

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 720 140**

(51) Int. Cl.:

**A61K 39/36** (2006.01)  
**C07K 14/02** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.06.2012 PCT/EP2012/061040**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **13.12.2012 WO12168487**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2012 E 12729450 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2019 EP 2717910**

(54) Título: **Proteínas de fusión transportadoras de péptido como vacunas para alergias**

(30) Prioridad:

**09.06.2011 EP 11169365**

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

**18.07.2019**

(73) Titular/es:

**BIOMAY AG (100.0%)  
Lazarettgasse 19 Top 1  
1090 Wien, AT**

(72) Inventor/es:

**NIESPODZIANA, KATARZYNA;  
FOCKE-TEJKL, MARGARETE;  
VRTALA, SUSANNE;  
BANERJEE, SRINITA;  
CHEN, KUAN-WEI;  
WEBER, MILENA;  
VALENTA, RUDOLF y  
MARTH, KATHARINA**

(74) Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

### Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

**ES 2 720 140 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

Proteínas de fusión transportadoras de péptido como vacunas para alergias

- 5 La presente invención se refiere a la fusión de fragmentos de proteína de alérgeno a una proteína vírica que son útiles para el tratamiento de alergias.

La alergia de tipo I es una enfermedad por hipersensibilidad mediada por IgE que afecta a prácticamente un 25 % de la población. Se basa en el reconocimiento de antígenos inofensivos transportados por el aire, de insectos, de veneno, 10 alérgenos alimentarios y alérgenos de contacto procedentes de fuentes de antígeno de por sí inofensivas, tales como polen, insectos, moho y proteínas de animales mediante inmunoglobulinas E específicas. El sobrecruzamiento de los anticuerpos IgE unidos a células efectoras provoca una liberación de mediadores inflamatorios (por ejemplo, histamina, leucotrienos) y por lo tanto, a los síntomas inmediatos de la alergia (por ejemplo, rinoconjuntivitis, asma, dermatitis, 15 anafilaxia). La activación de linfocitos T mediante mecanismos dependientes de IgE así como independientes de IgE contribuye a la inflamación alérgica.

Probablemente, la única forma de tratamiento de las causas de la alergia es la inmunoterapia con antígenos específicos, que se basa en la administración repetida de cantidades crecientes de extractos de alérgeno de la mayoría 20 de las fuentes. Numerosos estudios clínicos han documentado la eficacia clínica de la inyección de inmunoterapia y hay pruebas de varios mecanismos inmunológicos que respaldan este tratamiento. Debido a la dificultad para preparar extractos de alérgeno de alta calidad para ciertas fuentes de alérgeno y al hecho de que la administración de alérgenos a los pacientes puede provocar graves efectos secundarios, solo puede recomendarse la inmunoterapia con alérgenos específicos para ciertos grupos de pacientes y manifestaciones de la enfermedad. Es especialmente complicado tratar 25 a pacientes sensibles a varias fuentes de alérgenos diferentes y a pacientes que padecen manifestaciones graves de la enfermedad, tales como asma alérgica. El asma alergia es una de las manifestaciones más vigorosas de la alergia, debido a que afecta gravemente a la calidad de vida diaria, provoca una elevada tasa de ingresos hospitalarios y puede manifestarse en formas graves, potencialmente letales que requieren cuidados intensivos del paciente.

30 Los extractos de alérgenos preparados de fuentes de alérgenos naturales se encuentran en bruto y es imposible influenciar la calidad y las cantidades de los alérgenos individuales en dichas preparaciones mediante medios técnicos. También contienen numerosos componentes no alergénicos no definidos y varios estudios recientes han destacado la baja calidad de dichos extractos y documentan su gran heterogeneidad.

35 En la última década, se han hecho grandes progresos en el campo de la caracterización molecular de alérgenos usando tecnología de ADN recombinante. Un gran número de los alérgenos causantes de enfermedades más importantes se han caracterizado hasta el nivel molecular y se han producido alérgenos recombinantes que imitan la complejidad epítópica de los extractos de alérgeno naturales. Por otra parte, varios grupos de investigación han usado el conocimiento relativo a las estructuras de alérgeno para desarrollar nuevas vacunas contra la alergia definidas. Se ha empleado ingeniería genética, química de péptidos sintéticos y conjugación de alérgenos con secuencias de ADN 40 inmunoestimuladoras para reducir la actividad alergénica de las nuevas vacunas y por lo tanto, la frecuencia de efectos secundarios inducidos por la terapia. Los primeros estudios clínicos prometedores se llevaron a cabo con dichos derivados de alérgenos. De forma interesante, se dio el caso de que aunque la reactividad con IgE de los alérgenos recombinantes modificados por ingeniería genética y los péptidos que contienen epítopos de linfocitos T sintéticos procedentes de alérgenos pueden reducirse significativamente o incluso suprimirse, estos derivados siguen pudiendo 45 inducir efectos secundarios sistémicos que aparecen varias horas después de la inyección. Por ejemplo, se ha comunicado que los péptidos de epítopo de linfocitos T del alérgeno principal de gato, Fel d 1, indujeron asma e hiperreactividad bronquial varias horas después de su inyección intracutánea y hay sólidos indicios de que este efecto está mediado por linfocitos T y restringido al MHC.

50 Estos resultados indican que la eliminación de la reactividad de IgE reduce los efectos secundarios mediados por IgE ya que no se registraron reacciones inmediatas durante el transcurso de estos estudios de inmunoterapia. Sin embargo, los epítopos de linfocitos T específicos de alérgeno que se han preservado en los derivados de alérgeno recombinantes, así como en las mezclas de péptidos, son responsables de los efectos secundarios tardíos (por ejemplo, dermatitis muy problemática o atópica, manifestación alérgica en la piel crónica mediada por linfocitos T). Los 55 efectos secundarios provocados en el caso de los derivados de alérgeno recombinantes fueron relativamente leves y en el caso de las vacunas de péptido de linfocitos T, se pueden superar mediante una dosificación adecuada. Por lo tanto, estas dos nuevas estrategias parecen muy prometedoras para la inmunoterapia de la rinoconjuntivitis alérgica, pero pueden tener limitaciones cuando se aborda el tratamiento de las formas graves del asma alérgica, donde puede ser problemática la inducción de efectos secundarios tardíos en el pulmón.

60 Para administrar y por consiguiente provocar una respuesta inmunitaria eficaz contra péptidos, polipéptidos y proteínas, pueden usarse regularmente adyuvantes y/o transportadores. por ejemplo, el adyuvante completo de Freund (CFA) es uno de los adyuvantes más potentes disponibles. Existe la necesidad de composiciones de vacuna capaces de inducir fuertes respuestas inmunitarias contra péptidos y polipéptidos procedentes de alérgenos y obviamente, de otros antígenos con o sin el uso de adyuvante completo de Freund. Además, aunque se ha usado con éxito BSA como portador en modelos animales, puede no ser adecuado para su uso en composiciones de vacuna

- para seres humanos debido al riesgo de reacciones adversas, tal como el riesgo de transmisión de enfermedad por priones (variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob). Otro reto para el desarrollo de una vacuna eficaz contra alérgenos es la necesidad de una respuesta inmunitaria capaz de reducir los alérgenos rápidamente en un individuo o animal. Por lo tanto, se necesitan elevadas concentraciones de anticuerpos específicos para alérgenos, que sean principalmente del subtipo IgG. En las superficies mucosas, también son importantes los anticuerpos IgA.
- La toxina colérica, una proteína transportadora conocida en la técnica, también se usa regularmente como adyuvante. Sin embargo, la toxina colérica aumenta los niveles totales y específicos de anticuerpo IgE y provoca reacciones inflamatorias asociadas con IgE.
- Debido a los efectos secundarios provocados por la mayoría de proteínas transportadoras usadas para vacunación, existe la necesidad de sistemas transportadores que sean capaces de estimular las respuestas inmunitarias contra alérgenos u otros antígenos, sin usar adyuvantes tóxicos, sin usar proteínas transportadoras poco toleradas y, en ciertas situaciones, sin estimular respuestas inmunitarias potencialmente patológicas. Pueden usarse nuevos sistemas transportadores que cumplan estas especificaciones para la formación de nuevos conjugados y composiciones adecuadas para el tratamiento o la prevención de enfermedades, tales como enfermedades alérgicas.
- En Bohle B. et al. (J. Immunol. 172 (11) (2004): 6642-6648) se describe una proteína de fusión recombinante que comprende un resto de proteína de capa S y un resto de Bet v 1. Esta molécula comprende el alérgeno natural Bet v 1 que incluye epítopos para linfocitos T específicos de Bet v 1.
- El documento WO 2004/004761 se refiere a partículas víricas que se fusionan a un inmunógeno y que pueden usarse para inmunización.
- En el documento WO 2004/003143 se divulga el uso de proteínas de fusión que comprenden una partícula de tipo vírico y una molécula alergénica como inmunógeno para vacunación.
- En el documento WO 2007/140505 y en Edlmayr et al. (J. Immunol. 182 (10) (2009) 6298-6306) se describe el uso de proteínas de fusión que comprenden diversas moléculas de transportador fusionadas a péptidos procedentes de alérgeno para inducir anticuerpos IgG específicos para alérgenos, pero estas construcciones no muestran un efecto inmunomodulador que pueda considerarse ventajoso para pacientes alérgicos, tales como la inducción de IL-10 o de inmunidad de Th1. La Fig. 4 de Edlmayr et al muestra que los péptidos fusionados a KLH inducen la citocina de Th2, IL-5 y las proteínas de fusión de VP1 no inducen IL-10 o IFN-gamma.
- En Niespodziana et al (J. Allergy Clin. Immunol. 127 (6) (2011) 1562-1570) se describe el uso de proteínas de fusión, comprendiendo cada una PreS procedente de hepatitis B y dos péptidos procedentes del alérgeno principal de gato, Fel d 1, para inducir anticuerpos IgG específicos de alérgeno. Sin embargo, no se ha descrito un régimen adecuado para la vacunación de seres humanos y los péptidos contenían epítopos de linfocitos T específicos de alérgenos.
- Un objeto de la presente invención es proporcionar medicamentos y portadores que superen los inconvenientes anteriormente mencionados y permitan una vacunación con alérgeno con efectos secundarios reducidos.
- Por lo tanto, la presente invención se refiere a un polipéptido capaz de generar respuestas de IgG contra al menos un alérgeno de tipo silvestre, en donde la IgG generada de este modo puede bloquear la unión de IgG a dicho alérgeno de tipo silvestre y capaz de inducir la producción de IL-10 e IFN-gamma; comprendiendo dicho polipéptido al menos 4 y hasta 6 fragmentos peptídicos hipoalergénicos que consisten en de 20 a 50 restos de aminoácido consecutivos de al menos un alérgeno de tipo silvestre, fusionado al extremo N y C-terminal de una proteína transportadora, la proteína PreS de hepatitis B (SEQ ID NO: 21), en donde dicho fragmento es un polipéptido de superficie de un virus de la familia hepadnaviridae o al menos un fragmento de dicho polipéptido de superficie, en donde los al menos cuatro fragmentos de péptido muestran una capacidad de unión a IgE nula o reducida en comparación con el alérgeno de tipo silvestre, son péptidos de unión a linfocitos B y muestran una reactividad con linfocitos B nula o sustancialmente nula, en donde la proteína PreS de hepatitis B comprende al menos dos fragmentos peptídicos procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre fusionado a su extremo N-terminal y al menos dos fragmentos peptídicos procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre fusionado a su extremo C-terminal.
- A fin de provocar una respuesta inmunitaria potenciada contra una molécula, en particular contra una molécula alergénica o hipoalergénica de acuerdo con la presente invención, se fusionan (por ingeniería genética) al menos cuatro fragmentos peptídicos procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre a un polipéptido PreS de hepatitis B. Se ha observado, sorprendentemente, que a diferencia de las proteínas transportadoras empleadas de manera convencional y regular, como KLH (hemocianina de lapa californiana), un polipéptido de la superficie de un virus de la familia hepadnaviridae, un polipéptido PreS de la hepatitis B, produce una formación potenciada de anticuerpos dirigidos a aquellos péptidos que están unidos a los mismos.
- Se ha observado que los anticuerpos IgG específicos para alérgenos inducidos mediante la inmunización con más de tres fragmentos de péptido procedentes de alérgeno adecuadamente seleccionados, fusionados al polipéptido PreS de la hepatitis B, están mejor enfocados hacia los epítopos de IgE del alérgeno, mientras que la inmunización con el

alérgeno de tipo silvestre produce IgG que están dirigidas a todas las partes del alérgeno, incluyendo aquellas que no son reactivas con IgE. En un experimento normalizado para títulos de IgG, esto produce una mejor capacidad de bloqueo de la IgG inducida por PreS/péptido en comparación con la inducida por el alérgeno de tipo silvestre (Fig. 12).

- 5 También sorprendentemente, se observó que en cultivos de PBMC humanas, las proteínas de fusión de fragmentos de péptido procedentes de alérgeno con el polipéptido PreS de la hepatitis B indujeron fuertemente las citocinas IL-10 e IFN-gamma, que se han atribuido como indicadores positivos para una inmunoterapia exitosa contra alergias. Por el contrario, la inducción de IL-10 e IFN-gamma fue significativamente menor con alérgeno de tipo silvestre, fragmentos de péptido procedentes de alérgeno solos o solo PreS (Fig. 10).

- 10 "Fusionado al extremo N y C-terminal", como se usa en el presente documento, significa que están fusionados al menos dos péptidos al extremo N-terminal de una proteína PreS de hepatitis B y al menos dos péptidos están fusionados al extremo C-terminal de una proteína PreS de hepatitis B. Para ilustración, en la construcción más básica, una proteína PreS de hepatitis B puede comprender dos péptidos en el extremo N-terminal y dos péptidos en el extremo C-terminal.

- 15 El polipéptido de la presente invención comprende al menos cuatro y hasta seis fragmentos peptídicos, péptidos de unión a linfocitos B, procedentes de un alérgeno, siendo más preferidos cuatro péptidos.
- 20 De acuerdo con la presente invención, la proteína transportadora es el polipéptido PreS de hepatitis B con la siguiente secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 21):

```
GGWS SKPRKGGMGTNL SVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPI
KDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQQGILTTVSTIPPPASTNRQ S
GRQPTPI SPPLRD SHPQAMQWNSTAFHQAL QDPRVRGLYFPAGGS S SGTVN
PAPNIASHIS S I SARTGDPVTN
```

- 25 "Hipoalergénico", como se usa en el presente documento, se refiere a moléculas con un potencial alergénico reducido o nulo (es decir, la reactividad con IgE se determina con ensayos de unión a IgE conocidos en la técnica). Dichas moléculas tienen una capacidad reducida para provocar reacciones alérgicas en un individuo en comparación con la proteína de tipo silvestre de la que proceden estas moléculas.

- 30 Los al menos cuatro y hasta seis fragmentos peptídicos fusionados al extremo N y C-terminal de una proteína PreS de la hepatitis B consisten en 20 a 50 aminoácidos consecutivos, del al menos un alérgeno de tipo silvestre y muestran reactividad reducida con IgE en comparación con el alérgeno de tipo silvestre del que proceden los fragmentos de péptido. Estos fragmentos de péptido se diseñan preferentemente para excluir epítopos de linfocitos T específicos de alérgeno que pueden provocar efectos secundarios mediados por linfocitos T. Pueden determinarse e identificarse epítopos de linfocitos T y moléculas que muestran respuesta de linfocitos T reducida mediante métodos conocidos por los expertos en la materia (por ejemplo, Bercovici N. et al. Clin Diagn Lab Immunol. (2000) 7:859-864).

- 35 Los al menos cuatro y hasta seis fragmentos de péptido que consisten en 20 a 50 aminoácidos consecutivos de al menos un alérgeno pueden proceder de uno y del mismo alérgeno. En caso de que dos o más fragmentos procedan del mismo alérgeno, estos dos o más fragmentos no están ubicados de manera adyacente en el alérgeno de tipo silvestre y/o tienen un orden en el polipéptido de la presente invención que no corresponde al orden en el alérgeno de tipo silvestre.

- 40 La expresión "fragmento de péptido", como se usa en el presente documento, significa una parte/fragmento de un polipéptido o proteína de fusión hipoalergénicos de la invención que procede de la estructura primaria de un alérgeno de tipo silvestre y consiste en de 20 a 50 aminoácidos consecutivos de este alérgeno de tipo silvestre.

- 45 Las expresiones "procedente de un alérgeno" y "procedente de al menos un alérgeno de tipo silvestre", como se usan en el presente documento, significan que los fragmentos de péptido para los fines de la presente invención se obtienen directamente de un alérgeno mediante fragmentación o truncamiento. La secuencia de aminoácidos de estos fragmentos de péptido es preferentemente al menos un 80 % idéntica, más preferentemente, al menos un 90 % idéntica, lo más preferentemente, al menos un 95 % idéntica, en particular, un 100 % idéntica, a la serie de la secuencia de aminoácidos del alérgeno de tipo silvestre, de los que proceden los fragmentos de péptido. Sin embargo, los péptidos que no son un 100 % idénticos a los fragmentos de alérgeno de tipo silvestre han de ser capaces de unirse con al menos un 60 %, preferentemente, al menos un 70 %, más preferentemente, al menos un 80 %, lo más preferentemente, al menos un 90 %, de la fuerza a un anticuerpo o anticuerpos, preferentemente a anticuerpos IgG, que están dirigidos contra dichos fragmentos de alérgeno de tipo silvestre. "Al menos un alérgeno de tipo silvestre" significa que el polipéptido de la presente invención puede comprender péptidos de unión a linfocitos B o más de uno, preferentemente dos, más preferentemente tres, alérgenos de tipo silvestre diferentes (es decir, fuentes) (por ejemplo, un péptido procede de Bet v 1, uno de Amb a 1 y uno de Phl p 1 o dos péptidos proceden de Bet v 1 y uno de Amb a

1).

Puede determinarse el grado de identidad de una primera secuencia de aminoácidos respecto de una segunda secuencia de aminoácidos mediante una comparación directa entre ambas secuencias de aminoácido usando ciertos algoritmos.

5 Dichos algoritmos se incorporan, por ejemplo, en varios programas informáticos (por ejemplo, "BLAST 2 SEQUENCES (blastp)" (Tatusova et al. (1999) FEMS Microbiol. Lett. 174:247-25; Corpet F, Nucl. Acids Res. (1988) 16:10881-10890).

10 Los polipéptidos de la presente invención pueden obtenerse mediante métodos recombinantes o síntesis química. Como alternativa, también es posible, obviamente, obtener las moléculas mediante escisión enzimática o química del alérgeno de tipo silvestre o de un polipéptido/proteína que porte la molécula de interés.

15 Sorprendentemente, se ha descubierto que las proteínas de fusión de péptido-portador con propiedades mejoradas pueden obtenerse empleando proteínas superficiales del virus de la hepatitis B de humano. Pueden fusionarse desde 20 cuatro hasta seis fragmentos de péptido hipoalergénico al extremo C-terminal y al extremo N-terminal de una proteína PreS de la hepatitis B. Por lo tanto, la presente invención se refiere a proteínas de fusión formadas por al menos 4 y hasta 6 fragmentos de péptido hipoalergénico con una proteína transportadora procedente de los antígenos de superficie del virus de la hepatitis B de humano. Dichas proteínas de fusión usan como portador la proteína PreS. Una realización más preferida de la presente invención es proteínas de fusión en las que se fusionan 4 fragmentos de 25 péptido hipoalergénico a la proteína portadora PreS. Los fragmentos de péptido (hipoalergénico) pueden ser iguales o diferentes y pueden proceder de una o varias proteínas alergénicas y el locus de los péptidos dentro de la proteína de fusión es el extremo C-terminal y el extremo N-terminal de la proteína portadora. Pueden fusionarse de uno hasta tres fragmentos de péptido (hipoalergénico) a cada uno del extremo C-terminal y el extremo N-terminal de tal forma que la suma de los fragmentos de péptido (hipoalergénico) será, por ejemplo, tres o cuatro a seis. Los términos "fusionado" o "proteína de fusión", se refieren a una realización preferida de la invención, dando a entender que la 30 proteína portadora no alergénica y los fragmentos de péptido (hipoalergénico) en los extremos C y N-terminales del portador se expresan y preparan en forma de una sola cadena de polipéptido recombinante.

35 Una realización extremadamente preferida de la presente invención es proteínas de fusión de la proteína PreS del virus de la hepatitis B, que portan fragmentos de péptido (hipoalergénico) procedentes de un alérgeno específico, de tal forma que uno o dos, preferentemente dos, fragmentos de péptido se fusionan cada uno al extremo C-terminal y al extremo N-terminal del portador. A modo ilustrativo, los polipéptidos preferidos de la presente invención pueden tener la estructura molecular general representada por las siguientes estructuras genéticas:

35 Estructura 1 Principio de construcción general de realizaciones preferidas

Péptido A	Péptido B	PreS	Péptido C	Péptido D
-----------	-----------	------	-----------	-----------

40 Se entiende que los péptidos A, B, C y D pueden ser iguales o diferentes y pueden proceder del mismo alérgeno para cada proteína de fusión individual o procederán de diferentes alérgenos.

40 Los péptidos (hipoalergénicos) que se fusionan al extremo N y C-terminal del polipéptido de superficie de un virus de la familia hepadnaviridae o al menos un fragmento de dicho polipéptido de superficie, preferentemente la proteína PreS o un fragmento de la misma, se seleccionan preferentemente entre el grupo que consiste en alérgenos principales del polen de abedul, en particular, Bet v 1 y Bet v 4, alérgenos principales del polen de la hierba timotea, en particular, 45 Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Phl p 6 y Phl p 7, alérgenos principales de ácaros del polvo doméstico, en particular, Der p 1, Der p 2, Der p 5, Der p 7, Der p 21 y Der p 23, alérgeno principal de gato, Fel d 1, el alérgeno principal de la ambrosía, Amb a 1, los alérgenos principales del cedro japonés, Cry j 1 y Cry j 2, alérgenos principales de abeja, alérgenos principales de avispa, profilinas, especialmente Phl p 7, Phl p 12.

50 Otros alérgenos adecuados para su uso de acuerdo con la presente invención pueden obtenerse de la tabla 2 a continuación, sin restringirse a dicha tabla.

Tabla 2 Fuentes de péptidos hipoalergénicos

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> ambrosía corta	Amb a 1	antígeno E	8	C	8, 20
	Amb a 2	antígeno K	38	C	8, 21
	Amb a 3	Ra3	11	C	22
	Amb a 5	Ra5	5	C	11, 23
	Amb a 6	Ra6	10	C	24, 25

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
<i>Ambrosia trifida</i> ambrosía gigante	Amb a 7	Ra7	12	P	26
<i>Artemisia vulgaris</i> artemisa	Amb t 5	Ra5G	4,4	C	9, 10, 27
	Art v 1		27-29	C	28
	Art v 2		35	P	28A
	Art v 3	proteína de transferencia de lípidos	12	P	53
	Art v 4	profilina	14	C	29
<i>Helianthus annuus</i> girasol	Hel a 1		34		29A
	Hel a 2	profilina	15,7	C	Y15210
<i>Mercurialis annua</i>	Mer a 1	profilina	14-15	C	Y13271
<i>Caryophyllales</i> <i>Chenopodium album</i> cenizo, quinuilla	Che a 1		17	C	29B, AY049012
armuelle	Che a 2	profilina	14	C	AY082337
	Che a 3	polcalcina	10	C	AY082338
<i>Salsola kali</i> cardo ruso		Sal k 1	43	P	29C
Rosales <i>Humulus japonicus</i> lúpulo japonés	Hum j 4w			C	AY335187
<i>Parietaria judaica</i>	Par j 1	proteína de transferencia de lípidos 1	15	C	véase la lista de isoalérgenos
	Par j 2	proteína de transferencia de lípidos 2		C	véase la lista de isoalérgenos
	Par j 3	profilina		C	véase la lista de isoalérgenos
<i>Parietaria officinalis</i>	Par o 1	proteína de transferencia de lípidos	15		29D
B. Hierbas Poales <i>Cynodon dactylon</i> grama	Cyn d 1		32	C	30, S83343
	Cyn d 7			C	31, X91256
	Cyn d 12	profilina	14	C	31a, Y08390
	Cyn d 15		9	C	AF517686
	Cyn d 22w	enolasa	datos	pendientes	
	Cyn d 23	Cyn d 14	9	C	AF517685
	Cyn d 24	Relacionada con la patogénesis p.	21	P	pendientes
<i>Dactylis glomerata</i>					

## ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
hierba cana	Dac g 1	AgDg1	32	P	32
	Dac g 2		11	C	33, S45354
	Dac g 3			C	33A, U25343
	Dac g 5		31	P	34
<i>Festuca pratensis</i> festuca	Fes p 4w		60	-	
<i>Holcus lanatus</i> herba de terciopelo	Hol l 1			C	Z27084
<i>Lolium perenne</i> pasto de centeno	Lol p 1	grupo I	27	C	35, 36
	Lol p 2	grupo II	11	P	37, 37A, X73363
	Lol p 3	grupo III	11	P	38
	Lol p 5	Lol p IX, Lol p Ib	31/35	C	34, 39
	Lol p 11	hom: inhibidor de tripsina	16		39A
<i>Phalaris aquatica</i> herba de canario	Pha a 1			C	40, S80654
<i>Phleum pratense</i> timotea	Phl p 1		27	C	X78813
	Phl p 2			C	X75925, 41
	Phl p 4			P	41A
	Phl p 5	Ag25	32	C	42
	Phl p 6			C	Z27082, 43
	Phl p 11	inhibidor de tripsina hom.	20	C	AF521563, 43A
	Phl p 12	profilina		C	X77583, 44
	Phl p 13	poligalacturonasa	55-60	C	AJ238848
<i>Poa pratensis</i> Poa de los prados	Poa p 1	grupo I	33	P	46
	Poa p 5		31/34	C	34, 47
<i>Sorghum halepense</i> herba Johnson	Sor h 1			C	48
C. Árboles Arecales <i>Phoenix dactylifera</i> dátil	Pho d 2	profilina	14,3	C	Asturias p.c.
Fagales					
<i>Alnus glutinosa</i> aliso	Aln g 1		17	C	S50892
<i>Betula verrucosa</i> abedul	Bet v 1		17	C	véase la lista de isoalérgenos
	Bet v 2	profilina	15	C	M65179
	Bet v 3			C	X79267
	Bet v 4		8	C	X87153, S54819

# ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
	Bet v 6 h:	isoflavona reductasa	33,5	C	véase la lista de isoalérgenos
	Bet v 7	ciclofilina	18	P	P81531
<i>Carpinus betulus</i> carpe	Car b 1		17	C	véase la lista de isoalérgenos
<i>Castanea sativa</i> castaño	Cas s 1		22	P	52
	Cas s 5	quitinasa			
	Cas s 8	proteína de transferencia de lípidos	9,7	P	53
<i>Corylus avellana</i> avellana	Cor a 1		17	C	véase la lista de isoalérgenos
	Cor a 2	profilina	14	C	
	Cor a 8	proteína de transferencia de lípidos	9	C	
	Cor a 9	proteína similar a globulina 11S	40/?	C	Beyer p.c.
	Cor a 10	prot. de unión luminal	70	C	AJ295617
	Cor a 11	prot. similar a vicilina 7S	48	C	AF441864
<i>Quercus alba</i> roble blanco	Que a 1		17	P	54
Lamiales					
Oleaceae					
<i>Fraxinus excelsior</i> fresno	Fra e 1		20	P	58A, AF526295
<i>Ligustrum vulgare</i> alheña	Lig v 1		20	P	58A
Olea europea olivo	Ole e 1		16	C	59, 60
	Ole e 2	profilina	15-18	C	60A
	Ole e 3		9,2		60B
	Ole e 4		32	P	P80741
	Ole e 5	superóxido dismutasa	16	P	P80740
	Ole e 6		10	C	60C, U86342
	Ole e 7		?	P	60D, P81430
	Ole e 8	proteína de unión a Ca2+	21	C	60E, AF078679
	Ole e 9	beta-1,3-glucanasa	46	C	AF249675
	Ole e 10	glucosil hidrolasa hom.	11	C	60F, AY082335
<i>Syringa vulgaris</i> lila	Syr v 1		20	P	58A
Plantaginaceae					
<i>Plantago lanceolata</i> plátano inglés	Pla l 1		18	P	P842242
Pinaceae					
<i>Cryptomeria japonica</i> sugi	Cry j 1		41-45	C	55, 56

ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
	Cry j 2			C	57, D29772
<i>Cupressus arisonica</i> ciprés	Cup a 1		43	C	A1243570
<i>Cupressus sempervirens</i> ciprés común	Cup s 1		43	C	véase la lista de isoalérgenos referencia pendiente
	Cup s 3w		34	C	
<i>Juniperus ashei</i> cedro de montaña	Jun a 1		43	P	P81294
	Jun a 2			C	57A, AJ404653
	Jun a 3		30	P	57B, P81295
<i>Juniperus oxycedrus</i> junípero espinoso	Jun o 4	hom: calmodulina	29	C	57C, AF031471
<i>Juniperus sabinaoides</i> cedro de montaña	Jun s 1		50	P	58
<i>Juniperus virginiana</i> cedro rojo occidental	Jun v 1		43	P	P81825, 58B
Platanaceae					
<i>Platanus acerifolia</i> plátano de sombra	Pla a 1		18	P	P82817
	Pla a 2		43	P	P82967
	Pla a 3	proteína de transferencia de lípidos	10	P	Iris p.c.
D. Ácaros					
<i>Acarus siro</i> ácaro	Aca s 13	artrópodo prot. de unión a ácidos grasos	14*	C	AJ006774
<i>Blomia tropicalis</i> ácaro	Blo t 1	cisteína proteasa	39	C	AF277840
	Blo t 3	tripsina	24*	C	Cheong p.c.
	Blo t 4	alfa amilasa	56	C	Cheong p.c.
	Blo t 5			C	U59102
	Blo t 6	quimotripsina	25	C	Cheong p.c.
	Blo t 10	tropomiosina	33	C	61
	Bio t 11	paramiosina	110	C	AF525465, 61A
	Bio t 12	Bt11a		C	U27479
	Blo t 13	Bt6, prot. de unión a ácidos grasos		C	U58106
	Bio t 19	pep. antimicrobiano hom.	7,2	C	Cheong p.c.
<i>Dermatophagoides farinae</i>					
Ácaro del polvo doméstico americano					

# ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
	Der f 1	cisteína proteasa	25	C	69
	Der f 2		14	C	70, 70A, véase la lista de isoalérgenos
	Der f 3	tripsina	30	C	63
	Der f 7		24-31	C	SW:Q26456, 71
	Der f 10	tropomiosina		C	72
	Der f 11	paramiosina	98	C	72A
	Der f 14	mag3, apolipoforina		C	D17686
	Der f 15	quitinasa 98k	98	C	AF178772
	Der f 16	gelsolina/vilina	53	C	71A
	Der f 17	Proteína EF de unión a Ca	53	C	71A
	Der f 18w	quitinasa 60k	60	C	Weber p.c.
<i>Dermatophagoides microceras</i> ácaro del polvo doméstico	Der m 1	cisteína proteasa	25	P	68
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> Ácaro del polvo doméstico europeo	Der p 1	antígeno P1, cisteína proteasa	25	C	62, véase la lista de isoalérgenos
	Der p 2		14	C	62A-C, véase la lista de isoalérgenos
	Der p 3	tripsina	28/30	C	63
	Der p 4	amilasa	60	P	64
	Der p 5		14	C	65
	Der p 6	quimotripsina	25	P	66
	Der p 7		22/28	C	67
	Der p 8	glutatión transferasa		C	67A
	Der p 9	serina. pro. collagenolítica		P	67B
	Der p 10	tropomiosina	36	C	Y14906
	Der p 14	prot. similar a apolipoproteína i		C	Epton p.c.
<i>Euroglyphus maynei</i> ácaro	Eur m 2			C	véase la lista de isoalérgenos
	Eur m 14	apolipoforina	177	C	AF149827
<i>Glycyphagus domesticus</i> ácaro de los almacenes	Gly d 2			C	72B, véase la lista de isoalérgenos
<i>Lepidoglyphus destructor</i> ácaro de los almacenes	Lep d 2 Lep d 1		15	C	73, 74, 74A, véase la lista de isoalérgenos
	Lep d 5			C	75, AJ250278
	Lep d 7			C	75, AJ271058
	Lep d 10	tropomiosina		C	75A, AJ250096
	Lep d 13			C	75, AJ250279

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
<i>Tyrophagus putrescentiae</i> ácaro de los almacenes	Tyr p 2			C	75B, Y12690
E. Animales					
<i>Bos domesticus</i> Ganado bovino doméstico (véanse también los alimentos)	Bos d 2	Ag3, lipocalina	20	C	76, véase la lista de isoalérgenos L39834
	Bos d 3	hom. de S100 de unión a Ca	11	C	
	Bos d 4	alfa-lactalbúmina	14,2	C	M18780
	Bos d 5	beta-lactoglobulina	18,3	C	X14712
	Bos d 6	albúmina sérica	67	C	M73993
	Bos d 7	inmunoglobulina	160		77
	Bos d 8	caseínas	20-30		77
<i>Canis familiaris</i> ( <i>Canis domesticus</i> ) perro	Can f 1		25	C	78, 79
	Can f 2		27	C	78, 79
	Can f 3	albúmina		C	S72946
	Can f 4		18	P	A59491
<i>Equus caballus</i> caballo doméstico	Equ c 1	lipocalina	25	C	U70823
	Equ c 2	lipocalina	18,5	P	79A, 79B
	Equ c 3	Ag3 - albúmina	67	C	79C, X74045
	Equ c 4		17	P	79D
	Equ c 5	AgX	17	P	Goubran Botros p.c.
<i>Felis domesticus</i> gato (saliva)	Fel d 1	cat-1	38	C	15
	Fel d 2	albúmina		C	79E, X84842
	Fel d 3	cistatina	11	C	79F, AF238996
	Fel d 4	lipocalina	22	C	AY497902
	Fel d 5w	inmunoglobulina A	400		Adedoyin p.c.
	Fel d 6w	inmunoglobulina M	800-1000		Adedoyin p.c.
	Fel d 7w	inmunoglobulina G	150		Adedoyin p.c.
<i>Cavia porcellus</i> cobaya	Cav p 1	homólogo de lipocalina	20	P	SW:P83507, 80
	Cav p 2		17	P	SW:P83508
<i>Mus musculus</i> ratón (orina)	Mus m 1	MUP	19	C	81, 81A
<i>Rattus norvegicus</i> rata (orina)	Rat n 1		17	C	82, 83
F. Hongos (mohos)					

# ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
1. Ascomycota					
1.1 Dothideales					
<i>Alternaria alternata</i>					
	Alt a 1		28	C	U82633
	Alt a 2		25	C	83A, U62442
	Alt a 3	prot. de choque térmico	70	C	U87807, U87808
	Alt a 4	prot. disulfuroisomerasa	57	C	X84217
	Alt a 6 a	prot. ribosómica ácida P2	11	C	X78222, U87806
	Alt a 7	proteína YCP4	22	C	X78225
	Alt a 10	aldehído deshidrogenasa	53	C	X78227, P42041
	Alt a 11	enolasa	45	C	U82437
	Alt a 12	prot. ribosómica ácida P1	11	C	X84216
<i>Cladosporium herbarum</i>					
	Cla h 1		13		83B, 83C
	Cla h 2		23		83B, 83C
	Cla h 3	aldehído deshidrogenasa	53	C	X78228
	Cla h 4	prot. ribosómica ácida P2	11	C	X78223
	Cla h 5	proteína YCP4	22	C	X78224
	Cla h 6	enolasa	46	C	X78226
	Cla h 12	prot. ribosómica ácida P1	11	C	X85180
1.2 Eurotiales					
<i>Aspergillus flavus</i>					
	Asp fl 13	serina proteasa alcalina	34		84
<i>Aspergillus fumigatus</i>					
	Asp f 1		18	C	M83781, S39330
	Asp f 2		37	C	U56938
	Asp f 3	proteína peroxisómica	19	C	U20722
	Asp f 4		30	C	AJ001732
	Asp f 5	metaloproteasa	40	C	Z30424
	Asp f 6	Mn superóxido dismutasa	26,5	C	U53561
	Asp f 7		12	C	AJ223315
	Asp f 8	prot. ribosómica P2	11	C	AJ224333
	Asp f 9		34	C	AJ223327
	Asp f 10	proteasa aspártica	34	C	X85092
	Asp f 11	peptidil-prolil isomerasa	24		84A
	Asp f 12	prot. de choque térmico P90 90		C	85
	Asp f 13	serina proteasa alcalina	34		84B
	Asp f 15		16	C	AJ002026
	Asp f 16		43	C	g3643813
	Asp f 17			C	AJ224865
	Asp f 18	serina proteasa vacuolar	34		84C
	Asp f 22w	enolasa	46	C	AF284645
	Asp f 23	proteína ribosómica L3	44	C	85A, AF464911
<i>Aspergillus niger</i>					
	Asp n 14	beta xilosidasa	105	C	AF108944
	Asp n 18	serina proteasa vacuolar	34	C	84B
	Asp n 25	3-fitasa B	66- 100	C	85B, P34754
	Asp n ?		85	C	Z84377

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
<i>Aspergillus oryzae</i>	Asp o 13	serina proteasa alcalina	34	C	X17561
	Asp o 21	TAKA-amilasa A	53	C	D00434, M33218
<i>Penicillium brevicompactum</i>	Pen b 13	serina proteasa alcalina	33		86A
<i>Penicillium chrysogenum</i> (anteriormente <i>P. notatum</i> )	Pen ch 13	serina proteasa alcalina	34		87
	Pen ch 18	serina proteasa vacuolar	32		87
	Pen ch 20	N-acetilglucosaminidasa	68		87A
<i>Penicillium citrinum</i>	Pen c 3	prot. de mem. peroxisómica	18		86B
	Pen c 13	serina proteasa alcalina	33		86A
	Pen c 19	prot. de choque térmico P70	70	C	U64207
	Pen c 22w	enolasa	46	C	AF254643
	Pen c 24	factor de elongación 1 beta		C	AY363911
<i>Penicillium oxalicum</i>	Pen o 18	serina proteasa vacuolar	34		87B
1.3 Hypocreales <i>Fusarium culmorum</i>	Fus c 1	prot. ribosómica P2	11*	c	AY077706
	Fus c 2	prot. similar a tiorredoxina	13*	c	AY077707
1.4 Onygenales <i>Trichophyton rubrum</i>	Tri r 2	serina proteasa		C	88
	Tri r 4			C	88
<i>Trichophyton tonsurans</i>	Trit 1		30	P	88A
	Tri 14	serina proteasa	83	c	88
1.5 Saccharomycetales					
<i>Candida albicans</i>	Cand a 1		40	C	89
	Cand a 3	proteína peroxisómica	29	C	AY136739
<i>Candida boidinii</i>	Cand b 2		20	C	J04984, J04985
2. Basidiomycotina					
2.1 Hymenomycetes					
<i>Psilocybe cubensis</i>	Psi c 1				
	Psi c 2	ciclofilina	16		89A
<i>Coprinus comatus</i> chipirón de monte	Cop c 1	proteína de cremallera de leucina	11	C	AJ132235
	Cop c 2				AJ242791
	Cop c 3				AJ242792
	Cop c 5				AJ242793
	Cop c 7				AJ242794

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
<b>2.2 Urediniomycetes</b>					
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>					
	Rho m 1	enolasa	47	C	89B
	Rho m 2	serina proteasa vacuolar	31	C	AY547285
<b>2.3 Ustilaginomycetes</b>					
<i>Malassezia furfur</i>					
	Mala f 2	MF1, proteína de membrana peroxisómica	21	C	AB011804, 90
	Mala f 3	MF2, proteína de membrana peroxisómica	20	C	AB011805, 90
	Mala f 4	malato deshidrogenasa mitocondrial	35	C	AF084828, 90A
<i>Malassezia sympodialis</i>					
	Mala s 1			C	X96486, 91
	Mala s 5		18*	C	AJ011955
	Mala s 6		17*	C	AJ011956
	Mala s 7			C	AJ011957, 91A
	Mala s 8		19*	C	AJ011958, 91A
	Mala s 9		37*	C	AJ011959, 91A
	Mala s 10	prot. de choque térmico 70	86	C	AJ428052
	Mala s 11	Mn superóxido dismutasa	23	C	AJ548421
<b>3. Deuteromycotina</b>					
<b>3.1 Tubiculariales</b>					
<i>Epicoccum purpurascens</i> (anteriormente <i>E. nigrum</i> )					
	Epi p 1	serina proteasa	30	P	SW:P83340, 91B
<b>G. Insectos</b>					
<i>Aedes aegyptii</i> mosquito					
	Aed a 1	apirasa	68	C	L12389
	Aed a 2		37	C	M33157
<i>Apis mellifera</i> abeja					
	Api m 1	fosfolipasa A2	16	C	92
	Api m 2	hialuronidasa	44	C	93
	Api m 4	melitina	3	C	94
	Api m 6		7-8	P	Kettner p.c.
	Api m 7	serina proteasa CUB	39	C	AY127579
<i>Bombus pennsylvanicus</i> abejorro					
	Bom p 1	fosfolipasa	16	P	95
	Bom p 4	proteasa		P	95
<i>Blattella germanica</i> cucaracha alemana					
	Bla g 1 Bd90k			C	
	Bla g 2 proteasa aspártica		36	C	96
	Bla g 4 calicina		21	C	97
	Bla g 5 glutatión transferasa 22			C	98
	Bla g 6 troponina C		27	C	98
<i>Periplaneta americana</i> Cucaracha americana					

ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
	Der a 1	Cr-PII		C	
	Der a 3	Cr-PI	72-78	C	98A
	Der a 7	tropomiosina	37	C	Y14854
<i>Chironomus kiiensis</i>					
mosquito	Chi k 10	tropomiosina	32,5*	C	AJ012184
<i>Chironomus thummi thummi</i>					
mosquito	Chi t 1-9	hemoglobina	16	C	99
	Chi t 1.01	componente III	16	C	P02229
	Chi t 1.02	componente IV	16	C	P02230
	Chi t 2.0101	componente I	16	C	P02221
	Chi t 2.0102	componente IA	16	C	P02221
	Chi t 3	componente II-beta	16	C	P02222
	Chi t 4	componente IIIA	16	C	P02231
	Chi t 5	componente VI	16	C	P02224
	Chi t 6.01	componente VIIA	16	C	P02226
	Chi t 6.02	componente IX	16	C	P02223
	Chi t 7	componente VIIB	16	C	P02225
	Chi t 8	componente VIII	16	C	P02227
	Chi t 9	componente X	16	C	P02228
<i>Ctenocephalides felis felis</i>					
pulga del gato	Cte f 1				
	Cte f 2	M1b	27	C	AF231352
	Cte f 3		25	C	
<i>Thaumetopoea pityocampa</i>					
polilla procesionaria del pino	Tha p 1		15	P	PIR:A59396, 99A
<i>Lepisma saccharina</i>					
lepisma	Lep s 1	tropomiosina	36	C	AJ309202
<i>Dolichovespula maculata</i>					
avispa de cara blanca	Dol m 1	fosfolipasa A1	35	C	100
	Dol m 2	hialuronidasa	44	C	101
	Dol m 5	antígeno 5	23	C	102, 103
<i>Dolichovespula arenaria</i>					
avispa amarilla	Dol a 5	antígeno 5	23	C	104
<i>Polistes annularies</i>					
avispa	Pol a 1	fosfolipasa A1	35	P	105
	Pol a 2	hialuronidasa	44	P	105
	Pol a 5	antígeno 5	23	C	104
<i>Polistes dominulus</i>					
avispa del papel mediterránea	Pol d 1				Hoffman p.c.
	Pol d 4	serina proteasa	32-34	C	Hoffman p.c.
	Pol d 5				P81656
<i>Polistes exclamans</i>					
avispa	Pol e 1	fosfolipasa A1	34	P	107
	Pol e 5	antígeno 5	23	C	104

ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.	
<i>Polistes fuscatus</i>						
avispa	Pol f 5	antígeno 5	23	C	106	
<i>Polistes gallicus</i>						
avispa	Pol g 5	antígeno 5	24	C	P83377	
<i>Polistes metricus</i>						
avispa	Pol m 5	antígeno 5	23	C	106	
<i>Vespa crabo</i>						
avispa europea		Vesp c 1 fosfolipasa	34	P	107	
		Vesp c 5 antígeno 5	23	C	106	
<i>Vespa mandarina</i>						
avispa asiática gigante		Vesp m 1			Hoffman p.c.	
		Vesp m 5			P81657	
<i>Vespula flavopilosa</i>						
avispa de chaqueta amarilla	Ves f 5	antígeno 5	23	C	106	
<i>Vespula germanica</i>						
avispa de chaqueta amarilla	Ves g 5	antígeno 5	23	C	106	
<i>Vespula maculifrons</i>						
avispa de chaqueta amarilla		Ves m 1	fosfolipasa A1	33,5	C	108
		Ves m 2	hialuronidasa	44	P	109
		Ves m 5	antígeno 5	23	C	104
<i>Vespula pennsylvanica</i>						
avispa de chaqueta amarilla		Ves p 5	antígeno 5	23	C	106
<i>Vespula squamosa</i>						
avispa de chaqueta amarilla		Ves s 5	antígeno 5	23	C	106
<i>Vespula vidua</i>						
avispa	Ves vi 5	antígeno 5	23	C	106	
<i>Vespula vulgaris</i>						
avispa de chaqueta amarilla		Ves v 1	fosfolipasa A1	35	C	105A
		Ves v 2	hialuronidasa	44	P	105A
		Ves v 5	antígeno 5	23	C	104
<i>Myrmecia pilosula</i>						
hormiga saltadora		Myr p 1		C	X70256	
		Myr p 2		C	S81785	
<i>Solenopsis geminata</i>						
hormiga de fuego tropical		Sol g 2			Hoffman p.c.	
		Sol g 4			Hoffman p.c.	
<i>Solenopsis invicta</i>						
hormiga de fuego	Sol i 2		13	C	110, 111	
	Sol i 3		24	C	110	

ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
	Sol i 4		13	C	110
<i>Solenopsis saevissima</i> hormiga de fuego brasileña	Sol s 2				Hoffman p.c.
<i>Triatoma protracta</i> vinchuca	Tria p 1	Procalina	20	C	AF179004, 111A.
H. Alimentos					
<i>Gadus callarias</i> bacalao	Gad c 1	alérgeno M	12	C	112, 113
<i>Salmo salar</i> Salmón atlántico	Sal s 1	parvalbúmina	12	C	X97824
<i>Bos domesticus</i> Ganado bovino doméstico	Bos d 4	alfa-lactalbúmina	14,2	C	M18780
(leche)	Bos d 5	beta-lactoglobulina	18,3	C	X14712
véanse también animales	Bos d 6	albúmina sérica	67	C	M73993
	Bos d 7	inmunoglobulina	160		77
	Bos d 8	caseínas	20-30		77
<i>Cyprinus carpio</i> (Carpa común)	Cyp c 1	parvalbúmina	12	C	129
<i>Gallus domesticus</i> Pollo	Gal d 1	ovomucoide	28	C	114, 115
	Gal d 2	ovoalbúmina	44	C	114, 115
	Gal d 3	Ag22, conalbúmina	78	C	114, 115
	Gal d 4	lisozima	14	C	114, 115
	Gal d 5	albúmina sérica	69	C	X60688
<i>Metapenaeus ensis</i> gamba	Met e 1	tropomiosina		C	U08008
<i>Penaeus aztecus</i> gamba	Pen a 1	tropomiosina	36	P	116
<i>Penaeus indicus</i> gamba	Pen i 1	tropomiosina	34	C	116A
<i>Penaeus monodon</i> langostino tigre negro	Pen m 1	tropomiosina	38	C	
	Pen m 2	arginina cinasa	40	C	AF479772, 117
<i>Todarodes pacificus</i> calamar	Tod p 1	tropomiosina	38	P	117A
<i>Helix aspersa</i> caracol marrón de jardín	Hel as 1	tropomiosina	36	C	Y14855, 117B

# ES 2 720 140 T3

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
<i>Haliothis midae</i> abulón	Hal m 1		49		117C
<i>Rana esculenta</i> rana comestible	Ran e 1 Ran e 2	parvalbúmina alfa parvalbúmina beta	11,9* 11,7*	C C	AJ315959 AJ414730
<i>Brassica juncea</i> mostaza oriental	Bra j 1	albúmina 2S	14	C	118
<i>Brassica napus</i> colza	Bra n 1	albúmina 2S	15	P	118A, P80208
<i>Brassica rapa</i> nabo	Bra r 2	hom: proheveína	25		P81729
<i>Hordeum vulgare</i> cebada	Hor v 15 Hor v 16 Hor v 17 Hor v 21	BMAI-1 alfa amilasa beta amilasa gamma-3 hordeína	15 34	C C	119 119A,
SW:P80198					
<i>Secale cereale</i> centeno	Sec c 20	secalina			véase la lista de isoal.
<i>Triticum aestivum</i> trigo	Tri a 18 Tri a 19	aglutinina omega-5 gliadina	65	P	PIR:A59156
<i>Zea mays</i> maíz	Zea m 14	prot. de transferencia de lípidos	9	P	P19656
<i>Oryza sativa</i> arroz	Ory s 1			C	119B, U31771
<i>Apium graveolens</i> apio	Api g 1 Api g4 Api g 5	hom: Bet v 1 profilina profilina	16* 55/58	C P	Z48967 AF129423 P81943
<i>Daucus carota</i> zanahoria	Dau c 1 Dau c 4	hom: Bet v 1 profilina	16	C C	117D, véase la lista de isoalérgenos AF456482
<i>Corylus avellana</i> avellana	Cor a 1.04 hom: Bet v 1 Cor a 2 Cor a 8		17 14 9	C C C	véase la lista de isoalérgenos AF327622 AF329829
<i>Malus domestica</i> manzana	Mai d 1	hom: Bet v 1		C	véase la lista de isoalérgenos

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
	Mai d 2	hom: taumatina		C	AJ243427
	Mai d 3	proteína de transferencia de lípidos	9	C	Pastorello p.c.
	Mai d 4	profilina	14,4*	C	véase la lista de isoalérgenos
<i>Pyrus communis</i> pera	Pyr c 1	hom: Bet v 1	18	C	AF05730
	Pyr c 4	profilina	14	C	AF 129424
	Pyr c 5	hom: isoflavona reductasa	33,5	C	AF071477
<i>Persea americana</i> aguacate	Pers a 1	endoquitinasa	32	C	Z78202
<i>Prunus armeniaca</i> albaricoque	Pru ar 1	hom: Bet v 1		C	U93165
	Pru ar 3	proteína de transferencia de lípidos	9	P	
<i>Primus avium</i> cereza dulce	Pru av 1	hom: Bet v 1		C	U66076
	Pru av 2	hom: taumatina		C	U32440
	Pru av 3	proteína de transferencia de lípidos	10	C	AF221501
	Pru av 4	profilina	15	C	AF129425
<i>Prunus domestica</i> ciruela europea	Pru d 3	proteína de transferencia de lípidos	9	P	119C
<i>Prunus persica</i> melocotón	Pru p 3	proteína de transferencia de lípidos	10	P	P81402
	Pru p 4	profilina	14	C	véase la lista de isoalérgenos
<i>Asparagus officinalis</i> Espárrago	Aspa o 1	proteína de transferencia de lípidos	9	P	119D
<i>Crocus sativus</i> azafrán	Cro s 1		21		Varasteh A-R p.c.
<i>Lactuca sativa</i> lechuga	Lac s 1	proteína de transferencia de lípidos	9		Vieths p.c.
<i>Vitis vinifera</i> uva	Vit v 1	proteína de transferencia de lípidos	9	P	P80274
<i>Musa x paradisiaca</i> plátano	Mus xp 1	profilina	15	C	AF377948
<i>Ananas comosus</i> piña tropical	Ana c 1	profilina	15	C	AF377949
	Ana c 2	bromelaína	22,8*	C	119E-G, D14059
<i>Citrus limon</i>					

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
limón	Cit 1 3	proteína de transferencia de lípidos	9	P	Torrejon p.c.
<i>Citrus sinensis</i> naranja dulce	Cit s 1	proteína similar a germina	23	P	Torrejon p.c.
	Cit s 2	profilina	14	P	Torrejon p.c.
	Cit s 3	proteína de transferencia de lípidos	9	P	Torrejon p.c.
<i>Litchi chinensis</i> lichi	Lit c 1	profilina	15	C	AY049013
<i>Sinapis alba</i> mostaza amarilla	Sin a 1	albúmina 2S	14	C	120
<i>Glycine max</i> soja	Gly m 1	HPS	7	P	120A
	Gly m 2		8	P	A57106
	Gly m 3	profilina	14	C	véase la lista de isoalérgenos
	Gly m 4	(SAM22) Prot. PR-10	17	C	X60043, 120B
<i>Vigna radiata</i> frijol mungo	Vig r 1	proteína PR-10	15	C	AY792956
<i>Arachis hypogaea</i> cacahuete	Ara h 1	vicilina	63,5	C	L34402
	Ara h 2	conglutina	17	C	L77197
	Ara h 3	glicinina	60	C	AF093541
	Ara h 4	glicinina	37	C	AF086821
	Ara h 5	profilina	15	C	AF059616
	Ara h 6	hom: conglutina	15	C	AF092846
	Ara h 7	hom: conglutina	15	C	AF091737
	Ara h 8	proteína PR-10	17	C	AY328088
<i>Lens culinaris</i> lenteja	Len c 1	vicilina	47	C	véase la lista de isoalérgenos
	Len c 2	prot. biotinilada en semillas	66	P	120C
<i>Pisum sativum</i> guisante	Pis s 1	vicilina	44	C	véase la lista de isoalérgenos
	Pis s 2	convicilina	63	C	pendientes
<i>Actinidia chinensis</i> kiwi	Act c 1	cisteína proteasa	30	P	P00785
	Act c 2	proteína similar a taumatina	24	P	SW:P81370, 121
<i>Capsicum annuum</i> pimiento	Cap a 1w	proteína similar a osmotina	23	C	AJ297410
	Cap a 2	profilina	14	C	AJ417552
<i>Lycopersicon esculentum</i> tomate	Lyc e 1	profilina	14	C	AJ417553
	Lyc e 2	b-fructofuranosidasa	50	C	véase la lista de isoalérgenos

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
	Lyc e 3	prot. de transferencia de lípidos	6	C	U81996
<i>Solanum tuberosum</i> patata	Sola t 1	patatina	43	P	P15476
	Sola t 2	inhibidor de catepsina D	21	P	P16348
	Sola t 3	Inhibidor de cisteína proteasa	21	P	P20347
	Sola t 4	inhibidor de proteasa aspártica	16+4	P	P30941
<i>Bertholletia excelsa</i> nuez de Brasil	Ber e 1	albúmina 2S	9	C	P04403, M17146
	Ber e 2	prot. de almacenamiento en semillas de globulina 11S	>tein 29	C	AY221641
	Jug n 1	albúmina 2S	19*	C	AY102930
	Jug n 2	prot. similar a vicilina	56*	C	AY102931
<i>Juglans regia</i> nogal inglés	Jug r 1	albúmina 2S		C	U66866
	Jug r 2	vicilina	44	C	AF066055
	Jug r 3	proteína de transferencia de lípidos	9	P	Pastorello
	Ana o 1	proteína similar a vicilina	50	C	véase la lista de isoalérgenos
<i>Anacardium occidentale</i> anacardo	Ana o 2	proteína similar a legumina	55	C	AF453947
	Ana o 3	albúmina 2S	14	C	AY081853
	Ric c 1	albúmina 2S		C	P01089
<i>Sesamum indicum</i> sésamo	Ses i 1	albúmina 2S	9	C	121A, AF240005
	Ses i 2	albúmina 2S	7	C	AF091841
	Ses i 3	globulina similar a vicilina 7S	45	C	AF240006
	Ses i 4	oleosina	17	C	AAG23840
	Ses i 5	oleosina	15	C	AAD42942
	Cuc m 1	serina proteasa	66	C	D32206
<i>Cucumis melo</i> melón	Cuc m 2	profilina	14	C	AY271295
	Cuc m 3	p. relacionada con patogénesis PR-1	16*	P	P83834
	I. Otros				
<i>Anisakis simplex</i> nemátodo	Ani s 1		24	P	121B, A59069
	Ani s 2	paramiosina	97	C	AF173004
	Ani s 3	tropomiosina	41	C	121C, Y19221
	Ani s 4		9	P	P83885
<i>Argas reflexus</i>					

Nombre de la especie	Nombre del alérgeno	ID. de Biochem o nombre obsoleto	PM	ADNc (C) o proteína (P)	Referencia, N.º de acc.
garrapata de la paloma	Arg r 1		17	C	AJ697694
<i>Ascaris suum</i>					
gusanos	Asc s 1		10	P	122
<i>Carica papaya</i>					
papaya	Car p 3w	papaína	23,4*	C	122A, M15203
<i>Dendronephthya nipponica</i>					
coral coliflor	Den n 1		53	P	122B
<i>Hevea brasiliensis</i>					
goma (látex)	Hev b 1	factor de elongación	58	P	123, 124
	Hev b 2	1,3-glucanasa	34/36	C	125
	Hev b 3		24	P	126, 127
	Hev b 4	componente de complejo de microhélice	100-	P	128
	Hev b 5		115		
	Hev b 6.01	precursor de heveína	16	C	U42640
	Hev b 6.02	heveína	20	C	M36986, p02877
	Hev b 6.03	fragmento C-terminal	5	C	M36986, p02877
	Hev b 7.01	hom: patatina de B-serum	14	C	M36986, p02877
	Hev b 7.02	hom: patatina de C-serum	42	C	U80598
	Hev b 8	profilina	44	C	AJ223038
	Hev b 9		14	C	véase la lista de isoalérgenos
	Hev b 10	enolasa	51	C	AJ132580
	Hev b 11	Mn superóxido dismutasa	26	C	véase la lista de isoalérgenos
	Hev b 12			C	véase la lista de isoalérgenos
	Hev b 13	quitinasa de clase 1	9,3	C	AY057860
<i>Homo sapiens</i>					
autoalérgenos de ser humano					
	Hom s 1		73*	C	Y14314
	Hom s 2		10,3*	C	X80909
	Hom s 3		20,1*	C	X89985
	Hom s 4		36*	C	Y17711
	Hom s 5		42,6*	C	P02538
<i>Triplochiton scleroxylon</i>					
obeche	Trip s 1	quitinasa de clase 1	38,5	P	Kespohl p.c.

## Referencias

- 5      1 Marsh, D.G., y L.R. Freidhoff. 1992. ALBE, an allergen database. IUIS, Baltimore, MD, Edición 1.0.  
       2 Marsh, D. G. et al. 1986. Allergen nomenclature. Bull WHO 64:767-770.  
       3 King, T.P. et al. 1964. Biochemistry 3:458-468.  
       4 Lowenstein, H. 1980. Allergy 35:188-191.  
       5 Aukrust, L. 1980. Allergy 35:206-207.  
       6 Demerec, M. et al. 1966. Genetics 54:61-75.  
 10     7 Bodmer, J. G. et al. 1991. Immunogenetics 33:301-309.  
       8 Griffith, I.J. et al. 1991. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 96:296-304.  
       9 Roeber, M. et al. 1985. J. Immunol. 134:3062-3069.  
       10 Metzler, W. J. et al. 1992. Biochemistry 31:5117-5127.

- 11 Metzler, W. J. et al. 1992. Biochemistry 31:8697-8705.  
 12 Goodfriend, L. et al. 1979. Fed. Proc. 38:1415.  
 13 Ekramoddoullah, A. K. M. et al. 1982. Mol. Immunol. 19:1527-1534.  
 14 Ansari, A. A. et al. 1987. J. Allergy Clin. Immunol. 80:229-235.  
 5 15 Morgenstern, J.P. et al. 1991. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9690-9694.  
 16 Griffith, I.J. et al. 1992. Gene 113:263-268.  
 17 Weber, A. et al. 1986. Biochem. Physiol. 83B:321-324.  
 18 Weber, A. et al. 1987. Allergy 42:464-470.  
 19 Stanworth, D. R. et al. 1990. Bulletin WHO 68:109-111.  
 10 20 Rafnar, T. et al. 1991. J. Biol. Chem. 266: 1229-1236.  
 21 Rogers, B.L. et al. 1991. J. Immunol. 147:2547-2552.  
 22 Klapper, D.G. et al. 1980. Biochemistry 19:5729-5734.  
 23 Ghosh, B. et al. 1993. J. Immunol. 150:5391-5399.  
 15 24 Roebber, M. et al. 1983. J. Immunol. 131:706-711.  
 25 25 Lubahn, B., y D.G. Klapper. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 91:338.  
 26 Roebber, M., y D.G. Marsh. 1991. J. Allergy Clin. Immunol. 87:324.  
 27 Goodfriend L. et al. Mol Immunol 22: 899-906, 1985.  
 28 Himly M. et al. FASEB J 17: 106-108, 2003.  
 20 28A Nilsen, B. M. et al. 1991. J. Biol. Chem. 266:2660-2668.  
 29 Wopfner N. et al. Biol Chem 383: 1779-1789, 2002.  
 29A Jimenez A. et al. 1994. Int Arch Allergy Immunol 105:297-307.  
 29B Barderas R. et al. Int Arch Allergy Immunol 127: 47-54, 2002.  
 29C Carnés J. et al. Allergy 56, Suplemento 68: 274, 2001.  
 29D Giuliani A. et al. Allergy 42: 434-440, 1987.  
 30 30 Smith,P.M. et al. 1996. J. Allergy Clin. Immunol. 98:331-343.  
 31 Suphioglu,C. et al. 1997. FEBS Lett. 402:167-172.  
 31a Asturias J.A. et al. 1997. Clin Exp Allergy 27:1307-1313.  
 32 Mecheri, S. et al. 1985. Allergy Appl. Immunol. 78:283-289.  
 33 Roberts, A.M. et al. 1993. Allergy 48:615-623.  
 33a Guerin-Marchand,C. et al. 1996. Mol. Immunol. 33:797-806.  
 34 Klysner, S. et al. 1992. Clin. Exp. Allergy 22: 491-497.  
 35 35 Perez, M. et al. 1990. J. Biol. Chem. 265:16210-16215.  
 36 Griffith, I. J. et al. 1991. FEBS Letters 279:210-215.  
 37 Ansari, A. A. et al. 1989. J. Biol. Chem. 264:11181-11185.  
 37a Sidoli,A. et al. 1993. J. Biol. Chem. 268:21819-21825.  
 38 Ansari, A. A. et al. 1989. Biochemistry 28:8665-8670.  
 39 Singh, M. B. et al. 1991. Proc. Natl. Acad. Sci. 88:1384-1388.  
 39a van Ree R. et al. 1995. J Allergy Clin Immunol 95:970-978.  
 40 40 Suphioglu,C. y Singh,M.B. 1995. Clin. Exp. Allergy 25:853-865.  
 41 Dolecek,C. et al. 1993. FEBS Lett. 335:299-304.  
 41A Fischer S. et al. 1996. J Allergy Clin Immunol 98:189-198.  
 42 Matthiesen, F., y H. Lowenstein. 1991. Clin. Exp. Allergy 21:297-307.  
 43 Petersen,A. et al. 1995. Int. Arch. Allergy Immunol. 108:55-59.  
 43A Marknell DeWitt A. et al. Clin Exp Allergy 32: 1329-1340, 2002.  
 44 Valenta, R. et al. 1994. Biochem. Biophys. Res. Commun. 199:106-118.  
 45 46 Esch, R. E., y D. G. Klapper. 1989. Mol. Immunol. 26:557-561.  
 47 Olsen, E. et al. 1991. J. Immunol. 147:205-211.  
 48 Avjioglu, A. et al. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 91:340.  
 49 Kos T. et al. 1993. Biochem Biophys Res Commun 196:1086-92.  
 50 53 Diaz-Perales A. et al. 2000. Clin Exp Allergy 30:1403-1410.  
 54 Ipsen, H., y O.C. Hansen. 1991. Mol. Immunol. 28: 1279-1288.  
 55 Taniai, M. et al. 1988. FEBS Lett. 239:329-332.  
 56 Griffith, I.J. et al. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 91:339.  
 57 Sakaguchi, M. et al. Allergy 45: 309-312, 1990.  
 55 57A Yokoyama M. et al. Biochem Biophys Res Commun 275: 195-202, 2000.  
 57B Midoro-Horiuti T. et al. J Immunol 164: 2188-2192, 2000.  
 57C Tinghino R. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 101: 772-777, 1998.  
 58 Gross GN et al. Scand J Immunol 8: 437-441, 1978.  
 58A Obispo TM et al. Clin Exp Allergy 23: 311-316, 1993.  
 60 58B Midoro-Horiuti T. et al. Clin Exp Allergy 31: 771-778, 2001.  
 59 Lombardero M. et al. Clin. Exp. Allergy 24: 765-770, 1994.  
 60 Villalba, M. et al. Eur. J. Biochem. 216: 863-869, 1993.  
 60A Asturias JA et al. J Allergy Clin Immunol 100: 365-372, 1997.  
 60B Batanero E. et al. Eur J Biochem 241: 772-778, 1996.  
 65 60C Batanero E. et al. FEBS Lett. 410: 293-296, 1997.  
 60D Tejera ML et al. J Allergy Clin Immunol 104: 797-802, 1999.

- 60E Ledesma A. et al. FEBS Lett 466: 192-196, 2000.  
 60F Barral P. et al. J Immunol 172: 3644-3651, 2004.  
 61 Yi FC et al. Clin Exp Allergy 32: 1203-1210, 2002.  
 5 61A Ramos JD et al. Int Arch Allergy Immunol 126: 286-293, 2001.  
 62 Chua, K. Y. et al. J. Exp. Med. 167: 175-182, 1988.  
 62A Chua, K. Y. et al. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 91: 118-123, 1990.  
 62B Smith AM et al. Int Arch Allergy Immunol 124: 61-63, 2001.  
 62C Smith AM et al. J Allergy Clin Immunol 107: 977-984, 2001.  
 10 63 Smith WA, Thomas WR. Int Arch Allergy Immunol 109:133-140,1996.  
 64 Lake, F.R. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 87: 1035-1042, 1991.  
 65 Tovey, E. R. et al. J. Exp. Med. 170: 1457-1462, 1989.  
 66 Yasueda, H., T. Shida, T. Ando, S. Sugiyama y H. Yamakawa. 1991. Allergenic and proteolytic properties of fourth allergens from Dermatophagoides mites. En: "Dust Mite Allergens and Asthma. Report of the 2nd international workshop" A. Todt, Ed., UCB Institute of Allergy, Bruselas, Bélgica, págs. 63-64.  
 15 67 Shen, H.-D. et al. Clin. Exp. Allergy 23: 934-940, 1993.  
 67A O'Neil GM et al. Biochim Biophys Acta,1219: 521-528, 1994.  
 67B King C. et al. J Allergy Clin Immunol 98: 739-747, 1996.  
 68 Lind P. et al. J. Immunol. 140: 4256-4262, 1988.  
 69 Dilworth, R. J. et al. Clin. Exp. Allergy 21: 25-32, 1991.  
 20 70 Nishiyama, C. et al. Int. Arch. Allergy Immunol. 101: 159-166, 1993.  
 70A Trudinger, M. et al. Clin. Exp. Allergy 21: 33-38, 1991.  
 71 Shen HD et al. Clin Exp Allergy 25: 1000-1006, 1995.  
 71A Tategaki A. et al. ACI International suppl. 1: 74-76, 2000.  
 25 72 Aki T. et al. J Allergy Clin Immunol 96: 74-83, 1995.  
 72A Tsai L. et al. Clin Exp Allergy 29: 1606-1613, 1999.  
 72B Gafvelin G. et al. J Allergy Clin Immunol 107: 511-518, 2001.  
 73 van Hage-Hamsten. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 91:353, 1993.  
 74 Varela J. et al. Eur J Biochem 225: 93-98, 1994.  
 30 74A Schmidt M. et al. FEBS Lett 370: 11-14, 1995.  
 75 Eriksson TLJ et al. Eur. J. Biochem. 268: 287-294, 2001.  
 75A Saame T. et al. Int Arch Allergy Immunol 130: 258-265, 2003.  
 75B Eriksson TL et al. Eur. J. Biochem. 251 (1-2), 443-447, 1998.  
 35 76 Rautainen J, Rytkonen M, Pelkonen J, Pentikainen J, Perola O, Virtanen T, Zeiler T, Mantyjarvi R. BDA20, a major bovine dander allergen characterised at the sequence level is Bos d 2. Remitido.  
 77 Gjesing B, Lowenstein H. Ann Allergy 53:602, 1984.  
 78 de Groot, H. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 87:1056-1065, 1991.  
 79 Konieczny, A. Personal communication; Immunologic Pharmaceutical Corp.  
 79A Bulone, V. Eur J Biochem 253: 202-211, 1998.  
 79B Swiss-Prot acc. P81216, P81217.  
 40 79C Dandeu J. P. et al. (1993). J. Chromatogr. 621:23-31.  
 79D Goubran Botros H. et al. 1998. J. Chromatogr. B 710:57-65.  
 79E Hilger C. et al. Allergy 52: 179-187; y Hilger C. et al. Gene 169:295-296, 1996.  
 79F Ichikawa K. et al. Clin Exp Allergy, In Press 2001.  
 80 Fahlbusch B. et al. Allergy 57: 417-422, 2002.  
 45 81 McDonald, B. et al. 1988. J. Allergy Clin. Immunol. 83:251.  
 81A Clarke, A. J. et al. 1984. EMBO J 3:1045-1052.  
 82 Longbottom, J. L. 1983. Characterisation of allergens from the urines of experimental animals. McMillan Press, Londres, págs. 525-529.  
 83 Laperche, Y. et al. 1983. Cell 32:453-460.  
 50 83A Bush RK et al. 1999. J Allergy Clin Immunol 104:665-671.  
 83B Aukrust L, Borch SM. 1979. Int Arch Allergy Appl Immunol 60:68-79.  
 83C Sward-Nordmo M. et al. 1988. Int Arch Allergy Appl Immunol 85:288-294.  
 84 Shen, et al. J. Allergy Clin. Immunol. 103:S157, 1999.  
 55 84A Crameri R. Epidemiology and molecular basis of the involvement of Aspergillus fumigatus in allergic diseases. Contrib. Microbiol. Vol. 2, Karger, Basilea (en imprenta).  
 84B Shen, et al. (manuscrito enviado), 1999  
 84C Shen HD et al. Vacuolar serine proteinase: A major allergen of Aspergillus fumigatus. 10th International Congress of Immunology, Abstract, 1998.  
 85 Kumar A. et al. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 91:1024-1030.  
 60 85A Saxena S. et al. 2003. Clin Exp Immunol 134:86-91.  
 85B Baur X. et al. Allergy 57: 943-945, 2002.  
 86A Shen HD et al. 1996. Clin Exp Allergy 26:444-451.  
 86B Shen, et al. Abstract; The XVIII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Bruselas, Bélgica, 3-7 de julio de 1999.  
 65 87 Shen HD et al. Clin Exp Allergy 29: 642-651, 1999.  
 87A Shen HD et al. Clin Exp Allergy 25: 350-356, 1995.

- 87B Shen HD et al. J Lab Clin Med 137: 115-124,2001.  
 88 Woodfolk JA et al. 1998. J Biol Chem 273:29489-96.  
 88A Deuell, B. et al. 1991. J. Immunol. 147:96-101.  
 89 Shen, H.D. et al. 1991. Clin. Exp. Allergy 21:675-681.  
 5 89A Horner WE et al. 1995. Int Arch Allergy Immunol 107:298-300.  
 89B Chang CY et al. J Biomed Sci 9: 645-655, 2002.  
 90 Yasueda H. et al. Biochem Biophys Res Commun 248: 240-244, 1998. NB: cepa TIMM2782 (Teikyo University Institute for Medical Mycology) igual a la cepa CBS 1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).  
 10 90A Onishi Y. et al. Eur J Biochem 261: 148-154, 1999. NB: cepa TIMM2782 (Teikyo University Institute for Medical Mycology) equal to strain CBS 1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).  
 91 Schmidt M. et al. Eur J Biochem 246:181-185, 1997. NB: cepa ATCC no. 42132 (American Type Culture Collection).  
 91A Rasool O. et al. Eur J Biochem 267: 4355-4361,2000. NB: cepa ATCC no. 42132 (American Type Culture Collection).  
 15 91B NB: ; cepa 4625 (Indian Agricultural Research Institute, PUSA; Nueva Deli, India ).  
 92 Kuchler, K. et al. 1989. Eur. J. Biochem. 184:249-254.  
 93 Gmachl, M., y G. Kreil. 1993. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3569-3573.  
 93A Hoffman DR. 1977. J Allergy Clin. Immunol. 59:364-366.  
 94 Habermann, E. 1972. Science 177:314-322.  
 20 95 Hoffman DR, Jacobson RS. 1996. J. Allergy Clin. Immunol. 97:812-821.  
 95A Hoffman DR, El-Choufani AE, Smith MM, de Groot H. 2001. Occupational allergy to bumblebee venom: Allergens of Bombus terrestris. J Allergy Clin Immunol In press.  
 95B Helm R. et al. 1996. J Allerg Clin Immunol 98:172-180.  
 25 95C Pomes A. et al. 1998. J Biol Chem 273:30801-30807.  
 96 Arruda LK et al. J Biol Chem 270:19563-19568, 1995.  
 97 Arruda LK et al. J Biol Chem 270:31196-31201, 1995.  
 98 Arruda LK et al. Int Arch Allergy Immunol 107:295-297, 1995.  
 98A Wu CH et al. 1998. J Allergy Clin Immunol 101:832-840.  
 98B Melen E. et al. 1999. J Allergy Clin Immunol 103:859-64.  
 30 98C Wu CH et al. J Biol Chem 271:17937-17943, 1996.  
 98D Wu CH et al. Molecular Immunol 34:1-8, 1997.  
 98E Santos ABR et al. 1999. J Allergy Clin Immunol 104:329-337.  
 98F Asturias JA et al. 1999. J Immunol 162:4342-4348.  
 99 Mazur, G. et al. 1990. Monog. Allergy 28:121-137.  
 35 99A Moneo I. et al. Allergy 58: 34-37, 2003.  
 100 Soldatova, L. et al. 1993. FEBS Letters 320:145-149.  
 101 Lu, G. et al. 1994. J. Allergy Clin. Immunol. 93:224.  
 102 Fang, K. S. F. et al. 1988. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85:895-899.  
 103 King, T. P. et al. 1990. Prot. Seq. Data Anal. 3:263-266.  
 40 104 Lu, G. et al. 1993. J. Immunol. 150: 2823-2830.  
 105 King, T. P. y Lu, G. 1997. Datos no publicados.  
 105A King TP et al. 1996. J. Allergy Clin. Immunol. 98:588-600.  
 106 Hoffman, D.R. 1993. J. Allergy Clin. Immunol. 92:707-716.  
 107 Hoffman DR. 1992. Datos no publicados.  
 45 108 Hoffman DR. J. Allergy Clin. Immunol. 91:187, 1993.  
 109 Jacobson RS et al. J. Allergy Clin. Immunol. 89:292, 1992.  
 110 Hoffman DR. J. Allergy Clin. Immunol 91: 71-78, 1993.  
 111 Schmidt M. et al. FEBS Letters 319: 138-140, 1993.  
 50 111A Paddock CD et al. J Immunol 167: 2694-2699, 2001.  
 112 Elsayed S, Bennich H. Scand J Immunol 3: 683-686, 1974.  
 113 Elsayed S. et al. Immunochemistry 9: 647-661, 1972.  
 114 Hoffman, D. R. 1983. J. Allergy Clin. Immunol. 71: 481-486.  
 115 Langeland, T. 1983. Allergy 38:493-500.  
 116 Daul CB, Slattery M, Morgan JE, Lehrer SB. 1993. Common Crustacea allergens: identification of B cell epitopes with the shrimp specific monoclonal antibodies. En: "Molecular Biology and Immunology of Allergens" (D. Kraft and A. Sehon, eds.). CRC Press, Boca Raton, págs. 291-293.  
 55 116A Shanti KN et al. J. Immunol. 151: 5354-5363, 1993.  
 117 Yu CJ et al. J Immunol 170: 445-453, 2003.  
 117A Miyazawa M et al. J. Allergy Clin. Immunol. 98: 948-953, 1996.  
 60 117B Asturias JA et al. Int Arch Allergy Immunol 128: 90-96, 2002.  
 117C Lopata AL et al. J. Allergy Clin. Immunol. 100: 642-648, 1997.  
 117D Hoffmann-Sommergruber K. et al. Clin. Exp. Allergy 29: 840-847, 1999.  
 118 Monsalve RI et al. Biochem. J. 293: 625-632 1993.  
 65 118A. Monsalve RI et al. 1997. Clin Exp Allergy 27:833-841.  
 119 Mena, M. et al. Plant Molec. Biol. 20: 451-458, 1992.  
 119A Palosuo K. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 108: 634-638, 2001.

- 119B** Xu H. et al. Gene 164: 255-259, 1995.  
**119C** Pastorello EA et al. J. Allergy Clin. Immunol. 94: 699-707, 1994.  
**119D** Diaz-Perales A. et al. J Allergy Clin Immunol 110: 790-796, 2002.  
**119E** Galleguillos F, Rodriguez JC. Clin Allergy 8: 21-24, 1978.  
**119F** Baur X. Clin Allergy 9: 451-457, 1979.  
**119G** Gailhofer G. et al. Clin Allergy 18: 445-450, 1988.  
**120** Menendez-Arias, L. et al. 1988. Eur. J. Biochem. 177:159-166.  
**120A** Gonzalez R. et al. Lancet 346:48-49, 1995.  
**120B** Kleine-Tebbe J. et al. J Allergy Clin Immunol 110: 797-804, 2002.  
**120C** Sanchez-Monge R. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 106: 955-961, 2000.  
**121** Gavrovic-Jankulovic M. et al. J Allergy Clin Immunol 110: 805-810, 2002.  
**121A** Pastorello EA et al. J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl. 756: 85-93, 2001.  
**121B** Moneo I. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 106: 177-182, 2000.  
**121C** Asturias JA et al. 2000. Allergy 55:898-890.  
**122** Christie, J. F. et al. 1990. Immunology 69:596-602.  
**122A** Baur X. et al. Clin Allergy 12: 9-17, 1982.  
**122B** Onisuka R. et al. Int Arch Allergy Immunol 125: 135-143, 2001.  
**123** Czuppon AB et al. J Allergy Clin Immunol 92:690-697, 1993.  
**124** Attanayaka DPSTG et al. 1991. Plant Mol Biol 16:1079-1081.  
**125** Chye ML, Cheung KY. 1995. Plant Mol Biol 26:397-402.  
**126** Alenius H. et al. 1993. Int Arch Allergy Immunol 102:61-66.  
**127** Yeang HY, Cheong KF, Sunderasan E, Hamzah S, Chew NP, Hamid S, Hamilton RG, Cardosa MJ. 1996. The 14.6 kD (REF, Hev b 1) and 24 kD (Hev b 3) rubber particle proteins are recognised by IgE from Spina Bifida patients with Latex allergy. J Allerg Clin Immunol in press.  
**128** Sunderasan E. et al. 1995. J nat Rubb Res 10:82-99.  
**129** Swoboda I. et al. 2002. J Immunol. 168:4576-84.  
**130** Vrtala et al., 2007. J Immunol. 179:1731-1739.  
**131** Valenta y Niederberger, 2007. J Allergy Clin Immunol. 119(4):826-830.  
**132** Niespodziana (13.3.2011); J. Allergy & Clin. Immunol. 127(6):1562-1570

30 De acuerdo con la presente invención, los al menos cuatro y hasta seis péptidos procedentes del al menos un alérgeno de tipo silvestre son péptidos de unión a linfocitos B.

35 Los "péptidos de unión a linfocitos B" para su uso en la vacunación contra la alergia de acuerdo con la invención proceden de o se encuentran próximos a los sitios de unión a IgE de los alérgenos, pero en sí muestran una reactividad nula o mínima con IgE en comparación con el alérgeno de tipo silvestre (Focke M et al. Clinical & Experimental Allergy 40(2010):385-397). Los requisitos para su producción y selección son conocer la secuencia primaria del alérgeno y tomar en consideración los sitios de unión a IgE. Tras la inmunización, los péptidos de unión a linfocitos B fusionados a un portador inmunogénico adecuado, son capaces de inducir la producción de IgG específicas para el alérgeno que pueden bloquear la unión de IgE al alérgeno. Puede determinarse si la IgG inducida con la proteína de fusión puede reconocer el alérgeno, por ejemplo, evaluando la reactividad de la IgG por el alérgeno completo. Los métodos adecuados incluyen ELISA, transferencia de puntos o ensayos de transferencia de Western. Se prefieren aquellos péptidos que inducen IgG que bloquean la unión de las IgE del paciente al alérgeno.

40 45 La presente invención muestra que el uso de péptidos de unión a linfocitos B adecuados, en particular cuando se fusionan cuatro o más a un portador adecuado de acuerdo con la presente invención, permite la inducción de respuestas de IgG que están más enfocadas hacia los epítopos de IgE que aquellas inducidas mediante inmunización, incluso con un alérgeno completo. Además, la invención demuestra que la combinación de los péptidos adecuados y su número con un portador adecuado puede dirigir la respuesta inmunitaria específica de alérgeno hacia una respuesta inmunitaria antialérgica favorable (caracterizada por la inducción preferencial de respuestas de IgG y no de IgE específicas de alérgeno y respuestas de citocinas tolerogénicas (IL-10) y de Th1 (interferón gamma)).

50 55 Por otra parte, se observó sorprendentemente que, a pesar del hecho de que carecen de epítopos de linfocitos T específicos de alérgeno, los polipéptidos de acuerdo con la invención que contienen 4 o más péptidos de unión a linfocitos B fusionados a un portador inmunogénico son capaces de reducir las reacciones de linfocitos T específicos de antígeno. Esto se demostró por el hecho de que la presencia de IgG específicas de alérgeno inducidas mediante la vacunación terapéutica con los polipéptidos hipoalergénicos de la presente invención reduce la activación de linfocitos T específica para el alérgeno provocada por la presentación de antígenos facilitada por IgE en las PBMC de individuos humanos alérgicos vacunados. (Fig. 16).

60 65 Dichos al menos cuatro y hasta seis péptidos muestran una capacidad de unión a IgE nula o reducida en comparación con el alérgeno de tipo silvestre y dichos al menos cuatro y hasta seis péptidos de unión a linfocitos B muestran una reactividad con linfocitos T nula o sustancialmente nula.

65 La presencia de epítopos de linfocitos T específicos de alérgeno puede dar lugar a efectos secundarios mediados por linfocitos T no deseados. Por lo tanto, los péptidos que muestran una reactividad con linfocitos T nula o

sustancialmente nula se usan para obtener los polipéptidos de la presente invención.

"Que muestran capacidad de unión a IgE reducida", como se usa en el presente documento, significa que las moléculas de acuerdo con la presente invención muestran una capacidad o actividad de unión a IgE significativamente reducida (una capacidad de unión al menos un 50 % menor, preferentemente al menos un 70 % menor, más preferentemente, al menos un 80 % menor, aún más preferentemente, al menos un 90 % menor, lo más preferentemente al menos un 95 % menor, en comparación con el alérgeno de tipo silvestre) o incluso una total ausencia de unión a IgE.

- 5 La actividad/capacidad de unión a IgE de las moléculas como péptidos y proteínas puede determinarse mediante, por ejemplo, un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) usando, por ejemplo, suero obtenido de un sujeto, es decir, un sujeto alérgico, que se ha estado expuesto previamente al alérgeno de tipo silvestre. En resumen, un péptido que se va a evaluar se recubre sobre los pocillos de una placa de microtitulación. Tras lavar y bloquear los pocillos, se incubó en los pocillos una solución de anticuerpo que consiste en el plasma de un sujeto alérgico, que ha  
 10 estado expuesto al péptido que se está ensayando o a la proteína de la que procede. Se añade a los pocillos un anticuerpo secundario marcado y se incuba. Posteriormente, se cuantifica la cantidad de unión a IgE y se compara con la cantidad de IgE unida a un alérgeno de tipo silvestre purificado.
- 15

Como alternativa, puede determinarse la actividad de unión de un péptido mediante análisis de transferencia de Western. Por ejemplo, se hace correr un péptido que se vaya a ensayar en un gel de poliacrilamida usando SDS-PAGE. Despues, se transfiere el péptido a nitrocelulosa y se incuba posteriormente con suero de un sujeto alérgico. Tras la incubación con el anticuerpo secundario marcado, se determina y cuantifica la cantidad de IgE unida.

20 Otro ensayo que puede usarse para determinar la actividad de unión a IgE de un péptido es un ensayo ELISA de competición. En resumen, se genera una reserva de anticuerpo IgE combinando plasma de sujetos alérgicos que han mostrado mediante ELISA directo que tienen reactividad de IgE con el alérgeno de tipo silvestre. Esta reserva se usa en ensayos ELISA de competición para comparar la unión de IgE al alérgeno de tipo silvestre respecto del péptido ensayado. Despues, se determina y cuantifica la unión de IgE al alérgeno de tipo silvestre y al péptido que se está ensayando.

25 30 Un "epítopo de linfocitos T" significa una proteína, péptido o polipéptido (por ejemplo, alérgeno) o un fragmento del mismo, para el que un linfocito T tiene un sitio de unión específico de antígeno, siendo el resultado de la unión a dicho sitio de unión la activación del linfocito T. La expresión "que muestra reactividad reducida con linfocitos T", como se usa en el presente documento, se refiere a moléculas que muestran una reactividad con linfocitos T que está significativamente reducida en comparación con la estimulación inducida por el alérgeno de tipo silvestre del que procede la molécula hipoalergénica usando cantidades equimolares en ensayos convencionales conocidos en la técnica (la reactividad con linfocitos T reducida significa al menos un 30 %, preferentemente, al menos un 50 %, más preferentemente, al menos un 70 %, lo más preferentemente, al menos un 90 %, menos de estimulación de moléculas hipoalergénicas, en comparación con el alérgeno de tipo silvestre en cantidades equimolares). En una realización particular preferida de la presente invención, las moléculas pueden "carecer" de epítopos para linfocitos T y por lo tanto, la molécula muestra una reactividad con linfocitos T reducida en los individuos que se van a tratar (es decir, quien va a recibir una molécula de plataforma de valencia presentadora de epítopos). Es probable que, por ejemplo, una molécula derivada de un alérgeno pueda carecer de epítopos para linfocitos T respecto de un individuo o un grupo de individuos, mientras que poseen epítopos para linfocitos T respecto de otros individuos. Los métodos para detectar 35 40 la presencia de un epítopo para linfocitos T se conocen en la técnica e incluyen ensayos que detectan la proliferación de linfocitos T (tal como la incorporación de timidina). Generalmente, se considera que los inmunógenos que no logran inducir una incorporación estadísticamente significativa de timidina por encima del nivel de fondo (es decir, una p generalmente menor de 0,05 usando métodos estadísticos convencionales) carecen de epítopos para linfocitos T, aunque se apreciará que puede variar la cantidad cuantitativa de incorporación de timidina, dependiendo del inmunógeno que se esté evaluando (véase, por ejemplo, Zhen L. et al. (Infect Immun. (2003) 71:3920-3926)). En general, un índice de estimulación por debajo de aproximadamente 2-3, más preferiblemente menor de aproximadamente 1, indica la ausencia de reactividad con y de epítopos para linfocitos T. También puede determinarse la presencia de epítopos para linfocitos T midiendo la secreción de linfocinas procedentes de linfocitos T de acuerdo 45 50 con métodos convencionales. Puede calcularse el índice de estimulación (IE) dividiendo la tasa de proliferación (captación de timidina) de las células estimuladas entre la tasa de proliferación de las células no estimuladas solo en medio. Un IE=1 significa falta de estimulación y un IE > 1 indica estimulación de las células. La ubicación y el contenido de epítopos para linfocitos T, en caso de estar presentes, pueden determinarse empíricamente.

55 60 Además de la estimulación de linfocitos T, puede determinarse la secreción de citocinas. Por ejemplo, El IFN-gamma y la IL-10, como biomarcadores para una actividad aumentada de linfocitos T reguladores, se han reconocido como citocinas que acompañan a una immunoterapia contra la alergia exitosa.

65 Los fragmentos peptídicos de la presente invención están compuestos o consisten preferentemente en los aminoácidos 151 a 177, 87 a 117, 1 a 30, 43 a 70 o 212 a 241 de Phl p 1, los aminoácidos 1 a 33, 8 a 39, 34 a 65 o 66 a 96 de Phl p 2, los aminoácidos 93 a 128, 98 a 128, 26 a 53, 26 a 58, 132 a 162, 217 a 246, 252 a 283 o 176 a 212 de Phl p 5, los aminoácidos 23 a 54, 56 a 90, 73 a 114 o 95 a 127 de Phl p 6, los aminoácidos 1 a 34 o 35 a 70

de la cadena 1 de Fel d 1, los aminoácidos 1 a 34, 35 a 63 o 64 a 92 de la cadena 2 de Fel d 1, los aminoácidos 30 a 59, 50 a 79, 75 a 104, 30 a 74 o 60 a 104 de Bet v 1, los aminoácidos 1 a 30, 52 a 84 o 188 a 222 de Der p 1, los aminoácidos 1 a 33, 21 a 51, 42 a 73, 62 a 103 o 98 a 129 de Der p 2, los aminoácidos 1 a 30, 20 a 50, 50 a 80, 90 a 125, 125 a 155 o 165 a 198 de Der p 7, los aminoácidos 1-35, 36-70, 71-110, 111-145, 140-170, 175-205, 210-250 o 250-284 de Der p 10, los aminoácidos 1 a 35, 35 a 72, 70 a 100 o 90 a 122 de Der p 21, los aminoácidos 1 a 32, 15 a 48 o 32 a 70, 32 a 60, 52 a 84, 32 a 70 (Cys->Ser) de Der p 23, los aminoácidos 19 a 58, 59 a 95, 91 a 120 o 121 a 157 de Alt a 1, los aminoácidos 31 a 60, 45 a 80, 60 a 96 o 97 a 133 de Par j 2, los aminoácidos 1 a 40, 36 a 66, 63 a 99, 86 a 120 o 107 a 145 de Ole e 1, los aminoácidos 25 a 58, 99 a 133, 154 a 183, 277 a 307, 334 a 363, 373 a 402, 544 a 573, 579 a 608, 58 a 99, 125 a 165, 183 a 224, 224 a 261, 252 a 289, 303 a 340, 416 a 457, 460 a 500 o 501 a 542 de Fel d 2, los aminoácidos 19 a 58, 52 a 91, 82 a 119, 106 a 144 o 139 a 180 de Can f 2, los aminoácidos 19 a 56, 51 a 90, 78 a 118, 106 a 145 o 135-174 de Can f 1, los aminoácidos 27 a 70, 70 a 100 o 92 a 132 de Art v 1, los aminoácidos 31 a 70, 80 a 120, 125 a 155, 160 a 200, 225 a 263, 264 a 300, 305 a 350 o 356 a 396 de Amb a 1, los aminoácidos 1 a 34, 35 a 74, 74 a 115, 125 a 165, 174 a 213, 241 a 280, 294 a 333, 361 a 400 o 401 a 438 de Alt a 6, los aminoácidos 1 a 40, 41 a 80, 81 a 120, 121 a 160 de Alt a 2 o fragmentos o variaciones de secuencia de los mismos.

Las secuencias de aminoácido específicas de las moléculas procedentes de alérgeno anteriormente identificadas son (los péptidos en la tabla a continuación que tienen un resto de cisteína N y/o C-terminal (C) que se usa en el polipéptido de la presente invención pueden carecer de dicho resto de cisteína):

20	Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
	Pep Alt a 1.1	19-58	APLESRQDTASCPVTTEGDYVWKISEFYGRKPEGTYYN SL	23	
	Pep Alt a 1.2	59-95	GFKNIKATNGGTLDFCSAQADKLEDHKWYSCGENSFM	24	
	Pep Alt a 1.3	91-120	ENSFMDFSFDSDRSGLLKQKVSDDITYVA	25	
	Pep Alt a 1.4	121-157	TATLPNYCRAGGNGPKDFVCQGVADAYITLVTLPKSS	26	
	Pep Alt a 2.1	1-40	MHSSNNFFKDNIFRSLSKEDPDYSRNIEGQVIRLHWWDW AQ	27	
	Pep Alt a 2.2	41-80	LLMLSAKRMKVAFKLDIEKDQRVWDRCTADDLKGRN GFKR	28	
	Pep Alt a 2.3	81-120	CLQFTLYRPRDLLSLLNEAFFSAFRENRETIINTDLEYAA	29	
	Pep Alt a 2.4	121-160	KSIISMARLEDLWKEYQKIFPSIQVITSAFRSIEPELTVYT	30	
	Pep Alt a 2.5	161-190	CLKKIEASFELIEENGDPKITSEIQLLKAS	31	
	Pep Alt a 6.1	1-34	MTITKIHARSVYDSRGNPTEVDIVTETGLHRAI	32	
	Pep Alt a 6.2	35-74	VTETGLHRAIVPSGASTGSHEACELRDGDKSKWGGKGV TK	33	
	Pep Alt a 6.3	74-115	APALIKEKLDVKDQSAVDAFLNKLDGTTNKTNLGANAI LGVS	34	
	Pep Alt a 6.4	125-165	EKGVPPLYAHISDLAGT KKPYVLPVPF QNVLNGGSHAGGRLA	35	
	Pep Alt a 6.5	174-213	CEAPTFSEAMRQGAEVYQKLKALAKKTYGQSAGNVGD EGG	36	
	Pep Alt a 6.6	241-280	IKIAMDVASSEFYKADEKKYDLDFKNPDSDKSKWLTYE QL	37	
	Pep Alt a 6.7	294-333	VSIEDPFAEDDWEAWSYFFKTYDGQIVGDDLTVNPEFI K	38	

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Pep Alt a 6.8	361-400	AKDAFGAGWGVMVSHRSGETEDVTIADIVVGLRSGQIK TG	39	
Pep Alt a 6.9	401-438	APARSERLAKLNQILRIEELGDNAVYAGNNFRTAVNL	40	
Pep Amb a 1.1	31-70	EILPVNETRRLTSGAYNIIDGCWRGKADWAENRKALA DC	41	
Pep Amb a 1.2	80-120	GGKDGDIYTVTSELDDD VANPKEGTLRGAAQNRLWI IFE	42	
Pep Amb a 1.3	125-155	IRLDKEMVVNSDKTIDGRGA KVEIINAGFTL	43	
Pep Amb a 1.4	160-200	NVIIHNINMHDVKVNPGGLIKSNDGPAAPRAGSDGDAIS IS	44	
Pep Amb a 1.5	225-263	GTTRLTVSNSLFTQHQFVLLFGAGDENIEDRGMLATVA F	45	
Pep Amb a 1.6	264-300	NTFTDNVDQRMPRCRHGFQVVNNYDKWGSY AIGGS	46	
Pep Amb a 1.7	305-350	ILSQGNRFCAPDERSKKNVLGRHGEAAAESMKWNWRT NKDVLENGA	47	
Pep Amb a 1.8	356-396	GVDPVLTPEQSAGMIPAEPGESALS LTSSAGVLSCQPGA PC	48	
Pep Art v 1.1	27-70	SKLCEKT SKTYS GKCDN KKCD KK CIEWEKAQHGACHK REAGKES	49	
Pep Art v 1.2	70-100	SCFCYFDCSKSPPGATPAPP GAAPPAAGGS	50	
Pep Art v 1.3	92-132	APPPAAGGSPSPPADGGSPPPP ADGGSPV DGGSPPPP ST H	51	
Can f 1 Pep 1	19-56	QDTPALGKDT VAVSGK WYLKAMTADQEVPEKPD SVTP M	52	
Can f 1 Pep 2	51-90	DSVTPMILKAQKGGNLEAKITMLTNGQCQNITVVLHKT SE	53	
Can f 1 Pep 3	78-118	CQNITVVLHKTSEPGKYTAYEGQRVVF IQPSPVRDHYIL YC	54	
Can f 1 Pep 4	106-145	QPSPVRDHYI LYCEGELHGRQIRMAKLLGRDPEQS QEA LE	55	
Can f 1 Pep 5	135-174	RDPEQS QEALED FREFSRAKGLNQEILELAQSET CSPGG Q	56	
Can f 2 Pep 1	19-58	QEGNHEEPQGGLEELSGRWHSVALASNKS DLI PWGHF RV	57	
Can f 2 Pep 2	52-91	PWGHFRVFIHSMSAKDGNLHGDILIPQDGQCEKVSLTAF K	58	
Can f 2 Pep 3	82-119	CEKVSLTAFKTATSNKF DLEYWGHNDLYLAEVDPKSYL	59	

# ES 2 720 140 T3

<b>Péptido</b>	<b>Posición</b>	<b>Secuencia</b>	<b>SEQ NO:</b>	<b>ID</b>
Can f 2 Pep 4	106-144	NDLYLAEVDPKSYLILYMINQYNDDTSLVAHLMVRDLSR	60	
Can f 2 Pep 5	139-180	VRDLSRQQDFLPAFESVCEDIGLHKDQIVVLSDDDRCQGSRD	61	
Fel d 2 Pep 1	25-58	EAHQSEIAHRFNDLGEHFRLGLVLAFAFSQYQLQQC	62	
Fel d 2 Pep 2	99-133	CTVASLRDKYGEMADCCEKKEPERNECFLQHKDDN	63	
Fel d 2 Pep 3	154-183	NEQRFLGKYLYEIARRHPFYAPELLYYAE	64	
Fel d 2 Pep 4	277-307	CADDRADLAKYICENQDSISTKLKECCGKPV	65	
Fel d 2 Pep 5	334-363	VEDKEVCKNYQEAKDVFLGTFLEYEYSRRHP	66	
Fel d 2 Pep 6	373-402	LAKEYEATLEKCCATDDPPACYAHVFDEFK	67	
Fel d 2 Pep 7	544-573	EKQIKKQSALVELLKHKPKATEEQLKTVMG	68	
Fel d 2 Pep 8	579-608	VDKCCAAEDKEACFAEEGPKLVAAAQAALA	69	
Fel d 2 Pep 9	58-99	CPFEDHVKLVNEVTEFAKGCVADQSAANCEKSLHELLGDKLC	70	
Fel d 2 Pep 10	125-165	CFLQHKDDNPFGQLVTPEADAMCTAFHENEQRFLGYLYE	71	
Fel d 2 Pep 11	183-224	EEYKGVFTECCEAADKAACLTPKVDALREKVЛАSSAKERLKC	72	
Fel d 2 Pep 12	224-261	CASLQKFGERAFAWSVARLSQKFPKAFAEISKLVTD	73	
Fel d 2 Pep 13	252-289	FAEISKLVTDLAKIHKECCHGDLLECADDRADLAKYIC	74	
Fel d 2 Pep 14	303-340	CGKPVLEKSHCISEVERDELPADLPLAVDFVEDKEVC	75	
Fel d 2 Pep 15	416-457	CELFEKLGEYGFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRLSGKV	76	
Fel d 2 Pep 16	460-500	CTHPEAERLSCAEDYLSVVLNRLCVLHEKTPVSEVRTK C	77	
Fel d 2 Pep 17	501-542	CTESLVNRRPCFSALQVDETYVPKEFSAETFTFHADLCT LPE	78	
Pep Ole e 1.1	1-40	EDIPQPPVSQFHIQGQVYCDTCRAGFITELSEFIPGASLR	79	
Pep Ole e 1.2	36-66	GASLRLQCKDKENGDTVTEVGYTRAEGLYS	80	
Pep Ole e 1.3	63-99	GLYSMLVERDHKNEFCEITLISSGRKDCNEIPTEGWA	81	
Pep Ole e 1.4	86-120	GRKDCNEIPTEGWAKPSLKFKLNTVNGTTRTVNPL	82	
Pep Ole e 1.5	107-145	LNTVNGTTRTVNPLGFFKKEALPKCAQVYNKLGMYPP NM	83	
Pep Par j 2.1	31-60	GEEACGKVVQDIMPCLHFVKGEEKEPSKEC	84	
Pep Par j 2.2	45-80	CLHFVKGEEKEPSKECCSGTKKLSEEVKTTEQKREA	85	
Pep Par j 2.3	60-96	CCSGTKKLSEEVKTTEQKREACKCIVRATKGISGIKN	86	
Pep Par j 2.4	97-133	ELVAEVPKKCDIKTLLPPIADFDCSKIQSTIFRGYY	87	

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Der p 1 Pep 1	1-30	TNACISINGNAPAEIDLQMRTVTPIRMQGG	88	
Der p 1 Pep 2	52-84	NQSLDLAEQELVDCASQHGCHGDTIPRGIEYIQ	89	
Der p 1 Pep 3	85-115	HNGVVQESYYRYVAREQSCRRPNAQRFGISN	90	
Der p 1 Pep 4	99-135	REQSCRRPNAQRFGISNYCQIYPPNVNKIREALAQTH	91	
Der p 1 Pep 5	145-175	KDLDAFRHYDGRGRTIIQRDNGYQPNTYHAVNIV	92	
Der p 1 Pep 6	155-187	GRTIIQRDNGYQPNTYHAVNIVGYSNAQGVDYWI	93	
Der p 1 Pep 7	175-208	VGYSNAQGVDYWIVRNSWDTNWGDNGYGYFAANI	94	
Der p 1 Pep 8	188-222	VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVIL	95	
Der p 1 Pep 1,2	1-41	TNACISINGNAPAEIDLQMRTVTPIRMQGGCGSCWAFS GVA	143	
Der p 1 Pep 2,2	42-82	ATESAYLARNQSLDLAEQELVDCASQHGCHGDTIPRG IEYIQ	144	
Der p 1 Pep 9	27-57	MQGGCGSCWAWSGVAATESAYLARNQSLD	145	
Der p 2 Pep 1	1-33	DQVDVKDCANHEIKKVLVPGCHGSEPCIIHRGK	96	
Der p 2 Pep 2	21-51	CHGSEPCIIHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAK	97	
Der p 2 Pep 3	42-73	EANQNSKTAKIEIKASIEGLEVDVPGIDPNAC	98	
Der p 2 Pep 4	62-103	EVDPGIDPNACHYMKCPLVKKGQQYDIKYTWIVPKIAP KSEN	99	
Der p 2 Pep 5	98-129	APKSENVVVTVKVMGDNGVLACAIATHAKIRD	100	
Der p 5 Pep 1	1-35	MEDKKHDYQNEFDLLMERIHEQIKKGELALFYLQ	101	
Der p 5 Pep 2	25-60	KKGELALFYLQEIQINHFEEKPTKEMKDVKIAEMDTI	102	
Der p 5 Pep 3	65-95	DGVRGVLDRLMQRKDLDIFEQYNLEMAKKSG	103	
Der p 5 Pep 4	78-114	DLDIFEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEARVKKIEV	104	
Der p 7 Pep 1	1-30	DPIHYDKITEEINKAVDEAAIEKSETFD	105	
Der p 7 Pep 2	20-50	VAAIEKSETFDPMKVPDHSDKFERHIGIDL	106	
Der p 7 Pep 3	50-80	LKGELDMRNIQVRGLKQMKRVDANVKSEDG	107	
Der p 7 Pep 4	90-125	VHDDVVSMEYDLAYKLGLHPNTHVISDIQDFVVEL	108	
Der p 7 Pep 5	125-155	LSLEVSEEGNMTLTSFEVRQFANVVNHIGGL	109	
Der p 7 Pep 6	165-198	LSDVLTAIFQDTVRAEMTKVLAPAFKKELERNNQ	110	
Der p 10 Pep 1	1-35	MEAIIKKMQAMKLEKDNAIDRAEIAEQKARDANLR	111	
Der p 10 Pep 2	36-70	AEKSEEVRALQKKIQQIENELDQVQEQLSAANTK	112	
Der p 10 Pep 3	71-110	LEEKEKALQTAEGDVAALNRRIQLIEDLERSEERLKIA T	113	
Der p 10 Pep 4	111-145	AKLEEASQSADSERMRKMLEHRSITDEERMGGLE	114	
Der p 10 Pep 5	140-170	RMEGLENQLKEARMMAEDADRKYDEVARKLA	115	
Der p 10 Pep 6	175-205	DLERAEEAETGESKIVELEELRVVGNNLK	116	

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Der p 10 Pep 7	210-250	SEEKAQQREEAHEQQIRIMTTKLKEAERAEFAERSVQ KLQ	117	
Der p 10 Pep 8	250-284	QKEVDRLEDELVHEKEKYKSISDELDQTFAELTGY	118	
Der p 21 Pep 1	1-35	MFIVGDKKEDEWRMAFDRLMMEELETKIDQVEKGL	119	
Der p 21 Pep 2	35-72	LHLSEQYKELEKTKSKELKEQILRELTIGENFMKGAL	120	
Der p 21 Pep 3	70-100	GALKFFEMEAKRTDLNMFERYNYEFALESIK	121	
Der p 21 Pep 4	90-122	YNYEFALESIKLLIKLDELAKKVAVNPDEYY	122	
Der p 23 Pep 1	1-32	MANDNDDDPTTVHPTTEQPDDKFECPSRFG	123	
Der p 23 Pep 2	15-48	PTTTEQPDDKFECPSRFGYFADPKDPHKFYICSN	124	
Der p 23 Pep 3	32-70	GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEE TCT	125	
Der p 23 Pep 4	32-60	GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNT	146	
Der p 23 Pep 5	42-70	KFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT	147	
Der p 23 Pep 6	32-70* (Cys->Ser)	GYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETS T	148	
Bet v 1 Pep 1	30-59	LFPKVAPQAISSEVENIEGGNGPGTIKKISF	126	
Bet v 1 Pep 2	50-79	GPGTIKKISFPEGFPFKYVKDRVDEVDTHTN	127	
Bet v 1 Pep 3	75-104	VDHTNFKYNYSVIEGGPIGDTLEKISNEIK	128	
Bet v 1 Pep A	30-74	LFPKVAPQAISSEVENIEGGNGPGTIKKISFPEGFPFKYVK DRVDE	143	
Bet v 1 Pep B	60-104	PEGFPFKYVKDRVDEVDTNFKYNYSVIEGGPIGDTLEK ISNEIKI	144	
Fel d 1 cadena 1 Pep 1	1-34	EICPAVKRDVDFLFTGTPDEYVEQVAQYKALPVVC	129	
Fel d 1 cadena 1 Pep 2	35-70	LENARILKNCVDAKMTEEDKENALSLLDKIYTSPLC	130	
Fel d 1 cadena 2 Pep 1	1-34	VKMAITCPIFYDVFFAVANGNELLDSLTKVNAC	131	
Fel d 1 cadena 2 Pep 2	35-63	TEPERTAMKKIQDCYVENGLISRVLGLVC	132	
Fel d 1 cadena 2 Pep 3	64-92	CMTTISSSKDCMGEAVQNTVEDLKLNTLGR	133	
Phl p 5 Pep 1	98-128	CGAASNKAFAEGLSGEPKGAAESSSKAALT	134	
Phl p 5 Pep 2	26-58	ADLGYPATPAAPAAGYTPATPAAPAEAAPAGKC	135	
Phl p 5 Pep 3	132-162	AYKLAYKTAEGATPEAKYDAYVATLSEALRIC	136	
Phl p 5 Pep 4	217-246	CEAAFNDAIKASTGGAYESYKFIPALEAAVK	137	
Phl p 5 Pep 5	252-283	TVATAPEVKYTVFETALKKAITAMSEAQKAACK	138	
Phl p 5 Pep 6	176-212	CAEEVKVIPAGELVIEKVDAAFKVAATAANAAPAND K	139	
Phl p 5 Pep 1a	93-128	CFVATFGAASNKAFAEGLSGEPKGAAESSSKAALT	141	

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Phl p 5 Pep 2b	26-53	ADLGYPATPAAPAAAGYTPATPAAPAEAC	142	
Phl p 5 Pep 7	59-91	ATTEEQKLIKEKINAGFKAALAAAAGVQPADKYR	22	
Phl p 1 Pep 1	151-171	HVEKGNSNPNYLALLVKYVNGDGDVVAVC	1	
Phl p 1 Pep 2	87-117	EPVVVHITDDNEEPIAPYHFDSLGHAFGAMAC	2	
Phl p 1 Pep 3	1-30	IPKVPPGPNITATYGDKWLDAKSTWYGKPTGC	3	
Phl p 1 Pep 4	43-70	GYKDVDKPPSGMTGCGNTPIFKSGRGC	4	
Phl p 1 Pep 5	212-241	CVRYTTEGGTKTEAEDVIPEGWKADTSYESK	5	
Phl p 2 Pep 1	1-33	VPKVFTFVEKGSNEKHLAVLVKYEGDTMAEVELC	6	
Phl p 2 Pep 2	28-39	CVEKGSNEKHLAVLVKYEGDTMAEVELREHGSD	7	
Phl p 2 Pep 3	34-65	REHGSDEWVAMTKGEGGVWTFDSEEPLQGPFNC	8	
Phl p 2 Pep 4	66-96	CFRFLTEKGMKNVFDDVVPEKYTIGATYAPEE	9	
Phl p 6 Pep 1	23-54	GKATTEEQKLIEDVNASFRAAMATTANVPPAD	10	
Phl p 6 Pep 2	56-90	YKTFFAAFTVSSKRNLADAVSKAPQLVPKLDEVYN	11	
Phl p 6 Pep 3	95-127	AADHAAPEDKY EAFVLHFSEALRIIAGTPEVHA	12	
Phl p 6 Pep 4	73-114	DAVSKAPQLVPKLDEVYNAAYNAADHAAPEDKY	13	

\*) Cisteínas intercambiadas por serinas (marcadas en negrita)

Las expresiones "fragmentos de los mismos" y "variaciones de secuencia de los mismos" se refieren a péptidos que se deducen de las moléculas procedentes de alérgenos divulgadas en el presente documento y muestran propiedades bioquímicas (por ejemplo, la capacidad para prevenir la unión de IgE al alérgeno del que proceden estas moléculas) que son comparables o idénticas a dichas moléculas derivadas de alérgeno. Los fragmentos para los fines de la presente invención constan de 20 a 50 restos de aminoácido consecutivos de la molécula procedente de alérgeno. La expresión "variación de secuencia" incluye modificaciones de los péptidos, tal como fragmentación (véase lo anterior), sustituciones de aminoácido (en particular, pueden intercambiarse restos de cisteína o metionina por serina, alanina u otros aminoácidos o derivados de aminoácidos naturales o no naturales), eliminaciones o adiciones. "Variación de secuencia" también se refiere a dichas moléculas procedentes de alérgeno de la tabla anterior, en donde al menos 1, preferentemente al menos 2, más preferentemente al menos 3, aún más preferentemente al menos 4 (5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20) restos de aminoácido se añaden al extremo C y/o N-terminal.

Cabe destacar que el alérgeno citado en el presente documento como "alérgeno de clon 30" es un alérgeno procedente del ácaro del polvo doméstico, *Dermatophagoides pteronyssinus* y consiste en la siguiente secuencia: MANDNDDDPPTTVHPTTTEQPDDKFECPSRGYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCP GNTRWNEDEETCT (SEQ ID NO: 140; véase también el documento WO 2007/124524). Mientras tanto, se ha asignado el nombre del alérgeno Der p 23 al alérgeno de clon 30. Esto significa que Der p 23 y alérgeno de clon 30 son sinónimos.

De acuerdo con la presente invención, la proteína PreS de hepatitis B comprende al menos dos fragmentos peptídicos de unión a linfocitos B procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre fusionado a su extremo N-terminal y al menos dos fragmentos peptídicos de unión a linfocitos B procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre fusionado a su extremo C-terminal.

Al menos dos de dichos tres péptidos de unión a linfocitos B pueden ser idénticos.

El polipéptido de la presente invención puede usarse como vacuna en el tratamiento o la prevención de una alergia en un ser humano o un animal.

El polipéptido se administra preferentemente a un individuo en una cantidad de 0,01 microgramos por kg de peso corporal a 5 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 0,1 microgramos por kg de peso corporal a 10 microgramos por kg de peso corporal.

Los polipéptidos de la presente invención pueden administrarse a un individuo en una cantidad de al menos 10 µg, preferentemente, de al menos 20 µg por polipéptido. La cantidad máxima de polipéptidos a administrar puede variar, pero preferentemente es menor de 100 µg, más preferentemente, menor de 50 µg, aún más preferentemente, 40 µg o menos, por polipéptido.

La cantidad de polipéptidos que puede combinarse con los excipientes para producir una forma farmacéutica unitaria variará dependiendo del hospedador tratado y del modo de administración particular. La dosis de la vacuna puede variar dependiendo de factores tales como la patología, la edad, el sexo y el peso del individuo y de la capacidad del anticuerpo para provocar una respuesta deseada en el individuo. Las pautas posológicas se pueden ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, pueden administrarse varias dosis divididas a diario o puede reducirse la dosis proporcionalmente según indiquen las exigencias de la situación terapéutica. También puede variarse la dosis de la vacuna para provocar una respuesta a la dosis preventiva óptima, dependiendo de las circunstancias. Por ejemplo, pueden administrarse los polipéptidos y la vacuna de la presente invención a un individuo en intervalos de varios días, una o dos semanas o incluso meses, siempre dependiendo del nivel de inducción de IgG específica para el alérgeno.

El polipéptido/vacuna puede aplicarse entre 2 y 10, preferentemente entre 2 y 7, aún más preferentemente, hasta 5 y lo más preferentemente hasta 3 veces. El intervalo de tiempo entre las vacunaciones posteriores puede seleccionarse para que sea entre 2 semanas y 5 años, preferentemente entre 1 mes y hasta 3 años, más preferentemente entre 2 meses y 1,5 años. La administración repetida del péptido/vacuna de la presente invención puede maximizar el efecto final de una vacunación terapéutica.

Pueden unirse tres o más péptidos de unión a linfocitos B seleccionados entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 142 y SEQ ID NO: 10 en N y C-terminal a un polipéptido de superficie del virus de la familia hepadnaviridae, preferentemente, el polipéptido PreS de hepatitis o fragmentos del mismo.

Los polipéptidos de la presente invención que comprenden los al menos tres péptidos de unión a linfocitos B procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre se seleccionan preferentemente entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de acuerdo con la presente invención.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un vector que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención.

Dicho vector es preferentemente un vector de expresión.

El vector que porta la molécula de ácido nucleico de la presente invención puede usarse con fines de clonación o para la producción de vectores de expresión. Dicho vector puede ser un plásmido, cósmido, virus, bacteriófago o cualquier otro vector comúnmente usado en ingeniería genética y puede incluir, además de la molécula de ácido nucleico de la invención, elementos de eucariota o procariota para el control de la expresión, tal como secuencias reguladoras para el inicio y la terminación de la transcripción y/o la traducción, potenciadores, promotores, secuencias de señal y similares.

El vector puede ser un vector bacteriano, fúngico, de insecto, vírico o de mamífero.

El vector de la presente invención puede emplearse preferentemente para fines de clonación y expresión en diversos hospedadores, tales como bacterias, levaduras, hongos filamentosos, células de mamífero, células de insecto, células vegetales o cualquier otra célula procariota o eucariota. Por lo tanto, dicho vector comprende, aparte de un ácido nucleico que codifica una molécula hiperalergénica o proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, secuencias reguladoras específicas del hospedador.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un hospedador que comprende una molécula de ácido nucleico o un vector de acuerdo con la presente invención.

La molécula de ácido nucleico y el vector de acuerdo con la presente invención pueden introducirse en un hospedador adecuado. Dicha molécula puede incorporarse en el genoma del hospedador. El vector puede existir de manera extracromosómica en el citoplasma o incorporarse en el cromosoma del hospedador.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una formulación de vacuna que comprende al menos un polipéptido de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, puede contener al menos dos, tres y más preferentemente al menos cuatro polipéptidos de este tipo.

La vacuna puede comprender al menos uno, preferentemente, al menos dos, preferentemente, al menos tres, preferentemente, al menos cuatro, preferentemente al menos 5, polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151 y SEQ ID NO: 152. Dependiendo de la composición, dicha vacuna puede usarse en el tratamiento y/o la prevención de alergias al polen.

de gramíneas, alergias al polen de abedul, alergias al ácaro del polvo doméstico o una combinación de dichas alergias en individuos que padecen dichas alergias o que se encuentran en riesgo de padecerlas.

- 5 El término "prevenir", como se usa en el presente documento, abarca medidas no solo para prevenir la aparición de la enfermedad, tal como la reducción de factores de riesgo, sino también a detener su progresión y reducir sus consecuencias una vez establecida. "Prevenir" también significa prevenir la sensibilización de un individuo que se encuentra en riesgo de adquirir una alergia.
- 10 Como se usa en el presente documento, el término "tratamiento" o los equivalentes gramaticales abarcan la mejora y/o reversión de los síntomas de enfermedad (por ejemplo, alergia). Un compuesto que provoca una mejora en cualquier parámetro asociado con la enfermedad, cuando se usa en los métodos de exploración de la presente invención, puede identificarse, por tanto, como un compuesto terapéutico. El término "tratamiento" se refiere tanto a tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas.
- 15 De acuerdo con una de las realizaciones más preferidas de la presente invención, la vacuna comprende polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17.
- De acuerdo con otra realización preferida de la presente invención, la vacuna comprende polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y/o SEQ ID NO: 19.
- 20 25 De acuerdo con una realización particularmente preferida de la presente invención, la vacuna comprende polipéptidos de la presente invención que comprenden fragmentos de alérgeno procedentes de alérgenos del ácaros del polvo doméstico. Se prefieren particularmente los restos de aminoácido 1 a 33, 21 a 51, 42 a 73, 62 a 103 o 98 a 129 de Der p 2, los restos de aminoácido 1 a 30, 20 a 50, 50 a 80, 90 a 125, 125 a 155 o 165 a 198 de Der p 7, los restos de aminoácido 1 a 35, 35 a 72, 70 a 100 o 90 a 122 de Der p 21, los aminoácidos 1 a 32, 15 a 48 o 32 a 70, 32 a 60, 52 a 84, 32 a 70 (Cys->Ser) de Der p 23, los restos de aminoácido 1 a 30, 1 a 41, 27 a 57, 42 a 82, 52 a 84, 85 a 115, 99 a 135, 145 a 175, 155 a 187, 175 a 208 o 188 a 222 de Der p 1. Más preferentemente, la vacuna comprende al menos uno de los polipéptidos de SEQ ID NO: 149 a 152 (mostrados en las Fig. 18A-D).
- 30 35 40 45 50 La formulación de vacuna de acuerdo con la presente invención puede administrarse 4 veces por año de tratamiento a lo largo de un periodo de tratamiento total de 1 a 5 años, preferentemente durante 2 a 3 años. De dichas 4 administraciones anuales, 3 se aplican dentro de un periodo de 6 a 12, preferentemente, 8, semanas que tienen intervalos de 3 a 6 semanas, preferentemente 4 semanas, entre la administración 1 y 2 y otras 3 a 6 semanas, preferentemente 4 semanas, entre las administraciones 2 y 3. La cuarta aplicación se aplica de 3 a 7 meses después de la tercera administración. En caso de que el periodo de tratamiento total sea superior a 1 año, se aplica la misma pauta posológica en los siguientes años de tratamiento.
- Para el tratamiento de las alergias estacionales (por ejemplo, alergias al polen, tales como alergia al polen de gramíneas o alergias al polen de abedul), las administraciones 1, 2 y 3 se programan preferentemente antes de la estación respectiva con exposición al alérgeno (estación de polen) y la cuarta administración se pauta después de la estación.
- La formulación de vacuna de acuerdo con la presente invención puede formularse como se conoce en la técnica y ajustarse según sea necesario al modo de administración de dicha formulación de vacuna.
- Las formas de administración preferidas de la formulación de vacuna (de la presente invención) incluyen todos los regímenes de administración convencionales descritos y sugeridos para la vacunación en general y específicamente para la inmunoterapia contra alergias (por vía oral, transdérmica, intravenosa, intranasal, por vía mucosa, rectal, etc.). Sin embargo, se prefiere particularmente administrar las moléculas y proteínas de acuerdo con la presente invención por vía subcutánea o intramuscular.
- La formulación de vacuna de acuerdo con la presente invención puede comprender únicamente una proteína de la cápside vírica o fragmentos de la misma de un miembro del género hepadnaviridae. Dicha formulación comprende además preferentemente al menos un adyuvante, excipiente farmacéuticamente aceptable y/o conservante.
- A fin de aumentar la inmunogenicidad de las moléculas hipoolergénicas de acuerdo con la presente invención, pueden usarse adyuvantes, por ejemplo, en un medicamento de acuerdo con la presente invención. Un adyuvante de acuerdo con la presente invención es un agente auxiliar que, cuando se administra junto con o en paralelo con un antígeno, aumenta su inmunogenicidad y/o influencia la calidad de la respuesta inmunitaria. Por lo tanto, el adyuvante puede, por ejemplo, tener una influencia considerable en el alcance de la respuesta inmunitaria humorla o celular. Los adyuvantes convencionales son, por ejemplo, compuestos de aluminio, compuestos que contienen lípidos o microbacterias inactivadas.
- En general, los adyuvantes pueden ser de diferentes formas, a condición de que sean adecuados para su administración a seres humanos. Los ejemplos adicionales de dichos adyuvantes son emulsiones de aceite de origen mineral o vegetal, compuestos minerales, tales como fosfato o hidróxido de aluminio o fosfato de calcio, productos

bacterianos y derivados, tales como P40 (procedente de la pared celular de *Corynebacterium granulosum*), lípido A de monofosforilo (MPL, derivado del LPS) y derivados del péptido de muramilo y conjugados del mismo (derivados de componentes de microbacterium), alumbre, adyuvante incompleto de Freund, liposina, saponina, escualeno, etc. (véase, por ejemplo, Gupta R. K. et al. (Vaccine 11:293-306 (1993)) y Johnson A. G. (Clin. Microbiol. Rev. 7:277-289).

5 El medicamento de la presente invención comprende como adyuvante, más preferentemente, alumbre.

Se prefiere particularmente una combinación de más de una proteína de fusión que contiene péptidos hipoalergénicos y la proteína PreS de hepatitis B. Estas combinaciones pueden derivarse de péptidos de un solo alérgeno o de diferentes alérgenos de la misma fuente de alérgeno o de varias fuentes de alérgeno diferentes.

10 Se prefiere particularmente una mezcla de cuatro proteínas de fusión que contienen péptidos hipoalergénicos de Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 y Phl p 6 y la proteína PreS del virus de la hepatitis B.

15 Se prefiere particularmente una proteína de fusión o una mezcla de 2 proteínas de fusión que contienen péptidos hipoalergénicos de Bet v 1 y la proteína PreS del virus de la hepatitis B.

20 Se prefiere una mezcla de al menos 2 proteínas de fusión que contienen péptidos hipoalergénicos de alérgenos de ácaros del polvo doméstico, más preferentemente seleccionados entre Der p 1, Der p 2, Der p 5, Der p 7, Der p 21 y Der p 23 y la proteína PreS del virus de la hepatitis B. Más preferentemente, la mezcla contiene 3 proteínas de fusión que contienen péptidos hipoalergénicos procedentes de Der p 1, Der p 2 y Der p 23. Se prefiere particularmente que la mezcla comprenda al menos uno, preferentemente, al menos dos, más preferentemente al menos tres, de los polipéptidos mostrados en las SEQ ID NO: 149 a 152 (véase también las Fig. 18A-D).

25 En general, pueden prepararse formulaciones de vacuna específicas de acuerdo con la presente invención para el tratamiento o la prevención de diferentes alergias mediante la combinación de polipéptidos hipoalergénicos de la invención que representan los alérgenos clínicamente relevantes de una fuente de alérgeno. Los métodos para determinar los alérgenos clínicamente relevantes de una fuente de alérgeno se conocen en la técnica y se han descrito con anterioridad (Valenta y Niederberger, 2007, J Allergy Clin. Immunol, 119 (4): 826-830). Los polipéptidos hipoalergénicos de dicha formulación de vacuna específica se adsorben preferentemente en un adyuvante que puede usarse en humanos (por ejemplo, hidróxido de aluminio) y la mezcla se administra 3-4 veces al año durante 1-3 años, aplicando más de 10 µg de cada polipéptido presente en la formulación de vacuna por dosis.

30 Dichas formulaciones pueden comprender de 10 ng a 1 g, preferentemente de 100 ng a 10 mg, especialmente de 0,5 µg a 200 µg de dicha molécula hipoalergénica o anticuerpo.

35 35 Puede usarse una proteína hipoalergénica de acuerdo con la presente invención para fabricar un medicamento para el tratamiento o la prevención de una infección vírica y/o una alergia en un ser humano o animal.

40 Dicho medicamento comprende además preferentemente al menos un adyuvante, excipiente farmacéuticamente aceptable y/o conservante.

45 El medicamento de acuerdo con la presente invención puede usarse para inmunización tanto activa (administración de la proteína hipoalergénica y/o moléculas de la invención) como pasiva (anticuerpos dirigidos a la proteína hipoalergénica y/o moléculas de la invención).

50 45 Dicho medicamento puede comprender de 10 ng a 1 g, preferentemente de 100 ng a 10 mg, especialmente de 0,5 µg a 200 µg de dicha molécula hipoalergénica, molécula de ácido nucleico, vector, hospedador o anticuerpo.

55 50 El medicamento se administra preferentemente a un individuo en una cantidad de 0,01 µg/kg de peso corporal a 5 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 0,1 µg/kg de peso corporal a 10 µg/kg de peso corporal.

60 55 El medicamento puede administrarse en una dosis que contiene una cantidad absoluta de 5 - 200 µg, más preferentemente, de 10 - 80 µg, más preferentemente, de 20 - 40 µg de cada uno, incluyendo el polipéptido hipoalergénico.

65 60 La pauta posológica particular, es decir, dosis, tiempo y repetición, dependerá del individuo particular y del historial médico del individuo. Las consideraciones empíricas, tales como la semivida, contribuirán generalmente a la determinación de la dosis. Puede determinarse y ajustarse la frecuencia de la administración durante el transcurso de la terapia.

Más preferentemente, la pauta posológica para el medicamento consistirá en 4 inyecciones subcutáneas anuales de una y la misma dosis a lo largo de un periodo de tratamiento de 2 a 3 años. De dichas 4 inyecciones subcutáneas anuales, 3 se aplican dentro de un periodo de 6 a 12, preferentemente, 8, semanas que tienen intervalos de 3 a 6 semanas, preferentemente 4 semanas, entre la inyección 1 y 2 y otras 3 a 6 semanas, preferentemente 4 semanas, entre las inyecciones 2 y 3. La cuarta inyección se aplica de 4 a 6 meses después de la tercera administración. Se aplica la misma pauta posológica en los siguientes años de tratamiento.

Para el tratamiento de las alergias estacionales (por ejemplo, alergias al polen, tales como alergia al polen de gramíneas o alergias al polen de abedul), las administraciones 1, 2 y 3 se programan preferentemente antes de la estación respectiva con exposición al alérgeno (estación de polen) y la cuarta administración se pauta después de la estación.

El individuo a quien se administra el medicamento de acuerdo con la presente invención es preferentemente un individuo o animal que tiene o se encuentra en riesgo de tener una alergia.

10 Los sujetos que tienen o que se encuentran en riesgo de tener una alergia, afección alérgica, trastorno alérgico o enfermedad alérgica incluyen sujetos con una afección alérgica existente o una predisposición conocida o sospechada hacia el desarrollo de un síntoma asociado con o provocado por una afección alérgica. Por lo tanto, el sujeto puede tener una afección, trastorno o enfermedad alérgica crónica activa, un episodio alérgico agudo o una afección, trastorno o enfermedad alérgica latente. Ciertas afecciones alérgicas se asocian con factores ambientales estacionales 15 o geográficos. Por lo tanto, los sujetos en riesgo incluyen aquellos que se encuentran en riesgo de padecer una afección basándose en un historial personal o familiar previo y la estación o la ubicación física, pero en los que la afección o un síntoma asociado con la afección pueden no manifestarse en ese momento en el sujeto.

20 La administración del medicamento de acuerdo con la presente invención, que comprende al menos una molécula hipoalergénica como se describe en el presente documento, a un individuo puede prevenir la sensibilización de dicho individuo o puede inducir una respuesta inmunitaria adecuada a los alérgenos. En caso de que el medicamento de la presente invención se use para prevenir la sensibilización, debe administrarse a un individuo antes del primer contacto con dicho alérgeno. Por lo tanto, se prefiere administrar el medicamento de acuerdo con la presente invención a neonatos y niños. También se ha dado el caso de que la administración del medicamento de acuerdo con la presente invención a gestantes inducirá la formación de anticuerpos dirigidos contra alérgenos en el feto. Es especialmente 25 beneficioso usar moléculas hipoalergénicas de acuerdo con la presente invención para dichas terapias, debido a la ausencia de epítopos de linfocitos T específicos de alérgeno, pueden reducirse significativamente los efectos secundarios durante el transcurso de la inmunoterapia con alérgeno o incluso evitarse completamente.

30 Puede usarse una proteína de la cápside vírica de un virus de la familia hepadnaviridae como transportador en medicamentos o vacunas.

Una de las ventajas de dicho transportador es que no solo puede exponerse el antígeno fusionado o conjugado al sistema inmunitario, sino que también se induce una respuesta inmunitaria contra la proteína de la cápside de un 35 hepadnavirus. Por consiguiente, dicha vacunación puede proporcionar prevención y/o tratamiento de enfermedades provocadas por hepadnavirus. El virus es preferentemente de la especie del virus de la hepatitis B humana.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5 (n.º de GenBank X7435) que tiene un truncamiento C y/o N-terminal y carece sustancialmente de capacidad de unión a IgE.

40 El polen de gramíneas es una de las fuentes estacionales externas más potentes de alérgenos transportados por el aire responsable de la fiebre del heno y el asma alérgica.

Más de un 40 % de los individuos alérgicos presentan reactividad de IgE con alérgenos de polen de gramíneas, que 45 se dividen en más de 11 grupos. Más de un 80 % de los pacientes alérgicos al polen de gramíneas reaccionan con alérgenos del grupo 5.

50 Los alérgenos del grupo 5 son proteínas altamente homólogas no glucosiladas con una masa molecular en el intervalo de 25-33kD. Se han clonado y/o caracterizado inmunológicamente varios alérgenos del grupo 5.

55 El ensayo para reducir la actividad alérgica introduciendo mutaciones puntuales, mutaciones de varios aminoácidos seguidos o eliminaciones no mostró efecto (Schramm G, et al. J Immunol 1999; 162: 2406-1435). Las regiones de unión a IgE de Phl p 5 (Flicker S, et al. J Immunol 2000; 165: 3849-3859) ya se han descrito y se ha resuelto la estructura tridimensional (Maglio O, et al. 2002. Protein Eng. 15:635-642).

55 Se ha observado que en particular, los péptidos Phl p 5 de acuerdo con la presente invención, que están truncados en C y/o N-terminal y que carecen de capacidad de unión a IgE, pueden emplearse para la vacunación activa de individuos.

60 Esta molécula truncada carece sustancialmente de epítopos para linfocitos T y, por lo tanto, carece de reactividad de linfocitos T específica de Phl p 5.

Como se ha indicado anteriormente, pueden reducirse significativamente los efectos secundarios de la inmunoterapia con alérgeno o incluso evitarse en caso de que las moléculas hipoalergénicas carezcan sustancialmente de epítopos de linfocitos T específicos de alérgeno.

65 Las moléculas de Phl p 5 que carecen de epítopos para linfocitos T están formadas por los aminoácidos 93 a 128, 98

a 128, 26 a 53, 26 a 58 o 252 a 283 de Phl p 5 o fragmentos o variaciones de secuencia del mismo.

En particular, estas moléculas truncadas muestran una reactividad con linfocitos T específicos de antígeno sustancialmente baja o nula y son, no obstante, capaces de provocar una respuesta inmunitaria adecuada dirigida contra el alérgeno de tipo silvestre.

El Phl p 5 truncado hipoalergénico puede estar compuesto por los aminoácidos 132 a 162, 217 a 246 o 176 a 212 de Phl p 5 o variaciones de secuencia del mismo.

10 Estas moléculas hipoalergénicas comprenden uno o más epítopos para linfocitos T pero carecen de capacidad de unirse a IgE.

15 Se prefieren moléculas de Phl p 1 truncadas que carecen de epítopos para linfocitos T, que están compuestas por los aminoácidos 1 a 30, 43 a 70, 87 a 117, 151 a 171 o 214 a 241 de Phl p 1 o variaciones de secuencia de las mismas fusionadas a una proteína transportadora vírica, preferentemente la proteína PreS de hepatitis B.

20 Se prefieren moléculas de Phl p 2 truncadas que carecen de epítopos para linfocitos T, que están compuestas por los aminoácidos 1 a 33, 8 a 39, 34 a 65 o 66 a 96 de Phl p 2 o variaciones de secuencia de las mismas fusionadas a una proteína transportadora vírica, preferentemente la proteína PreS de hepatitis B.

25 Se prefieren moléculas de Phl p 6 truncadas que carecen de epítopos para linfocitos T, que están compuestas por los aminoácidos 23 a 54, 56 a 90, 73 a 114 o 95 a 127 de Phl p 6 o variantes de secuencia de las mismas fusionadas a una proteína transportadora vírica, preferentemente la proteína PreS de hepatitis B.

30 Se prefieren moléculas de Bet v 1 truncadas que carecen de epítopos para linfocitos T, que están compuestas por los aminoácidos 30 a 59, 50 a 79, 75 a 104, 30 a 74 o 60 a 104 de Bet v 1.

35 Se prefieren combinaciones o mezclas de moléculas truncadas de *Phleum pratense* que carecen de epítopos para linfocitos T, fusionadas a una proteína transportadora vírica, preferentemente la proteína PreS de hepatitis B, como se ha descrito anteriormente.

Se prefieren combinaciones o mezclas de moléculas de *Phleum pratense* que carecen de epítopos para linfocitos T, que están compuestas por una o más de dichas proteínas de fusión de Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 y Phl p 6 truncadas, como se ha descrito anteriormente.

40 Una molécula hipoalergénica procedente de Fel d 1 (n.º de GenBank X62477 y X62478) puede tener un truncamiento C y/o N-terminal y carecer de capacidad de unión a IgE.

45 Las alergias a animales afectan a hasta un 40 % de los pacientes alérgicos. En el ambiente doméstico, las alergias a las mascotas más populares, gatos y perros, son particularmente prevalentes y están conectadas con síntomas perennes. Los alérgenos de los animales están presentes en la caspa, epitelio, saliva, suero u orina. La exposición a los alérgenos puede producirse tanto mediante contacto directo con la piel como por la inhalación de partículas que portan los alérgenos. Se ha demostrado que los alérgenos principales de gatos y perros están ampliamente presentes y pueden detectarse incluso en hogares sin mascotas y en lugares públicos, por ejemplo, escuelas. Esto puede atribuirse al elevado y creciente número de hogares que tienen mascotas en los países industrializados (aproximadamente un 50 %) y a la elevada estabilidad de los alérgenos, que son transportados y distribuidos.

50 Se ha identificado Fel d 1 como el principal alérgeno de gato, que es reconocido por más de un 90 % de los pacientes alérgicos a los gatos. Fel d 1 representa una glucoproteína ácida de 38 kDa con una función biológica desconocida. Consta de dos heterodímeros idénticos unidos de manera no covalente, que, de nuevo, están formados por dos cadenas de polipéptido unidas de manera antiparalela por tres enlaces disulfuro. La cadena 1 y la cadena 2 están codificadas por genes distintos, consistiendo cada uno en 3 exones. Fel d 1 recombinante (rFel d 1), expresada como una proteína de fusión de cadena 2 a cadena 1, se ha generado en *E. coli*. Esta Fel d 1 recombinante puede imitar completamente las propiedades inmunológicas del alérgeno de tipo silvestre.

55 Son adecuados los péptidos procedentes del alérgeno principal de gato, Fel d 1 y que carezcan de capacidad de unión a IgE, por ejemplo, para inmunoterapia y vacunación profiláctica contra la alergia. Los péptidos sintéticos derivados de Fel d 1, como Phl p 5 y los péptidos derivados de alérgeno divulgados en el presente documento, son capaces de inducir una respuesta de IgG, es decir, la producción de los denominados "anticuerpos de bloqueo" o "anticuerpos protectores". Estos anticuerpos impiden la unión de IgE al alérgeno Fel d 1. De este modo, puede lograrse una reducción significativa en los síntomas de alergia.

La molécula truncada divulgada en el presente documento puede mostrar reactividad reducida con linfocitos T.

60 65 A fin de evitar o de reducir significativamente los efectos secundarios tardíos, la molécula hipoalergénica derivada de Fel d 1 muestra una reactividad con linfocitos T reducida como se define en la presente invención.

El Fel d 1 truncado está compuesto preferentemente por los aminoácidos 1 a 34 o 35 a 70 de la cadena 1 de Fel d 1, los aminoácidos 1 a 34, 35 a 63 o 64 a 92 de la cadena 2 de Fel d 1 o variaciones de secuencia del mismo.

- 5 En el presente documento se divultan moléculas hipoolergénicas que están compuestas por o que comprenden los aminoácidos 1 a 33, 21 a 51, 42 a 73, 62 a 103 o 98 a 129 de Der p 2, los aminoácidos 1 a 30, 20 a 50, 50 a 80, 90 a 125, 125 a 155 o 165 a 198 de Der p 7, los aminoácidos 1 a 35, 35 a 72, 70 a 100 o 90 a 122 de Der p 21, los aminoácidos 1 a 32, 15 a 48 o 32 a 70, 32 a 60, 52 a 84, 32 a 70 (Cys->Ser) de Der p 23, los aminoácidos 19 a 58, 59 a 95, 91 a 120 o 121 a 157 de Alt a 1, los aminoácidos 31 a 60, 45 a 80, 60 a 96 o 97 a 133 de Par j 2, los aminoácidos 1 a 40, 36 a 66, 63 a 99, 86 a 120 o 107 a 145 de Ole e 1, los aminoácidos 25 a 58, 99 a 133, 154 a 183, 277 a 307, 334 a 363, 373 a 402, 544 a 573, 579 a 608, 58 a 99, 125 a 165, 183 a 224, 224 a 261, 252 a 289, 303 a 340, 416 a 457, 460 a 500 o 501 a 542 de Fel d 2, los aminoácidos 19 a 58, 52 a 91, 82 a 119, 106 a 144 o 139 a 180 de Can f 2, los aminoácidos 19 a 56, 51 a 90, 78 a 118, 106 a 145 o 135-174 de Can f 1, los aminoácidos 27 a 70, 70 a 100 o 92 a 132 de Art v 1, los aminoácidos 31 a 70, 80 a 120, 125 a 155, 160 a 200, 225 a 263, 264 a 300, 305 a 350 o 356 a 396 de Amb a 1, los aminoácidos 1 a 34, 35 a 74, 74 a 115, 125 a 165, 174 a 213, 241 a 280, 294 a 333, 361 a 400 o 401 a 438 de Alt a 6, los aminoácidos 1 a 40, 41 a 80, 81 a 120, 121 a 160 de Alt a 2 o fragmentos o variaciones de secuencia de los mismos.

Los métodos para la producción de proteínas de fusión se conocen bien en la técnica y pueden encontrarse en las referencias convencionales de biología molecular, tales como Sambrook et al. (Molecular Cloning, 2.<sup>a</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) y Ausubel et al. (Short Protocols in Molecular Biology, 3.<sup>a</sup> ed; Wiley and Sons, 1995). En general, una proteína de fusión se produce construyendo en primer lugar un gen de fusión que se inserta en un vector de expresión adecuado, que, a su vez, se usa para transfectar una célula hospedadora adecuada. En general, las construcciones de fusión recombinantes se producen mediante una serie de digestiones con enzimas de restricción y de reacciones de ligamiento que dan como resultado la incorporación de las secuencias deseadas en un plásmido. En caso de que no estén disponibles los sitios de restricción adecuados, pueden usarse adaptadores o enlazadores oligonucleotídicos sintéticos, como es conocido por los expertos en la materia y como se describe en las referencias citadas anteriormente. Las secuencias de polinucleótido que codifican alérgenos y proteínas nativas pueden ensamblarse antes de su inserción en un vector adecuado o puede insertarse la secuencia que codifica el alérgeno adyacente a una secuencia que codifica una secuencia nativa ya presente en un vector. La inserción de la secuencia dentro del vector ha de ser en fase, de tal forma que la secuencia puede transcribirse en una proteína. Resultará evidente para los expertos habituales en la materia que las enzimas de restricción exactas, los enlazadores y/o adaptadores necesarios, así como las condiciones de reacción exactas, variarán dependiendo de las secuencias y los vectores de clonación empleados. El ensamblaje de construcciones de ADN, sin embargo, es rutinario en la técnica y puede lograrse fácilmente por una persona experta en la materia.

Una ventaja específica e inesperada es que las proteínas de fusión procedentes de moléculas de alérgeno hipoolergénicas truncadas y la proteína PreS de la hepatitis B humana pueden expresarse de manera reproducible en sistemas de expresión convencionales y pueden producirse fácilmente en procesos de alto rendimiento y de manera reproducible en sistemas de expresión convencionales conocidos por los expertos en la materia, más particularmente, usando como sistema de expresión *Escherichia coli*. Dicho proceso de fabricación comprende normalmente la expresión de las moléculas de acuerdo con la invención mediante el cultivo de células en un biorreactor (por ejemplo, en un fermentador, matraz de agitación), seguido de recogida de las células (por ejemplo, por filtración, centrifugación, etc.) y rotura de las células (por ejemplo, mediante homogeneización a alta presión, sonicación, ciclos de congelación/descongelación, lisis enzimática o química, etc.), purificación de las moléculas (por ejemplo, por cromatografía, filtración, precipitación, ultra/diafiltración, etc.) y formulación del producto final. A fin de obtener un alto rendimiento de las moléculas de acuerdo con la invención, se emplean preferentemente procesos de cultivo de alta densidad celular, mediante la aplicación de fermentación discontinua alimentada.

50 En el presente documento también se divulga una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión como se describe en el presente documento.

La molécula de ácido nucleico de la presente invención puede emplearse, por ejemplo, para producir dichas moléculas de manera recombinante.

55 Dicha molécula de ácido nucleico, en otro aspecto de la presente invención, puede estar comprendida en un vector. Este vector es preferentemente un vector de expresión.

60 La presente invención se ilustra adicionalmente mediante las siguientes figuras y ejemplos, sin embargo, sin limitarse a los mismos.

La Fig. 1 A muestra una representación esquemática del vector HBV\_Phlip1\_4xP5  
 La Fig. 1 B muestra una representación esquemática del vector HBV\_Phlip2\_4xP3  
 La Fig. 1 C muestra una representación esquemática del vector HBV\_Phlip5\_V2  
 La Fig. 1 D muestra una representación esquemática del vector HBV\_Phlip6\_4xP1

- La Fig. 2 A muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión HBV\_PhlP1\_4xP5 (BM321, SEQ ID NO: 14)  
 La Fig. 2 B muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión HBV\_PhlP2\_4xP3 (BM322, SEQ ID NO: 15)  
 La Fig. 2 C muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión HBV\_PhlP5\_V2 (BM325, SEQ ID NO: 16)  
 La Fig. 2 D muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión HBV\_PhlP6\_4xP1 (B326, SEQ ID NO: 17)  
 5 La Fig. 2 E muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión HBV\_Betv1\_4PA (BM31a, SEQ ID NO: 18)  
 La Fig. 2 F muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión HBV\_Betv1\_2PA2PB (BM31, SEQ ID NO: 19)  
 La Fig. 2 G muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión HBV\_PhlP5\_V1 (SEQ ID NO: 20)
- La Fig. 3 A muestra un gel de SDS Page al 12 % teñido con azul de Coomassie que contiene la proteína de fusión  
 10 HBV\_PhlP1\_4xP5 purificada (BM 321, carril 1 y 10: 5 ug de marcador molecular, carril 2, 3, 11 y 12 5ug de BM321,  
 carril 4 y 13 2 ug de BM321, carril 5 y 14 1 ug de BM321, carril 6 y 15 0,5 ug de BM321, carril 7 y 16 0,25 ug de  
 BM321, carril 8 y 17 0,1 ug de BM 321, carril 9 y 18 0,05 ug de BM321). Los carriles 1 a 9 son en condiciones  
 reductoras y los carriles 10-18 en no reductoras.
- La Fig. 3 B muestra un gel de SDS Page al 12 % teñido con azul de Coomassie que contiene la proteína de fusión  
 15 HBV\_PhlP2\_4xP3 purificada (BM 322, carril 1 y 10: 5 ug de marcador molecular, carril 2, 3, 11 y 12 5ug de BM322,  
 carril 4 y 13 2 ug de BM322, carril 5 y 14 1 ug de BM322, carril 6 y 15 0,5 ug de BM322, carril 7 y 16 0,25 ug de  
 BM322, carril 8 y 17 0,1 ug de BM 322, carril 9 y 18 0,05 ug de BM322). Los carriles 1 a 9 son en condiciones  
 reductoras y los carriles 10-18 en no reductoras.
- La Fig. 3 C muestra un gel de SDS Page al 12 % teñido con azul de Coomassie que contiene la proteína de fusión  
 20 HBV\_PhlP5\_V2 purificada (BM 325, carril 1 y 10: 5 ug de marcador molecular, carril 2, 3, 11 y 12 5ug de BM325,  
 carril 4 y 13 2 ug de BM325, carril 5 y 14 1 ug de BM325, carril 6 y 15 0,5 ug de BM325, carril 7 y 16 0,25 ug de  
 BM325, carril 8 y 17 0,1 ug de BM 325, carril 9 y 18 0,05 ug de BM325). Los carriles 1 a 9 son en condiciones  
 reductoras y los carriles 10-18 en no reductoras.
- La Fig. 3 D muestra un gel de SDS Page al 12 % teñido con azul de Coomassie que contiene la proteína de fusión  
 25 HBV\_PhlP6\_4xP1 purificada (BM 326, carril 1 y 10: 5 ug de marcador molecular, carril 2, 3, 11 y 12 5ug de BM326,  
 carril 4 y 13 2 ug de BM326, carril 5 y 14 1 ug de BM326, carril 6 y 15 0,5 ug de BM326, carril 7 y 16 0,25 ug de  
 BM326, carril 8 y 17 0,1 ug de BM 326, carril 9 y 18 0,05 ug de BM326). Los carriles 1 a 9 son en condiciones  
 reductoras y los carriles 10-18 en no reductoras.
- La Fig. 4 demuestra la ausencia de reactividad con IgE de los péptidos de fusión procedentes de alérgenos del  
 30 polen de gramíneas. Se evaluó la unión a IgE de las proteínas de fusión en comparación con el alérgeno completo  
 mediante ensayo de transferencia de puntos de IgE. Se incubaron sueros del número indicado de pacientes  
 alérgicos al polen de gramíneas con proteínas añadidas por puntos y se detectó la IgE unida mediante anticuerpo  
 anti-IgE humana marcado con <sup>125</sup>I. No se detectó unión de IgE para ninguna de las cuatro proteínas de fusión de  
 35 péptido-transportador, a) muestra los resultados del ensayo de transferencia por puntos usando HBV\_PhlP1\_4XP5  
 (BM321); b) muestra los resultados del ensayo de transferencia por puntos usando HBV\_PhlP2\_4xP3 (BM322); c)  
 muestra los resultados del ensayo de transferencia por puntos usando HBV\_PhlP5\_V2 (BM325); d) muestra los  
 resultados del ensayo de transferencia por puntos usando HBV\_PhlP6\_4xP1 (BM326).
- La Fig. 5 muestra la baja actividad alergénica de la proteína de fusión derivada de alérgeno del polen de gramíneas  
 40 HBV\_PhlP1\_4xP5 (BM321) determinada mediante la expresión de CD203c en basófilos de pacientes alérgicos. Se  
 incubaron PBMC de pacientes alérgicos al polen de gramíneas con diluciones seriadas de Phl p 1 (barras de color  
 gris claro) o BM321 (barras de color gris oscuro). Se midió la inducción de CD203c como la intensidad media de  
 fluorescencia y los índices de estimulación calculados se muestran en el eje y.
- La Fig. 6 muestra la baja actividad alergénica de la proteína de fusión derivada de alérgeno del polen de gramíneas  
 45 HBV\_PhlP6\_4xP1 (BM326) determinada mediante la expresión de CD203c en basófilos de pacientes alérgicos. Se  
 incubaron PBMC de pacientes alérgicos al polen de gramíneas con diluciones seriadas de Phl p 6 (barras de color  
 gris claro) o BM326 (barras de color gris oscuro). Se midió la inducción de CD203c como la intensidad media de  
 fluorescencia y los índices de estimulación calculados se muestran en el eje y.
- La Fig. 7 muestra las respuestas de IgG1 específicas para el alérgeno del polen de hierba timotea en ratones. Se  
 50 inmuniñó a grupos de 4 ratones con 20 ug de proteínas de fusión (proteínas de fusión individuales y combinación  
 de 4 proteínas de fusión) y 10 µg de cada uno (Phl p 1 y 5) o 5 µg de cada uno (Phl p 2 y 6) del alérgeno de tipo  
 silvestre en las semanas 0 y 3 del estudio, seguido de una inmunización de refuerzo en la semana 17 del estudio.  
 Los antígenos se administraron por vía subcutánea en la región dorsal de los animales. Se recogió sangre en las  
 55 semanas 0, 3, 6, 9, 12, 17, 20 y 22 del estudio de la vena caudal de los ratones. Se recogió sangre en las semanas  
 del estudio con inmunizaciones un día antes de la inmunización. Se investigaron los sueros inmunes de los ratones  
 respecto de la presencia de IgG1 específica de alérgeno mediante ELISA. Los sueros preinmunes antes de la  
 primera inmunización fueron negativos en todos los animales. Se compararon las proteínas de fusión individuales  
 con la aplicación de una mezcla de proteínas de fusión.
- a) Respuesta inmunitaria contra el antígeno rPhl p 1 para HBV\_PhlP1\_4xP5 (BM321 como componente único),  
 60 BM321 en una mezcla con BM322, BM325 y BM326 y ratones inmunizados con rPhl p 1.  
 b) Respuesta inmunitaria contra el antígeno rPhl p 2 para HBV\_PhlP2\_4xP3 (BM321 como componente único),  
 BM322 en una mezcla con BM321, BM325 y BM326 y ratones inmunizados con rPhl p 2.  
 c) Respuesta inmunitaria contra el antígeno rPhl p 5 para HBV\_PhlP5\_V2 (BM325 como componente único),  
 BM325 en una mezcla con BM321, BM322 y BM326 y ratones inmunizados con rPhl p 5.  
 d) Respuesta inmunitaria contra el antígeno rPhl p 6 para HBV\_PhlP6\_4xP1 (BM326 como componente único),  
 65 BM326 en una mezcla con BM321, BM322 y BM325 y ratones inmunizados con rPhl p 6.

- La figura 8 muestra la caracterización molecular e inmunológica de las proteínas de fusión recombinantes. A. SDS-PAGE teñido con Coomassie que muestra cuatro proteínas de fusión de PreS con péptidos derivados de Bet v1 (carril 1: 2xPA-PreS, carril 2: 2xPB-PreS, carril 3: 4xPA-PreS, carril 4: 2xPA2xPB-PreS) y el transportador PreS (carril 5). B. Se sondaron proteínas de fusión recombinantes y PreS añadidas por puntos en nitrocelulosa con suero anti-PreS de conejo (carril 1), suero preinmune de conejo (carril 3) y tampón de control para anticuerpos de conejo (carril 3) y anticuerpos monoclonales dirigidos contra péptido P2' (mAb2) (carril 4) y P4' (mAb12) (carril 5) procedentes de Bet v1 y tampón de control para anticuerpos monoclonales de ratón (carril 6).
- La figura 9 A muestra la reactividad con IgE de rBet v1 y de proteínas de fusión recombinantes de PreS con péptidos derivados de Bet v1. Se evaluaron sueros de pacientes alérgicos al polen de abedul, de controles no alérgicos y de solo tampón respecto de su reactividad con rBet v1, las cuatro proteínas de fusión recombinantes (2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PA2PB-PreS) y PreS sola transferidas por puntos. Se detectó IgE humana unida con anticuerpos anti-IgE humana marcados con  $^{125}\text{I}$ . Las cuentas por minuto (cpm) correspondientes a IgE unida se miden con un contador y se indican en el eje Y. Los diagramas de cajas muestran los resultados de 50 pacientes alérgicos al polen de abedul.
- La figura 9B muestra la activación de basófilos por rBet v1 y las cuatro proteínas de fusión de PreS medida por la regulación positiva de CD 203c. Se expusieron las muestras de sangre de pacientes alérgicos al polen de abedul a concentraciones crecientes (0,001-1  $\mu\text{g/ml}$ ) de antígenos, anti-IgE o control de tampón (Co). Se muestran los resultados de un paciente representativo. Se detectó la expresión de CD 203c mediante análisis FACS y se muestra como índice de estimulación (IE) (eje y). Se muestran las medias de mediciones por triplicado y se indican las desviaciones estándar.
- La figura 10 muestra las respuestas linfoproliferativas y la producción de citocinas de PBMC de pacientes alérgicos al polen de abedul. Las PBMC de pacientes alérgicos al polen de abedul se han estimulado con cantidades equimolares de rBet v1, los péptidos derivados de Bet v1 PA y PB, solo PreS y las proteínas de fusión PreS (es decir, 2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS). Se muestran los índices de estimulación (IE) (ejes y).
- (A) Los IE para la concentración más elevada (5  $\mu\text{g/pocillo}$  de Bet v1 y cantidades equimolares de los péptidos, PreS y proteínas de fusión de PreS) de 6 pacientes alérgicos al polen de abedul se muestran como diagramas de cajas, donde un 50 % de los valores se encuentran dentro de las cajas y los valores no anómalos se encuentran entre las barras.
- Las líneas dentro de las cajas indican los valores de la mediana.
- (B) Los IE para cuatro concentraciones (1=5  $\mu\text{g/pocillo}$ , 2=2,5  $\mu\text{g/pocillo}$ , 3=1,25  $\mu\text{g/ml}$ , 4=0,63  $\mu\text{g/pocillo}$  de rBet v1 y cantidades equimolares de los péptidos, PreS y proteínas de fusión PreS) se muestran para un paciente representativo.
- (C) Se ha medido la producción de citocinas en los sobrenadantes de PBMC de 6 pacientes alérgicos al polen de abedul, estimuladas con 2,5  $\mu\text{g/ml}$  de rBet v1 y cantidades equimolares de los péptidos PA y PB, PreS y cuatro proteínas de fusión. Las concentraciones observadas ( $\mu\text{g/ml}$ ) (ejes y) después de la estimulación con antígenos se muestran en diagramas de cajas, donde un 50 % de los valores se encuentran dentro de las cajas y los valores no anómalos se encuentran entre las barras. Las líneas dentro de las cajas indican los valores de la mediana.
- La figura 11 muestra la inducción de anticuerpos IgG específicos para rBet v1 y alérgenos homólogos de Bet v1 tras la inmunización subcutánea mediante proteínas de fusión de PreS en conejos.
- (A) Los conejos se han inmunizado con proteínas de fusión (2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS) y rBet v1 adsorbidas en hidróxido de aluminio (alumbre) (parte superior) o adsorbidas en adyuvante completo de Freund (CFA) (parte inferior). Se midieron las IgG de conejo específicas para rBet v1 y se presentan los valores medios de la densidad óptica (DO) para mediciones duplicadas (ejes y) para diferentes diluciones de antisiero de conejo (ejes x).
- (B1) Alineamiento de múltiples secuencias de Bet v1 y alérgenos homólogos a Bet v1 en aliso (Aln g 1), avellano (Cor a 1) y manzano (Mal d 1). Los aminoácidos iguales se indican como puntos, los huecos se indican como guiones. En el lado derecho se muestra el porcentaje de identidad de los alérgenos homólogos a Bet v1 respecto de Bet v1. El péptido A (PA, línea discontinua) y el péptido B (PB, línea continua) procedentes de Bet v1 se encuentran recuadrados.
- (B2) Los anticuerpos IgG de antisieros de conejo (rab  $\alpha$ -2PA-PreS, rab  $\alpha$ -2PB-PreS, rab  $\alpha$ -4PA-PreS, rab  $\alpha$ -2PAPB-PreS) dirigidos contra rBet v1, rAln g 1, rCor a 1 y rMal d 1 (eje x) se han medido mediante ELISA. Se muestran las medias de mediciones duplicadas. La densidad óptica (DO) correspondiente a IgG específicas de alérgeno en suero de conejo (post) se presenta en comparación con los sueros preinmunes correspondientes (pre) (ejes y).
- (C) Los anticuerpos IgG de conejos inmunizados con rBet v1 y proteínas de fusión recombinantes (2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS) dirigidas contra seis péptidos derivados de Bet v1 (P1'-P6') (eje x) se han medido mediante ELISA. Se muestran las medias de los valores de densidad óptica (DO) para mediciones duplicadas (eje y).
- La figura 12 muestra la inhibición del suero de conejo anti-2xPA2xPB-PreS contra IgE de pacientes alérgicos en comparación con suero de conejo contra rBet v1 completo. Se determinó el porcentaje de inhibición de la unión de IgE a rBet v1 (ejes y) obtenidos con sueros de conejo anti-2xPA2xPB-PreS y anti-rBet v1 mediante ELISA de

inhibición y se presentan como diagramas de cajas, donde un 50 % de los valores se encuentran dentro de las cajas y los valores no anómalos se encuentran entre las barras. Las líneas dentro de las cajas indican los valores de la mediana. Se muestran los resultados de 21 pacientes alérgicos al polen de abedul.

5 La figura 13 muestra una titulación de IgG de conejo generadas tras la inmunización con proteínas de fusión PreS que contenían 2 o 4 copias de un péptido derivado de Phl p 6. Para las pruebas de inmunogenicidad, se inmunicaron conejos (conejos New Zealand White) con las diferentes proteínas de fusión usando hidróxido de aluminio como adyuvante. La inducción de anticuerpos específicos se monitorizó en ensayos ELISA. Los resultados muestran que las proteínas de fusión que contienen 4 péptidos son más inmunogénicas que las proteínas de fusión que contienen 2 péptidos.

10 10 La figura 14 muestra la inducción de una robusta respuesta de IgG dirigida contra los alérgenos del polen de gramíneas Phl p 1 (A), Phl p2 (B), Phl p 5 (C) y Phl p 6 (D) en pacientes humanos alérgicos al polen de gramíneas después de la inmunización subcutánea con una formulación de vacuna (BM32) que comprende una mezcla de las 4 proteínas de fusión hipoalergénicas de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17. La determinación de IgG se llevó a cabo mediante ELISA. Se compararon los niveles de IgG antes del tratamiento (pre) con los niveles de IgG después del tratamiento (post).

15 15 La figura 15 muestra los resultados de ensayos de proliferación de linfocitos T llevados a cabo en linfocitos T de individuos alérgicos al polen de gramíneas tras la inmunización con una formulación de vacuna que consiste en una mezcla de las 4 proteínas de fusión hipoalergénicas de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17. La reactividad de linfocitos T se reduce fuertemente o se encuentra ausente si se compara con el polen de gramíneas. El eje y de la gráfica refleja el índice de estimulación.

20 20 La figura 16 muestra que las IgG inducidas mediante la terapia con una formulación de vacuna (BM32) que comprende una mezcla de las 4 proteínas de fusión hipoalergénicas de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17 reduce las respuestas linfoproliferativas contra los alérgenos del polen de gramíneas en PBMC humanas. (a) Configuración experimental. (b) Resultados de los ensayos de proliferación de linfocitos T llevados a cabo en ausencia (+ suero antes) y presencia (+ suero después) de IgG inducidas por el tratamiento. El eje y de la gráfica refleja el índice de estimulación. P1-P5 indican los resultados de diferentes participantes en el estudio.

25 25 La figura 17 muestra la configuración de un estudio clínico llevado a cabo en 69 pacientes alérgicos al polen de gramíneas usando la formulación de vacuna BM32 que comprende una mezcla de las 4 proteínas de fusión hipoalergénicas de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17.

30 30 La Fig. 18 A muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión **HBV Der p2-2xP2-2xP4** (SEQ ID NO: 149)

La Fig. 18 B muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión **HBV Der p2-3xP2-3xP4** (SEQ ID NO: 150)

La Fig. 18 C muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión **HBV Der p23-2xP4-2xP5** (SEQ ID NO: 151)

La Fig. 18 D muestra la secuencia primaria de la proteína de fusión **HBV Der p23-4xP6** (SEQ ID NO: 152)

35 35 La figura 19A muestra el cambio en los síntomas nasales inducidos por el tratamiento con 3 inyecciones subcutáneas de la formulación de vacuna BM32 que comprende una mezcla de las 4 proteínas de fusión hipoalergénica de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17. Barras negras: antes del tratamiento, barras grises: después del tratamiento.

40 40 La figura 19B muestra el cambio en el área media de la roncha entre la prueba del pinchazo en la piel titulada y después del tratamiento con la formulación de vacuna BM32. Se llevó a cabo la prueba del pinchazo en la piel titulada usando 8 diluciones seriadas de extracto de polen de gramíneas (sin diluir a 1:128).

45 45 La figura 20 muestra la unión a IgE de los péptidos derivados de Der p 2 en comparación con el alérgeno completo probado mediante un ensayo de transferencia por puntos de IgE. Se incubaron sueros de 26 pacientes alérgicos al ácaro del polvo doméstico con péptidos conjugados a KLH punteados y se detectó la IgE unida con anti-IgE humana marcada con <sup>125</sup>I. No se detectó unión de IgE para ninguno de los 5 péptidos como en el ejemplo 26.

### Ejemplos:

#### **Ejemplo 1: Construcción del plásmido de expresión para HBV\_Phlp1\_4xP5 (BM321)**

50 50 Se ensambló el gen de BM321 sintético a partir de oligonucleótidos sintéticos y/o productos de la PCR y se clonaron en un vector convencional adecuado (pMK-RQkanR). El plásmido se purificó a partir de una cepa de *E. coli* K12 transformada (DH10B-T1R) y la concentración se determinó mediante espectroscopía UV. La secuencia de ADN de BM321 sintética final y con codones optimizados se clonó adicionalmente en el vector de expresión pET28b(+) usando sitios de restricción adecuados (sitio de Ncol en el extremo 5' y de EcoRI en el extremo 3'). El ADN de plásmido se purificó a partir de *E. coli* K12 DH10B (dam+ dcm+) transformadas y se determinó la concentración mediante espectroscopía UV. La construcción final se verificó mediante secuenciación del inserto. A continuación se muestra un resumen de los datos del plásmido y un mapa del plásmido del vector de expresión final "pBM-321".

55 60 Resumen de la secuencia de BM321 clonada en el vector de expresión final pET-28b(+).

Secuencia	Alias del nombre de secuencia	Tamaño del gen	Tamaño del plásmido	Nombre del plásmido	Sitios de restricción
BM321	HBV_Phlp1_4xP5	882 pb	6153 pb	pBM-321	Ncol / EcoRI

#### **Ejemplo 2: Transformación del plásmido de expresión en el hospedador de expresión para HBV\_Phlp1\_4xP5 (BM321)**

Se transformaron células de *E. coli* BL21(DE3) químicamente competentes con el plásmido de expresión mediante el método de choque térmico. Las células transformadas se sembraron en placas de LB-agar que consistía en cloruro de sodio al 0,5 %, peptona de soja al 1 %, extracto de levadura al 0,5 %, agar al 1,5 % y 50 µg/ml de kanamicina para la selección.

- 5 Las células en las placas de LB se cultivaron mediante cultivo durante una noche a 37 °C. Se aislaron las colonias individuales de células de *E. coli* (BL21 (DE3), se cultivaron en medio LB y se exploraron respecto del crecimiento y la expresión de BM321. Se seleccionó el clon con mejor rendimiento para establecer posteriormente el banco celular maestro.

10 **Ejemplo 3: Preparación de un banco celular maestro para HBV\_PhlP1\_4xP5 (BM321)**

Se usó una alícuota del clon seleccionado para la inoculación de 150 ml de medio de cultivo (composición: cloruro de sodio al 0,5 %, peptona de soja al 1 %, extracto de levadura al 0,5 %, 50 µg/ml de kanamicina). El cultivo del banco celular maestro (MCB) se incubó a 37 °C con agitación constante a 200 rpm hasta que el cultivo alcanzó una densidad óptica DO<sub>600</sub> = 1 - 2. Se añadió glicerol para obtener una concentración final de glicerol del 15 % v/v y se separó el MCB en alícuotas en viales de 1 ml y se almacenaron en un congelador ultra profundo a -75 ± 10 °C.

**Ejemplo 4: Fermentación discontinua alimentada de alta densidad celular de HBV\_PhlP1\_4xP5 (BM321)**

20 Se inoculó medio de cultivo sintético (100 ml, pH = 6,8, sales y oligoelementos, 10 g/l de glucosa como fuente de carbono) con 1 ml de banco celular maestro (*E. coli* BL21(DE3) / pBM321) y se cultivó en un matraz de agitación (37 °C, 200 rpm) hasta que se alcanzó un valor diana de densidad óptica DO = 1. Se usó un fermentador de acero inoxidable de 22 l para llevar a cabo la fermentación discontinua alimentada. Para un control automático y reproducible de la alimentación, se programó una receta que permitía una velocidad de crecimiento, una velocidad de alimentación, una duración de la fase discontinua y una duración de la fase de alimentación exponencial específicas predefinidas. A fin de aumentar la velocidad de transferencia de oxígeno al fermentador, se controló la presión retrógrada y se ajustó a 1 bar. El fermentador se esterilizó *in situ* con el medio de cultivo sintético como se ha mencionado anteriormente y se comenzó la fermentación mediante incubación con precultivo. Tras agotar la glucosa, se comenzó la fase de alimentación exponencial a fin de mantener una velocidad de crecimiento específica de  $\mu = 0,25 \text{ h}^{-1}$ . Al alcanzarse una

30 DO = 45, se indujo la expresión de BM321 recombinante mediante la adición embolada de IPTG (concentración final de 0,8 mM). El cultivo se recogió a una DO<sub>600</sub> = 73. El título de producto de BM321 obtenido de la fermentación discontinua alimentada fue de 1,2 g por litro de caldo de cultivo. A continuación, se enfrió el caldo de cultivo hasta ≤ 20 °C y se centrifugó a 7.000 rpm (5.500 g) a 4 °C durante 15 min. Se separó en alícuotas la biomasa celular húmeda y se almacenó a -75 °C.

35 **Ejemplo 5: Disrupción celular y aclarado**

Para la disrupción celular, se descongelaron 748 gramos de biomasa del ejemplo 6 y se subdividieron en alícuotas de 125 gramos y se resuspendieron en un tampón de homogeneización (Tris 20 mM, EDTA 1 mM, Triton X-100 al 0,1 %, pH 11,0) con agitación mecánica a temperatura ambiente durante 30 min. Para la disrupción celular, se aplicó un procedimientos de congelación-descongelación congelando a -75 °C y descongelando posteriormente, seguido de homogeneización mecánica. Se ajustó el pH del homogeneizado a pH = 10,0. Se sometió al homogeneizado celular en bruto a una etapa de centrifugación a 7.000 rpm (5.500 g) a 4 °C durante 30 min. Se sometieron los sobrenadantes a precipitación con PEI (polietilenimina) con agitación mecánica. La materia no soluble se separó mediante una etapa de centrifugación posterior. Los sobrenadantes aclarados se sometieron a la etapa de cromatografía posterior.

**Ejemplo 6: Purificación por cromatografía de HBV\_PhlP1\_4xP5 (BM321)**

50 Se cargaron un total de 1840 ml del sobrenadante de precipitación con PEI de la etapa de clarificación como se describe en el ejemplo 7 en una columna Q-Sepharose FF de 5 x 30 cm y se equilibró con tampón A (Tris-HCl, EDTA). El material no unido se retiró mediante lavado con tampón A, seguido de un lavado con tampón C (fosfato de sodio 1, EDTA, pH 7,0). Se logró la elución de la fracción de producto mediante una elución de gradiente lineal con tampón E para BM32 al 0-100 % (fosfato de sodio, EDTA, NaCl, pH 7,0) en tampón C de BM32. La selección de fracciones que contienen producto para su agrupamiento se llevó a cabo mediante análisis de SDS-PAGE, mediante la evaluación densitométrica de la pureza de la fracción y mediante la intensidad de la banda de producto.

60 Las fracciones agrupadas de la etapa de captura se ajustaron a una conductividad de 115 mS/cm mediante la adición de cloruro de sodio 2,5 M y esta alimentación se cargó en una columna de Fenil Sepharose HP equilibrada con tampón D (fosfato de sodio, EDTA, NaCl, pH 7,0). Se retiró el material no unido mediante lavado con tampón D. La elución de la fracción de producto se logró mediante una elución de gradiente de tampón C al 40-100 % (fosfato de sodio, EDTA, pH 7,0) en tampón D. La selección de fracciones que contienen producto para su agrupamiento se llevó a cabo mediante análisis de SDS-PAGE, mediante la evaluación densitométrica de la pureza de la fracción y mediante la intensidad de la banda de producto.

65 Las fracciones agrupadas de la etapa intermedia se ajustaron hasta una conductividad de 80 mS/cm mediante la adición de cloruro de sodio 2,5 M y se cargó esta alimentación en una columna Toyopearl Butilo 650-S equilibrada con

una mezcla de tampón F (fosfato de sodio, EDTA, NaCl, pH 7,0). El material no unido se retiró mediante un lavado de gradiante con tampón F de BM32 al 80-0 % en tampón C (fosfato de sodio, EDTA, pH 7,0). La elución de la fracción se logró mediante una elución de gradiante de tampón G al 0-1 (fosfato de sodio, EDTA, isopropanol, pH 7,0) en tampón C. La selección de fracciones que contienen producto para su agrupamiento se llevó a cabo mediante análisis de SDS-PAGE, mediante la evaluación densitométrica de la pureza de la fracción y mediante la intensidad de la banda de producto.

**Ejemplo 7: Producción de HBV\_PhlP2\_4xP3 (BM322), HBV\_PhlP5\_V2 (BM325) y HBV\_PhlP6\_4xP1 (BM326):**

10 Para la expresión y producción de las moléculas recombinantes de acuerdo con la invención, a saber, HBV\_PhlP2\_4xP3 (BM322), HBV\_PhlP5\_V2 (BM325) y HBV\_PhlP6\_4xP1 (BM326), se aplicaron los mismos procedimientos a los descritos en el ejemplo 1, el ejemplo 2, el ejemplo 3, el ejemplo 4, el ejemplo 5 y el ejemplo 6 u otros comparables.

15 **Ejemplo 8: Preparación de una formulación inyectable que consiste en una mezcla de HBV\_PhlP1\_4xP5 (BM321), HBV\_PhlP2\_4xP3 (BM322), HBV\_PhlP5\_V2 (BM325), y HBV\_PhlP6\_4xP1 (BM326)**

Se disolvió cada una de las proteínas recombinantes purificadas en un tampón isotónico que contenía cloruro de sodio al 0,9 % y fosfato de sodio 2 mM y se añadió a cada solución de proteína una cantidad adecuada de hidróxido de aluminio. Se preparó una mezcla que contenía partes iguales de las cuatro suspensiones resultantes y se separó en alícuotas en condiciones estériles en viales sellados. La formulación inyectable obtenida mediante este procedimiento contenía 0,4 mg/ml de cada uno de HBV\_PhlP1\_4xP5, HBV\_PhlP2\_4xP3, HBV\_PhlP5\_V2 y HBV\_PhlP6\_4xP1.

**Ejemplo 9: Preparación de HBV\_Betv1\_4xPA marcado con his**

25 Se sintetizó el gen que codifica las proteínas de fusión que consisten en PreS fusionada con péptido PA procedente de Bet v 1 dos veces en los extremos N y C-terminales (es decir, 4PA-PreS) por ATG:biosynthetics, Merzhausen, Alemania y se insertó en los sitios de Ndel/Xhol del vector pET-17b (Novagen, Alemania). Se confirmaron las secuencias de ADN mediante secuenciación automatizada de ambas hebras de ADN (Microsynth, Balgach, Suiza).

30 30 La proteína de fusión se expresó en la cepa BL21 de *E. coli* (DE3; Stratagene, La Jolla, CA). Las células se cultivaron en medio Luria-Bertani que contenía 50 µg/ml de kanamicina hasta una DO de 0,6. La expresión de proteína se indujo añadiendo isopropil-β-D-tiogalactopiranósido hasta una concentración final de 1 mmol/l durante una noche a 37 °C. Las células se recogieron por centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos. El producto de proteína se detectó principalmente en la fracción de cuerpos de inclusión. Se solubilizó en GuHCl 6M, NaH2PO4 100 mM, Tris 10 mM, pH 8,0 durante una noche. El homogeneizado se centrifugó a 14.000 g durante 18 minutos. Los sobrenadantes se incubaron con 2 ml de una resina de Ni-NTA previamente equilibrada durante 4 horas (Qiagen, Hilden, Alemania) y posteriormente, se cargaron las suspensiones en una columna, se lavaron con 2 volúmenes de columna de tampón de lavado (8 mol/l de urea, 100 mmol/l de NaH2PO4 y 10 mmol/l de Tris-HCl [pH = 6,1]) y se eluyeron con el mismo tampón (pH 3,5). La proteína purificada se dializó contra agua.

40 La pureza de las proteínas recombinantes se analizó mediante SDS-PAGE teñida con Coomassie (12,5 %) en condiciones reductoras.

45 45 Se confirmó la identidad de la proteína de fusión mediante transferencia por puntos usando anticuerpos monoclonales, específicos para los péptidos P2' (mAb2) y P4' (mAb12) derivados de Bet v 1 y anticuerpos de conejo específicos para PreS, así como las IgG preinmunes de conejo correspondientes. Se inmovilizaron sobre nitrocelulosa un µg de las proteínas de fusión de PreS, PreS y HSA (control) y se incubaron con sueros monoclonales, así como de conejo diluidos a 1:1000 a 4 °C. Los anticuerpos unidos se detectaron con anti-IgG de ratón procedente de conejo marcada con yodo <sup>125</sup>I (anti-PreS procedente de conejo, preinmune de conejo) (Perkin-Elmer, Waltham, Massachusetts) diluido a 1:500 durante 2 horas y se visualizó mediante autorradiografía. Además, se recubrieron placas de ELISA (Maxisorp, Nunc, Dinamarca) con 2 µg de proteína de fusión PreS y PreS, diluidas en tampón carbonato 0,1 mol/l, pH 9,6, se lavaron con PBS que contenía un 0,05 % vol/vol de Tween 20 (PBST) 3 veces y se bloquearon durante 2 horas con BSA-PBST al 1 %. Posteriormente, se incubaron las placas con mAb2, mAb12, suero de conejo anti-PreS y anticuerpos de conejo anti-Bet v 1 en una dilución de 1:5000 (tampón de dilución: BSA al PBST al 0,5 % p/v) durante una noche a 4 °C. Tras lavar 5 veces, se detectaron los anticuerpos unidos con un anticuerpo de oveja anti-ratón marcado con HRP (para mAb2, mAb12) o anticuerpo de burro anti-conejo marcado con HRP (suero de conejo) (ambos de GE Healthcare, Uppsala, Suecia) y se reveló la reacción de color.

60 60 **Ejemplo 10: Preparación de HBV\_Betv1\_2xPA2xPB (BM31) marcado con his**

65 Se sintetizaron los genes que codifican la proteína de fusión que consiste en PreS fusionada dos veces con péptidos derivados de Bet v 1 en los extremos N y C-terminales (2xPA2xPB-PreS) por GenScript, Piscataway, NJ, EE. UU., 2PAPB-Pres) y se insertaron en los sitios de Ndel/Xhol del vector pET-17b (Novagen, Alemania). Se confirmaron las secuencias de ADN mediante secuenciación automatizada de ambas hebras de ADN (Microsynth, Suiza).

Las proteínas de fusión de PreS recombinantes se expresaron en la cepa BL21 de *E. coli* (DE3; Stratagene, CA). Las células se cultivaron en medio Luria-Bertani que contenía 50 µg/ml de kanamicina hasta una DO de 0,6. La expresión de proteína se indujo añadiendo isopropil-β-D-tiogalactopiranósido hasta una concentración final de 1 mmol/l durante una noche a 37 °C. Las células se recogieron por centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos. Las proteínas se detectaron principalmente en la fracción de cuerpos de inclusión. La proteína resultante se solubilizó en GuHCl 6M, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mM, Tris 10 mM, pH 8,0 durante una noche. El homogeneizado se centrifugó a 14.000 g durante 18 minutos. Los sobrenadantes se incubaron con 2 ml de una resina de Ni-NTA previamente equilibrada durante 4 horas (Qiagen, Hilden, Alemania) y posteriormente, se cargaron las suspensiones en una columna, se lavaron con 2 volúmenes de columna de tampón de lavado (8 mol/l de urea, 100 mmol/l de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 10 mmol/l de Tris-HCl [pH = 6,1]) y se eluyeron con el mismo tampón (pH 3,5). La proteína se dializó contra NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10 mM.

La pureza de las proteínas recombinantes se analizó mediante SDS-PAGE teñida con Coomassie (12,5 %) en condiciones reductoras. Se confirmó la identidad de las proteínas de fusión mediante transferencia por puntos usando anticuerpos monoclonales, específicos para los péptidos P2' (mAb2) y P4' (mAb12) derivados de Bet v 1 y anticuerpos de conejo específicos para PreS, así como las IgG preinmunes de conejo correspondientes. Se inmovilizaron sobre nitrocelulosa un µg de las proteínas de fusión de PreS, PreS y HSA (control) y se incubaron con sueros monoclonales, así como de conejo diluidos a 1:1000 a 4 °C. Los anticuerpos unidos se detectaron con anti-IgG de ratón procedente de conejo marcada con yodo 125 (mAb2, mAb12) o anti-IgG de conejo procedente de cabra marcada con 125I (anti-PreS procedente de conejo, preinmune de conejo) (Perkin-Elmer, Waltham, Massachusetts) diluido a 1:500 durante 2 horas y se visualizó mediante autorradiografía. Además, se recubrieron placas de ELISA (Maxisorp, Nunc, Roskilde, Dinamarca) con 2 µg de proteína de fusión PreS y PreS, diluidas en tampón carbonato 0,1 mol/l, pH 9,6, se lavaron con PBS que contenía un 0,05 % vol/vol de Tween 20 (PBST) 3 veces y se bloquearon durante 2 horas con BSA-PBST al 1 %. Posteriormente, se incubaron las placas con mAb2, mAb12, suero de conejo anti-PreS y anticuerpos de conejo anti-Bet v 1 en una dilución de 1:5000 (tampón de dilución: BSA al PBST al 0,5 % p/v) durante una noche a 4 °C. Tras lavar 5 veces, se detectaron los anticuerpos unidos con un anticuerpo de oveja anti-ratón marcado con HRP (para mAb2, mAb12) o anticuerpo de burro anti-conejo marcado con HRP (suero de conejo) (ambos de GE Healthcare, Uppsala, Suecia) y se reveló la reacción de color.

#### **Ejemplo 11: Detección de reactividad con IgE de la proteína de fusión HBV\_Phlp1\_4xP5 (BM321)**

Se evaluó la unión a IgE en comparación con el alérgeno completo mediante ensayo de transferencia de puntos de IgE. Se incubaron sueros de pacientes alérgicos al polen de gramíneas con proteínas transferidas por puntos y se detectó la IgE unida mediante anticuerpo anti-IgE humana marcado con <sup>125</sup>I. No se detectó unión a IgE para HBV\_Phlp1\_4xP5 (BM321), como se muestra en la Fig. 4A.

#### **Ejemplo 12: Detección de reactividad con IgE de la proteína de fusión HBV\_Phlp2\_4xP3 (BM322)**

Se evaluó la unión a IgE en comparación con el alérgeno completo mediante ensayo de transferencia de puntos de IgE. Se incubaron sueros de pacientes alérgicos al polen de gramíneas con proteínas transferidas por puntos y se detectó la IgE unida mediante anticuerpo anti-IgE humana marcado con <sup>125</sup>I. No se detectó unión a IgE para HBV\_Phlp2\_4xP3 (BM321), como se muestra en la Fig. 4B.

#### **Ejemplo 13: Detección de reactividad con IgE de la proteína de fusión HBV\_Phlp5\_V2 (BM325)**

Se evaluó la unión a IgE en comparación con el alérgeno completo mediante ensayo de transferencia de puntos de IgE. Se incubaron sueros de pacientes alérgicos al polen de gramíneas con proteínas transferidas por puntos y se detectó la IgE unida mediante anticuerpo anti-IgE humana marcado con <sup>125</sup>I. No se detectó unión a IgE para HBV\_Phlp5\_V2 (BM325), como se muestra en la Fig. 4C.

#### **Ejemplo 14: Detección de reactividad con IgE de la proteína de fusión HBV\_Phlp6\_4xP1 (BM326)**

Se evaluó la unión a IgE en comparación con el alérgeno completo mediante ensayo de transferencia de puntos de IgE. Se incubaron sueros de pacientes alérgicos al polen de gramíneas con proteínas transferidas por puntos y se detectó la IgE unida mediante anticuerpo anti-IgE humana marcado con <sup>125</sup>I. No se detectó unión a IgE para HBV\_Phlp1\_4xP1 (BM326), como se muestra en la Fig. 4D.

#### **Ejemplo 15: Detección de reactividad con IgE de las proteínas de fusión HBV\_etV1\_4xPA y HBV\_Betv1\_2xPA2xPB (BM31)**

Se evaluó la unión a IgE en comparación con el alérgeno completo mediante ensayo de transferencia de puntos de IgE. Se incubaron sueros de pacientes alérgicos al polen de gramíneas con proteínas transferidas por puntos y se detectó la IgE unida mediante anticuerpo anti-IgE humana marcado con <sup>125</sup>I. No se detectó unión de IgE para ambas proteínas de fusión, como se muestra en la Fig. 5.

#### **Ejemplo 16: Los anticuerpos de conejo anti-r89P5 bloquean la unión de las IgE del paciente a rPhl p 1**

Para determinar la capacidad de la Ig de conejo inducida por péptido para inhibir la unión de los anticuerpos IgE de pacientes alérgicos a rPhl p 1, Se recubrieron placas de ELISA con 1 µg/ml de rPhl p 1, se lavaron y se bloquearon. Las placas se preincubaron con anticuerpo de conejo anti-péptido (HBV\_Phlp1\_4xP5, KLHP5) diluido a 1:100, un anticuerpo de conejo anti-rPhl p 1 y, para fines de control, con los sueros preinmunes correspondientes. Despues del lavado, se incubaron las placas con suero humano procedentes de pacientes alérgicos a Phl p 1 (diluido a 1:3) y la IgE unida se detectó con anticuerpo de ratón anti-IgE humana (Pharmigen, 1:1000) y despues con anticuerpo de oveja anti-IgG de ratón acoplado a POX (Amersham Bioscience) a 1:2000. Se calculó del siguiente modo el porcentaje de inhibición de la unión de IgE mediante preincubación con el antisuero anti-péptido del siguiente modo:  $100 - \frac{DO_i}{DO_p} \times 100$ .

DO<sub>i</sub> y DO<sub>p</sub> representan las extinciones tras la preincubación con el suero inmune y preinmune de conejo, respectivamente. La tabla 1 muestra la capacidad de los anticuerpos anti-péptido Phl p 1 para inhibir la unión de las IgE de 13 pacientes alérgicos a rPhl p 1 completo. Los sueros anti-proteína de fusión bloquearon la unión de las IgE en la misma medida que el suero contra rPhl p 1 y KLHP5. La tabla 2 muestra la inhibición (en %) de los 13 pacientes.

Tabla 1: % de inhibición de la unión de las IgE de 13 pacientes a rPhl p 1 tras la incubación de anticuerpo de conejo anti-rPhl p 1, anti-HBV\_Phlp1\_4xP5 y antisueros anti-KLHP5

<b>paciente</b>	% de inhibición		
	<b>rPhl p 1</b>	<b>HBV_Phlp1_4xP5</b>	<b>KLHP5</b>
1	83,63	86,11	85,17
2	88,74	95,69	93,85
3	95,66	96,80	98,42
4	97,43	97,72	96,29
5	92,77	90,84	88,45
6	93,56	91,93	90,07
7	95,00	94,56	96,84
8	85,25	89,10	90,05
9	97,07	104,72	93,73
10	91,55	103,02	95,47
11	98,85	102,43	100,49
12	94,01	92,12	93,91
13	87,75	59,62	42,98
Media	92,41	92,59	89,67

**Ejemplo 17: Los anticuerpos de conejo anti-HBV\_Phlp2\_4xP3 bloquean la unión de las IgE del paciente a rPhl p 2**

Para determinar la capacidad de la Ig de conejo inducida por péptido para inhibir la unión de los anticuerpos IgE de pacientes alérgicos a rPhl p 2, Se recubrieron placas de ELISA con 1 µg/ml de rPhl p 2, se lavaron y se bloquearon. Las placas se preincubaron con anticuerpo de conejo anti-péptido (HBV\_Phlp2\_4xP3, KLHP3) diluido a 1:100, un anticuerpo de conejo anti-rPhl p 2 y, para fines de control, con los sueros preinmunes correspondientes. Despues del lavado, se incubaron las placas con suero humano procedentes de pacientes alérgicos a Phl p 2 (diluido a 1:3) y la IgE unida se detectó con anticuerpo de ratón anti-IgE humana (Pharmigen, 1:1000) y despues con anticuerpo de oveja anti-IgG de ratón acoplado a POX (Amersham Bioscience) a 1:2000. Se calculó del siguiente modo el porcentaje de inhibición de la unión de IgE mediante preincubación con el antisuero anti-péptido del siguiente modo:  $100 - \frac{DO_i}{DO_p} \times 100$ .

DO<sub>i</sub> y DO<sub>p</sub> representan las extinciones tras la preincubación con el suero inmune y preinmune de conejo, respectivamente. La tabla 2 muestra la capacidad de los anticuerpos anti-péptido Phl p 2 para inhibir la unión de las IgE de 19 pacientes alérgicos a rPhl p 2 completo. Los sueros anti-proteína de fusión bloquearon la unión de las IgE en la misma medida que el suero contra rPhl p 2 y KLHP3. La tabla 2 muestra la inhibición (en %) de los 19 pacientes.

Tabla 2: % de inhibición de la unión de las IgE de 19 pacientes a rPhl p 2 tras la incubación de anticuerpo de conejo anti-rPhl p 1, anti-HBV\_Phlp2\_4xP3 y antisueros anti-KLHP3

<b>paciente</b>	% de inhibición		
	<b>rPhl p 2</b>	<b>HBV_Phlp2_4xP3</b>	<b>KLHP3</b>
1		98,24	81,36
2		97,50	83,90

3	96,46	98,57	90,58
4		98,31	86,77
5		96,46	81,17
6		99,43	72,45
9	91,25	91,38	90,44
8		95,78	54,49
9		98,60	87,55
10		95,45	82,68
11	91,36	96,70	78,21
12		98,47	90,21
13		97,67	93,20
14		96,57	85,64
15		97,00	91,35
16	93,73	98,06	83,62
17		95,55	76,27
18		95,91	86,49
19		95,90	83,99
Media	93,20	97,19	83,18

**Ejemplo 18: Los anticuerpos de conejo anti-HBV\_Php5\_V2 bloquean la unión de las IgE del paciente a rPhl p 5**

- 5 Para determinar la capacidad de la Ig de conejo inducida por péptido para inhibir la unión de los anticuerpos IgE de pacientes alérgicos a rPhl p 5, Se recubrieron placas de ELISA con 1 µg/ml de rPhl p 5, se lavaron y se bloquearon. Las placas se preincubarón con anticuerpo de conejo anti-péptido (HBV\_Php5\_V2) diluido a 1:100, un anticuerpo de conejo anti-rPhl p 5 y, para fines de control, con los sueros preinmunes correspondientes. Después del lavado, se incubaron las placas con suero humano procedentes de pacientes alérgicos a Phl p 5 (diluido a 1:3) y la IgE unida se detectó con anticuerpo de ratón anti-IgE humana (Pharmigen, 1:1000) y después con anticuerpo de oveja anti-IgG de ratón acoplado a POX (Amersham Bioscience) a 1:2000. Se calculó del siguiente modo el porcentaje de inhibición de la unión de IgE mediante preincubación con el antisuero anti-péptido del siguiente modo:  $100 - \frac{DO_i - DO_p}{DO_p} \times 100$ .
- 10

15 DO<sub>i</sub> y DO<sub>p</sub> representan las extinciones tras la preincubación con el suero inmune y preinmune de conejo, respectivamente. La tabla 3 muestra la capacidad de los anticuerpos anti-péptido Phl p 5 para inhibir la unión de las IgE de 16 pacientes alérgicos a rPhl p 5 completo. Los sueros anti-proteína de fusión bloquearon la unión de las IgE en la misma medida que el suero contra rPhl p 5 y mejor que la mezcla de péptido KLH. La tabla 3 muestra la inhibición (en %) de los 16 pacientes.

- 20 Tabla 3: % de inhibición de la unión de las IgE de 13 pacientes a rPhl p 5 tras la incubación de anticuerpo de conejo anti-rPhl p 1, anti-HBV\_Php5\_V2 y antisueros anti-mezcla de péptido de KLH

<b>paciente</b>	<b>% de inhibición</b>		
	<b>rPhl p 5</b>	<b>HBV_Php5_V2</b>	<b>Mezcla de HLKP</b>
1	99,00	96,69	91,74
2	94,57	94,15	68,42
3	98,98	95,88	85,74
4	97,39	88,38	80,23
5	98,95	93,74	62,33
6	98,52	93,36	78,82
9	97,22	91,35	79,94
8	96,02	89,70	80,14
9	97,09	88,48	61,11
10	99,30	84,03	92,92
11	99,50	94,09	86,46
12	95,45	88,97	81,31
13	96,22	93,34	60,87
14	90,86	94,80	83,02

15	98,45	94,15	83,60
16	94,68	92,46	91,77
Media	97,01	92,10	79,28

**Ejemplo 19: Los anticuerpos de conejo anti-HBV\_Phlp6\_4xP1 bloquean la unión de las IgE del paciente a rPhl p 6**

- 5 Para determinar la capacidad de la Ig de conejo inducida por péptido para inhibir la unión de los anticuerpos IgE de pacientes alérgicos a rPhl p 6. Se recubrieron placas de ELISA con 1 µg/ml de rPhl p 6, se lavaron y se bloquearon. Las placas se preincubaron con anticuerpo de conejo anti-péptido (HBV\_Phlp6\_4xP1, KLHP1) diluido, un anticuerpo de conejo anti-rPhl p 6 y, para fines de control, con los sueros preinmunes correspondientes. Después del lavado, se incubaron las placas con suero humano procedentes de pacientes alérgicos a Phl p 6 (diluido a 1:3) y la IgE unida se detectó con anticuerpo de ratón anti-IgE humana (Pharmigen, 1:1000) y después con anticuerpo de oveja anti-IgG de ratón acoplado a POX (Amersham Bioscience) a 1:2000. Se calculó del siguiente modo el porcentaje de inhibición de la unión de IgE mediante preincubación con el antisuero anti-péptido del siguiente modo:  $100 \cdot DO_i / DO_p \times 100$ .  $DO_i$  y  $DO_p$  representan las extinciones tras la preincubación con el suero inmune y preinmune de conejo, respectivamente. La tabla 4 muestra la capacidad de los anticuerpos anti-péptido Phl p 6 para inhibir la unión de las IgE de 21 pacientes alérgicos a rPhl p 6 completo. Los sueros anti-proteína de fusión bloquearon la unión de las IgE en la misma medida que el suero contra rPhl p 6 y KLHP1. La tabla 4 muestra la inhibición (en %) de los 21 pacientes.
- 10
- 15

Tabla 4: % de inhibición de la unión de las IgE de 21 pacientes a rPhl p 6 tras la incubación de anticuerpo de conejo anti-rPhl p 6, anti-HBV\_Phlp6\_4xP1 y antisueros anti-KLHP1

<b>paciente</b>	% de inhibición		
	<b>rPhl p 6</b>	<b>HBV_Phlp6_4xP1</b>	<b>KLHP1</b>
1	96,52	95,96	95,64
2	88,26	91,20	88,06
3	95,07	95,39	94,10
4	82,77	83,74	81,98
5	96,71	96,35	95,20
6	95,46	93,38	92,83
7	90,52	88,07	86,06
8	86,69	85,14	83,08
9	89,09	91,56	89,00
10	97,05	96,48	97,42
11	86,97	89,19	84,95
12	37,22	49,14	44,90
13	75,97	79,19	75,85
14	91,05	92,13	87,93
15	89,01	88,25	85,82
16	92,46	91,82	91,30
17	78,99	84,13	77,93
18	47,25	67,02	67,825
19	93,84	86,62	79,841
20	58,42	56,69	71,388
21	39,92	56,69	67,797
Media	81,39	83,36	82,81

**Ejemplo 20: Reactividad con IgE de las proteínas de fusión de PreS determinada mediante transferencia por puntos y ELISA**

- 5 Se probó la reactividad con IgE de las proteínas de fusión recombinantes de rBet v 1, 4xPA-PreS y 2xPA2xPB-PreS mediante ensayos de transferencias por puntos no desnaturalizantes basados en RAST. Se transfirieron por puntos dos µg de las proteínas purificadas y con fines de control, HSA sobre tiras de membrana de nitrocelulosa (Schleicher & Schuell, Dassel, Alemania).
- 10 Las tiras de nitrocelulosa se bloquearon en tampón A (Vrtala, J Clin Invest, 1997) y se incubaron con sueros de pacientes alérgicos al polen de abedul (n=50), sueros de personas no alérgicas (n=3) diluidos a 1:10, control de tampón y control positivo (antisuero de conejo anti-rBet v 1 diluido a 1:1000). Los anticuerpos IgE unidos se detectaron con anticuerpos anti-IgE humana marcados con <sup>125</sup>I (BSM Diagnostica, Viena, Austria), anticuerpos de conejo unidos con un antisuero de cabra anti-conejo marcado con <sup>125</sup>I (Perkin-Elmer) y se visualizaron mediante autorradiografía (Valenta et al., 1992). Adicionalmente, las placas de ELISA se recubrieron con rBet v 1 y las proteínas de fusión de PreS purificadas (5 µg/ml). Tras lavar y bloquear como se ha descrito anteriormente, las placas se incubaron con sueros de pacientes alérgicos al polen de abedul (n=21) y tres sueros de control no alérgico diluidos a 1:5. La IgE unida se detectó mediante anticuerpo de ratón anti-IgE humana purificado (BD Pharmigen) diluido a 1:1000 durante una noche y se visualizó con anticuerpo de oveja anti-IgG de ratón marcado con HRP (GE Healthcare) diluido a 1:2000. Después del lavado, se determinó la reacción de color como se ha descrito anteriormente.
- 15

20 **Ejemplo 21: Regulación positiva inducida por alérgeno de CD203c de basófilos de pacientes alérgicos**

- 25 Se obtuvieron muestras de sangre heparinizada de pacientes alérgicos al abedul tras otorgar consentimiento informado y se incubaron con concentraciones crecientes de rBet v 1, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS en el intervalo de 0,001 a 1 mg/ml, un anticuerpo monoclonal anti-IgE (Immunotech, Marsella, Francia) como control positivo o PBS (control negativo) durante 15 min (37 °C). La expresión de CD 203c se determinó como se ha descrito anteriormente.

30 **Ejemplo 22: Respuestas linfoproliferativas e inducción de citocinas en PBMC de pacientes alérgicos al polen de abedul**

- 35 Se aislaron PBMC de pacientes alérgicos al polen de abedul (n=6) mediante centrifugación de gradiente de densidad de Ficoll (Amersham Biosciences, Uppsala, Suecia). Posteriormente, se resuspendieron las PBMC en medio AIM V (Life Technologies, Grand Island, NY) hasta una concentración final de 2 x 10<sup>5</sup> células/pocillo y se estimularon con dosis decrecientes de antígeno (cantidades equimolares de 5 µg/pocillo de rBet v 1, PA, PB, PreS, 2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS), con medio solo (control negativo) o con IL-2 (4 IE/pocillo) (control positivo). Después de 6 días, se midieron las respuestas proliferativas mediante incorporación de [<sup>3</sup>H] timidina y se expresaron como índices de estimulación (IE).

- 40 Además, la producción de 17 citocinas diferentes (es decir, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IFN-γ, TNF-α, G-CSF, GM-CSF, MIP-1β, MCP-1) se midió tras 6 días de estimulación con el panel de 17 canales de citocinas humanas Bio-plex Pro (Bio-Rad Laboratories) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, se mezclaron los sobrenadantes no diluidos con anticuerpos monoclonales de ratón anti-citocinas/quimiocinas acoplados a diferentes perlas como anticuerpos de captura (Bio-Rad). Se usó una curva patrón de 8 puntos para lograr una baja sensibilidad final. Despues del lavado, se añadió anticuerpo de detección biotinilado anti-citocinas. La reacción se visualizó añadiendo ficoeritrina (PE) marcada con estreptavidina y tampón de ensayo. Las muestras se analizaron en un instrumento Luminex 100 (Biosource, Nivelles, Bélgica) y se recogieron los datos usando el programa informático Bio-Plex Manager 6.0. Todas las muestras se analizaron en un ciclo. Los resultados se muestran en la Fig. 10.
- 45

50 **Ejemplo 23: Análisis de sueros de conejo inmunitizados con rBet v 1 y proteínas de fusión de PreS respecto de su reconocimiento de alérgenos homólogos de rBet v E Bet v 1 y péptidos derivados de Bet v 1 mediante ELISA**

- 55 Se recubrieron placas de ELISA (Maxisorp, Nunc) con 1 µg/ml de rBet v 1 o de alérgenos homólogos de aliso (rAIn g 1), avellano (rCor a 1), manzano (rMal d 1) y adicionalmente con varios péptidos derivados de Bet v 1 a una concentración de 1 µg/ml durante una noche a 4 °C. Tras lavar y bloquear como se ha descrito anteriormente, los sueros de conejos inmunitizados con rBet v 1 y las proteínas de fusión de PreS conjugadas a alumbre o CFA, se incubaron en diluciones seriadas de 1:2 en el intervalo de 1:500 a 1: 1 280 000 y en una concentración de 1:1000. La IgG de conejo unida se detectó con anticuerpos de burro anti-conejo marcados con HRP (GE Healthcare) y la reacción de color como se ha descrito anteriormente.
- 60

**Ejemplo 24: Inhibición de la unión de IgE de pacientes alérgicos a rBet v 1**

- 65 Se usó un ELISA de inhibición para estudiar la inhibición de la unión de IgE de pacientes alérgicos al polen de abedul a rBet v 1. Se recubrieron placas de ELISA con rBet v 1 a una concentración de 1 µg/ml a 4 °C durante una noche. Tras lavar y bloquear las placas, se preincubaron con sueros de conejo dirigidos contra la proteína de fusión de PreS,

- 2PAPB-PreS y suero de conejo anti-Bet v 1 en una dilución de 1:80 y 1:160 en comparación con suero preinmune de conejo durante una noche a 4 °C. Tras una etapa de lavado adicional, se añadieron sueros de pacientes alérgicos al polen de abedul diluidos a 1:5 durante una noche a 4 °C y se detectaron las IgE humanas unidas con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgE humana conjugado a fosfatasa alcalina diluido a 1:1000 (BD Pharmigen). El porcentaje de inhibición de la unión de IgE a rBet v 1 tras la preincubación con antisueros de conejo contra 2PAPB-PreS y anticuerpos de conejo contra Bet v 1 se calculó del siguiente modo: porcentaje de inhibición = 100 - (DO<sup>i</sup> x 100/ DO<sup>p</sup>). DO<sup>p</sup> y DO<sup>i</sup> representan las extinciones tras la preincubación con IgG específica de conejo (DO<sup>i</sup>) o sueros preinmunes (DO<sup>p</sup>), respectivamente. (Fig. 12)
- 10 **Ejemplo 25: Uso de una formulación de vacuna que comprende una mezcla de 4 proteínas de fusión hipoalergénicas para el tratamiento de la alergia al polen de gramíneas en individuos humanos alérgicos al polen de gramíneas**
- 15 Se preparó una formulación inyectable de proteínas de fusión hipoalergénicas de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17 con hidróxido de aluminio, como se ha descrito en el ejemplo 8. Durante el transcurso de un estudio clínico, se administró la vacuna 3 veces por vía subcutánea a 69 sujetos humanos alérgicos al polen de gramíneas. (Fig. 17)
- 20 La vacunación con la formulación de vacuna ocasionó una robusta respuesta inmunitaria de IgG. La inducción de IgG específicas para el alérgeno tras la inyección s.c. de los 3 niveles de dosis diferentes de la vacuna y placebo se determinó mediante ELISA en los sueros recogidos de los participantes en el estudio antes y después del tratamiento con 3 inyecciones s.c. de la formulación de vacuna. (Fig. 14).
- 25 Para este fin, las placas de ELISA (Nunc Maxisorp, Roskilde, Dinamarca) se recubrieron con 5 µg/ml de los antígenos Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 y Phl p 6 o albúmina sérica humana (HSA) como control durante una noche a 4 °C. Tras lavar con PBS que contenía Tween 20 al 0,5 % (PT) y bloquear con BSA en PT al 2 % p/v, se incubaron las placas con sueros de pacientes diluidos de 1:10 a 1:100, suero de un individuo no atópico o solo tampón en triplicados durante una noche a 4 °C. Los anticuerpos IgE unidos se detectaron con anticuerpos anti-IgE humana acoplados a HRP diluidos en PT, BSA al 0,5 %. El revelado del color se llevó a cabo mediante la adición de soluciones de tinción ABTS (ácido 2,2'-Azino-bis(3-etylbenzotiazolin-6-sulfónico) sal de diamonio; Sigma-Aldrich, St.Louis, Missouri, EE. UU.) (100 µl/pocillo). La densidad óptica se midió usando un lector de ELISA a 405 nm. Los resultados de las determinaciones de IgG se muestran en la figura 14.
- 30 35 La vacuna no provocó ninguna reactividad de linfocitos T relevante contra las proteínas de fusión hipoalergénicas presentes en la formulación de vacuna como se determinó mediante un ensayo de proliferación de linfocitos T *in vitro* (Fig. 15), demostrando de este modo la ausencia de reactividad con linfocitos T de las proteínas de fusión hipoalergénicas.
- 40 Se llevaron a cabo ensayos de proliferación de linfocitos T usando el siguiente procedimiento: Se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de muestras de sangre heparinizada de los pacientes alérgicos al polen de gramíneas mediante centrifugación de gradiente de densidad de Ficoll (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, R. U.). Despues, se cultivaron las PBMC ( $2 \times 10^5$ ) por triplicado en placas de 96 pocillos (Nunclon; Nalge Nunc International, Roskilde, Dinamarca) en 200 µl de medio de cultivo Ultra asérico (BioWhittaker, Rockland, ME) complementado con L-glutamina 2 mM (SIGMA, St. Louis, MO), b-mercaptopetanol 50 µM (SIGMA) y 0,1 mg de gentamicina por ml (SIGMA) a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en una atmósfera humidificada. Las células se estimularon con una mezcla que contenía 0,25 µg de cada componente polipeptídico de la vacuna y por comparación, una concentración equimolar de extracto de polen de gramíneas o para fines de control, con 4 U de interleucina-2 por pocillo (Boeringer Mannheim, Alemania) o solo medio. Tras 6 días de cultivo, se añadieron 0,5 µCi de [3H]timidina (Amersham Pharmacia Biotech) por pocillo y 16 h después se midió la radiactividad incorporada mediante conteo de centelleo líquido usando un contador de centelleo Microbeta (Wallac ADL, Friburgo, Alemania). Se calculó la media de cpm a partir de los triplicados y se calcularon los índices de estimulación (EI) como el cociente de las cpm obtenidas mediante la estimulación con antígeno o interleucina-2 y el control no estimulado. Los resultados de los ensayos de proliferación se muestran en la Fig. 15.
- 45 55 El tratamiento con la vacuna indujo anticuerpos IgG con la capacidad de modular la respuesta de linfocitos T específica de antígeno como se demostró por una respuesta proliferativa reducida tras la estimulación con alérgenos del polen de gramíneas en presencia de IgG inducidas por el tratamiento. (Fig. 16).
- 50 60 Para este fin, se llevaron a cabo ensayos de proliferación de linfocitos T con PBMC aisladas de participantes en el estudio tras el tratamiento, como se ha descrito anteriormente, salvo por que la estimulación se llevó a cabo con una mezcla de los 4 alérgenos del polen de gramíneas, Phl p 1, Phl p 2, Phl p5 y Phl p 6 (0,25 µg por alérgeno) junto con suero recogido del mismo participante antes y después del tratamiento. La configuración experimental y los resultados se muestran en la figura 16.
- 65 66 Se observó reducción de los síntomas nasales de alergia inducidos mediante exposición en una cámara de polen y reducción de la reactividad cutánea, determinada mediante una prueba de pinchazo en la piel titulada, en pacientes

que habían recibido 3 inyecciones que contenían o 20 µg o 40 µg de cada uno de los 4 polipéptidos, mientras que no hubo reducción en estos parámetros tras el tratamiento con dosis de 10 µg de cada polipéptido, (véase la Fig. 19).

**Ejemplo 26: Selección de péptidos procedentes del alérgeno del ácaro del polvo doméstico Der p 2 y diseño de proteínas de fusión de PreS usando estos péptidos**

Los 5 péptidos derivados de Der p 2 sin unión a IgE, Der p 2 Pep1 (SEQ ID NO: 96), Der p 2 Pep2 (SEQ ID NO: 97), Der p 2 Pep3 (SEQ ID NO: 98), Der p 2 Pep4 (SEQ ID NO: 99) y Der p 2 Pep5 (SEQ ID NO: 100), se exploraron respecto de

- sus propiedades de unión a IgE (ensayo de transferencia por puntos)
- su potencial para inducir reacciones de linfocitos T específicas para Der p 2 (ensayo de proliferación de linfocitos T) y
- su capacidad para inducir anticuerpos específicos para Der p 2 con la capacidad de bloquear las IgE del paciente humano para Der p 2. (ELISA de inhibición usando IgG de conejo anti-péptido)

Para este fin, se acopló químicamente cada uno de los péptidos a KLH. Se usó KLH y acoplamiento químico de los péptidos en este experimento de exploración debido a que es un sistema modelo fácil de usar y directo que permite la comparación inicial de los diferentes péptidos.

Se evaluó la unión a IgE de los péptidos derivados de Der p 2 en comparación con el alérgeno completo mediante el ensayo de transferencia por puntos de IgE. Se incubaron sueros de 26 pacientes alérgicos al ácaro del polvo doméstico con péptidos conjugados a KLH punteados y se detectó la IgE unida con anti-IgE humana marcada con <sup>125</sup>I. No se detectó unión de IgE para ninguno de los 5 péptidos, como se muestran a continuación.

Para identificar péptidos que inducen una baja respuesta linfoproliferativa en PBMC de pacientes alérgicos al ácaro del polvo doméstico, se estimularon PBMC aisladas de 10 pacientes solamente con los 5 péptidos derivados de Der p 2, los péptidos conjugados a KLH y Der p 2 de tipo silvestre por comparación.

Se estimularon las PBMC de los 10 pacientes con Der p 2 de tipo silvestre y hubo una proliferación baja o nula tras la estimulación con Der p 2 Pep1, Der p 2 Pep2 y Der p 2 Pep4. Sin embargo, la estimulación con Der p 2 Pep3 y Der p 2 Pep5, dio como resultado una proliferación significativa de las PBMC en 4 de 10 y 3 de 10 casos, respectivamente, lo que indica que los péptidos 3 y 5 contienen epítopenos para linfocitos T importantes.

Para identificar la capacidad de los péptidos para inducir IgG de bloqueo, se inmunizó a conejos con los 5 conjugados de KLH-péptido individuales. Posteriormente, se investigó la capacidad de la Ig de conejo inducida por péptido para inhibir la unión de los anticuerpos IgE de pacientes alérgicos a rDer p 2 mediante ELISA. Se recubrieron placas de ELISA con 1 µg/ml de rDer p 2, se lavaron y se bloquearon. Las placas se preincubaron con anticuerpo de conejo anti-péptido (KLH-P1, KLH-P2, KLH-P3, KLH-P4 y KLH-P5) diluido a 1:100, un anticuerpo de conejo anti-rDer p 2 y, para fines de control, con los sueros preinmunes correspondientes. Después del lavado, las placas se incubaron con sueros humano procedentes de pacientes alérgicos al ácaro del polvo doméstico sensibilizados a Der p 2 (diluido a 1:3) y la IgE unida se detectó con anticuerpo de ratón anti-IgE humana (Pharmigen, 1:1000) y después con anticuerpo de oveja anti-IgG de ratón acoplado a POX (Amersham Bioscience) a 1:2000. Se calculó del siguiente modo el porcentaje de inhibición de la unión de IgE mediante preincubación con el antisuero anti-péptido del siguiente modo:  $100 - \frac{DO_i}{DO_p} \times 100$ .

Tabla 5: Capacidad de los anticuerpos anti-péptido Der p 2 para inhibir la unión de las IgE de 20 pacientes alérgicos a rDer p 2 completo. Los sueros anti-péptido KLH inducidos por los péptidos 2, 3 y 4 bloquearon la unión de IgE en la misma medida que los sueros contra Der p 2 de tipo silvestre. La tabla 5 muestra la inhibición (en %) de los 20

pacientes.

N.º de paciente	Péptido 1	Péptido 2	Péptido 3	Péptido 4	Péptido 5	Der p 2
1	50,63	74,41	78,36	75,50	1,07	78,26
2	49,61	77,15	82,95	77,85	4,16	82,74
3	64,73	87,41	92,13	89,25	0,00	93,34
4	37,98	72,24	81,08	75,60	2,48	84,25
5	0,00	43,56	50,52	47,28	0,00	56,70
6	54,12	80,63	82,64	80,94	1,10	83,21
7	51,43	79,64	92,08	83,25	16,16	93,51
8	42,93	71,02	79,55	75,44	0,83	78,35
9	30,33	58,36	50,94	56,49	7,76	57,03
10	38,46	66,79	71,20	71,25	0,00	69,06

N.º de paciente	Péptido 1	Péptido 2	Péptido 3	Péptido 4	Péptido 5	Der p 2
11	48,15	74,60	83,13	78,97	5,59	83,56
12	46,06	68,54	74,05	71,32	10,05	76,46
13	44,71	73,62	87,29	77,19	4,97	84,34
14	39,20	63,55	63,94	65,30	0,00	66,20
15	43,62	71,82	89,94	74,54	0,51	94,39
16	38,09	69,94	84,08	72,45	1,29	86,83
17	43,63	74,16	87,12	78,50	2,98	89,10
18	29,09	73,75	89,97	77,59	1,38	90,66
19	40,44	56,77	62,09	62,30	0,00	66,16
20	20,89	60,85	70,76	63,16	2,69	74,98
media	40,71	69,94	77,69	72,71	3,15	79,46

Tabla 6: Matriz de decisión para la selección de péptidos. Los péptidos 2 y 4 cumplen con todos los requisitos de los fragmentos de péptido de la presente invención.

	el péptido no se une a IgE	el péptido induce reactividad con linfocitos T baja o nula	el péptido induce IgG que inhiben la unión de IgE humana a Der p 2	¿Es adecuado el péptido?
Der p2 Pep1	✓	✓	X	no
Der p2 Pep2	✓	✓	✓	sí
Der p2 Pep3	✓	X	✓	no
Der p2 Pep4	✓	✓	✓	sí
Der p2 Pep5	✓	X	X	no

##### 5 Ejemplo 27: Selección de péptidos hipoalergénicos derivados de Der p 1

Se determinó la capacidad de los péptidos derivados de Der p 1 para inducir anticuerpos IgG bloqueantes de IgE usando antisueros de conejo anti-péptido KLH y sueros de 6 pacientes alérgicos al ácaro del polvo doméstico en un ELISA de inhibición, como se ha descrito en el ejemplo 26, con la excepción de que las placas de ELISA se recubrieron 10 con Der p 1 de tipo silvestre en lugar de Der p 2.

Tabla 7: Capacidad de los anticuerpos anti-péptido Der p 1 para inhibir la unión de las IgE de 6 pacientes alérgicos a Der p 1 completo. Se observó que los sueros anti-péptido KLH inducidos mediante los péptidos 1, 2 y 8 bloqueaban 15 la unión de IgE en un grado similar al de sueros contra Der p 1 de tipo silvestre. La tabla 7 muestra la inhibición (en %) de 6 pacientes.

	Paciente I	Paciente II	Paciente III	Paciente IV	Paciente V	Paciente VI	media
Der p 1	72,9	91,3	80	90,8	87,5	89,7	85,4
péptido 1	50	68,4	65,5	87,7	77,4	85,1	72,4
péptido 2	47,8	73,4	66,1	83,2	72,6	82,5	70,9
péptido 3	22,5	28,2	22,1	35,5	26,4	27,6	27,1
péptido 4	24,4	42,4	33,4	46,5	33,2	42	37,0
péptido 5	22,7	31,4	23,3	38,4	30,4	31,5	29,6
péptido 6	1,9	12,8	3,6	5,6	4,2	5,4	5,6
péptido 7	30	51,8	43,5	67,4	52,1	59,6	50,7
péptido 8	41,1	65,8	52,8	76	66,2	73,9	62,6

##### LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Biomay AG

20 <120> Proteínas de fusión transportadoras de péptido como vacunas para alergias

<130> R 62042

<150> EP 11169365.1  
 <151> 09/06/2011  
 <160> 152

5 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1  
 <211> 28  
 <212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido

15 <400> 1

His	Val	Glu	Lys	Gly	Ser	Asn	Pro	Asn	Tyr	Leu	Ala	Leu	Leu	Val	Lys
1															15

Tyr	Val	Asn	Gly	Asp	Gly	Asp	Val	Val	Ala	Val	Cys
	20						25				

20 <210> 2  
 <211> 32  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Péptido

<400> 2

Glu	Pro	Val	Val	Val	His	Ile	Thr	Asp	Asp	Asn	Glu	Glu	Pro	Ile	Ala
1															15

Pro	Tyr	His	Phe	Asp	Leu	Ser	Gly	His	Ala	Phe	Gly	Ala	Met	Ala	Cys
															30
		20						25							

30 <210> 3  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido

<400> 3

Ile	Pro	Lys	Val	Pro	Pro	Gly	Pro	Asn	Ile	Thr	Ala	Thr	Tyr	Gly	Asp
1															15

Lys	Trp	Leu	Asp	Ala	Lys	Ser	Thr	Trp	Tyr	Gly	Lys	Pro	Thr	Gly	Cys
															30
		20					25								

45 <210> 4  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido

&lt;400&gt; 4

1	Gly	Tyr	Lys	Asp	Val	Asp	Lys	Pro	Pro	Phe	Ser	Gly	Met	Thr	Gly	Cys
5																15

20	Gly	Asn	Thr	Pro	Ile	Phe	Lys	Ser	Gly	Arg	Gly	Cys
25												

5 &lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 31

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

10 &lt;220&gt;

&lt;223&gt; Péptido

&lt;400&gt; 5

1	Cys	Val	Arg	Tyr	Thr	Thr	Glu	Gly	Gly	Thr	Lys	Thr	Glu	Ala	Glu	Asp
5																15

15

20	Val	Ile	Pro	Glu	Gly	Trp	Lys	Ala	Asp	Thr	Ser	Tyr	Glu	Ser	Lys
25															30

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 34

&lt;212&gt; PRT

20 &lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Péptido

25 &lt;400&gt; 6

1	Val	Pro	Lys	Val	Thr	Phe	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ser	Asn	Glu	Lys	His
5																15

20	Leu	Ala	Val	Leu	Val	Lys	Tyr	Glu	Gly	Asp	Thr	Met	Ala	Glu	Val	Glu
25																30

**Leu Cys**

30 &lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

35 &lt;220&gt;

&lt;223&gt; Péptido

&lt;400&gt; 7

Cys Val Glu Lys Gly Ser Asn Glu Lys His Leu Ala Val Leu Val Lys  
 1 5 10 15

Tyr Glu Gly Asp Thr Met Ala Glu Val Glu Leu Arg Glu His Gly Ser  
 20 25 30

**Asp**

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 33

5 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Péptido

10 &lt;400&gt; 8

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

Gly Val Trp Thr Phe Asp Ser Glu Glu Pro Leu Gln Gly Pro Phe Asn  
 20 25 30

**Cys**

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

15 &lt;220&gt;

&lt;223&gt; Péptido

&lt;400&gt; 9

Cys Phe Arg Phe Leu Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp  
 1 5 10 15

Val Val Pro Glu Lys Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu  
 20 25 30

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; PRT

25 &lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Péptido

30 &lt;400&gt; 10

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

Ser Phe Arg Ala Ala Met Ala Thr Thr Ala Asn Val Pro Pro Ala Asp  
 20 25 30

5           <210> 11  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 10          <220>  
 <223> Péptido  
 10          <400> 11

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

Ala	Asp	Ala	Val	Ser	Lys	Ala	Pro	Gln	Leu	Val	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu
				20					25				30		

Val	Tyr	Asn													
		35													

15          <210> 12  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20          <220>  
 <223> Péptido  
 10          <400> 12

Ala	Ala	Asp	His	Ala	Ala	Pro	Glu	Asp	Lys	Tyr	Glu	Ala	Phe	Val	Leu
1					5				10					15	

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

Ala															
25															

25          <210> 13  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30          <220>  
 <223> Péptido  
 10          <400> 13

Asp	Ala	Val	Ser	Lys	Ala	Pro	Gln	Leu	Val	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Val
1					5				10					15	

Tyr	Asn	Ala	Ala	Tyr	Asn	Ala	Ala	Asp	His	Ala	Ala	Pro	Glu	Asp	Lys
				20					25				30		

Tyr															
35															

<210> 14  
 <211> 294

ES 2 720 140 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Péptido

<400> 14

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

Val Ile Pro Glu Gly Trp Lys Ala Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Lys Val  
20 25 30

Arg Tyr Thr Thr Glu Gly Gly Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp Val Ile  
35 40 45

Pro Glu Gly Trp Lys Ala Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Lys Gly Gly Trp  
50 55 60

Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn  
65 70 75 80

Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala  
85 90 95

Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp  
100 105 110

Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr  
115 120 125

Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile  
130 135 140

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

Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His  
165 170 175

ES 2 720 140 T3

Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln  
180 185 190

Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser  
195 200 205

Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile  
210 215 220

Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Val Arg Tyr Thr Thr Glu  
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp Val Ile Pro Glu Gly Trp Lys  
245 250 255

Ala Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Lys Val Arg Tyr Thr Thr Glu Gly Gly  
260 265 270

Thr Lys Thr Glu Ala Glu Asp Val Ile Pro Glu Gly Trp Lys Ala Asp  
275 280 285

Thr Ser Tyr Glu Ser Lys  
290

<210> 15

<211> 298

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido

10 <400> 15

Met Phe Arg Phe Leu Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp  
1 5 10 15

Val Val Pro Glu Lys Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu  
20 25 30

Phe Arg Phe Leu Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp Val  
35 40 45

Val Pro Glu Lys Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu Gly  
50 55 60

Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val  
65 70 75 80

Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe

## ES 2 720 140 T3

85

90

95

Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp  
 100 105 110

His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly  
 115 120 125

Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln  
 130 135 140

Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn  
 145 150 155 160

Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp  
 165 170 175

Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala  
 180 185 190

Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser  
 195 200 205

Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser  
 210 215 220

Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Phe Arg Phe Leu  
 225 230 235 240

Thr Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp Val Val Pro Glu Lys  
 245 250 255

Tyr Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu Phe Arg Phe Leu Thr  
 260 265 270

Glu Lys Gly Met Lys Asn Val Phe Asp Asp Val Val Pro Glu Lys Tyr  
 275 280 285

Thr Ile Gly Ala Thr Tyr Ala Pro Glu Glu  
 290 295

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 307

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Péptido

10

&lt;400&gt; 16

ES 2 720 140 T3

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

Tyr Glu Ser Tyr Lys Phe Ile Pro Ala Leu Glu Ala Ala Val Lys Ala  
20 25 30

Glu Glu Val Lys Val Ile Pro Ala Gly Glu Leu Gln Val Ile Glu Lys  
35 40 45

Val Asp Ala Ala Phe Lys Val Ala Ala Thr Ala Ala Asn Ala Ala Pro  
50 55 60

Ala Asn Asp Lys Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly  
65 70 75 80

Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln  
85 90 95

Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe  
100 105 110

Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly  
115 120 125

Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp  
130 135 140

Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro  
145 150 155 160

Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr  
180 185 190

Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe  
195 200 205

Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile  
210 215 220

Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr  
225 230 235 240

Asn Ala Asp Leu Gly Tyr Gly Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Ala  
245 250 255

Gly Tyr Thr Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Glu Ala Ala Pro Ala

ES 2 720 140 T3

260

265

270

Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Lys Ile Asn Ala  
275 280 285

Gly Phe Lys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp  
290 295 300

Lys Tyr Arg  
305

<210> 17

<211> 305

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido

10

<400> 17

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

Ser Phe Arg Ala Ala Met Ala Thr Thr Ala Asn Val Pro Pro Ala Asp  
20 25 30

Lys Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Asp Val Asn  
35 40 45

Ala Ser Phe Arg Ala Ala Met Ala Thr Thr Ala Asn Val Pro Pro Ala  
50 55 60

Asp Lys Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn  
65 70 75 80

Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp  
85 90 95

Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro  
100 105 110

Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe  
115 120 125

Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro  
130 135 140

Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala  
145 150 155 160

ES 2 720 140 T3

Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Pro Ile Ser Pro Pro  
165 170 175

Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe  
180 185 190

His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala  
195 200 205

Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser  
210 215 220

His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Gly  
225 230 235 240

Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Asp Val Asn Ala Ser  
245 250 255

Phe Arg Ala Ala Met Ala Thr Thr Ala Asn Val Pro Pro Ala Asp Lys  
260 265 270

Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Asp Val Asn Ala  
275 280 285

Ser Phe Arg Ala Ala Met Ala Thr Thr Ala Asn Val Pro Pro Ala Asp  
290 295 300

Lys  
305

<210> 18  
<211> 346  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido  
10 <400> 18

ES 2 720 140 T3

Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile  
1 5 10 15

Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu  
20 25 30

Gly Pro Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Leu Phe Pro Lys  
35 40 45

Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn Gly  
50 55 60

Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Pro Glu Gly Pro Phe Lys Tyr  
 65 70 75 80

Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys  
 85 90 95

Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro  
 100 105 110

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp  
 115 120 125

Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val  
 130 135 140

Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile  
 145 150 155 160

Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr  
 165 170 175

Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr  
 180 185 190

Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp  
 195 200 205

Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly  
 210 215 220

Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala  
 225 230 235 240

Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp  
 245 250 255

Pro Val Thr Asn Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser  
 260 265 270

Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile  
 275 280 285

Ser Pro Glu Gly Pro Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Leu  
 290 295 300

Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu  
 305 310 315 320

Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Pro Glu Gly Pro  
325 330 335

Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu  
340 345

5 <210> 19  
<211> 349  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Péptido  
<400> 19

ES 2 720 140 T3

Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile  
1 5 10 15

Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu  
20 25 30

Gly Pro Phe Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Leu Phe Pro Lys  
35 40 45

Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile Glu Gly Asn Gly  
50 55 60

Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Pro Glu Gly Pro Phe Lys Tyr  
65 70 75 80

Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys  
85 90 95

Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro  
100 105 110

Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp  
115 120 125

Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val  
130 135 140

Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile  
145 150 155 160

Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr  
165 170 175

Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr  
180 185 190

Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp  
 195 200 205

Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly  
 210 215 220

Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala  
 225 230 235 240

Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp  
 245 250 255

Pro Val Thr Asn Pro Glu Gly Phe Pro Phe Lys Tyr Val Asp Arg Val  
 260 265 270

Asp Glu Val Asp His Thr Asn Phe Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu  
 275 280 285

Gly Gly Pro Ile Gly Asp Thr Leu Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys  
 290 295 300

Ile Pro Glu Gly Phe Pro Phe Lys Tyr Val Asp Arg Val Asp Glu Asp  
 305 310 315 320

His Thr Asn Phe Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly Pro Ile  
 325 330 335

Gly Asp Thr Leu Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys Ile  
 340 345

<210> 20  
 <211> 307  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido

<400> 20

5

10

ES 2 720 140 T3

Met Ala Asp Leu Gly Tyr Gly Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Ala  
1 5 10 15

Gly Tyr Thr Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Glu Ala Ala Pro Ala  
20 25 30

Gly Lys Ala Thr Thr Glu Glu Gln Lys Leu Ile Glu Lys Ile Asn Ala  
35 40 45

Gly Phe Lys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp  
50 55 60

ES 2 720 140 T3

Lys Tyr Arg Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr  
65 70 75 80

Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu  
85 90 95

Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn  
100 105 110

Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala  
115 120 125

Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser  
130 135 140

Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro  
145 150 155 160

Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro  
165 170 175

Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala  
180 185 190

Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro  
195 200 205

Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala  
210 215 220

Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn  
225 230 235 240

Glu Ala Ala Phe Asn Asp Ala Ile Lys Ala Ser Thr Gly Gly Ala Tyr  
245 250 255

Glu Ser Tyr Lys Phe Ile Pro Ala Leu Glu Ala Ala Val Lys Ala Glu  
260 265 270

Glu Val Lys Val Ile Pro Ala Gly Glu Leu Gln Val Ile Glu Lys Val  
275 280 285

Asp Ala Ala Phe Lys Val Ala Ala Thr Ala Ala Asn Ala Ala Pro Ala  
290 295 300

Asn Asp Lys  
305

## ES 2 720 140 T3

<210> 21  
<211> 173  
<212> PRT  
<213> Virus de la Hepatitis B

5

&lt;400&gt; 21

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

Val	Pro	Asn	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala
				20				25				30			

Phe	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Asn	Pro	Asp	Trp	Asp	Phe	Asn	Pro	Ile	Lys
				35				40			45				

Asp	His	Trp	Pro	Ala	Ala	Asn	Gln	Val	Gly	Val	Gly	Ala	Phe	Gly	Pro
				50				55			60				

Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	His	Gly	Gly	Ile	Leu	Gly	Trp	Ser	Pro	Gln	Ala
				65				70			75			80	

Gln	Gly	Ile	Leu	Thr	Thr	Val	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Thr
				85				90					95		

Asn	Arg	Gln	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Ser	Pro	Pro	Leu	Arg
				100				105			110				

Asp	Ser	His	Pro	Gln	Ala	Met	Gln	Trp	Asn	Ser	Thr	Ala	Phe	His	Gln
				115				120			125				

Ala	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Phe	Pro	Ala	Gly	Gly
				130				135			140				

Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Val	Asn	Pro	Ala	Pro	Asn	Ile	Ala	Ser	His	Ile
				145				150			155			160	

Ser	Ser	Ile	Ser	Ala	Arg	Thr	Gly	Asp	Pro	Val	Thr	Asn			
				165							170				

10

<210> 22  
<211> 33  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> Péptido

&lt;400&gt; 22

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

20

Lys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp Lys Tyr  
 20 25 30

**Arg**

5 <210> 23  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 1  
 <400> 23

Ala Pro Leu Glu Ser Arg Gln Asp Thr Ala Ser Cys Pro Val Thr Thr  
 1 5 10 15

Glu Gly Asp Tyr Val Trp Lys Ile Ser Glu Phe Tyr Gly Arg Lys Pro  
 20 25 30

15 Glu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser Leu  
 35 40

20 <210> 24  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 1  
 25 <400> 24

Gly Phe Asn Ile Lys Ala Thr Asn Gly Gly Thr Leu Asp Phe Thr Cys  
 1 5 10 15

Ser Ala Gln Ala Asp Lys Leu Glu Asp His Lys Trp Tyr Ser Cys Gly  
 20 25 30

Glu Asn Ser Phe Met  
 35

30 <210> 25  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 1  
 <400> 25

Glu Asn Ser Phe Met Asp Phe Ser Phe Asp Ser Asp Arg Ser Gly Leu  
 1 5 10 15

ES 2 720 140 T3

Leu Leu Lys Gln Lys Val Ser Asp Asp Ile Thr Tyr Val Ala  
20 25 30

<210> 26

<211> 37

5 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 1

10 <400> 26

Thr Ala Thr Leu Pro Asn Tyr Cys Arg Ala Gly Gly Asn Gly Pro Lys  
1 5 10 15

Asp Phe Val Cys Gln Gly Val Ala Asp Ala Tyr Ile Thr Leu Val Thr  
20 25 30

Leu Pro Lys Ser Ser  
35

15 <210> 27  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 2

<400> 27

Met His Ser Ser Asn Asn Phe Phe Lys Asp Asn Ile Phe Arg Ser Leu  
1 5 10 15

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

Arg Leu His Trp Asp Trp Ala Gln  
35 40

25 <210> 28  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 2

35 <400> 28

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

Ile Glu Lys Asp Gln Arg Val Trp Asp Arg Cys Thr Ala Asp Asp Leu

## ES 2 720 140 T3

20

25

30

Lys Gly Arg Asn Gly Phe Lys Arg  
 35                                  40

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 40

5            <212> PRT  
       <213> Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 2

10           <400> 29

Cys Leu Gln Phe Thr Leu Tyr Arg Pro Arg Asp Leu Leu Ser Leu Leu  
 1                                      5                                      10                              15

Asn Glu Ala Phe Phe Ser Ala Phe Arg Glu Asn Arg Glu Thr Ile Ile  
 20                                      25                                      30

Asn Thr Asp Leu Glu Tyr Ala Ala  
 35                                      40

15           <210> 30  
       <211> 40  
       <212> PRT  
       <213> Artificial

20           <220>  
       <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 2  
<400> 30

Lys Ser Ile Ser Met Ala Arg Leu Glu Asp Leu Trp Lys Glu Tyr Gln  
 1                                      5                                      10                              15

Lys Ile Phe Pro Ser Ile Gln Val Ile Thr Ser Ala Phe Arg Ser Ile  
 20                                      25                                      30

Glu Pro Glu Leu Thr Val Tyr Thr  
 35                                      40

25           <210> 31  
       <211> 30  
       <212> PRT  
       <213> Artificial

30           <220>  
       <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 2

35           <400> 31

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

Asp Pro Lys Ile Thr Ser Glu Ile Gln Leu Leu Lys Ala Ser  
 20                                      25                                      30

ES 2 720 140 T3

5           <210> 32  
          <211> 34  
          <212> PRT  
          <213> Artificial  
  
10          <220>  
          <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6  
  
15          <210> 32  
          <211> 34  
          <212> PRT  
          <213> Artificial  
  
20          <220>  
          <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6  
  
25          <210> 33  
          <211> 40  
          <212> PRT  
          <213> Artificial  
  
30          <220>  
          <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6  
  
35          <210> 33  
          <211> 40  
          <212> PRT  
          <213> Artificial  
  
40          <220>  
          <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6  
  
             Met Thr Ile Thr Lys Ile His Ala Arg Ser Val Tyr Asp Ser Arg Gly  
              1                 5                 10                 15  
  
             Asn Pro Thr Val Glu Val Asp Ile Val Thr Glu Thr Gly Leu His Arg  
              20                 25                 30  
  
             Ala Ile  
  
             <210> 33  
          <211> 40  
          <212> PRT  
          <213> Artificial  
  
             <220>  
          <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6  
  
             <400> 33  
  
             Val Thr Glu Thr Gly Leu His Arg Ala Ile Val Pro Ser Gly Ala Ser  
              1                 5                 10                 15  
  
             Thr Gly Ser His Glu Ala Cys Glu Leu Arg Asp Gly Asp Lys Ser Lys  
              20                 25                 30  
  
             Trp Gly Gly Lys Gly Val Thr Lys  
              35                 40  
  
             <210> 34  
          <211> 42  
          <212> PRT  
          <213> Artificial  
  
             <220>  
          <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6  
  
             <400> 34  
  
             Ala Pro Ala Leu Ile Lys Glu Lys Leu Asp Val Lys Asp Gln Ser Ala  
              1                 5                 10                 15  
  
             Val Asp Ala Phe Leu Asn Lys Leu Asp Gly Thr Thr Asn Lys Thr Asn  
              20                 25                 30  
  
             Leu Gly Ala Asn Ala Ile Leu Gly Val Ser  
              35                 40

ES 2 720 140 T3

<210> 35  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> Artificial

5  
<220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6

10 <400> 35

10 Glu Lys Gly Val Pro Leu Tyr Ala His Ile Ser Asp Leu Ala Gly Thr  
1 5 10 15

20 Lys Lys Pro Tyr Val Leu Pro Val Pro Phe Gln Asn Val Leu Asn Gly  
20 25 30

30 Gly Ser His Ala Gly Gly Arg Leu Ala  
35 40

15 <210> 36  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6

20 <400> 36

1 Cys Glu Ala Pro Thr Phe Ser Glu Ala Met Arg Gln Gly Ala Glu Val  
1 5 10 15

20 Tyr Gln Lys Leu Lys Ala Leu Ala Lys Lys Thr Tyr Gly Gln Ser Ala  
20 25 30

30 Gly Asn Val Gly Asp Glu Gly Gly  
35 40

25 <210> 37  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6

30 <400> 37

1 Ile Lys Ile Ala Met Asp Val Ala Ser Ser Glu Phe Tyr Lys Ala Asp  
1 5 10 15

35 Glu Lys Lys Tyr Asp Leu Asp Phe Lys Asn Pro Asp Ser Asp Lys Ser  
20 25 30

Lys Trp Leu Thr Tyr Glu Gln Leu  
35 40

ES 2 720 140 T3

<210> 38  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Artificial

5

<220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6

<400> 38

10

Val Ser Ile Glu Asp Pro Phe Ala Glu Asp Asp Trp Glu Ala Trp Ser  
1 5 10 15

Tyr Phe Phe Lys Thr Tyr Asp Gly Gln Ile Val Gly Asp Asp Leu Thr  
20 25 30

Val Thr Asn Pro Glu Phe Ile Lys  
35 40

<210> 39  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6

20

<400> 39

Ala Lys Asp Ala Phe Gly Ala Gly Trp Gly Val Met Val Ser His Arg  
1 5 10 15

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

Arg Ser Gly Gln Ile Lys Thr Gly  
35 40

25

<210> 40  
<211> 38  
<212> PRT  
<213> Artificial

30

<220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6

<400> 40

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

35

Ile Glu Glu Glu Leu Gly Asp Asn Ala Val Tyr Ala Gly Asn Asn Phe

20

25

30

Arg Thr Ala Val Asn Leu  
35

ES 2 720 140 T3

5 <210> 41  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

10 <400> 41

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

Tyr Asn Ile Ile Asp Gly Cys Trp Arg Gly Lys Ala Asp Trp Ala Glu  
20 25 30

Asn Arg Lys Ala Leu Ala Asp Cys  
35 40

15 <210> 42  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

<400> 42

Gly Gly Lys Asp Gly Asp Ile Tyr Thr Val Thr Ser Glu Leu Asp Asp  
1 5 10 15

Asp Val Ala Asn Pro Lys Glu Gly Thr Leu Arg Phe Gly Ala Ala Gln  
20 25 30

Asn Arg Pro Leu Trp Ile Ile Phe Glu  
35 40

25 <210> 43  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

<400> 43

35 Ile Arg Leu Asp Lys Glu Met Val Val Asn Ser Asp Lys Thr Ile Asp  
1 5 10 15

Gly Arg Gly Ala Lys Val Glu Ile Ile Asn Ala Gly Phe Thr Leu  
20 25 30

40 <210> 44  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 720 140 T3

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

<400> 44

5

Asn Val Ile Ile His Asn Ile Asn Met His Asp Val Lys Val Asn Pro  
1 5 10 15

Gly Gly Leu Ile Lys Ser Asn Asp Gly Pro Ala Ala Pro Arg Ala Gly  
20 25 30

Ser Asp Gly Asp Ala Ile Ser Ile Ser  
35 40

<210> 45

<211> 39

10 <212> PRT  
<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

15 <400> 45

Gly Thr Thr Arg Leu Thr Val Ser Asn Ser Leu Phe Thr Gln His Gln  
1 5 10 15

Phe Val Leu Leu Phe Gly Ala Gly Asp Glu Asn Ile Glu Asp Arg Gly  
20 25 30

Met Leu Ala Thr Val Ala Phe  
35

20 <210> 46

<211> 37

<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

<400> 46

Asn Thr Phe Thr Asp Asn Val Asp Gln Arg Met Pro Arg Cys Arg His  
1 5 10 15

30 Gly Phe Phe Gln Val Val Asn Asn Asn Tyr Asp Lys Trp Gly Ser Tyr  
20 25 30

Ala Ile Gly Gly Ser  
35

35 <210> 47

<211> 46

<212> PRT  
<213> Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

&lt;400&gt; 47

5

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

Lys	Asn	Val	Leu	Gly	Arg	His	Gly	Glu	Ala	Ala	Ala	Glu	Ser	Met	Lys
			20					25				30			

Trp	Asn	Trp	Arg	Thr	Asn	Lys	Asp	Val	Leu	Glu	Asn	Gly	Ala		
			35			40					45				

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 41

10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

15

&lt;400&gt; 48

Gly	Val	Asp	Pro	Val	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Ser	Ala	Gly	Met	Ile	Pro
1				5					10				15		

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

Leu	Ser	Cys	Gln	Pro	Gly	Ala	Pro	Cys							
			35			40									

20

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 44

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

25

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Molécula hipoalergénica derivada de Art a 1

&lt;400&gt; 49

Ser	Lys	Leu	Cys	Glu	Lys	Thr	Ser	Lys	Thr	Tyr	Ser	Gly	Lys	Cys	Asp
1				5					10				15		

30

Asn	Lys	Lys	Cys	Asp	Lys	Lys	Cys	Ile	Glu	Trp	Glu	Lys	Ala	Gln	His
				20				25				30			

Gly	Ala	Cys	His	Lys	Arg	Glu	Ala	Gly	Lys	Glu	Ser				
			35			40									

35

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 31

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

40

&lt;220&gt;

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Art a 1

<400> 50

Ser	Cys	Phe	Cys	Tyr	Phe	Asp	Cys	Ser	Lys	Ser	Pro	Pro	Gly	Ala	Thr
1				5					10					15	

Pro	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ser
				20				25					30	

<210> 51

<211> 41

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Art a 1

15 <400> 51

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

Gly	Ser	Pro	Pro	Pro	Pro	Ala	Asp	Gly	Gly	Ser	Pro	Pro	Val	Asp	Gly
						20			25					30	

Gly	Ser	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Thr	His
						35		40

<210> 52

<211> 38

<212> PRT

20 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 1

<400> 52

Gln	Asp	Thr	Pro	Ala	Leu	Gly	Lys	Asp	Thr	Val	Ala	Val	Ser	Gly	Lys
1					5				10					15	

Trp	Tyr	Leu	Lys	Ala	Met	Thr	Ala	Asp	Gln	Glu	Val	Pro	Glu	Lys	Pro
					20				25					30	

Asp	Ser	Val	Thr	Pro	Met
			35		

<210> 53

<211> 40

<212> PRT

35 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 1

40 <400> 53

ES 2 720 140 T3

Asp Ser Val Thr Pro Met Ile Leu Lys Ala Gln Lys Gly Gly Asn Leu  
1 5 10 15

Glu Ala Lys Ile Thr Met Leu Thr Asn Gly Gln Cys Gln Asn Ile Thr  
20 25 30

Val Val Leu His Lys Thr Ser Glu  
35 40

<210> 54

<211> 41

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 1

10 <400> 54

Cys Gln Asn Ile Thr Val Val Leu His Lys Thr Ser Glu Pro Gly Lys  
1 5 10 15

Tyr Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Arg Val Val Phe Ile Gln Pro Ser Pro  
20 25 30

Val Arg Asp His Tyr Ile Leu Tyr Cys  
35 40

15 <210> 55

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 1

<400> 55

Gln Pro Ser Pro Val Arg Asp His Tyr Ile Leu Tyr Cys Glu Gly Glu  
1 5 10 15

25 Leu His Gly Arg Gln Ile Arg Met Ala Lys Leu Leu Gly Arg Asp Pro  
20 25 30

Glu Gln Ser Gln Glu Ala Leu Glu  
35 40

30 <210> 56

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial

35 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 1

<400> 56

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

Ser Arg Ala Lys Gly Leu Asn Gln Glu Ile Leu Glu Leu Ala Gln Ser  
 20                   25                   30

Glu Thr Cys Ser Pro Gly Gly Gln  
 35                   40

<210> 57

<211> 40

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 2

10

<400> 57

Gln Glu Gly Asn His Glu Glu Pro Gln Gly Gly Leu Glu Glu Leu Ser  
 1                   5                   10                   15

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

Lys Pro Trp Gly His Phe Arg Val  
 35                   40

15

<210> 58

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 2

<400> 58

Pro Trp Gly His Phe Arg Val Phe Ile His Ser Met Ser Ala Lys Asp  
 1                   5                   10                   15

25

Gly Asn Leu His Gly Asp Ile Leu Ile Pro Gln Asp Gly Gln Cys Glu  
 20                   25                   30

Lys Val Ser Leu Thr Ala Phe Lys  
 35                   40

30

<210> 59

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 2

<400> 59

Cys Glu Lys Val Ser Leu Thr Ala Phe Lys Thr Ala Thr Ser Asn Lys  
 1                   5                   10                   15

Phe Asp Leu Glu Tyr Trp Gly His Asn Asp Leu Tyr Leu Ala Glu Val  
 20                   25                   30

Asp Pro Lys Ser Tyr Leu  
 35

<210> 60

<211> 39

5                   <212> PRT  
                   <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 2

10                  <400> 60

Asn Asp Leu Tyr Leu Ala Glu Val Asp Pro Lys Ser Tyr Leu Ile Leu  
 1                   5                   10                   15

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

Met Val Arg Asp Leu Ser Arg  
 35

15                  <210> 61  
                   <211> 42  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial

20                  <220>  
                   <223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 2

<400> 61

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

25                  Val Cys Glu Asp Ile Gly Leu His Lys Asp Gln Ile Val Val Leu Ser  
                   20                   25                   30

Asp Asp Asp Arg Cys Gln Gly Ser Arg Asp  
 35                   40

30                  <210> 62  
                   <211> 34  
                   <212> PRT  
                   <213> Artificial

35                  <220>  
                   <223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

<400> 62

Glu Ala His Gln Ser Glu Ile Ala His Arg Phe Asn Asp Leu Gly Glu  
 1                   5                   10                   15

Glu His Phe Arg Gly Leu Val Leu Val Ala Phe Ser Gln Tyr Leu Gln  
 20                   25                   30

**Gln Cys**

<210> 63

<211> 35

5       <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

10

<400> 63

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

Cys Glu Lys Lys Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys  
 20                   25                   30

**Asp Asp Asn**

35

15

<210> 64

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

<400> 64

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

25

His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Tyr Tyr Ala Glu  
 20                   25                   30

<210> 65

<211> 31

30       <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

35

<400> 65

Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln  
 1 5 10 15

Asp Ser Ile Ser Thr Lys Leu Lys Glu Cys Cys Gly Lys Pro Val  
 20 25 30

<210> 66  
 <211> 30  
 5 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2  
 10 <400> 66

Val Glu Asp Lys Glu Val Cys Lys Asn Tyr Gln Glu Ala Lys Asp Val  
 1 5 10 15

Phe Leu Gly Thr Phe Leu Tyr Glu Tyr Ser Arg Arg His Pro  
 20 25 30

15 <210> 67  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2  
 <400> 67

Leu Ala Lys Glu Tyr Glu Ala Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Thr Asp  
 1 5 10 15

Asp Pro Pro Ala Cys Tyr Ala His Val Phe Asp Glu Phe Lys  
 25 20 25 30

<210> 68  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 30 <213> Artificial

<220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

35 <400> 68

Glu Lys Gln Ile Lys Lys Gln Ser Ala Leu Val Glu Leu Leu Lys His  
 1 5 10 15

Lys Pro Lys Ala Thr Glu Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Gly  
 20 25 30

40 <210> 69  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>

ES 2 720 140 T3

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

<400> 69

Val Asp Lys Cys Cys Ala Ala Glu Asp Lys Glu Ala Cys Phe Ala Glu  
1 5 10 15

Glu Gly Pro Lys Leu Val Ala Ala Gln Ala Ala Leu Ala  
5 20 25 30

<210> 70

<211> 42

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

15 <400> 70

Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe  
1 5 10 15

Ala Lys Gly Cys Val Ala Asp Gln Ser Ala Ala Asn Cys Glu Lys Ser  
20 25 30

Leu His Glu Leu Leu Gly Asp Lys Leu Cys  
35 40

20 <210> 71

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

<400> 71

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Gly Phe Gly Gln Leu Val  
1 5 10 15

30 Thr Pro Glu Ala Asp Ala Met Cys Thr Ala Phe His Glu Asn Glu Gln  
20 25 30

Arg Phe Leu Gly Lys Tyr Leu Tyr Glu  
35 40

35 <210> 72

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial

40 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

<400> 72

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

Ala Ala Cys Leu Thr Pro Lys Val Asp Ala Leu Arg Glu Lys Val Leu  
 20 25 30

Ala Ser Ser Ala Lys Glu Arg Leu Lys Cys  
 35 40

<210> 73

<211> 38

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

10

<400> 73

Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ser  
 1 5 10 15

Val Ala Arg Leu Ser Gln Lys Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Ile  
 20 25 30

Ser Lys Leu Val Thr Asp  
 35

15

<210> 74

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

<400> 74

25

Phe Ala Glu Ile Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Ala Lys Ile His Lys  
 1 5 10 15

Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp  
 20 25 30

Leu Ala Lys Tyr Ile Cys  
 35

30

<210> 75

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

<400> 75

Cys Gly Lys Pro Val Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ser Glu Val Glu  
 1                   5                   10                   15

Arg Asp Glu Leu Pro Ala Asp Leu Pro Pro Leu Ala Val Asp Phe Val  
 20                 25                 30

Glu Asp Lys Glu Val Cys  
 35

5 <210> 76  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Molécula hiperalergénica derivada de Del d 2  
 <400> 76

Cys Glu Leu Phe Glu Lys Leu Gly Glu Tyr Gly Phe Gln Asn Ala Leu  
 1                 5                   10                   15

Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu  
 20                 25                 30

Val Glu Val Ser Arg Ser Leu Gly Lys Val  
 35                 40

15 <210> 77  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> Molécula hiperalergénica derivada de Del d 2  
 <400> 77

25 Cys Thr His Pro Glu Ala Glu Arg Leu Ser Cys Ala Glu Asp Tyr Leu  
 1                 5                   10                   15

Ser Val Val Leu Asn Arg Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val  
 20                 25                 30

Ser Glu Arg Val Thr Lys Cys  
 35

30 <210> 78  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Molécula hiperalergénica derivada de Del d 2  
 <400> 78

Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Gln  
 1                   5                   10                   15

Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Ser Ala Glu Thr Phe Thr  
 20                   25                   30

Phe His Ala Asp Leu Cys Thr Leu Pro Glu  
 35                   40

<210> 79

<211> 40

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Ole e 1

10

<400> 79

Glu Asp Ile Pro Gln Pro Pro Val Ser Gln Phe His Ile Gln Gly Gln  
 1                   5                   10                   15

Val Tyr Cys Asp Thr Cys Arg Ala Gly Phe Ile Thr Glu Leu Ser Glu  
 20                   25                   30

Phe Ile Pro Gly Ala Ser Leu Arg  
 35                   40

15

<210> 80

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Ole e 1

<400> 80

25

Gly Ala Ser Leu Arg Leu Gln Cys Lys Asp Lys Glu Asn Gly Asp Val  
 1                   5                   10                   15

Thr Phe Thr Glu Val Gly Tyr Thr Arg Ala Glu Gly Leu Tyr Ser  
 20                   25                   30

30

<210> 81

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Ole e 1

<400> 81

Gly Leu Tyr Ser Met Leu Val Glu Arg Asp His Lys Asn Glu Phe Cys  
 1                   5                                   10                           15

Glu Ile Thr Leu Ile Ser Ser Gly Arg Lys Asp Cys Asn Glu Ile Pro  
 20                   25                                   30

Thr Glu Gly Trp Ala  
 35

<210> 82

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Ole e 1

10

<400> 82

Gly Arg Lys Asp Cys Asn Glu Ile Pro Thr Glu Gly Trp Ala Lys Pro  
 1                   5                                   10                           15

Ser Leu Lys Phe Lys Leu Asn Thr Val Asn Gly Thr Thr Arg Thr Val  
 20                   25                                   30

Asn Pro Leu  
 35

15

<210> 83

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Ole e 1

<400> 83

Leu Asn Thr Val Asn Gly Thr Thr Arg Thr Val Asn Pro Leu Gly Phe  
 1                   5                                   10                           15

25

Phe Lys Lys Glu Ala Leu Pro Lys Cys Ala Gln Val Tyr Asn Lys Leu

20

25

30

Gly Met Tyr Pro Pro Asn Met  
 35

<210> 84

<211> 30

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Par j 2

<400> 84

Gly Glu Glu Ala Cys Gly Lys Val Val Gln Asp Ile Met Pro Cys Leu  
 1                   5                   10                   15

His Phe Val Lys Gly Glu Glu Lys Glu Pro Ser Lys Glu Cys  
 20                   25                   30

<210> 85

<211> 36

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Par j 2

10

<400> 85

Cys Leu His Phe Val Lys Gly Glu Glu Lys Glu Pro Ser Lys Glu Cys  
 1                   5                   10                   15

Cys Ser Gly Thr Lys Lys Leu Ser Glu Glu Val Lys Thr Thr Glu Gln  
 20                   25                   30

Lys Arg Glu Ala  
 35

15

<210> 86

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Par j 2

<400> 86

Cys Cys Ser Gly Thr Lys Lys Leu Ser Glu Glu Val Lys Thr Thr Glu  
 1                   5                   10                   15

25

Gln Lys Arg Glu Ala Cys Lys Cys Ile Val Arg Ala Thr Lys Gly Ile  
 20                   25                   30

Ser Gly Ile Lys Asn  
 35

30

<210> 87

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Par j 2

<400> 87

ES 2 720 140 T3

Glu Leu Val Ala Glu Val Pro Lys Lys Cys Asp Ile Lys Thr Thr Leu  
1 5 10 15

Pro Pro Ile Thr Ala Asp Phe Asp Cys Ser Lys Ile Gln Ser Thr Ile  
20 25 30

Phe Arg Gly Tyr Tyr  
35

<210> 88

<211> 30

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hiperalergénica derivada de Der p 1

10

<400> 88

Thr Asn Ala Cys Ser Ile Asn Gly Asn Ala Pro Ala Glu Ile Asp Leu  
1 5 10 15

Arg Gln Met Arg Thr Val Thr Pro Ile Arg Met Gln Gly Gly  
20 25 30

15

<210> 89

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hiperalergénica derivada de Der p 1

<400> 89

Asn Gln Ser Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Leu Val Asp Cys Ala Ser  
1 5 10 15

Gln His Gly Cys His Gly Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile  
20 25 30

25

Gln

<210> 90

<211> 31

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hiperalergénica derivada de Der p 1

35

<400> 90

ES 2 720 140 T3

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

Gln Ser Cys Arg Arg Pro Asn Ala Gln Arg Phe Gly Ile Ser Asn  
20 25 30

<210> 91

<211> 37

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1

10

<400> 91

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

Asn Tyr Cys Gln Ile Tyr Pro Pro Asn Val Asn Lys Ile Arg Glu Ala  
20 25 30

Leu Ala Gln Thr His  
35

15

<210> 92

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1

<400> 92

Lys Asp Leu Asp Ala Phe Arg His Tyr Asp Gly Arg Thr Ile Ile Gln  
1 5 10 15

25

Arg Asp Asn Gly Tyr Gln Pro Asn Tyr His Ala Val Asn Ile Val  
20 25 30

<210> 93

<211> 33

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1

35

<400> 93

Gly Arg Thr Ile Ile Gln Arg Asp Asn Gly Tyr Gln Pro Asn Tyr His  
1 5 10 15

Ala Val Asn Ile Val Gly Tyr Ser Asn Ala Gln Gly Val Asp Tyr Trp  
20 25 30

Ile

ES 2 720 140 T3

<210> 94

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1

10 <400> 94

Val Gly Tyr Ser Asn Ala Gln Gly Val Asp Tyr Trp Ile Val Arg Asn  
1 5 10 15

Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr Phe Ala Ala  
20 25 30

**Asn Ile**

<210> 95

<211> 35

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1

20 <400> 95

Val Arg Asn Ser Trp Asp Thr Asn Trp Gly Asp Asn Gly Tyr Gly Tyr  
1 5 10 15

Phe Ala Ala Asn Ile Asp Leu Met Met Ile Glu Glu Tyr Pro Tyr Val  
20 25 30

**Val Ile Leu**  
35

25

<210> 96

<211> 33

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 2

35 <400> 96

Asp Gln Val Asp Val Lys Asp Cys Ala Asn His Glu Ile Lys Lys Val  
1 5 10 15

Leu Val Pro Gly Cys His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly  
20 25 30

**Lys**

<210> 97

<211> 31

ES 2 720 140 T3

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 2

<400> 97

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

Leu Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys  
20 25 30

10 <210> 98  
<211> 32  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 2

<400> 98

Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys Ile Glu Ile Lys Ala Ser  
1 5 10 15

Ile Glu Gly Leu Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys  
20 25 30

25 <210> 99  
<211> 42  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 2

<400> 99

Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys  
1 5 10 15

Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile  
20 25 30

35 Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn  
35 40

40 <210> 100  
<211> 32  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 2

<400> 100

ES 2 720 140 T3

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

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

<210> 101

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 5

10 <400> 101

Met Glu Asp Lys Lys His Asp Tyr Gln Asn Glu Phe Asp Phe Leu Leu  
1 5 10 15

Met Glu Arg Ile His Glu Gln Ile Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe  
20 25 30

Tyr Leu Gln  
35

15 <210> 102

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 5

<400> 102

Lys Lys Gly Glu Leu Ala Leu Phe Tyr Leu Gln Glu Gln Ile Asn His  
1 5 10 15

25 Phe Glu Glu Lys Pro Thr Lys Glu Met Lys Asp Lys Ile Val Ala Glu  
20 25 30

Met Asp Thr Ile  
35

30 <210> 103

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

35 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 5

<400> 103

ES 2 720 140 T3

Asp Gly Val Arg Gly Val Leu Asp Arg Leu Met Gln Arg Lys Asp Leu  
1 5 10 15

Asp Ile Phe Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser Gly  
20 25 30

<210> 104

<211> 36

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 5

10 <400> 104

Asp Leu Asp Ile Phe Glu Gln Tyr Asn Leu Glu Met Ala Lys Lys Ser  
1 5 10 15

Gly Asp Ile Leu Glu Arg Asp Leu Lys Lys Glu Glu Ala Arg Val Lys  
20 25 30

Lys Ile Glu Val  
35

15 <210> 105

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 7

<400> 105

Asp Pro Ile His Tyr Asp Lys Ile Thr Glu Glu Ile Asn Lys Ala Val  
1 5 10 15

Asp Glu Ala Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp  
20 25 30

25 <210> 106

<211> 31

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 7

35 <400> 106

Val Ala Ala Ile Glu Lys Ser Glu Thr Phe Asp Pro Met Lys Val Pro  
1 5 10 15

Asp His Ser Asp Lys Phe Glu Arg His Ile Gly Ile Ile Asp Leu  
20 25 30

40 <210> 107

<211> 31

ES 2 720 140 T3

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 7

<400> 107

Leu Lys Gly Glu Leu Asp Met Arg Asn Ile Gln Val Arg Gly Leu Lys  
1 5 10 15

Gln Met Lys Arg Val Gly Asp Ala Asn Val Lys Ser Glu Asp Gly  
20 25 30

10 <210> 108  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 7

<400> 108

20 Val His Asp Asp Val Val Ser Met Glu Tyr Asp Leu Ala Tyr Lys Leu  
1 5 10 15

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

Val Val Glu Leu  
35

25 <210> 109  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 7

<400> 109

Leu Ser Leu Glu Val Ser Glu Glu Gly Asn Met Thr Leu Thr Ser Phe  
1 5 10 15

Glu Val Arg Gln Phe Ala Asn Val Val Asn His Ile Gly Gly Leu  
20 25 30

35 <210> 110  
<211> 34  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 7

<400> 110



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

Ala Leu Asn Arg Arg Ile Gln Leu Ile Glu Glu Asp Leu Glu Arg Ser  
 20                   25                   30

Glu Glu Arg Leu Lys Ile Ala Thr  
 35                   40

<210> 114

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10

10 <400> 114

Ala Lys Leu Glu Glu Ala Ser Gln Ser Ala Asp Glu Ser Glu Arg Met  
 1                   5                   10                   15

Arg Lys Met Leu Glu His Arg Ser Ile Thr Asp Glu Glu Arg Met Glu  
 20                   25                   30

Gly Leu Glu  
 35

15 <210> 115

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10

<400> 115

Arg Met Glu Gly Leu Glu Asn Gln Leu Lys Glu Ala Arg Met Met Ala  
 1                   5                   10                   15

25 Glu Asp Ala Asp Arg Lys Tyr Asp Glu Val Ala Arg Lys Leu Ala  
 20                   25                   30

<210> 116

<211> 31

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10

35 <400> 116

Asp Leu Glu Arg Ala Glu Glu Arg Ala Glu Thr Gly Glu Ser Lys Ile  
 1                   5                   10                   15

Val Glu Leu Glu Glu Leu Arg Val Val Gly Asn Asn Leu Lys  
 20                 25                 30

<210> 117

<211> 41

5                  <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10

10                <400> 117

Ser Glu Glu Lys Ala Gln Gln Arg Glu Glu Ala His Glu Gln Ile  
 1                 5                 10                 15

Arg Ile Met Thr Thr Lys Leu Lys Glu Ala Glu Ala Arg Ala Glu Phe  
 20                25                30

Ala Glu Arg Ser Val Gln Lys Leu Gln  
 35                40

15                <210> 118

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial

20                <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10

<400> 118

Gln Lys Glu Val Asp Arg Leu Glu Asp Glu Leu Val His Glu Lys Glu  
 1                 5                 10                 15

Lys Tyr Lys Ser Ile Ser Asp Glu Leu Asp Gln Thr Phe Ala Glu Leu  
 20                25                30

Thr Gly Tyr  
 35

30                <210> 119

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial

35                <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 21

<400> 119

Met Phe Ile Val Gly Asp Lys Lys Glu Asp Glu Trp Arg Met Ala Phe  
 1                       5                       10                       15

Asp Arg Leu Met Met Glu Glu Leu Glu Thr Lys Ile Asp Gln Val Glu  
 20                      25                      30

Lys Gly Leu  
 35

<210> 120

<211> 37

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 21

10 <400> 120

Leu His Leu Ser Glu Gln Tyr Lys Glu Leu Glu Lys Thr Lys Ser Lys  
 1                       5                       10                       15

Glu Leu Lys Glu Gln Ile Leu Arg Glu Leu Thr Ile Gly Glu Asn Phe  
 20                      25                      30

Met Lys Gly Ala Leu  
 35

15 <210> 121

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 21

<400> 121

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

25 Met Phe Glu Arg Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys  
 20                      25                      30

<210> 122

<211> 33

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 21

35 <400> 122

Tyr Asn Tyr Glu Phe Ala Leu Glu Ser Ile Lys Leu Leu Ile Lys Lys  
 1                   5                                   10                           15

Leu Asp Glu Leu Ala Lys Lys Val Lys Ala Val Asn Pro Asp Glu Tyr  
 20                   25                                   30

**Tyr**

&lt;210&gt; 123

&lt;211&gt; 32

5       &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Molécula hipoalergénica derivada del clon 30

10      &lt;400&gt; 123

Met Ala Asn Asp Asn Asp Asp Asp Pro Thr Thr Thr Val His Pro Thr  
 1                   5                                   10                           15

Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg Phe Gly  
 20                   25                                   30

15       &lt;210&gt; 124

&lt;211&gt; 34

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

20      &lt;220&gt;

&lt;223&gt; Molécula hipoalergénica derivada del clon 30

&lt;400&gt; 124

Pro Thr Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg  
 1                   5                                   10                           15

Phe Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys  
 20                   25                                   30

**Ser Asn**

&lt;210&gt; 125

&lt;211&gt; 39

30       &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Molécula hipoalergénica derivada del clon 30

35      &lt;400&gt; 125

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser  
 1                   5                   10                   15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn  
 20                   25                   30

Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr  
 35

<210> 126

<211> 30

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Bet v 1

10

<400> 126

Leu Phe Pro Lys Val Ala Pro Gln Ala Ile Ser Ser Val Glu Asn Ile  
 1                   5                   10                   15

Glu Gly Asn Gly Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe  
 20                   25                   30

15

<210> 127

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Bet v 1

<400> 127

Gly Pro Gly Thr Ile Lys Lys Ile Ser Phe Pro Glu Gly Phe Pro Phe  
 1                   5                   10                   15

25

Lys Tyr Val Lys Asp Arg Val Asp Glu Val Asp His Thr Asn  
 20                   25                   30

<210> 128

<211> 30

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Bet v 1

35

<400> 128

Val Asp His Thr Asn Phe Lys Tyr Asn Tyr Ser Val Ile Glu Gly Gly  
 1                   5                   10                   15

Pro Ile Gly Asp Thr Leu Glu Lys Ile Ser Asn Glu Ile Lys  
 20                   25                   30

40

<210> 129

<211> 35

<212> PRT  
 <213> Artificial

5 <220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de la cadena 1 de Fel d 1

<400> 129

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

Thr	Pro	Asp	Glu	Tyr	Val	Glu	Gln	Val	Ala	Gln	Tyr	Lys	Ala	Leu	Pro
			20					25					30		

Val	Val	Cys
		35

10 <210> 130  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

15 <220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de la cadena 1 de Fel d 1

<400> 130

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

Glu	Glu	Asp	Lys	Glu	Asn	Ala	Leu	Ser	Leu	Leu	Asp	Lys	Ile	Tyr	Thr
20							25					30			

Ser	Pro	Leu	Cys
			35

25 <210> 131  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de la cadena 2 de Fel d 1

<400> 131

Val	Lys	Met	Ala	Ile	Thr	Cys	Pro	Ile	Phe	Tyr	Asp	Val	Phe	Phe	Ala
1						5			10				15		

Val	Ala	Asn	Gly	Asn	Glu	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Ser	Leu	Thr	Lys	Val
			20				25						30		

Asn	Ala	Cys
		35

35 <210> 132  
 <211> 30

ES 2 720 140 T3

<212> PRT  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de la cadena 2 de Fel d 1

<400> 132

  Thr Glu Pro Glu Arg Thr Ala Met Lys Lys Ile Gln Asp Cys Tyr Val  
  1                 5                 10                 15

  Glu Asn Gly Leu Ile Ser Arg Val Leu Asp Gly Leu Val Cys  
  20                 25                 30

10 <210> 133  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de la cadena 2 de Fel d 1

<400> 133

  Cys Met Thr Thr Ile Ser Ser Ser Lys Asp Cys Met Gly Glu Ala Val  
  1                 5                 10                 15

  Gln Asn Thr Val Glu Asp Leu Lys Leu Asn Thr Leu Gly Arg  
  20                 25                 30

25 <210> 134  
<211> 32  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5

<400> 134

  Cys Gly Ala Ala Ser Asn Lys Ala Phe Ala Glu Gly Leu Ser Gly Glu  
  1                 5                 10                 15

  Pro Lys Gly Ala Ala Glu Ser Ser Ser Lys Ala Ala Leu Thr Ser Lys  
  20                 25                 30

35 <210> 135  
<211> 34  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5

<400> 135

Ala Asp Leu Gly Tyr Gly Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Ala Gly  
 1                   5                   10                   15

Tyr Thr Pro Ala Thr Pro Ala Ala Pro Ala Glu Ala Ala Pro Ala Gly  
 20                   25                   30

Lys Cys

<210> 136

<211> 32

5                   <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5

10

<400> 136

Ala Tyr Lys Leu Ala Tyr Lys Thr Ala Glu Gly Ala Thr Pro Glu Ala  
 1                   5                   10                   15

Lys Tyr Asp Ala Tyr Val Ala Thr Leu Ser Glu Ala Leu Arg Ile Cys  
 20                   25                   30

15

<210> 137

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5

<400> 137

Cys Glu Ala Ala Phe Asn Asp Ala Ile Lys Ala Ser Thr Gly Gly Ala  
 1                   5                   10                   15

25

Tyr Glu Ser Tyr Lys Phe Ile Pro Ala Leu Glu Ala Ala Val Lys  
 20                   25                   30

<210> 138

<211> 33

<212> PRT

30                   <213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5

35

<400> 138

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

Leu Lys Lys Ala Ile Thr Ala Met Ser Glu Ala Gln Lys Ala Ala Lys  
 20                      25                       30

**Cys**

<210> 139

<211> 38

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5

10

<400> 139

Cys Ala Glu Glu Val Lys Val Ile Pro Ala Gly Glu Leu Gln Val Ile  
 1                       5                       10                       15

Glu Lys Val Asp Ala Ala Phe Lys Val Ala Ala Thr Ala Ala Asn Ala  
 20                      25                       30

Ala Pro Ala Asn Asp Lys  
 35

15

<210> 140

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial

20

<220>

<223> Alérgeno de clon 30 de *Dermatophagoides pteronyssinus*

<400> 140

Met Ala Asn Asp Asn Asp Asp Pro Thr Thr Thr Val His Pro Thr  
 1                       5                       10                       15

Thr Thr Glu Gln Pro Asp Asp Lys Phe Glu Cys Pro Ser Arg Phe Gly  
 20                      25                       30

Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn  
 35                      40                       45

Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu  
 50                      55                       60

25

Asp Glu Glu Thr Cys Thr  
 65                      70

<210> 141

<211> 37

30

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido derivado de Phl p 5

5

<400> 141

Cys	Phe	Val	Ala	Thr	Phe	Gly	Ala	Ala	Ser	Asn	Lys	Ala	Phe	Ala	Glu
1					5					10				15	

Gly	Leu	Ser	Gly	Glu	Pro	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Lys	Ala
							20			25				30	

Ala	Leu	Thr	Ser	Lys
				35

10

<210> 142

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Péptido derivado de Phl p 5

<400> 142

Ala	Asp	Leu	Gly	Tyr	Gly	Pro	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Pro	Ala	Ala	Gly
1				5					10					15	

20

Tyr	Thr	Pro	Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Pro	Ala	Glu	Ala	Cys
				20					25			

25

<210> 143

<211> 41

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento de Der p 1

30

<400> 143

Thr	Asn	Ala	Cys	Ser	Ile	Asn	Gly	Asn	Ala	Pro	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu
1				5					10				15		

Arg	Gln	Met	Arg	Thr	Val	Thr	Pro	Ile	Arg	Met	Gln	Gly	Gly	Cys	Gly
				20					25				30		

Ser	Cys	Trp	Ala	Phe	Ser	Gly	Val	Ala
				35			40	

35

<210> 144

<211> 43

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Fragmento de Der p 1

ES 2 720 140 T3

<400> 144

Ala Thr Glu Ser Ala Tyr Leu Ala Tyr Arg Asn Gln Ser Leu Asp Leu  
1 5 10 15

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

Asp Thr Ile Pro Arg Gly Ile Glu Tyr Ile Gln  
35 40

5 <210> 145

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Fragmento de Der p 1

<400> 145

Met Gln Gly Gly Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Gly Val Ala Ala  
1 5 10 15

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

15

<210> 146

<211> 29

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fragmento de Der p 23

25 <400> 146

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser  
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr  
20 25

30 <210> 147

<211> 29

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Fragmento de Der p 23

<400> 147

Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro  
1 5 10 15

Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Cys Thr  
20 25

5           <210> 148  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10          <220>  
 <223> Fragmento de Der p 23  
  
 10          <400> 148

Gly	Tyr	Phe	Ala	Asp	Pro	Lys	Asp	Pro	His	Lys	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser
1				5					10				15		

Asn	Trp	Glu	Ala	Val	His	Lys	Asp	Ser	Pro	Gly	Asn	Thr	Arg	Trp	Asn
				20				25					30		

Glu	Asp	Glu	Glu	Thr	Ser	Thr									
				35											

15          <210> 149  
 <211> 317  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 20          <220>  
 <223> Secuencia artificial  
  
 <400> 149

His	Gly	Ser	Glu	Pro	Cys	Ile	Ile	His	Arg	Gly	Lys	Pro	Phe	Gln	Leu
1				5				10					15		

Glu	Ala	Val	Phe	Glu	Ala	Asn	Gln	Asn	Ser	Lys	Thr	Ala	Lys	His	Gly
				20				25					30		

Ser	Glu	Pro	Cys	Ile	Ile	His	Arg	Gly	Lys	Pro	Phe	Gln	Leu	Glu	Ala
35						40						45			

Val	Phe	Glu	Ala	Asn	Gln	Asn	Ser	Lys	Thr	Ala	Lys	Gly	Gly	Trp	Ser
50					55						60				

Ser	Lys	Pro	Arg	Lys	Gly	Met	Gly	Thr	Asn	Leu	Ser	Val	Pro	Asn	Pro
65					70					75			80		

Leu	Gly	Phe	Phe	Pro	Asp	His	Gln	Leu	Asp	Pro	Ala	Phe	Gly	Ala	Asn
					85				90				95		

ES 2 720 140 T3

Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro  
100 105 110

Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro  
115 120 125

Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu  
130 135 140

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

Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro  
165 170 175

Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp  
180 185 190

Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly  
195 200 205

Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser  
210 215 220

Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile  
225 230 235 240

Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln  
245 250 255

Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys  
260 265 270

Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His  
275 280 285

Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr  
290 295 300

Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn  
305 310 315

<210> 150  
<211> 389  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia artificial

10 <400> 150

ES 2 720 140 T3

His Gly Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys His Gly  
20 25 30

Ser Glu Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu Glu Ala  
35 40 45

Val Phe Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys His Gly Ser Glu  
50 55 60

Pro Cys Ile Ile His Arg Gly Lys Pro Phe Gln Leu Glu Ala Val Phe  
65 70 75 80

Glu Ala Asn Gln Asn Ser Lys Thr Ala Lys Gly Gly Trp Ser Ser Lys  
85 90 95

Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly  
100 105 110

Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn  
115 120 125

Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala  
130 135 140

Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His  
145 150 155 160

Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr  
165 170 175

Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg  
180 185 190

Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala  
195 200 205

Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg  
210 215 220

Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val  
225 230 235 240

Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg  
245 250 255

ES 2 720 140 T3

Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro  
260 265 270

Asn Ala Cys His Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr  
275 280 285

Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu  
290 295 300

Asn Glu Val Asp Val Pro Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met  
305 310 315 320

Lys Cys Pro Leu Val Lys Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp  
325 330 335

Ile Val Pro Lys Ile Ala Pro Lys Ser Glu Asn Glu Val Asp Val Pro  
340 345 350

Gly Ile Asp Pro Asn Ala Cys His Tyr Met Lys Cys Pro Leu Val Lys  
355 360 365

Gly Gln Gln Tyr Asp Ile Lys Tyr Thr Trp Ile Val Pro Lys Ile Ala  
370 375 380

Pro Lys Ser Glu Asn  
385

<210> 151

<211> 289

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia artificial

10 <400> 151

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser  
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Gly Tyr Phe  
20 25 30

Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Cys Ser Asn Trp Glu  
35 40 45

Ala Val His Lys Asp Cys Pro Gly Asn Thr Gly Gly Trp Ser Ser Lys  
50 55 60

Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly

## ES 2 720 140 T3

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

&lt;210&gt; 152

&lt;211&gt; 329

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Secuencia artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Secuencia artificial

10

&lt;400&gt; 152

ES 2 720 140 T3

Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Ser Ser  
1 5 10 15

Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn  
20 25 30

Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro  
35 40 45

His Lys Phe Tyr Ile Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser  
50 55 60

Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr Gly Gly  
65 70 75 80

Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro  
85 90 95

Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly  
100 105 110

Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His  
115 120 125

Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu  
130 135 140

Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly  
145 150 155 160

Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg  
165 170 175

Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser  
180 185 190

His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu  
195 200 205

Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser  
210 215 220

Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser  
225 230 235 240

Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro Val Thr Asn Gly Tyr Phe Ala Asp

ES 2 720 140 T3

245

250

255

Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val  
260 265 270

His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr  
275 280 285

Ser Thr Gly Tyr Phe Ala Asp Pro Lys Asp Pro His Lys Phe Tyr Ile  
290 295 300

Ser Ser Asn Trp Glu Ala Val His Lys Asp Ser Pro Gly Asn Thr Arg  
305 310 315 320

Trp Asn Glu Asp Glu Glu Thr Ser Thr  
325

## REIVINDICACIONES

1. Polipéptido capaz de generar respuestas de IgG contra al menos un alérgeno de tipo silvestre y capaz de inducir la producción de IL-10 e IFN-gamma, en donde la IgG generada de este modo se centra en los epítopos de IgE del alérgeno de tipo silvestre y puede bloquear la unión a dicho alérgeno de tipo silvestre, comprendiendo dicho polipéptido al menos 4 y hasta 6 fragmentos peptídicos hipoalergénicos que consisten en de 20 a 50 restos de aminoácido consecutivos de al menos un alérgeno de tipo silvestre, fusionados a los extremos N y C-terminales de una proteína PreS de hepatitis B (SEQ ID NO: 21) que actúa como transportador, en donde dichos fragmentos de péptido muestran una capacidad de unión a IgE nula o reducida en comparación con el alérgeno de tipo silvestre, son péptidos de unión a linfocitos B y muestran una reactividad con linfocitos T nula o sustancialmente nula, en donde la proteína PreS de hepatitis B comprende al menos dos fragmentos peptídicos procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre fusionado a su extremo N-terminal y al menos dos fragmentos peptídicos procedentes de al menos un alérgeno de tipo silvestre fusionado a su extremo C-terminal.
2. Polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** el alérgeno de tipo silvestre se selecciona entre el grupo que consiste en los alérgenos principales del polen de abedul, en particular, Bet v 1, alérgenos principales del polen de la hierba timotea, preferentemente Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Phl p 6 y Phl p 7, alérgenos principales de ácaros del polvo doméstico, preferentemente, Der p 1, Der p 2 y Der p 23, alérgeno principal de gato, Fel d 1 y Fel d 2, alérgenos principales de abeja, alérgenos principales de avispa, profilinas, especialmente Phl p 12, alérgenos del olivo, preferentemente Ole e 1, alérgenos de *Parietaria judaica*, preferentemente Par j 2, alérgenos de ambrosía, preferentemente Amb a 1, alérgenos del polen de artemisa, preferentemente Art v 1 y alérgeno del polen de cedro japonés, preferentemente Cry j 1 o Cry j 2.
3. Polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por que** el fragmento de péptido se selecciona entre el grupo que consiste en los aminoácidos 151 a 177, 87 a 117, 1 a 30, 43 a 70 o 212 a 241 de Phl p 1, los aminoácidos 1 a 33, 8 a 39, 34 a 65 o 66 a 96 de Phl p 2, los aminoácidos 93 a 128, 98 a 128, 26 a 53, 26 a 58, 132 a 162, 217 a 246, 252 a 283 o 176 a 212 de Phl p 5, los aminoácidos 23 a 54, 56 a 90, 73 a 114 o 95 a 127 de Phl p 6, los aminoácidos 1 a 34 o 35 a 70 de la cadena 1 de Fel d 1, los aminoácidos 1 a 34, 35 a 63 o 64 a 92 de la cadena 2 de Fel d 1, los aminoácidos 30 a 59, 50 a 79, 75 a 104, 30 a 74 o 60 a 104 de Bet v 1, los aminoácidos 1 a 30, 52 a 84 o 188 a 222 de Der p 1, los aminoácidos 1 a 33, 21 a 51, 42 a 73, 62 a 103 o 98 a 129 de Der p 2, los aminoácidos 1 a 30, 20 a 50, 50 a 80, 90 a 125, 125 a 155 o 165 a 198 de Der p 7, los aminoácidos 1-35, 36-70, 71-110, 111-145, 140-170, 175-205, 210-250 o 250-284 de Der p 10, los aminoácidos 1 a 35, 35 a 72, 70 a 100 o 90 a 122 de Der p 21, los aminoácidos 1 a 32, 15 a 48 o 32 a 70, 32 a 60, 52 a 84, 32 a 70 (Cys->Ser) de Der p 23, los aminoácidos 19 a 58, 59 a 95, 91 a 120 o 121 a 157 de Alt a 1, los aminoácidos 31 a 60, 45 a 80, 60 a 96 o 97 a 133 de Par j 2, los aminoácidos 1 a 40, 36 a 66, 63 a 99, 86 a 120 o 107 a 145 de Ole e 1, los aminoácidos 25 a 58, 99 a 133, 154 a 183, 277 a 307, 334 a 363, 373 a 402, 544 a 573, 579 a 608, 58 a 99, 125 a 165, 183 a 224, 224 a 261, 252 a 289, 303 a 340, 416 a 457, 460 a 500 o 501 a 542 de Fel d 2, los aminoácidos 19 a 58, 52 a 91, 82 a 119, 106 a 144 o 139 a 180 de Can f 2, los aminoácidos 19 a 56, 51 a 90, 78 a 118, 106 a 145 o 135-174 de Can f 1, los aminoácidos 27 a 70, 70 a 100 o 92 a 132 de Art v 1, los aminoácidos 31 a 70, 80 a 120, 125 a 155, 160 a 200, 225 a 263, 264 a 300, 305 a 350 o 356 a 396 de Amb a 1, los aminoácidos 1 a 34, 35 a 74, 74 a 115, 125 a 165, 174 a 213, 241 a 280, 294 a 333, 361 a 400 o 401 a 438 de Alt a 6, los aminoácidos 1 a 40, 41 a 80, 81 a 120, 121 a 160 de Alt a 2 o fragmentos o variaciones de secuencia de los mismos.
4. Polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** el polipéptido tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151 y SEQ ID NO: 152.
5. Polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso en el tratamiento o la prevención de una alergia en un ser humano o un animal.
6. Moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
7. Vector que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 6.
8. Hospedador que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 6 o un vector de acuerdo con la reivindicación 7.
9. Formulación de vacuna que comprende al menos un polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
10. Formulación de vacuna de acuerdo con la reivindicación 9 para su uso en el tratamiento o la prevención de la alergia al polen de gramíneas que contiene una mezcla de polipéptidos hipoalergénicos procedentes de alérgenos del polen de gramíneas, **caracterizado por que** al menos uno de los polipéptidos se selecciona entre SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17.

11. Formulación de vacuna de acuerdo con la reivindicación 9, para su uso en el tratamiento o la prevención de la alergia al polen de abedul que contiene al menos un polipéptido hipoalergénico seleccionado entre la SEQ ID NO: 18 y la SEQ ID NO: 19.
- 5 12. Formulación de vacuna de acuerdo con la reivindicación 9 para su uso en el tratamiento o la prevención de la alergia al ácaro del polvo doméstico que contiene al menos un polipéptido derivado de alérgenos de ácaros del polvo doméstico, **caracterizado por que** al menos uno de los polipéptidos se selecciona entre SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151 y SEQ ID NO: 152.

10

Mapa del plásmido:

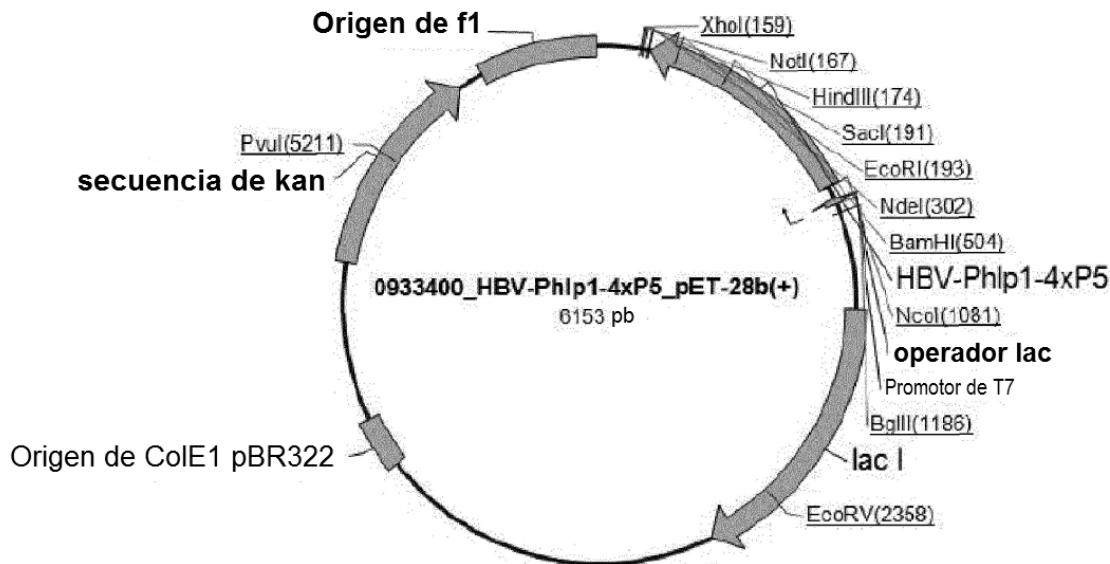


Fig. 1A

Mapa del plásmido:

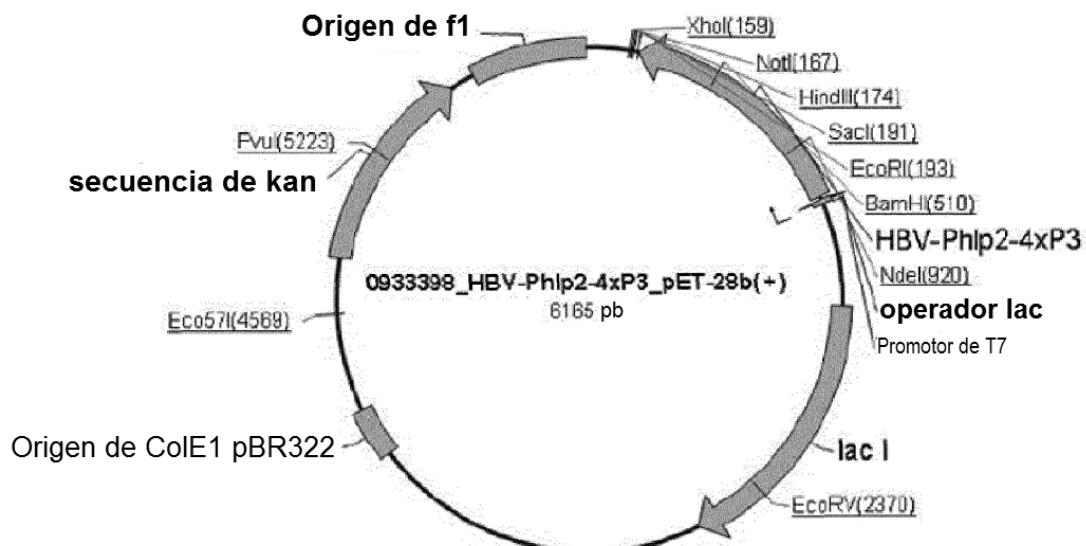


Fig 1B

## Mapa del plásmido:

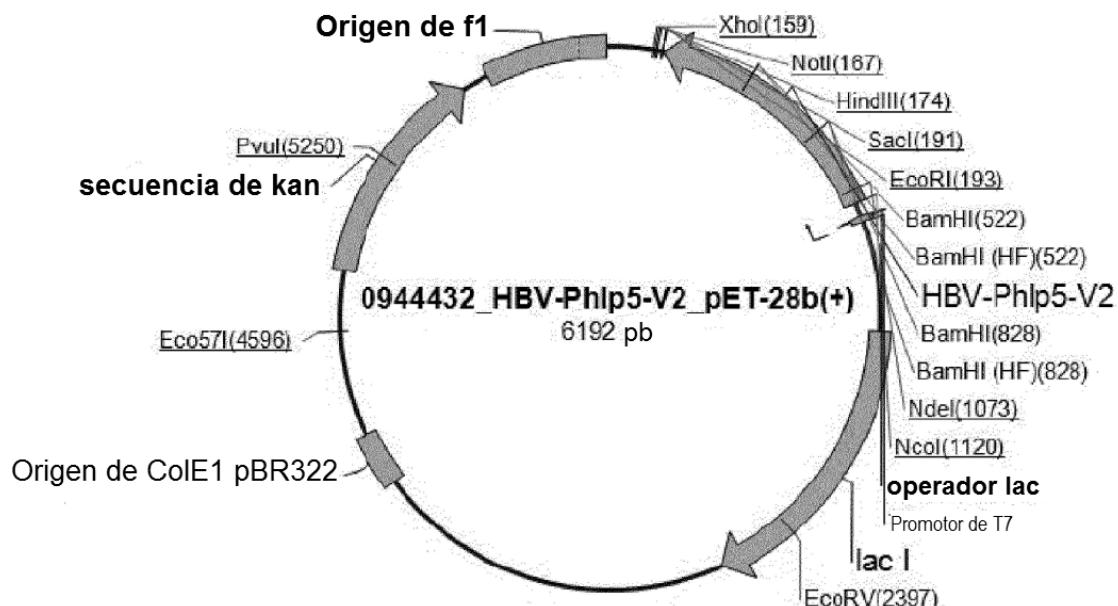


Fig 1 C

## Mapa del plásmido:

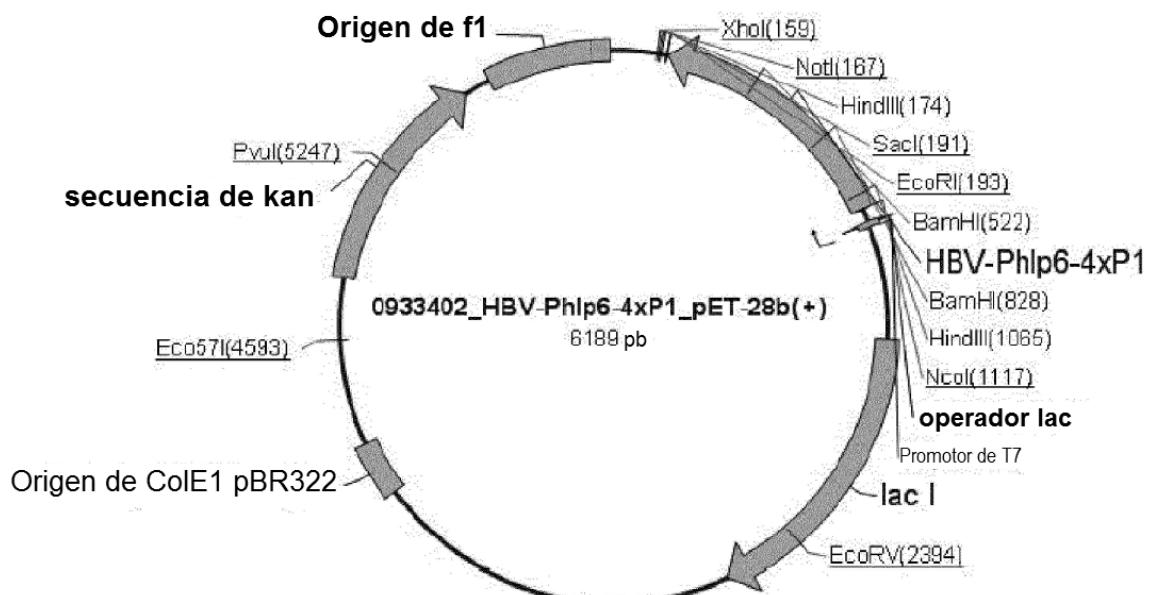


Fig 1 D

1 **MVRYTTEGGT KTEAEDVIPE GWKADTSYES KVRYTTEGGT KTEAEDVIPE GWKADTSYES**  
 61 **KGGWSSKPRK GMGTNLSPVN PLGFFPDHQL DPAFGANSNN PDWDFNPIKD HWPAANQVGV**  
 121 **GAFGPGLTPP HGGILGWSPQ AQGILTTVST IPPPASTNRQ SGRQPTPISP PLRDSHPQAM**  
 181 **QWNSTAFHQA LQDPRVRGLY FPAGGSSGT VNPAPNIASH ISSISARTGD PVTN**VRYTTE****  
 241 **GGTKTEAEDV IPEGWKADTS YESKVRYTTE GGTKTEAEDV IPEGWKADTS YESK**

Fig. 2 A

1 **MFRFLTEKGM KNVFDDVVPE KYTIGATYAP EEFRLTEKG MKNFDDVVP EKYTIGATYA**  
 61 **PEEGGWSSKP RKGMGNTLNSV PNPLGFFPDH QLDPAFGANS NNPDWDFNPI KDHWPAANQV**  
 121 **GVGAFGPGLT PPHGGILGWS PQAQGILTTV STIPPPASTN RQSGRQPTPI SPPLRDHSQ**  
 181 **AMQWNSTAFH QALQDPRVRG LYFPAGGSS GTVNPAPNIA SHIISISART GDPVTN**FRFL****  
 241 **TEKGGMKNVFD DVVPEKYTIG ATYAPEEFRF LTEKGGMKNV DDVVPEKYTI GATYAPEE**

Fig. 2 B

1 **MEAAFNDAIK ASTGGAYESY KFIPALEAAV KAEEVKVIPA GELQVIEKVD AAFKVAATAA**  
 61 **NAAPANDKGG WSSKPRKGNG TNLSVPNPLG FFPDHQLDPA FGANSNNPDW DFNPIKDHW**  
 121 **AANQVGVGAF GPGLTPPHGG ILGWSPQAQG ILTVSTIPP PASTNRQSGR QPTPISPLR**  
 181 **DHPQAMQWN STAFHQALQD PRVRGLYFPA GGSSSGTVNP APNIASHISS ISARTGDPVT**  
 241 **NADLGYGPAT PAAPAAGYTP ATPAAPAEAA PAGKATTEEQ KLIEKINAGF KAALAAAAGV**  
 301 **QPADKYL.**

Fig 2 C

1 **KGATTEEQKL IEDVNASFRA AMATTANVPP ADKGKATTEE OKLIEDVNAS FRAAMATTAN**  
 61 **VPPADKGGWS SKPRKGMTN LSVPNPLGFF PDHQLDPAFG ANSNNDWDF NPIKDHWPA**  
 121 **NQVGVGAFGP GLTPPHGGIL GWSPQAQGIL TTIVSTIPPA STNRQSGRQ TPISPLR**  
 181 **HPQAMQWNST AFHQALQDPR VRGLYFPAAGG SSSGTVPAP NIASHISSIS ARTGDPVTN**G****  
 241 **KATTEEQKLI EDVNASFRAA MATTANVPPA DKKGATTEEQ KLIEDVNASF RAAMATTANV**  
 301 **PPADK**

Fig. 2 D

1 **LFPKVAPQA ISSVENIEGN GGPGTIKKIS FPEGPFKYVK DRVDELFPKV APQAISSVEN**  
 61 **IEGGGGPGTI KKISPEGPK YVKDRVDEGG WSSKPRKGNG TNLSVPNPLG FFPDHQLDPA**  
 121 **FGANSNNPDW DFNPIKDHW AANQVGVGAF GPGLTPPHGG ILGWSPQAQG ILTVSTIPP**  
 181 **PASTNRQSGR QPTPISPLR DSHPQAMQWN STAFHQALQD PRVRGLYFPA GGSSSGTVNP**  
 241 **APNIASHISS ISARTGDPVT NLFPKVAPQA ISSVENIEGN GGPGTIKKIS PEGPFKYVKD**  
 301 **RVDELFPKVA PQAISSVENI EGGGGPGTI KISPEGPKY VKDRVDE**

Fig 2 E

1 **LFPKVAPQA ISSVENIEGN GGPGTIKKIS FPEGPFKYVK DRVDELFPKV APQAISSVEN**  
 61 **IEGGGGPGTI KKISPEGPK YVKDRVDEGG WSSKPRKGNG TNLSVPNPLG FFPDHQLDPA**  
 121 **FGANSNNPDW DFNPIKDHW AANQVGVGAF GPGLTPPHGG ILGWSPQAQG ILTVSTIPP**  
 181 **PASTNRQSGR QPTPISPLR DSHPQAMQWN STAFHQALQD PRVRGLYFPA GGSSSGTVNP**  
 241 **APNIASHISS ISARTGDPVT NPEGPFKYV DRVDEVDTN FKYNYSVIEG GPIGDTLEKI**  
 301 **SNEIKIPEGF PFKYVDRVDE DHTNFKYNYS VIEGGPIGDT LEKISNEIKI**

Fig 2 F

1 MADLGYGPAT PAAPAAGYTP ATPAAPAEAA PAGKATTEEQ K<sup>LIEKINAGF</sup> KAALAAAAGV  
 61 QPADKYRGGW SSKPRKGMT NLSVPNPLGF FPDHQLDPAF GANSNNPDWD FNPIKDHWPA  
 121 ANQVGVGAFG PGLTPPHGGI LGWSPQAQGI LTTVSTIPPP ASTNRQSGRQ PTPISPPLRD  
 181 SHPQAMQWNS TAFHQALQDP RVRLGLYFPAG GSSSGTVNPA PNIASHISSI SARTGDPVTN  
 241 EAAFNDAIKA STGGAYESYK FIPALEAAVK AEEVKVIPAG ELQVIEKVDA AFKVAATAAN  
 301 AAPANDK

Fig 2 G

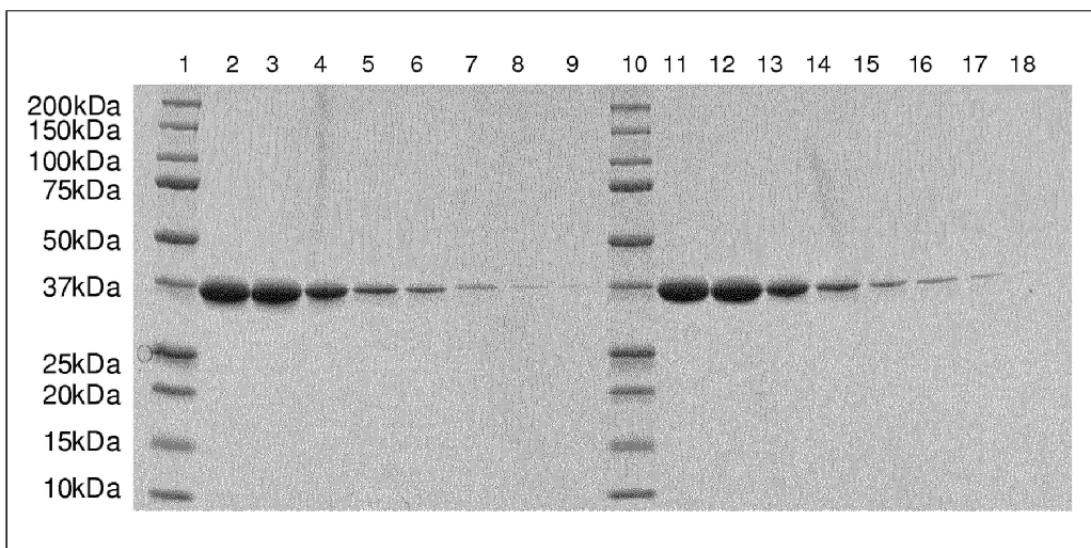


Fig. 3 A

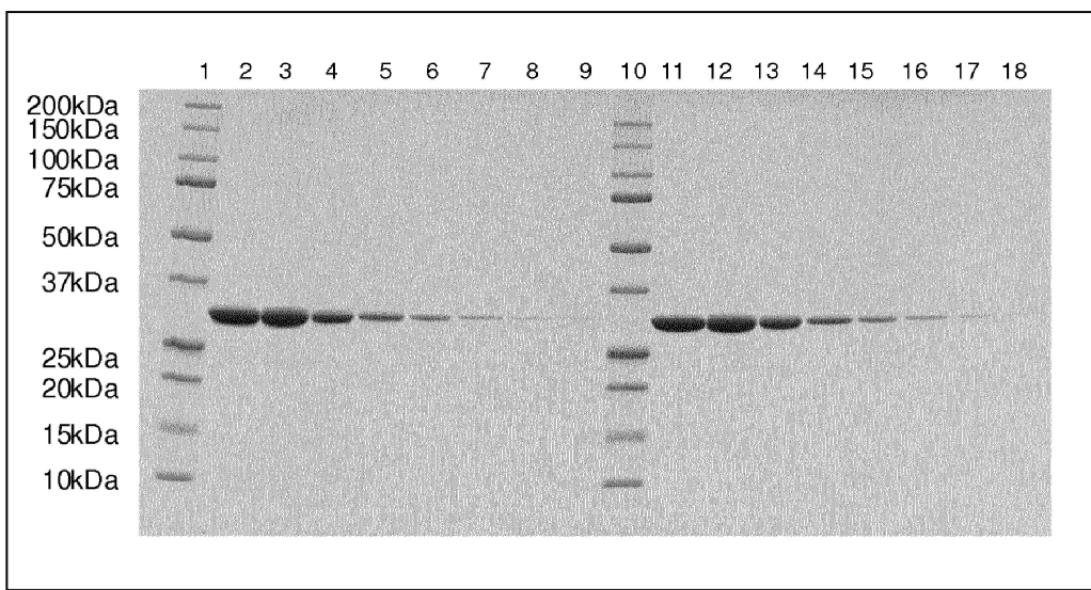


Fig. 3 B

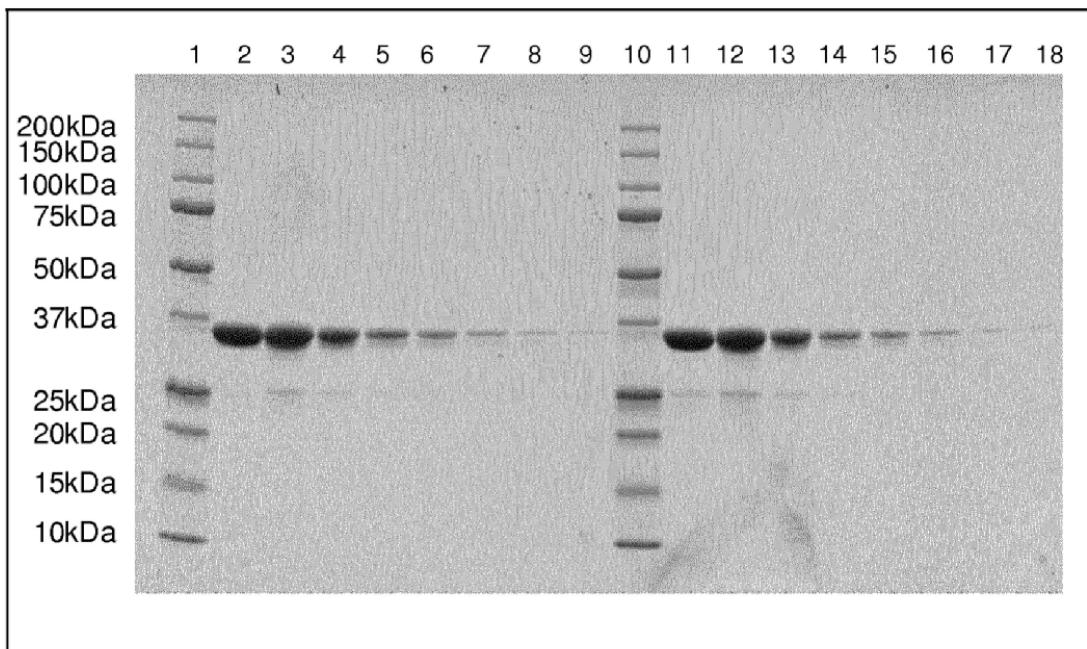


Fig 3 C

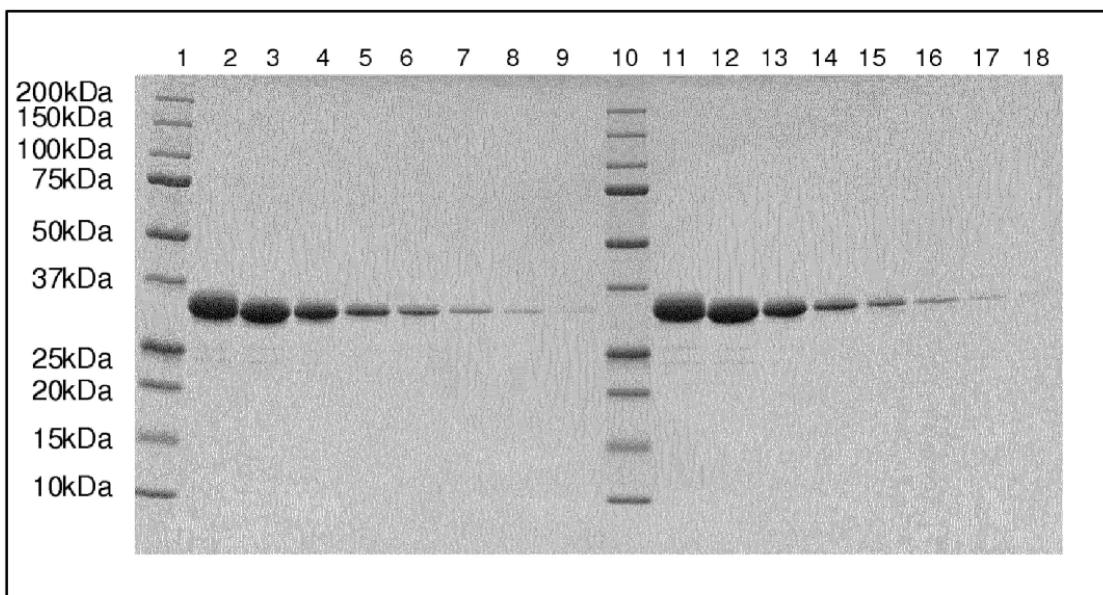


Fig. 3 D

ES 2 720 140 T3

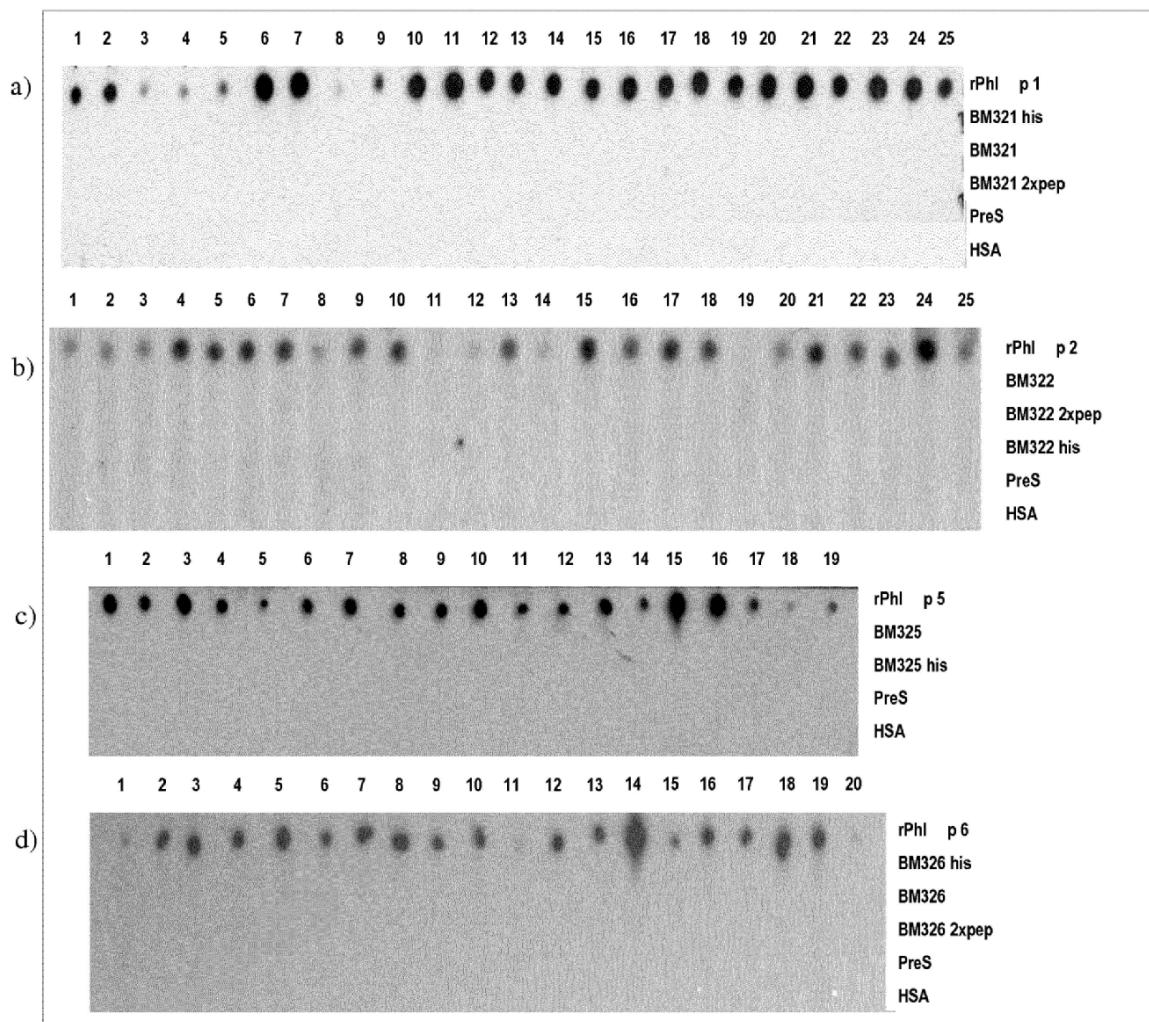


FIG 4

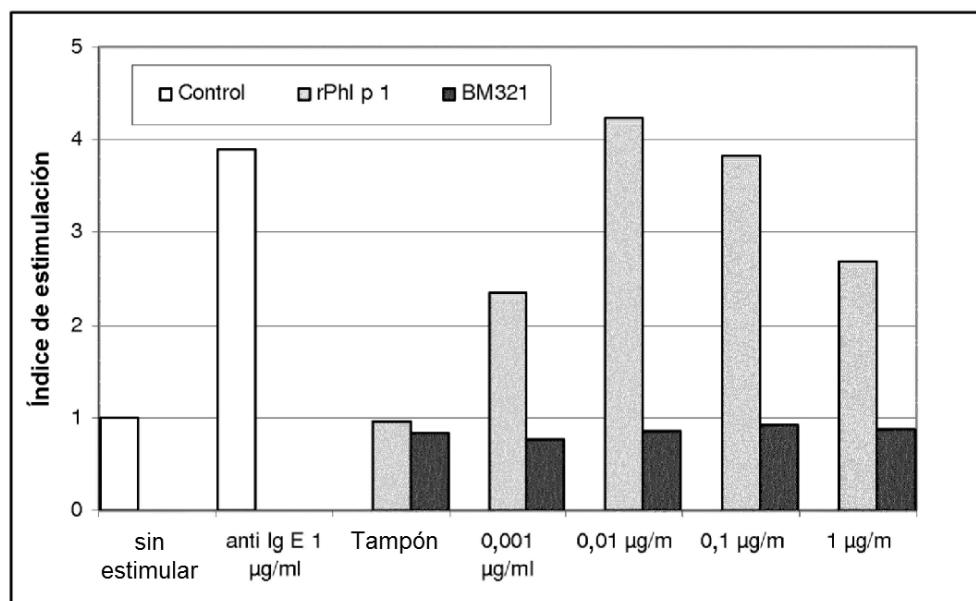


FIG 5

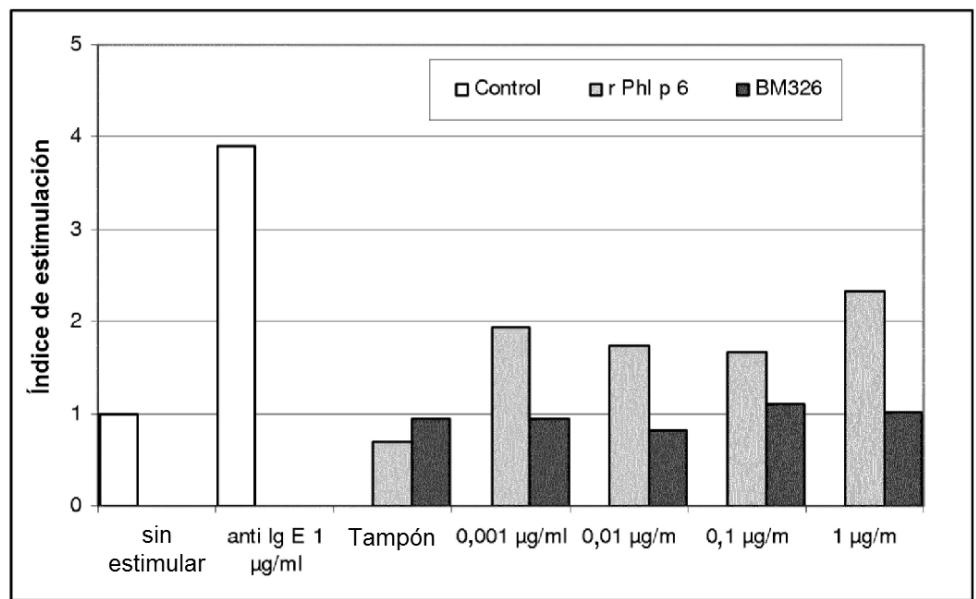


FIG 6

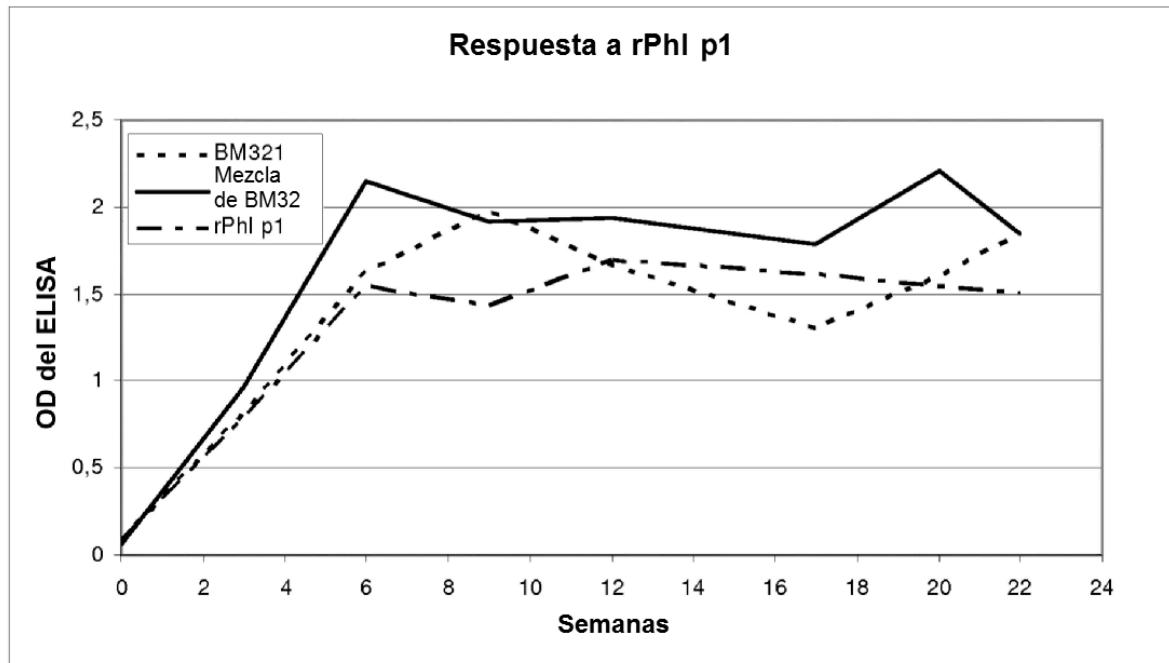


Fig. 7A

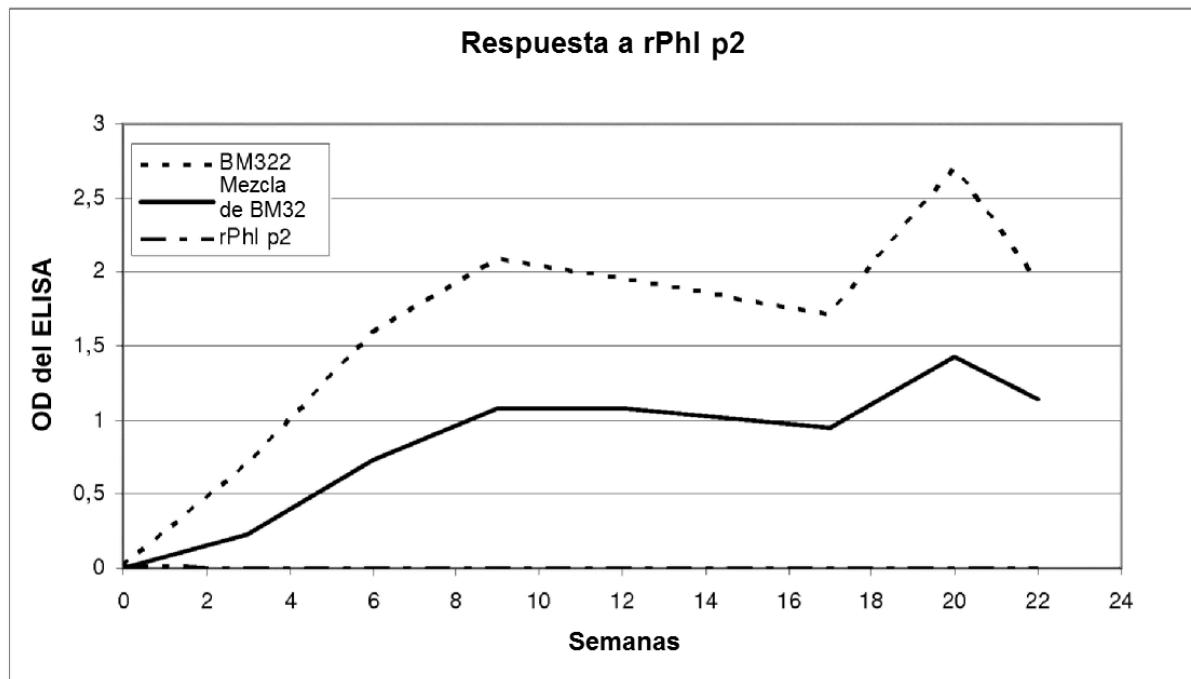


Fig. 7B

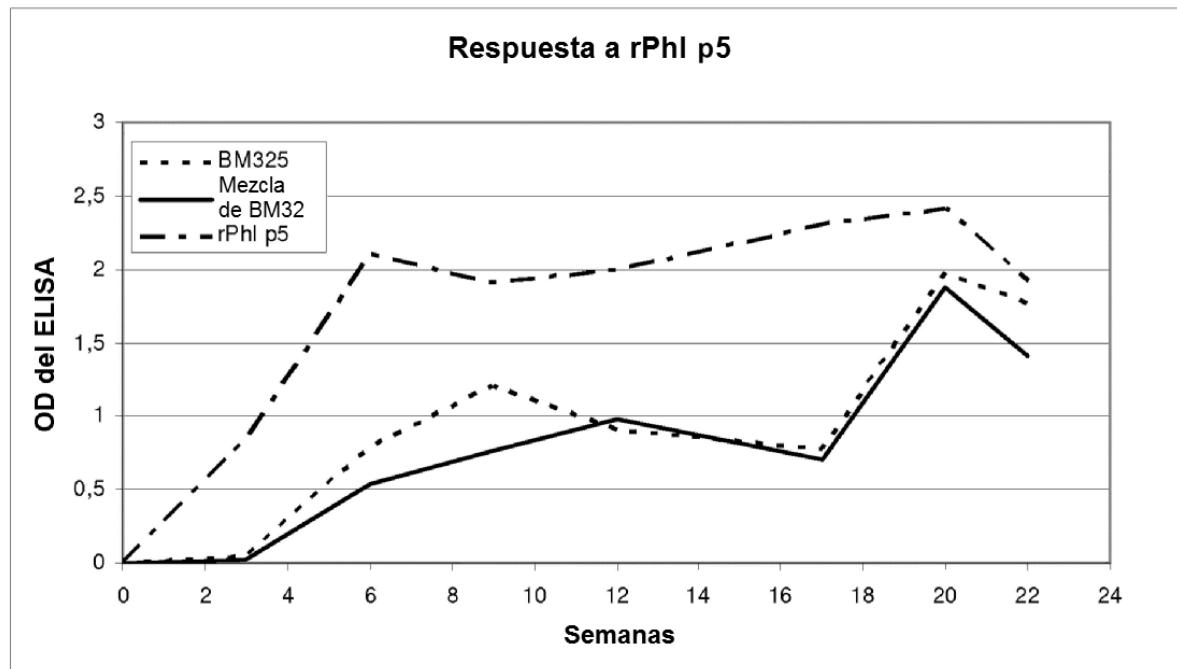


Fig. 7C

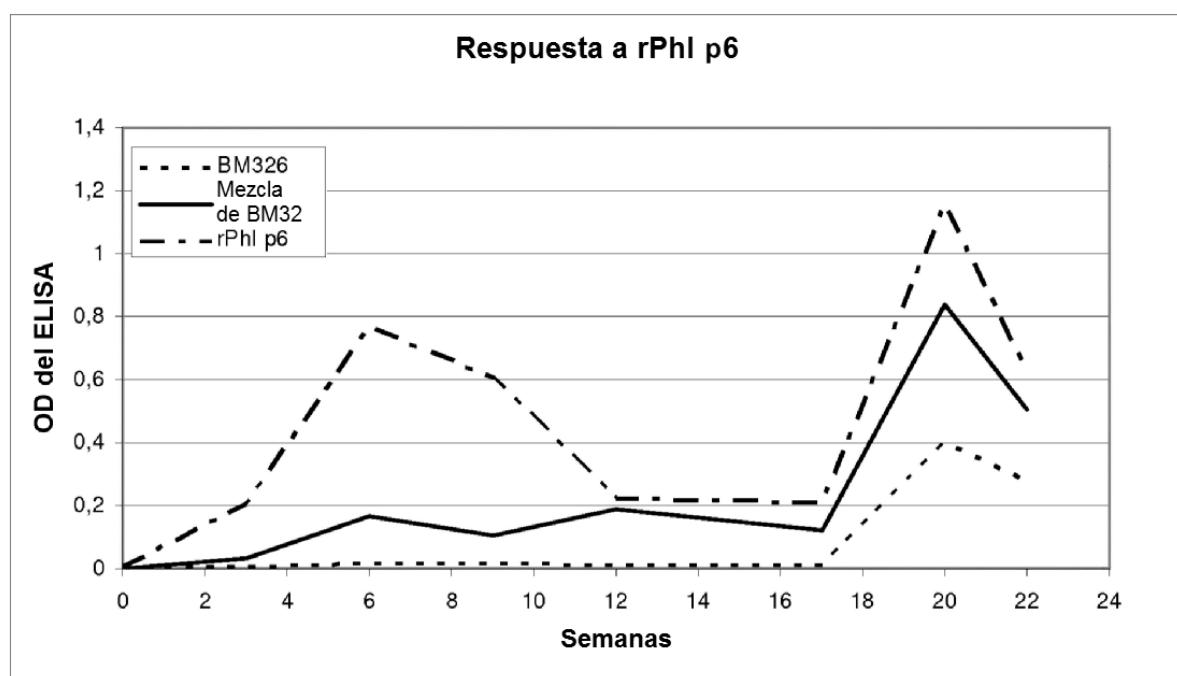


Fig. 7D

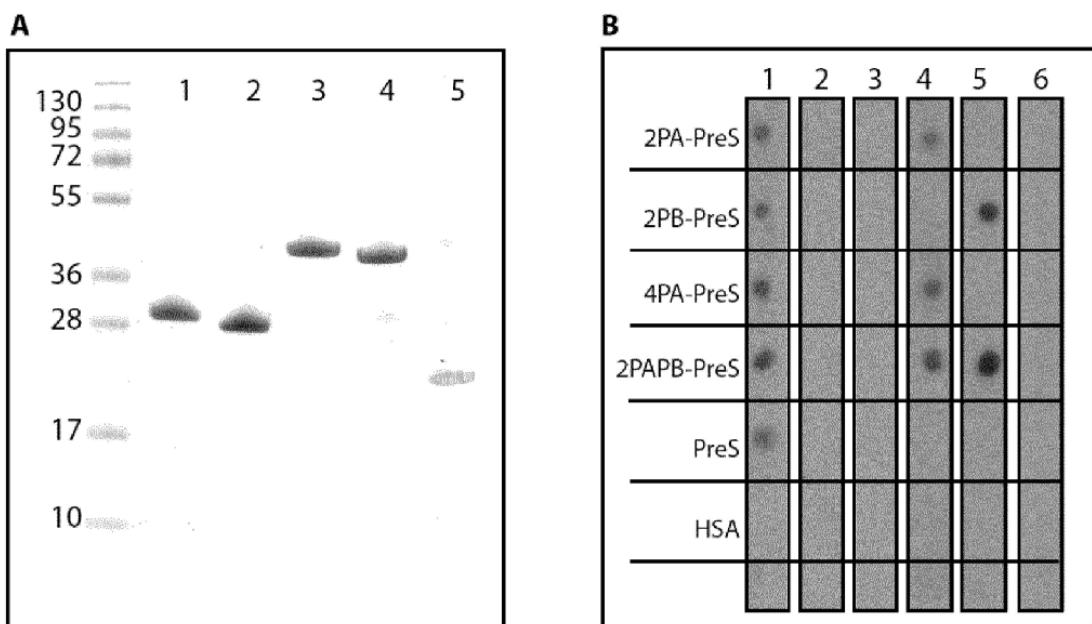


FIG 8

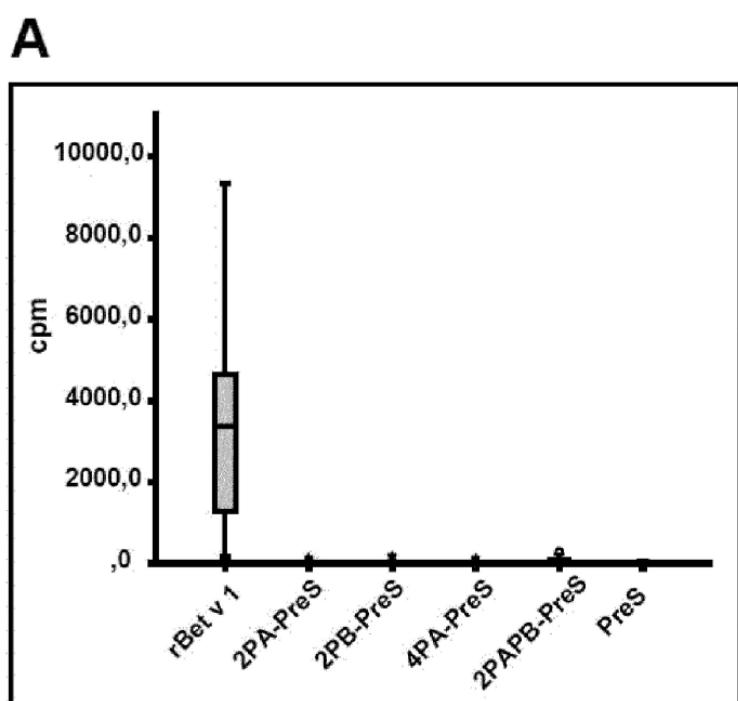


FIG 9A

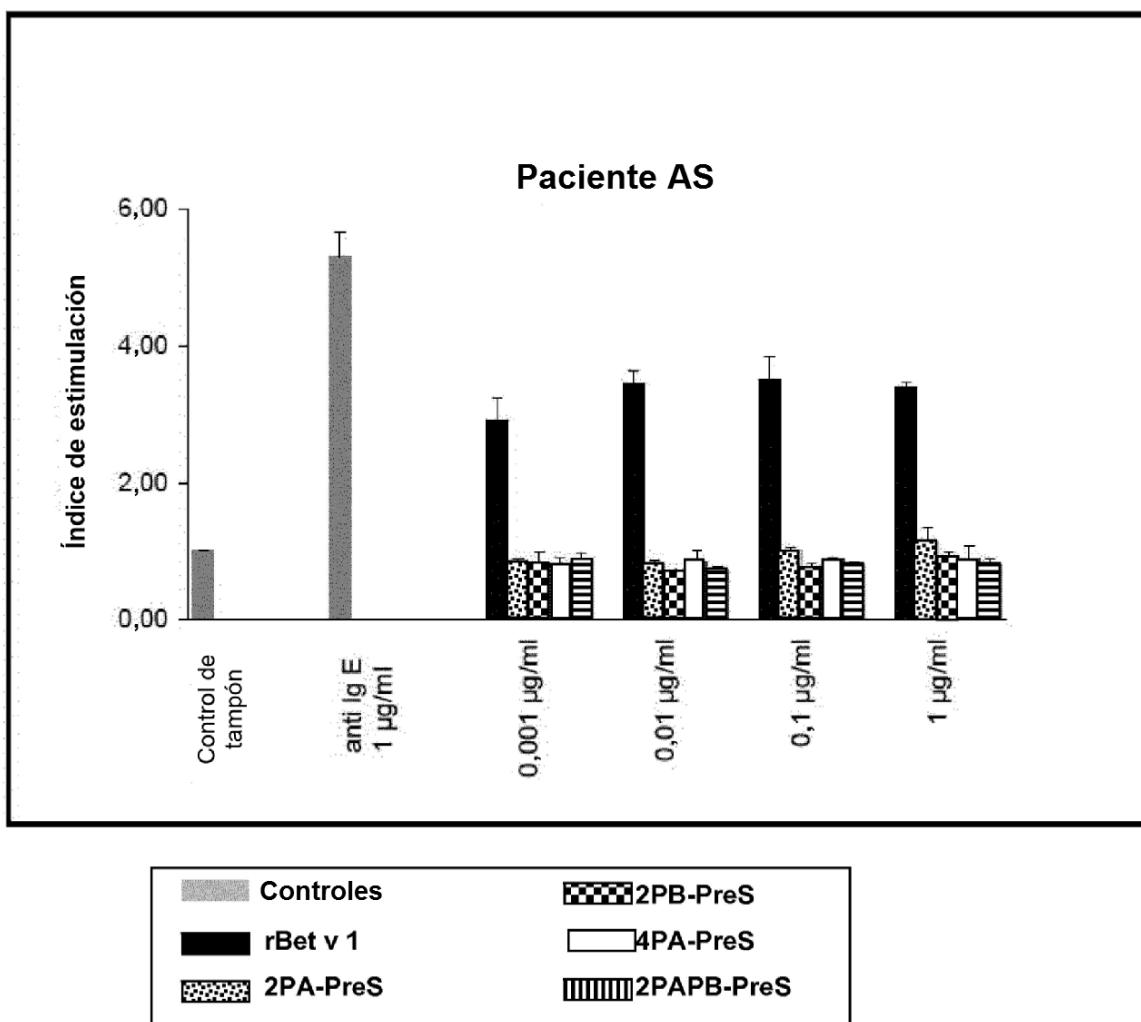
**B**

FIG 9B

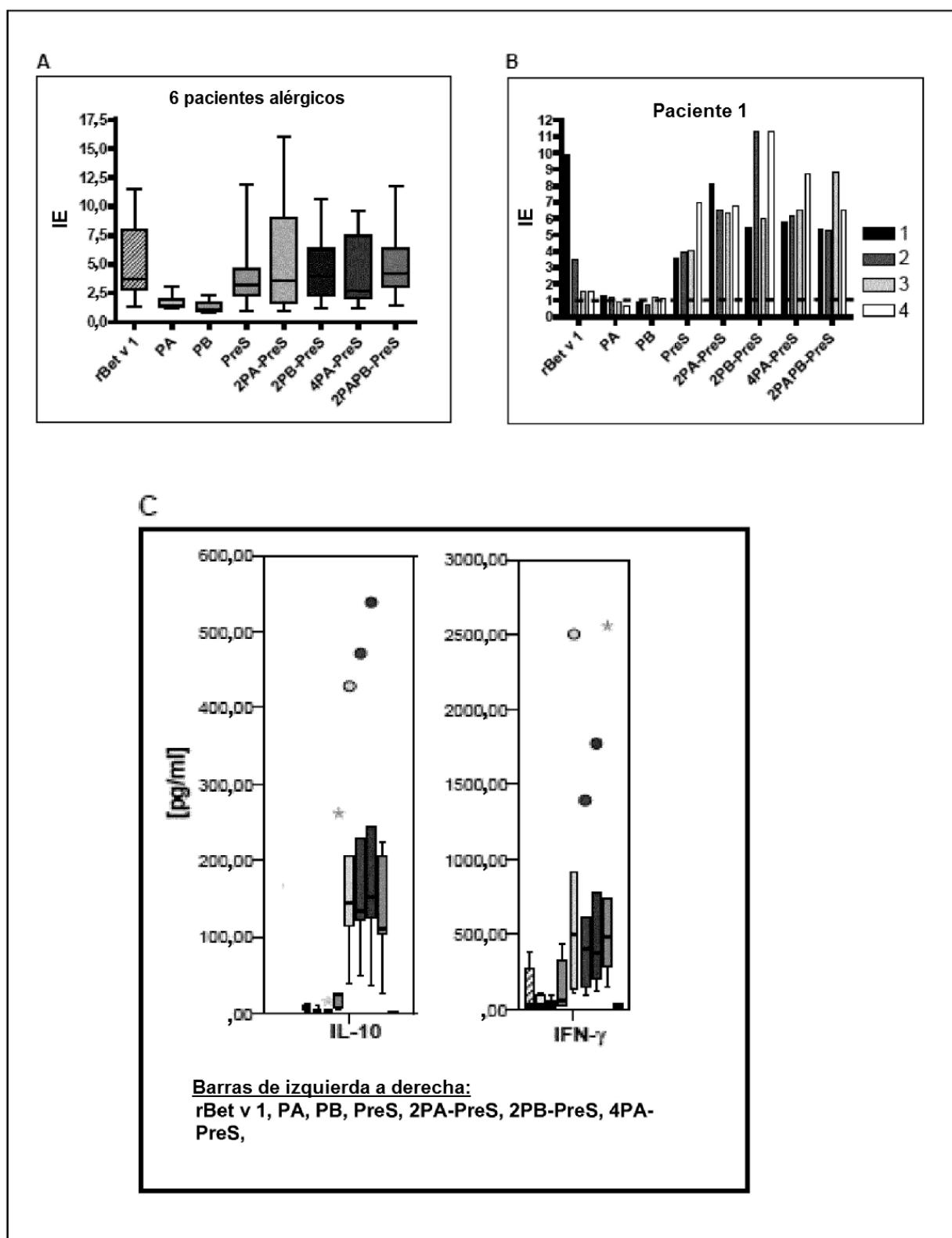


FIG 10

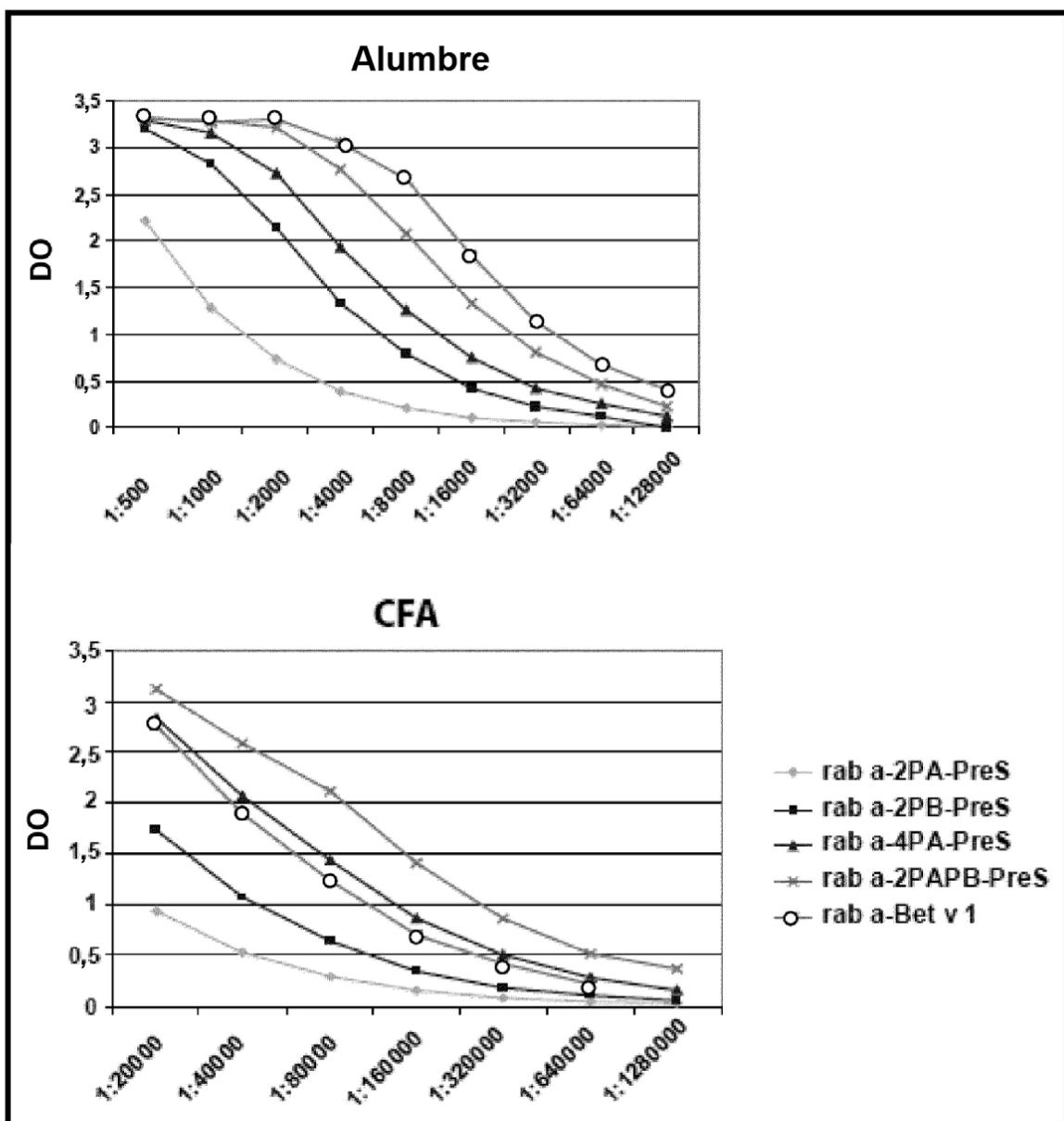
**A**

FIG 11A

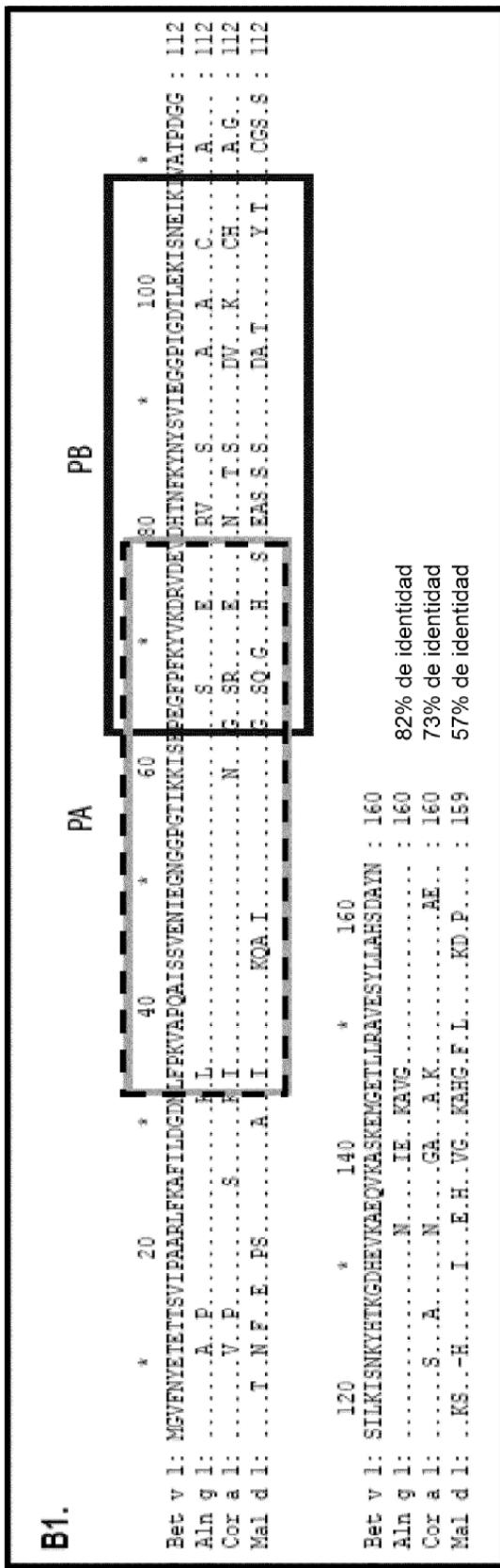


Fig. 11B

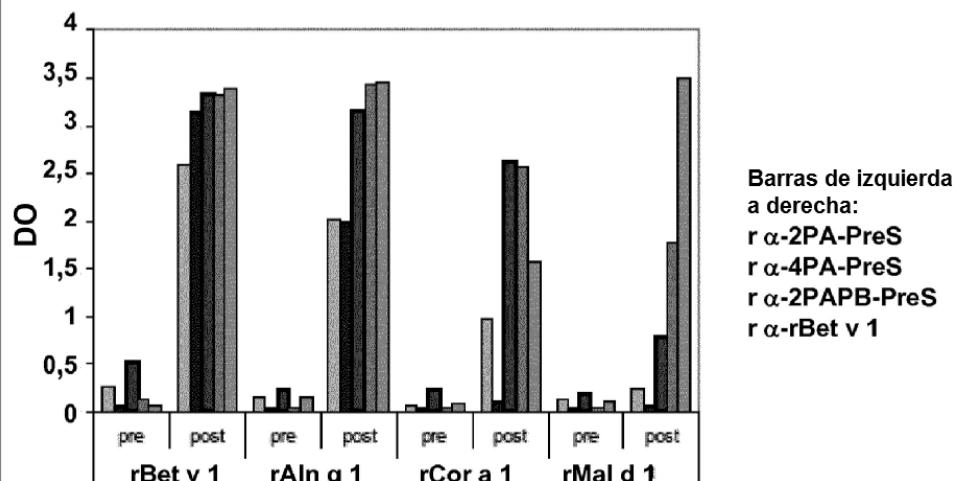
**B2.****Alérgenos homólogos de Bet v 1**

Fig 11B continuación

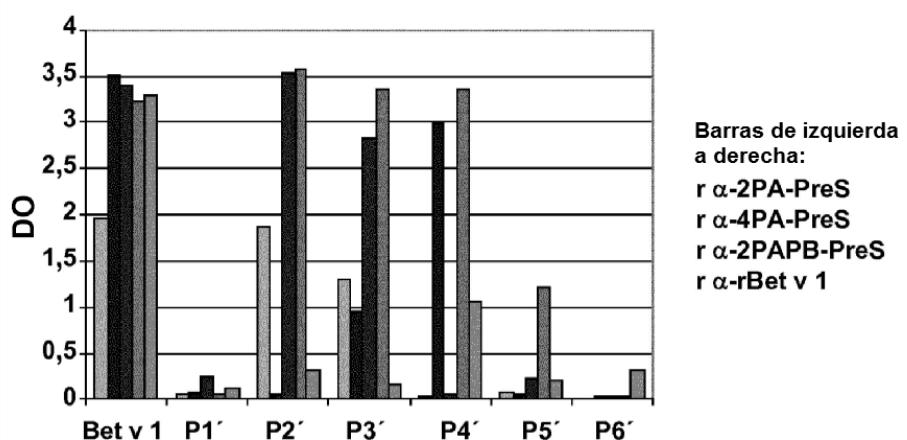
**C****Mapeo de epítopos**

Fig.11C

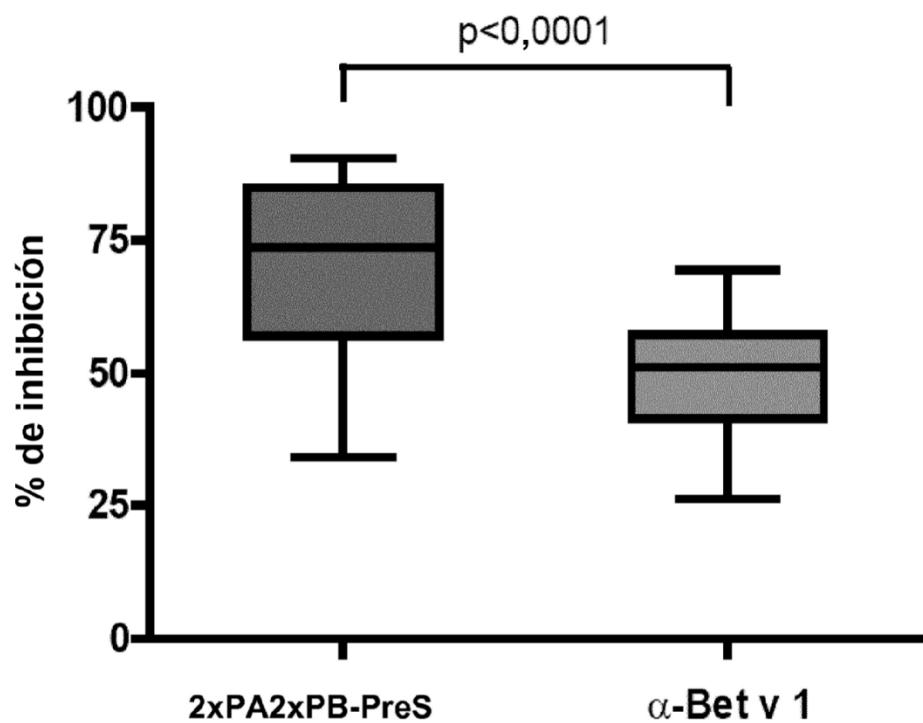


FIG 12

**Titulación de IgG de ratón generada mediante inmunización con proteínas de fusión de PreS (péptidos procedentes de Phl p 6)**

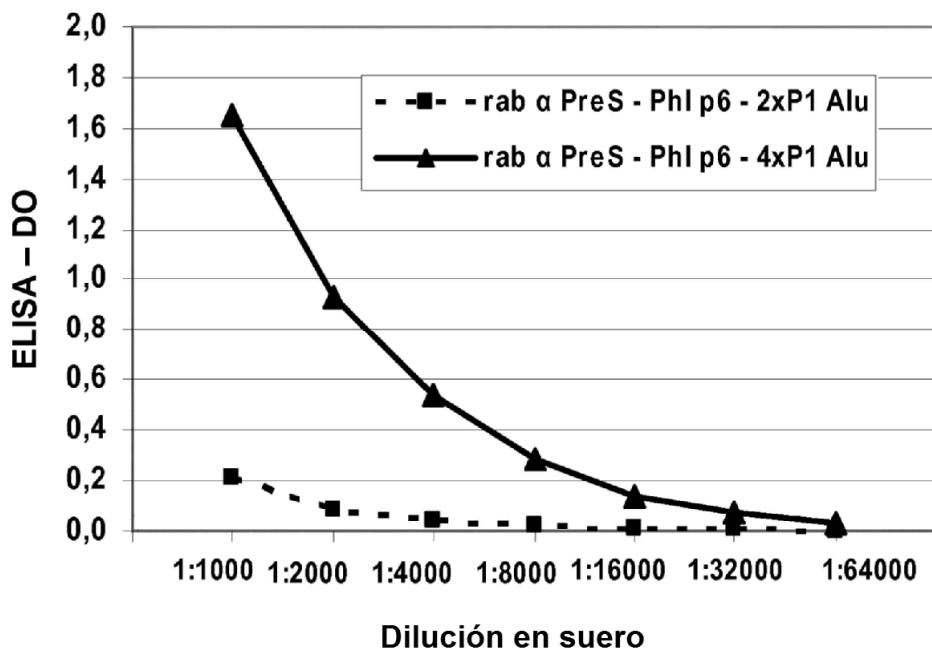


Fig. 13

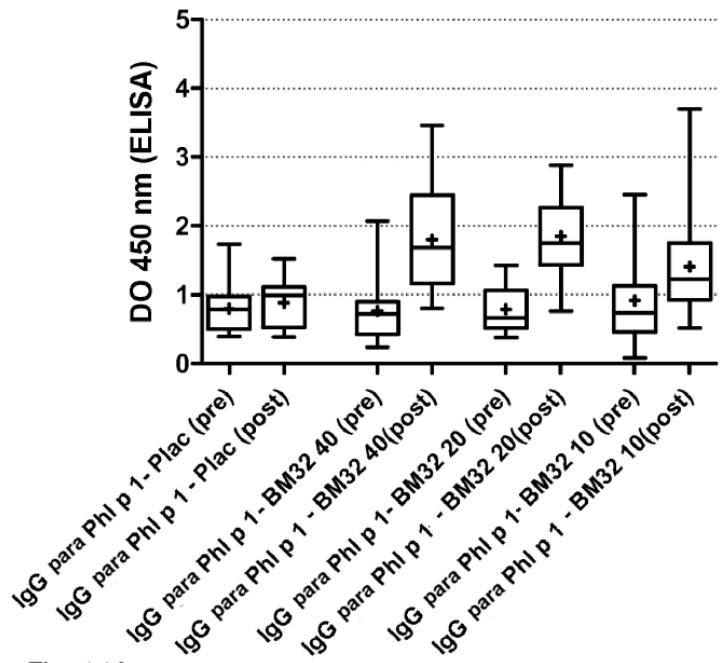
**IgG total específica para Phl p 1**

Fig. 14A

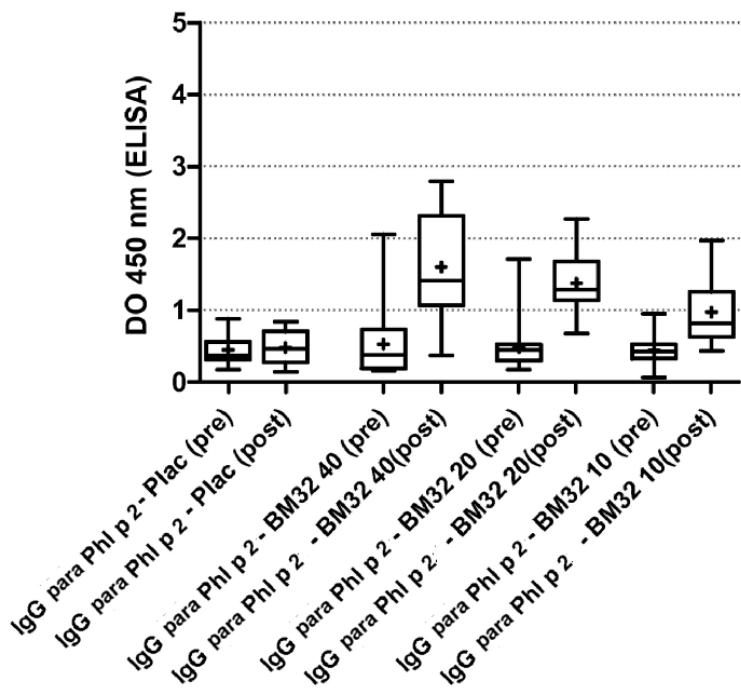
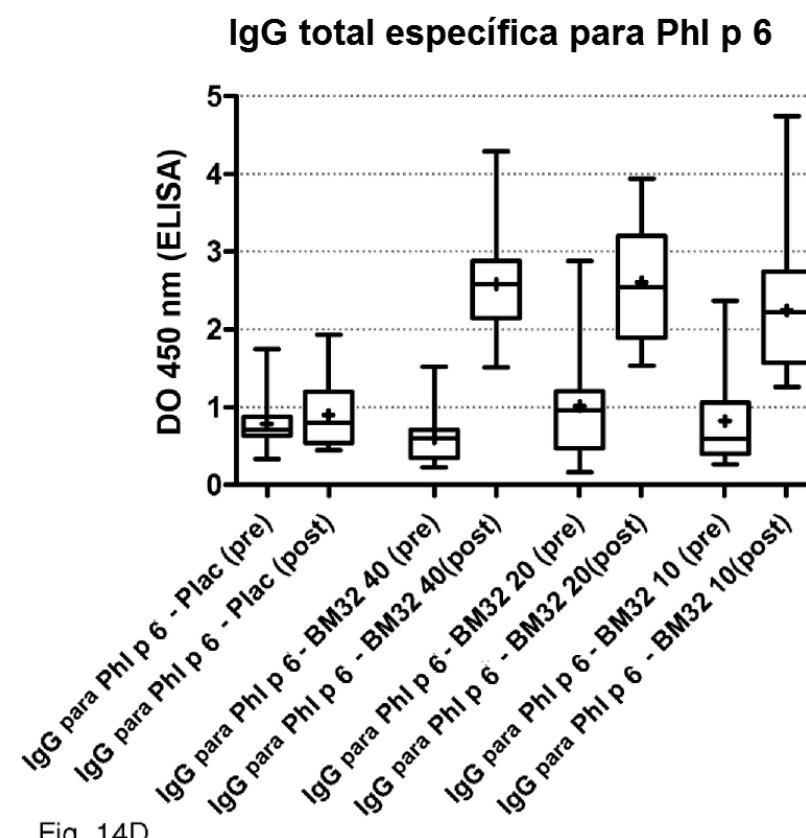
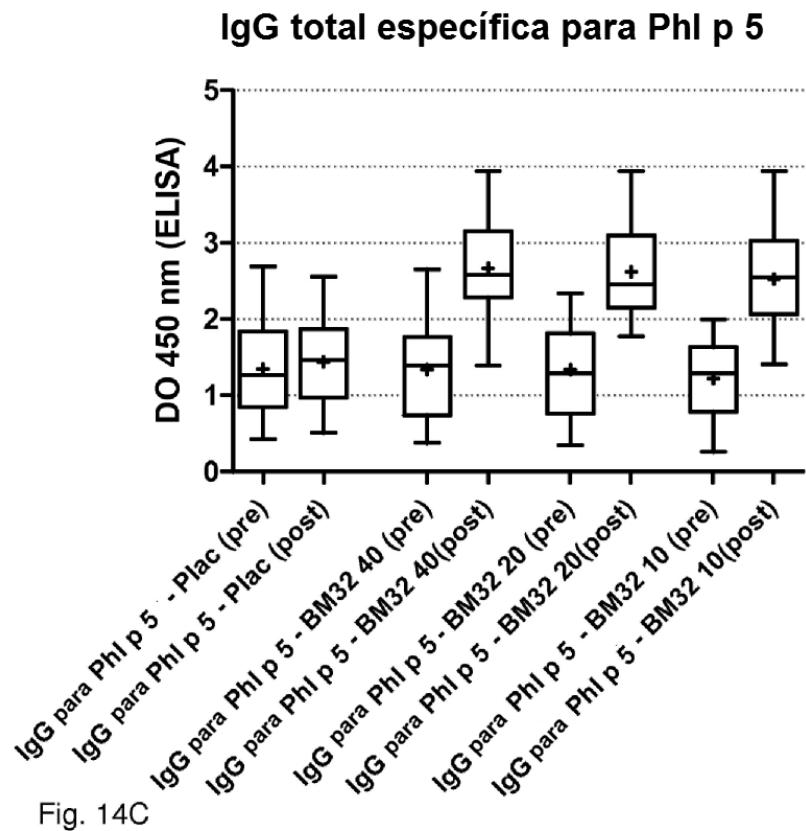
**IgG total específica para Phl p 2**

Fig. 14B



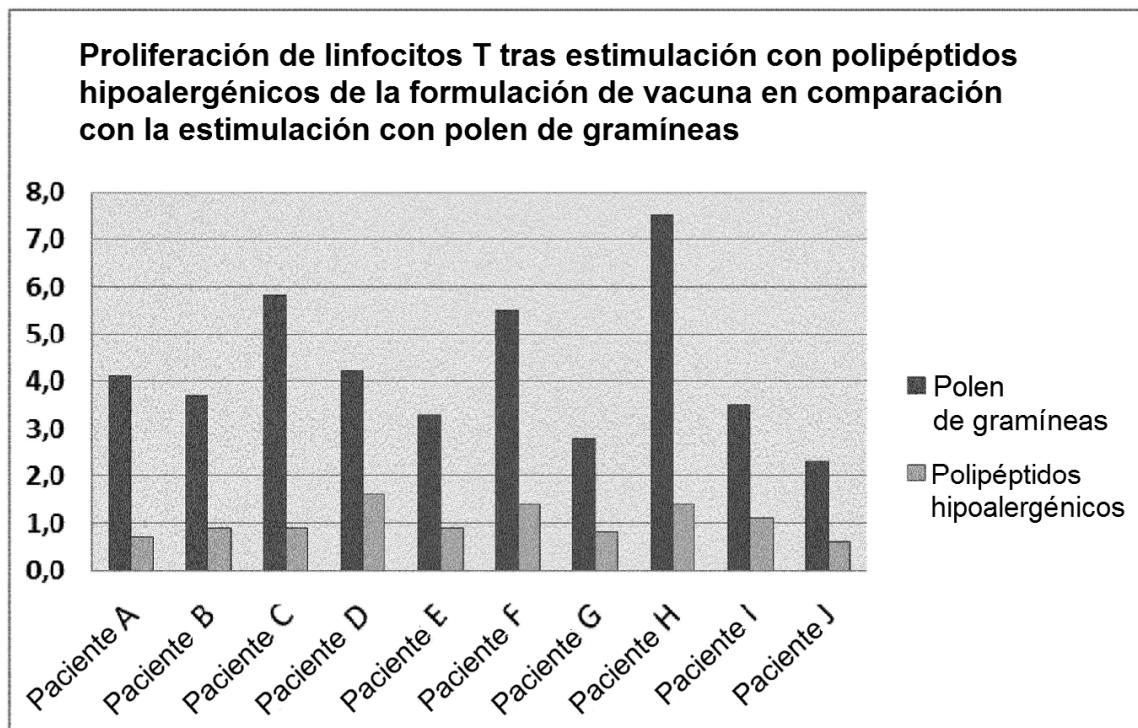


Fig. 15

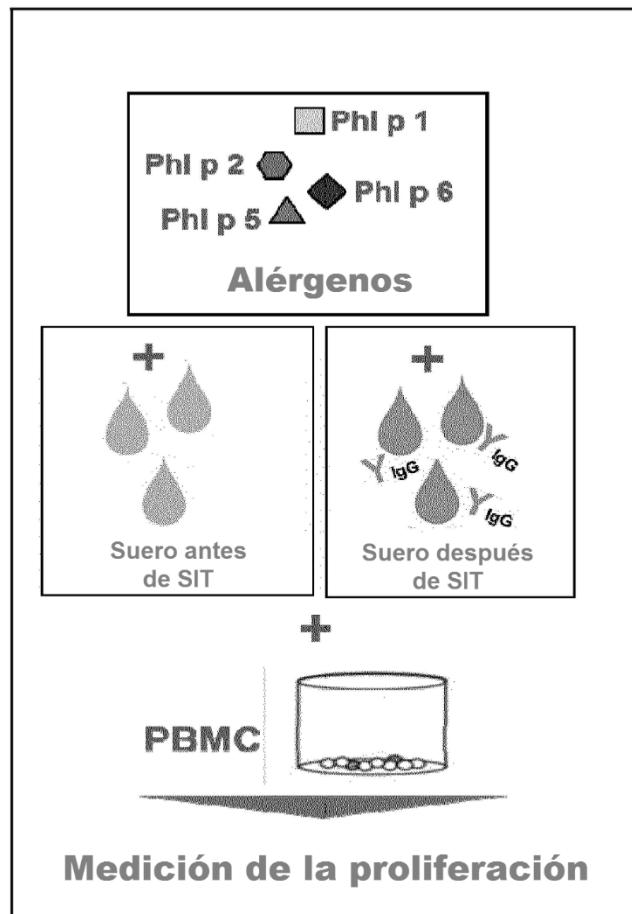


Fig. 16A

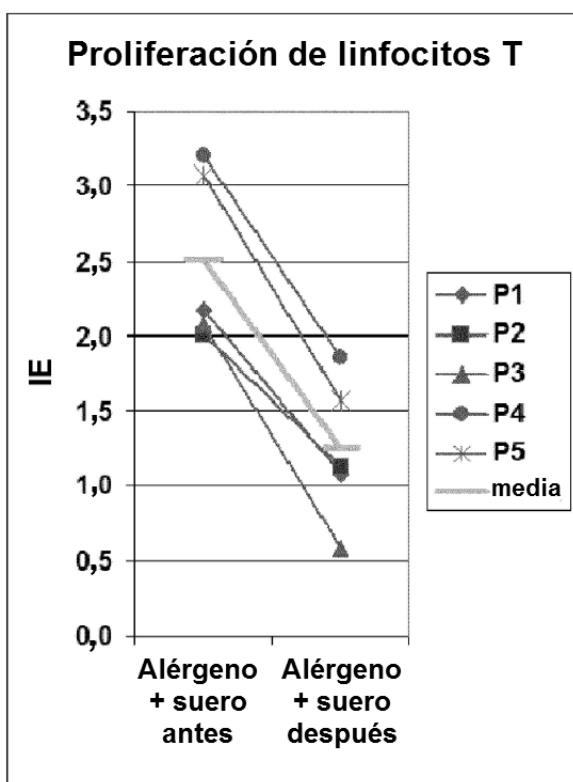


Fig. 16B

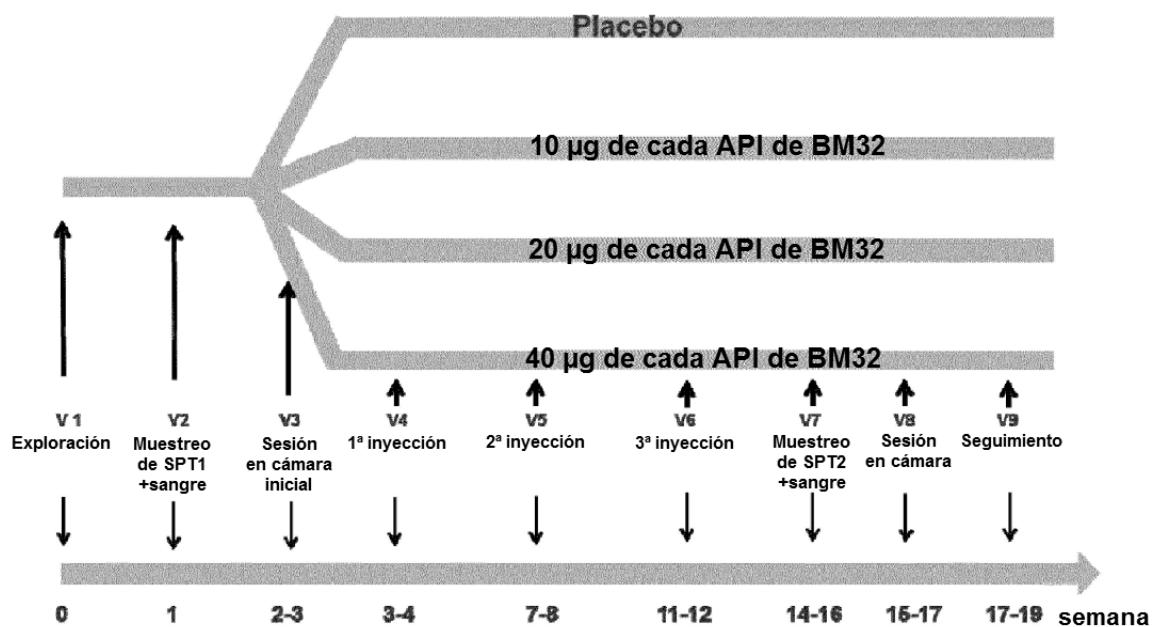


Fig. 17

**HBV Der p2-2xP2-2xP4**

HGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAGG  
WSSKPRKGMTNL SVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAANQVGVGAFGP  
GLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDHPQAMQWNSTAF  
HQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNACHYM  
KCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPK  
IAPKSEN

Fig. 18A

**HBV Der p2-3xP2-3xP4**

HGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAHG  
SEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKGWSSKPRKGMTNL SVPNPLGFFPDHQLDPAFG  
ANSNNPDWDFNP IKDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPAST  
NRQSGRQPTPISPPLRDHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIAS  
HISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSEN  
EVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQY  
DIKYTWIVPKIAPKSEN

Fig. 18B

**HBV Der p23-2xP4-2xP5**

GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTGYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTGGWS  
SKPRKGMTNL SVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAANQVGVGAFGPGL  
TPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDHPQAMQWNSTAFHQ  
ALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNKFYICSNWEAVHKDCPG  
NTRWNEDEETCTKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT

Fig. 18C

**HBV Der p23-4xP6**

GYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHK  
DSPGNTRWNEDEETSTGGWSSKPRKGMTNL SVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNP  
IKDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPIS  
PPLRDHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDP  
VTNGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTGYFADPKDPHKFYISSNWEA  
VHKDSPGNTRWNEDEETST

Fig. 18D

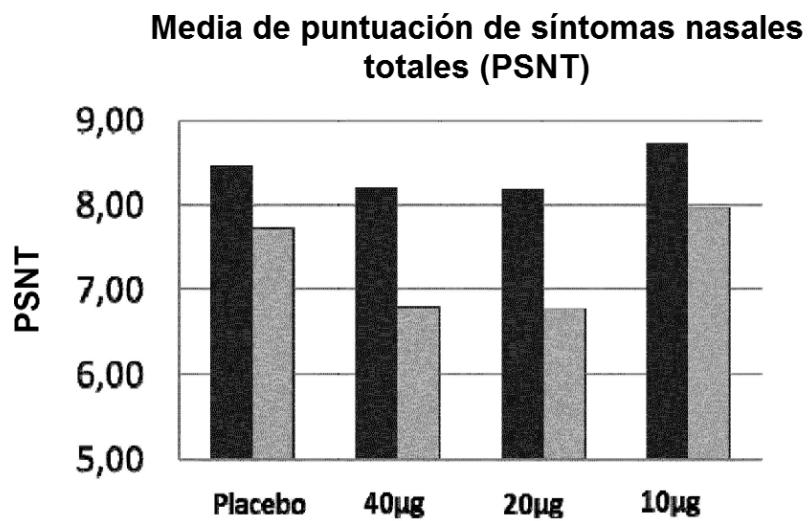


Fig. 19A

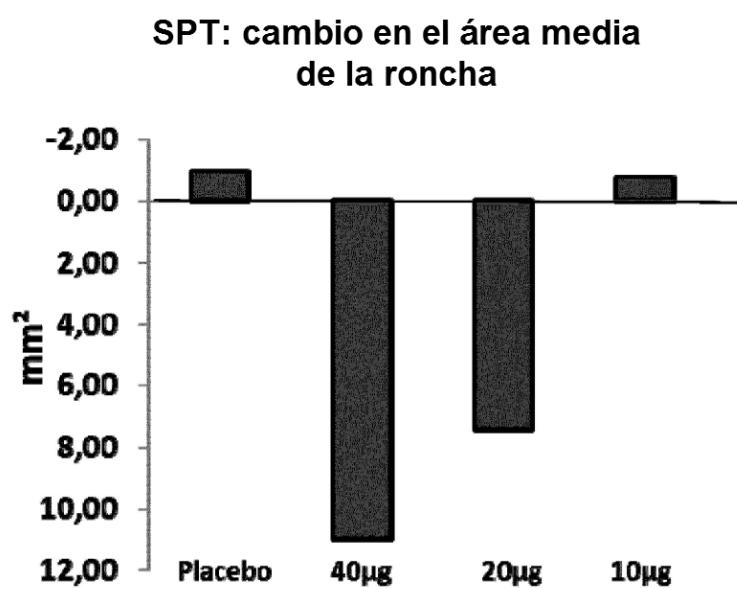
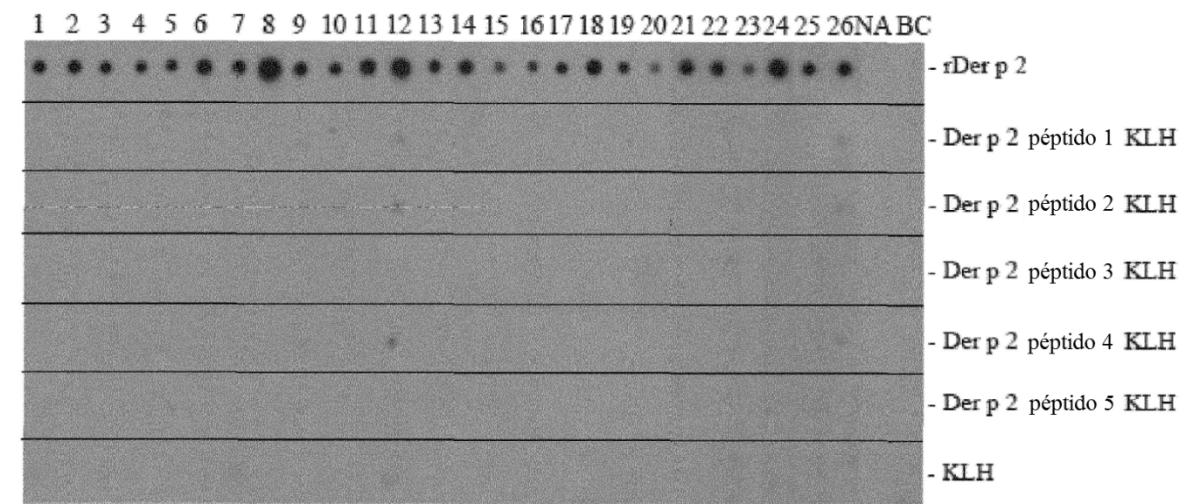


Fig. 19B

# ES 2 720 140 T3



Columnas 1-26: sueros de pacientes individuales alérgicos a los ácaros del polvo

NA: suero de individuo no alérgico

BC: control de tampón

Fig. 20