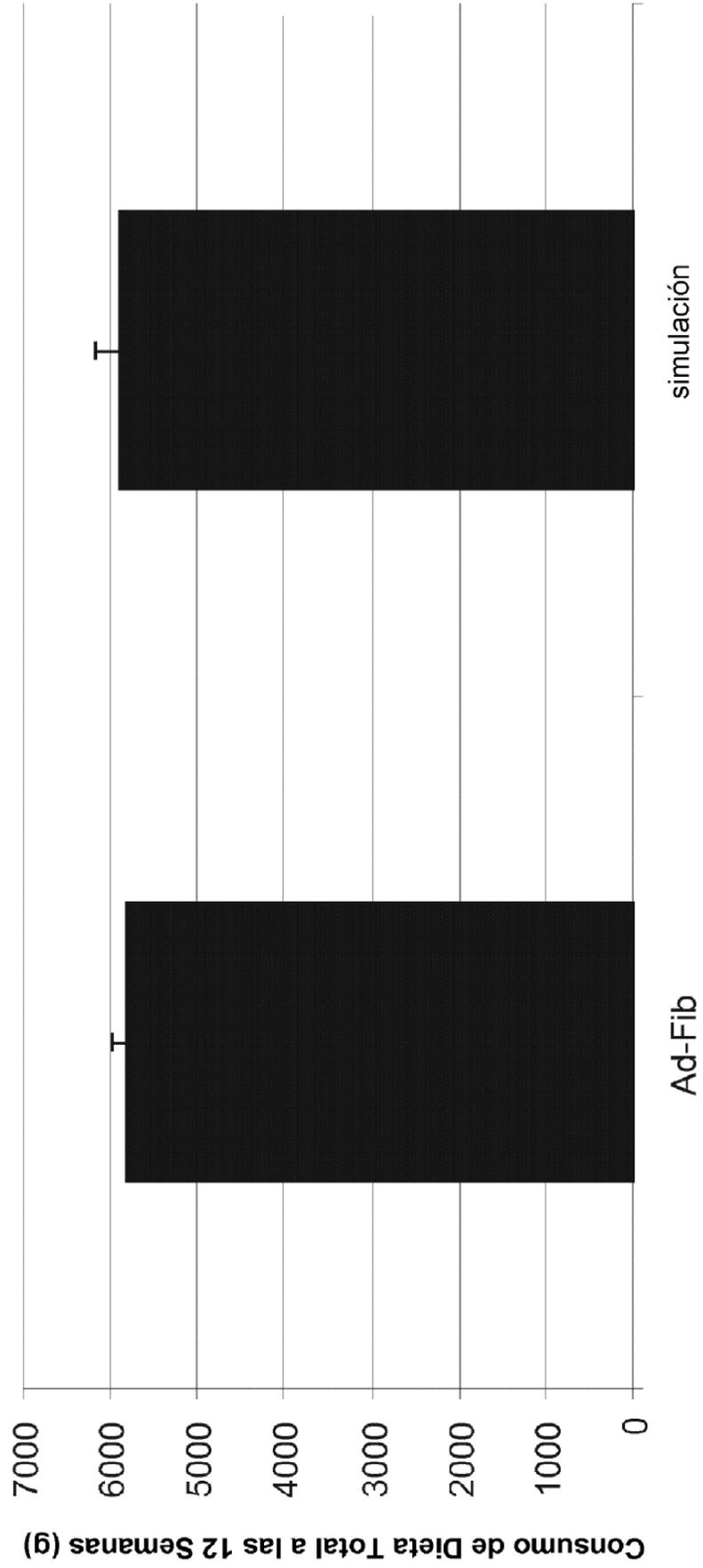


Fig. 15

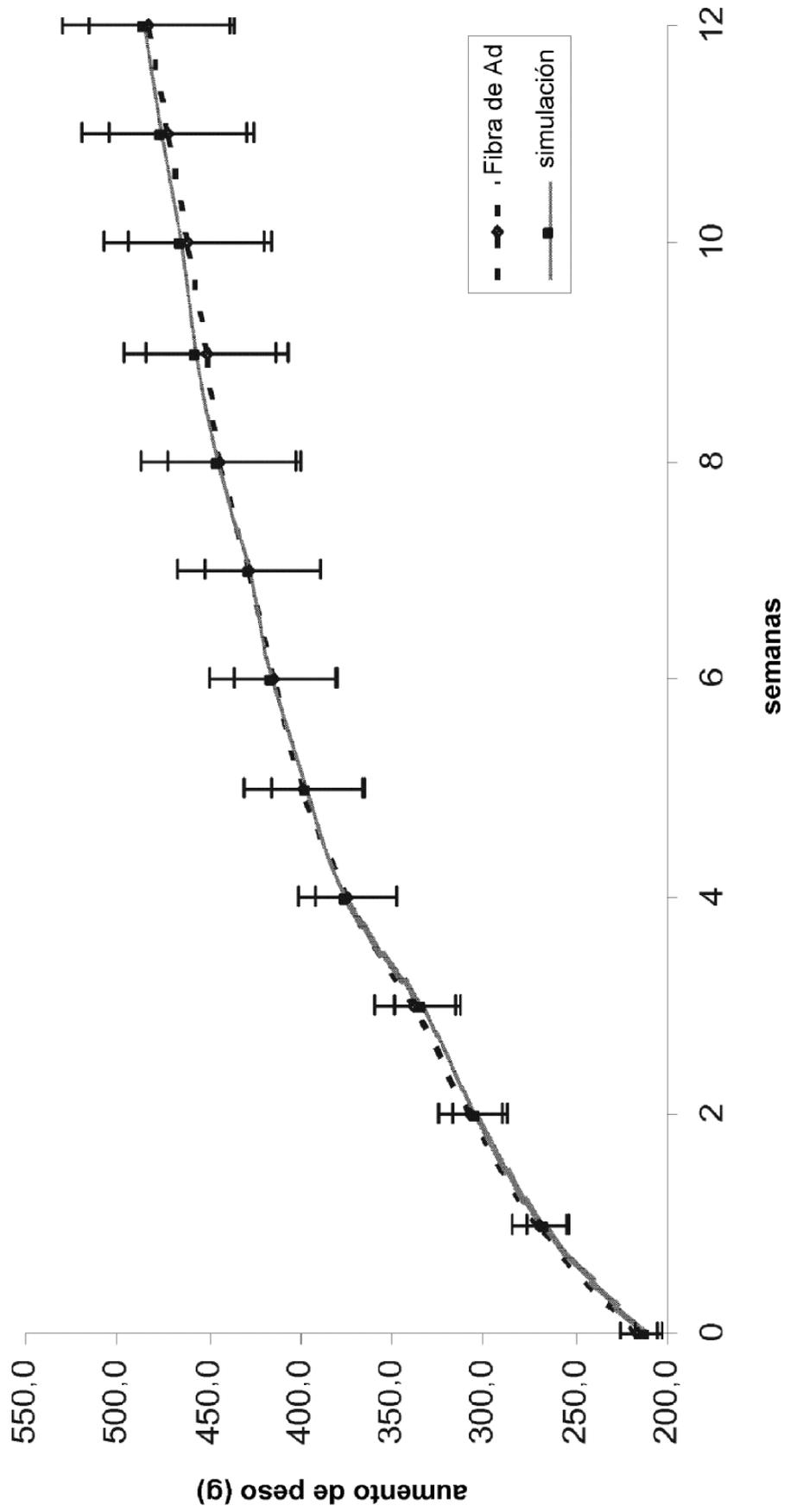


Fig. 16

