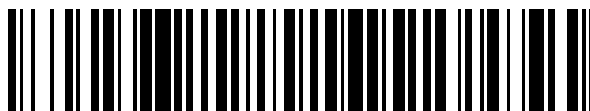


19



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.

10 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, 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, anafilaxia). La activación de linfocitos T mediante mecanismos dependientes de IgE así como independientes de IgE contribuye a la inflamación alérgica.

15 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 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 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.

20 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 alérgicos no definidos y varios estudios recientes han destacado la baja calidad de dichos extractos y documentan su gran heterogeneidad.

25 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 epitópica 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 inmunoestimuladoras para reducir la actividad alérgica 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 epítomos de linfocitos T sintéticos procedentes de alérgenos pueden reducirse significativamente o incluso suprimirse, estos derivados siguen pudiendo inducir efectos secundarios sistémicos que aparecen varias horas después de la inyección. Por ejemplo, se ha comunicado que los péptidos de epítomo 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.

30 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 epítomos 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 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.

35 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 epítomos 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 epítomos 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 epítomos 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.

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 SKPRKGMGTNL SVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNPDWDFNPI
KDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQ 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 alérgico 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).

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.

45 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.

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. 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).

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.

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 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 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 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.

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:

Estructura 1 Principio de construcción general de realizaciones preferidas



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.

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, 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.

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

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>Ambrosia trifida</i> ambrosía gigante	Amb a 7	Ra7	12	P	26
	Amb t 5	Ra5G	4,4	C	9, 10, 27
<i>Artemisia vulgaris</i> artemisa	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, quihuilla armuelle	Che a 1		17	C	29B,AY049012
	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
	Par j 1	proteína de transferencia de lípidos 1	15	C	véase la lista de isoalérgenos
<i>Parietaria judaica</i>	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
	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> hierba 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> hierba 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> hierba 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.
<i>Carpinus betulus</i> carpe	Bet v 6 h:	isoflavona reductasa	33,5	C	véase la lista de isoalérgenos
	Bet v 7	ciclofilina	18	P	P81531
<i>Castanea sativa</i> castaño	Car b 1		17	C	véase la lista de isoalérgenos
	Cas s 1		22	P	52
	Cas s 5	quitinasa			
<i>Corylus avellana</i> avellana	Cas s 8	proteína de transferencia de lípidos	9,7	P	53
	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
<i>Quercus alba</i> roble blanco	Cor a 11	prot. similar a vicilina 7S	48	C	AF441864
	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
<i>Olea europea</i> 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 Ca ²⁺	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
Pinales <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.
<i>Cupressus arizonica</i> ciprés	Cry j 2			C	57, D29772
	Cup a 1		43	C	A1243570
<i>Cupressus sempervirens</i> ciprés común	Cup s 1		43	C	véase la lista de isoalérgenos
	Cup s 3w		34	C	referencia pendiente
<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 sabinoides</i> cedro de montaña	Jun s 1		50	P	58
	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.	
<i>Dermatophagoides microceras</i> ácaro del polvo doméstico	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 pteronyssinus</i> Ácaro del polvo doméstico europeo	Der m 1	cisteína proteasa	25	P	68
		Der p 1	antígeno P1, cisteína proteasa	25	C	62, véase la lista de isoalérgenos
<i>Euroglyphus maynei</i> ácaro	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	glutación transferasa		C	67A	
	Der p 9	serina. pro. colagenolítica		P	67B	
	Der p 10	tropomiosina	36	C	Y14906	
	Der p 14 prot. similar a apolipoproteína			C	Epton p.c.	
	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
		Lep d 2	Lep d 1	15	C	73, 74, 74A, véase la lista de isoalérgenos
<i>Lepidoglyphus destructor</i> ácaro de los almacenes	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	

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>Tyrophagus putrescentiae</i> ácaro de los almacenes	Tyr p 2			C	75B, Y12690
E. Animales					
<i>Bos domesticus</i> Ganado bovino doméstico	Bos d 2	Ag3, lipocalina	20	C	76, véase la lista de isoalérgenos
(véanse también los alimentos)	Bos d 3	hom. de S100 de unión a Ca	11	C	L39834
	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>)	Can f 1		25	C	78, 79
perro	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

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>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 tioredoxina	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

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.
2.2 Urediniomycetes					
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>					
	Rho m 1	enolasa	47	C	89B
	Rho m 2	serina proteasa vacuolar	31	C	AY547285
2.3 Ustilaginomycetes					
<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
3. Deuteromycotina					
3.1 Tuberculariales					
<i>Epicoccum purpurascens</i> (anteriormente <i>E. nigrum</i>)					
	Epi p 1	serina proteasa	30	P	SW:P83340, 91B
G. Insectos					
<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	glutación 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-P1I		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 annularis</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 Vesp m 5				Hoffman p.c. 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 Ves m 2 Ves m 5	fosfolipasa A1 hialuronidasa antígeno 5	33,5 44 23	C P C	108 109 104
<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 Ves v 2 Ves v 5	fosfolipasa A1 hialuronidasa antígeno 5	35 44 23	C P C	105A 105A 104
<i>Myrmecia pilosula</i> hormiga saltadora	Myr p 1 Myr p 2			C C	X70256 S81785
<i>Solenopsis geminata</i> hormiga de fuego tropical	Sol g 2 Sol g 4				Hoffman p.c. Hoffman p.c.
<i>Solenopsis invicta</i> hormiga de fuego	Sol i 2 Sol i 3		13 24	C C	110, 111 110

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.
<i>Solenopsis saevissima</i> hormiga de fuego brasileña	Sol i 4		13	C	110
<i>Triatoma protracta</i> vinchuca	Sol s 2				Hoffman p.c.
H. Alimentos <i>Gadus callarias</i> bacalao	Tria p 1	Procalina	20	C	AF179004, 111A.
<i>Salmo salar</i> Salmón atlántico	Gad c 1	alérgeno M	12	C	112, 113
<i>Bos domesticus</i> Ganado bovino doméstico	Sal s 1	parvalbúmina	12	C	X97824
(leche) véanse también animales	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>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>Haliotis midae</i> abulón	Hal m 1		49		117C
<i>Rana esculenta</i> rana comestible	Ran e 1	parvalbúmina alfa	11,9*	C	AJ315959
	Ran e 2	parvalbúmina beta	11,7*	C	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	BMAI-1	15	C	119
	Hor v 16	alfa amilasa			
	Hor v 17	beta amilasa			
	Hor v 21	gamma-3 hordeína	34	C	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	aglutinina			
	Tri a 19	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	hom: Bet v 1	16*	C	Z48967
	Api g4	profilina			AF129423
	Api g 5		55/58	P	P81943
<i>Daucus carota</i> zanahoria	Dau c 1	hom: Bet v 1	16	C	117D, véase la lista de isoalérgenos
	Dau c 4	profilina		C	AF456482
<i>Corylus avellana</i> avellana	Cor a 1.04	hom: Bet v 1	17	C	véase la lista de isoalérgenos
	Cor a 2	profilina	14	C	AF327622
	Cor a 8	proteína de transferencia de lípidos	9	C	AF329829
<i>Malus domestica</i> manzana	Mai d 1	hom: Bet v 1		C	véase la lista de isoalérgenos

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.
	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>Prunus 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>					

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.
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 h2	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 lw	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

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.
	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
<i>Juglans nigra</i>					
nogal negro	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
<i>Anacardium occidentale</i>					
anacardo	Ana o 1	proteína similar a vicilina	50	C	véase la lista de isoalérgenos
	Ana o 2	proteína similar a legumina	55	C	AF453947
	Ana o 3	albúmina 2S	14	C	AY081853
<i>Ricinus communis</i>					
ricino	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
<i>Cucumis melo</i>					
melón	Cuc m 1	serina proteasa	66	C	D32206
	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>					

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.
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	100-115	P	128
	Hev b 5		16	C	U42640
	Hev b 6.01	precursor de heveína	20	C	M36986, p02877
	Hev b 6.02	heveína	5	C	M36986, p02877
	Hev b 6.03	fragmento C-terminal	14	C	M36986, p02877
	Hev b 7,01	hom: patatina de B-serum	42	C	U80598
	Hev b 7,02	hom: patatina de C-serum	44	C	AJ223038
	Hev b 8	profilina	14	C	véase la lista de isoalérgenos
	Hev b 9	enolasa	51	C	AJ132580
	Hev b 10	Mn superóxido dismutasa	26	C	véase la lista de isoalérgenos
	Hev b 11	quitinasa de clase 1		C	véase la lista de isoalérgenos
	Hev b 12	proteína de transferencia de lípidos	9,3	C	AY057860
	Hev b 13	esterasa	42	P	P83269
<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

- 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.
- 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 Roebber, 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 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.
- 25 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.
- 30 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 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.
- 35 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.
- 45 44 Valenta, R. et al. 1994. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 199:106-118.
- 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.
- 52 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.
- 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.
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.
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.
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.
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 supl. 1: 74-76, 2000.
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.
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.
76 Rautiainen J, Rytkonen M, Pelkonen J, Pentikainen J, Perola O, Virtanen T, Zeiler T, Mantyljarvi 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.
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 Fahlibusch B. et al. Allergy 57: 417-422, 2002.
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.
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.
84A Cramer 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.
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.
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 Schimmekulturen).
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 Schimmekulturen).
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.
95C Pomes A. et al. 1998. *J Biol Chem* 273:30801-30807.
25 **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.
40 **103** King, T. P. et al. 1990. *Prot. Seq. Data Anal.* 3:263-266.
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.
111A Paddock CD et al. *J Immunol* 167: 2694-2699, 2001.
50 **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.
118A. Monsalve RI et al. 1997. *Clin Exp Allergy* 27:833-841.
65 **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.

- 5
10
15
20
25
30
- 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

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.

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)).

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 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.

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 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.

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. Después, 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.

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. Después, se determina y cuantifica la unión de IgE al alérgeno de tipo silvestre y al péptido que se está ensayando.

Un "epítipo 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 hipoalérgica 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 hipoalérgicas, 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 la presencia de un epítipo 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 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.

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 inmunoterapia contra la alergia exitosa.

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

ES 2 720 140 T3

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):

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Pep Alt a 1.1	19-58	APLESRQDTASCPVTTEGDYVWKISEFYGRKPEGTYYN SL	23	
Pep Alt a 1.2	59-95	GFNIKATNGGTLDFTCSAQADKLEDHKWYSCGENSFM	24	
Pep Alt a 1.3	91-120	ENSFMDFSFSDRSGLLLKQKVSDDITYVA	25	
Pep Alt a 1.4	121-157	TATLPNYCRAGGNGPKDFVCQGVADAYITLVTLPKSS	26	
Pep Alt a 2.1	1-40	MHSSNNFFKDNIFRSLSKEDPDYSRNI EGQVIRLHWDW 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	KSISMARLEDLWKEYQKIFPSIQVITSAFRSIEPELTVYT	30	
Pep Alt a 2.5	161-190	CLKKIEASFELIEENGDPKITSEIQLLKAS	31	
Pep Alt a 6.1	1-34	MTITKIHARSVYDSRGNPTVEVDIVTETGLHRAI	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	EKGVPLYAHISDLAGT KKPVLPVVPF QNVLNNGGSHAGGRLA	35	
Pep Alt a 6.5	174-213	CEAPTFSEAMRQGAEVYQKLLKALAKKTYGQSAGNVGD EGG	36	
Pep Alt a 6.6	241-280	IKIAMDVASSEFYKADEKKYDLDFKNPDSKSKWLTYE QL	37	
Pep Alt a 6.7	294-333	VSIEDPFAEDDWEAWSYFFKTYDGQIVGDDTLVTNPEFI K	38	

ES 2 720 140 T3

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Pep Alt a 6.8	361-400	AKDAFGAGWGVMSHRSGETEDVTIADIVVGLRSGQIK TG	39	
Pep Alt a 6.9	401-438	APARSERLAKLNQILRIEEELGDNAVYAGNNFRTAVNL	40	
Pep Amb a 1.1	31-70	EILPVNETRRLTTSAGYNIIDGCWRGKADWAENRKALA DC	41	
Pep Amb a 1.2	80-120	GGKDGDIYTVTSELDDDVANPKEGTLRFGAAQNRPLWI IFE	42	
Pep Amb a 1.3	125-155	IRLDKEMVVNSDKTIDGRGAKVEIINAGFTL	43	
Pep Amb a 1.4	160-200	NVIIHNINMHDVKVNPGLIKSNDGPAAPRAGSDGDAIS IS	44	
Pep Amb a 1.5	225-263	GTTRLTVSNSLFTQHQFVLLFGAGDENIEDRGMLATVA F	45	
Pep Amb a 1.6	264-300	NTFTDNVDQRMPCRHRGFFQVNNNYDKWGSYAIGGS	46	
Pep Amb a 1.7	305-350	ILSQGNRFCAPDERSKKNVLGRHGEEAAESMKWNWRT NKDVLENGA	47	
Pep Amb a 1.8	356-396	GVDPVLTPEQSAGMIPAEPGESALSLTSSAGVLSCQPGA PC	48	
Pep Art v 1.1	27-70	SKLCEKTSKTYSGKCDNKKCDKCKIEWEKAQHGACHK REAGKES	49	
Pep Art v 1.2	70-100	SCFCYFDCSKSPPGATPAPPGAAPPPAAGGS	50	
Pep Art v 1.3	92-132	APPPAAGGSPSPPADGGSPPPADGGSPVDGGSPPPST H	51	
Can f 1 Pep 1	19-56	QDTPALGKDTVAVSGKWYLKAMTADQEVPEKPDSVTP M	52	
Can f 1 Pep 2	51-90	DSVTPMILKAQKGGNLEAKITMLTNGQCQNITVVLHKT SE	53	
Can f 1 Pep 3	78-118	CQNITVVLHKTSEPGKYTAYEGQRVVFIQSPVRDHYIL YC	54	
Can f 1 Pep 4	106-145	QSPVRDHYILYCEGELHGRQIRMAKLLGRDPEQSQEA LE	55	
Can f 1 Pep 5	135-174	RDPEQSQEALEDFREFSRAKGLNQEILELAQSETCSPGG Q	56	
Can f 2 Pep 1	19-58	QEGNHEEPQGGLEELSGRWHSVALASNKSDLIKPWGHF RV	57	
Can f 2 Pep 2	52-91	PWGHFRVFIHMSAKDGNLHGDILIPQDGQCEKVSMTAF K	58	
Can f 2 Pep 3	82-119	CEKVSMTAFKATSNKFDLEYWGHNDLYLAEVDPKSYL	59	

ES 2 720 140 T3

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Can f 2 Pep 4	106-144	NDLYLAEVDPKSYLILYMINQYNDDTSLVAHLMVRDLS R	60	
Can f 2 Pep 5	139-180	VRDLSRQQDFLPAFESVCEDIGLHKDQIVVLSDDDRDRCQ GSRD	61	
Fel d 2 Pep 1	25-58	EAHQSEIAHRFNDLGEEHFRGLVLVAFSQYLQQC	62	
Fel d 2 Pep 2	99-133	CTVASLRDKYGEMADCCEKKEPERNECFLQHKDDN	63	
Fel d 2 Pep 3	154-183	NEQRFLGKYLVEIARRHPYFYAPELLYYAE	64	
Fel d 2 Pep 4	277-307	CADDRADLAKYICENQDSISTKLKECCGKPV	65	
Fel d 2 Pep 5	334-363	VEDKEVCKNYQEAKDVFLGTFLYEYSRRHP	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	CPFEDHVKLVNEVTEFAKGCVADQSAANCEKSLHELLG DKLC	70	
Fel d 2 Pep 10	125-165	CFLQHKDDNPGFGQLVTPEADAMCTAFHENEQRFLGK YLYE	71	
Fel d 2 Pep 11	183-224	EEYKGVFTECCEAADKAACTPKVDALREKVLASSAKE RLKC	72	
Fel d 2 Pep 12	224-261	CASLQKFGERAFAKAWSVARLSQKFPKAEFAEISKLVTD	73	
Fel d 2 Pep 13	252-289	FAEISKLVTDLAKIHKECCHGDLLECADDRADLAKYIC	74	
Fel d 2 Pep 14	303-340	CGKPVLEKSHCISEVERDELPAVLPLAVDFVEDKEVC	75	
Fel d 2 Pep 15	416-457	CELFEKLGEGYGFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRSL GKV	76	
Fel d 2 Pep 16	460-500	CTHPEAERLSCAEDYLSVVLNRLCWLHEKTPVSRVTK 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	GASLRLQCKDKENGDVTFTEVGYTRAEGLYS	80	
Pep Ole e 1.3	63-99	GLYSMLVERDHKNEFCEITLISSGRKDCNEIPTGWA	81	
Pep Ole e 1.4	86-120	GRKDCNEIPTGWAQPSLKFKLNTVNGTTRTVNPL	82	
Pep Ole e 1.5	107-145	LNTVNGTTRTVNPLGFFKKEALPKCAQVYNKLGMYPP NM	83	
Pep Par j 2.1	31-60	GEEACGKVVQDIMPLHFVKGEEKEPSKEC	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	ELVAEVPKKCDIKTTLPITADFDCKSIQSTIFRGYY	87	

ES 2 720 140 T3

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Der p 1 Pep 1	1-30	TNAC SINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGG	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	KDLDAFRHYDGR TIIQRDNGYQPNYHAVNIV	92	
Der p 1 Pep 6	155-187	GRTIIQRDNGYQPNYHAVNIVGYSNAQGV DYWI	93	
Der p 1 Pep 7	175-208	VGYSNAQGV DYWIVRNSWDTNWGDNGYGYFAANI	94	
Der p 1 Pep 8	188-222	VRNSWDTNWGDNGYGYFAANIDLMMIEEYPYVVIL	95	
Der p 1 Pep 1,2	1-41	TNAC SINGNAPAEIDLRQMRTVTPIRMQGGCGSCWAFS GVA	143	
Der p 1 Pep 2,2	42-82	ATESAYLAYRNQSLDLAEQELVDCASQHGCHGDTIPRG IEYIQ	144	
Der p 1 Pep 9	27-57	MQGGCGSCWAFSGVAATESAYLAYRNQSLD	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	EVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQYDIKYTWIVPKIAP KSEN	99	
Der p 2 Pep 5	98-129	APKSENVVVTVKVMGDNGVLACAIATHAKIRD	100	
Der p 5 Pep 1	1-35	MEDKKHDYQNEFDL LMERIHEQIKKGELALFY LQ	101	
Der p 5 Pep 2	25-60	KKGELALFY LQE QINHFE EKPTKEMKDKIVAEMDTI	102	
Der p 5 Pep 3	65-95	DGVRGVLDR LMQRKDL DIFEQYNLEMAKKSG	103	
Der p 5 Pep 4	78-114	DL DIFEQYNLEMAKKSGDILERDLKKEEARVKKIEV	104	
Der p 7 Pep 1	1-30	DPIHYDKITEEINKAVDEAVAAIEKSETFD	105	
Der p 7 Pep 2	20-50	VAAIEKSETFDPMKVPDHSDKFERHIGIIDL	106	
Der p 7 Pep 3	50-80	LKGELDMRNIQVRGLKQMKRVGDANVKSEDG	107	
Der p 7 Pep 4	90-125	VHDDVVSMEYDLAYKLGDLHPNTHVISDIQDFVVEL	108	
Der p 7 Pep 5	125-155	LSLEVSEEGNMTLTSFEVRQFANVVNHIGGL	109	
Der p 7 Pep 6	165-198	LSDVLTAIFQDTVRAEMTKVLAPAFKKE LERNNQ	110	
Der p 10 Pep 1	1-35	MEAIKKKMQAMKLEKD NAIDRAEIAEQKARDANLR	111	
Der p 10 Pep 2	36-70	AEKSEEEV RALQKKIQIENELDQVQEQLSAANTK	112	
Der p 10 Pep 3	71-110	LEEKEKALQTAEGDVAALNRRIQLIEEDLERSEERLKIA T	113	
Der p 10 Pep 4	111-145	AKLEEASQSADESERM RKMLEHRSITDEERMEGLE	114	
Der p 10 Pep 5	140-170	RMEGLENQLKEAR MMAEDADRKYDEVARKLA	115	
Der p 10 Pep 6	175-205	DLERAEEAETGESKIVELEEEELRVVGNL K	116	

ES 2 720 140 T3

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Der p 10 Pep 7	210-250	SEEKAQQREEAHEQQIRIMTTKLKEAEARAFAERSVQ KLQ	117	
Der p 10 Pep 8	250-284	QKEVDRLLEDELVHEKEKYKSISDELDTFAELTGY	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	YNYEFALESIKLLIKKLDELAKKVKAVNPDEYY	122	
Der p 23 Pep 1	1-32	MANDNDDDPPTTVHPTTTEQPDDKFECPSRFG	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	LFPKVAPQAISVENIEGNGGPGTIKKISF	126	
Bet v 1 Pep 2	50-79	GPGTIKKISFPEGFPFKYVKDRVDEVDHTN	127	
Bet v 1 Pep 3	75-104	VDHTNFKYNYSVIEGGPIGDTLEKISNEIK	128	
Bet v 1 Pep A	30-74	LFPKVAPQAISVENIEGNGGPGTIKKISFPEGFPFKYVK DRVDE	143	
Bet v 1 Pep B	60-104	PEGFPFKYVKDRVDEVDHTNFKYNYSVIEGGPIGDTLEK ISNEIKI	144	
Fel d 1 cadena 1 Pep 1	1-34	EICPAVKRDVDLFLTGTPEYVEQVAQYKALPVVC	129	
Fel d 1 cadena 1 Pep 2	35-70	LENARILKNCVDAKMTEEDKENALSLLDKIYTSPLC	130	
Fel d 1 cadena 2 Pep 1	1-34	VKMAITCPIFYDVFFAVANGNELLLDLSLTKVNAC	131	
Fel d 1 cadena 2 Pep 2	35-63	TEPERTAMKKIQDCYVENGLISRVLGDLVC	132	
Fel d 1 cadena 2 Pep 3	64-92	CMTTISSSKDCMGEAVQNTVEDLKLNTLGR	133	
Phl p 5 Pep 1	98-128	CGAASNKAFAEGLSGEPKGAAESSSKAALTSK	134	
Phl p 5 Pep 2	26-58	ADLGYGPATPAAPAAGYTPATPAAPAEAPAGKC	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	TVATAPEVKYTVFETALKKAITAMSEAQKAAC	138	
Phl p 5 Pep 6	176-212	CAEEVKVIPAGELQVIEKVDAAFKVAATAANAAPAND K	139	
Phl p 5 Pep 1a	93-128	CFVATFGAASNKAFAEGLSGEPKGAAESSSKAALTSK	141	

ES 2 720 140 T3

Péptido	Posición	Secuencia	SEQ NO:	ID
Phl p 5 Pep 2b	26-53	ADLGYGPATPAAPAAGYTPATPAAPAEAC	142	
Phl p 5 Pep 7	59-91	ATTEEQKLIKINAGFKAALAAAAGVQPADKYR	22	
Phl p 1 Pep 1	151-171	HVEKGSNPNYLALLVKYVNGDGDVVAVC	1	
Phl p 1 Pep 2	87-117	EPVVVHITDDNEEPIAPYHFDLSGHAFGAMAC	2	
Phl p 1 Pep 3	1-30	IPKVPPGNITATYGDKWLDKSTWYGKPTGC	3	
Phl p 1 Pep 4	43-70	GYKDVDKPPFSGMTGCGNTPIFKSGRGC	4	
Phl p 1 Pep 5	212-241	CVRYTTEGGTKTEAEDVIPEGWKADTSYESK	5	
Phl p 2 Pep 1	1-33	VPKVTFTEVEKGSNEKHLAVLVKYEEDTMAEVELC	6	
Phl p 2 Pep 2	28-39	CVEKGSNEKHLAVLVKYEEDTMAEVELREHGSD	7	
Phl p 2 Pep 3	34-65	REHGSDEWVAMTKGEGGVWTFDSEEPLQGPFC	8	
Phl p 2 Pep 4	66-96	CFRFLTEKGMKNVFDVVPEKYTIGATYAPEE	9	
Phl p 6 Pep 1	23-54	GKATTEEQKLIEDVNASFRAAMATTANVPPAD	10	
Phl p 6 Pep 2	56-90	YKTFEAAFTVSSKRNLADAVSKAPQLVPKLDEVYN	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)

5 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.

15 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: MANDNDDDDPTTTHVHPTTTEQPDDKFECPSRFYGFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCP 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.

20 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.

25 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.

30 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.

35 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 hipoalérgica 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.

20 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.

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 ácaro 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 El polipéptido/vacuna de 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.

40 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.

45 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.

50 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.

55 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.

60 A fin de aumentar la inmunogenicidad de las moléculas hipoalergénicas 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 humoral o celular. Los adyuvantes convencionales son, por ejemplo, compuestos de aluminio, compuestos que contienen lípidos o microbacterias inactivadas.

65 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 hipoadérgicos 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 hipoadérgicos de Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5 y Phl p 6 y la proteína PreS del virus de la hepatitis B.

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

15

Se prefiere una mezcla de al menos 2 proteínas de fusión que contienen péptidos hipoadérgicos 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 hipoadérgicos 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).

20

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 hipoadérgicos 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 hipoadérgicos 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.

25

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 hipoadérgica o anticuerpo.

35

Puede usarse una proteína hipoadérgica 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.

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

40

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

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 hipoadérgica, molécula de ácido nucleico, vector, hospedador o anticuerpo.

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.

50

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 hipoadérgico.

55

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.

60

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 inyecciones 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.

65

5 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 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 hipoalérgica 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 beneficioso usar moléculas hipoalérgicas de acuerdo con la presente invención para dichas terapias, debido a la ausencia de epítomos 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.

35 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 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.

40 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una molécula hipoalérgica 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.

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.

45 Más de un 40 % de los individuos alérgicos presentan reactividad de IgE con alérgenos de polen de gramíneas, que 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).

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 epítomos para linfocitos T y, por lo tanto, carece de reactividad de linfocitos T específica de Phl p 5.

65 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 hipoalérgicas carezcan sustancialmente de epítomos de linfocitos T específicos de alérgeno.

Las moléculas de Phl p 5 que carecen de epítomos 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.

5 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 epítomos para linfocitos T pero carecen de capacidad de unirse a IgE.

15 Se prefieren moléculas de Phl p 1 truncadas que carecen de epítomos 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 epítomos 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.

Se prefieren moléculas de Phl p 6 truncadas que carecen de epítomos 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.

25 Se prefieren moléculas de Bet v 1 truncadas que carecen de epítomos 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.

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

35 Se prefieren combinaciones o mezclas de moléculas de *Phleum pratense* que carecen de epítomos 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.

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.

40 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.

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 divulgan moléculas hipoalergénicas 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.

20 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.^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) y Ausubel et al. (Short Protocols in Molecular Biology, 3.^a 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 un 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.

40 Una ventaja específica e inesperada es que las proteínas de fusión procedentes de moléculas de alérgeno hipoalergénicas 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_Phlp1_4xP5

La Fig. 1 B muestra una representación esquemática del vector HBV_Phlp2_4xP3

65 La Fig. 1 C muestra una representación esquemática del vector HBV_Phlp5_V2

La Fig. 1 D muestra una representación esquemática del vector HBV_Phlp6_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)
 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 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 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 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 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 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 ¹²⁵I. No se detectó unión de IgE para ninguna de las cuatro proteínas de fusión de 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 alérgica de la proteína de fusión derivada de alérgeno del polen de gramíneas 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 alérgica de la proteína de fusión derivada de alérgeno del polen de gramíneas 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 inmunizó 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 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), 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), 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 v 1 y tampón de control para anticuerpos monoclonales de ratón (carril 6).

La figura 9 A muestra la reactividad con IgE de rBet v 1 y de proteínas de fusión recombinantes de PreS con péptidos derivados de Bet v 1. Se evaluaron sueros de pacientes alérgicos al polen de abedul, de controles no alérgicos y de solo tampón respecto de su reactividad con rBet v 1, 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 ¹²⁵I. 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 µg/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 v 1, los péptidos derivados de Bet v 1 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 µg/pocillo de Bet v 1 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 µg/pocillo, 2=2,5 µg/pocillo, 3=1,25 µg/ml, 4=0,63 µg/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 µg/ml de rBet v1 y cantidades equimolares de los péptidos PA y PB, PreS y cuatro proteínas de fusión. Las concentraciones observadas (pg/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 v 1 y alérgenos homólogos de Bet v 1 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 v 1 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 v 1 y se presentan los valores medios de la densidad óptica (DO) para mediciones duplicadas (ejes y) para diferentes diluciones de antisuero de conejo (ejes x).

(B1) Alineamiento de múltiples secuencias de Bet v 1 y alérgenos homólogos a Bet v 1 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 v 1 respecto de Bet v 1. El péptido A (PA, línea discontinua) y el péptido B (PB, línea continua) procedentes de Bet v 1 se encuentran recuadrados.

(B2) Los anticuerpos IgG de antisueros de conejo (rab α-2PA-PreS, rab α-2PB-PreS, rab α-4PA-PreS, rab α-2PAPB-PreS) dirigidos contra rBet v 1, 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 v 1 y proteínas de fusión recombinantes (2PA-PreS, 2PB-PreS, 4PA-PreS, 2PAPB-PreS) dirigidas contra seis péptidos derivados de Bet v 1 (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 v 1 completo. Se determinó el porcentaje de inhibición de la unión de IgE a rBet v 1 (ejes y) obtenidos con sueros de conejo anti-2xPA2xPB-PreS y anti-rBet v 1 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.

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 inmunizaron 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.

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 hipoalérgicas 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).

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 hipoalérgicas 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.

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 hipoalérgicas 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.

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 hipoalérgicas de SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17.

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)

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 hipoalérgica 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.

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).

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 ¹²⁵I. 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)

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 NcoI 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".

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	NcoI / 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. 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_Php1_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 $DO_{600} = 1 - 2$. 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.

15 **Ejemplo 4: Fermentación discontinua alimentada de alta densidad celular de HBV_Php1_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 $\mu = 0,25$ h⁻¹. Al alcanzarse una $DO = 45$, 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 $DO_{600} = 73$. 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 procedimiento 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.

45 **Ejemplo 6: Purificación por cromatografía de HBV_Php1_4xP5 (BM321)**

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.

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 gradiente 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 gradiente 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):

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.

Ejemplo 8: Preparación de una formulación inyectable que consiste en una mezcla de HBV_PhIP1_4xP5 (BM321), HBV_PhIP2_4xP3 (BM322), HBV_PhIP5_V2 (BM325), y HBV_PhIP6_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_PhIP1_4xP5, HBV_PhIP2_4xP3, HBV_PhIP5_V2 y HBV_PhIP6_4xP1.

Ejemplo 9: Preparación de HBV_Betv1_4xPA marcado con his

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 NdeI/XhoI del vector pET-17b (Novagen, Alemania). Se confirmaron las secuencias de ADN mediante secuenciación automatizada de ambas hebras de ADN (Microsynth, Balgach, Suiza).

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-tiogalactopiranosido 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.

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

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 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, 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 10: Preparación de HBV_Betv1_2xPA2xPB (BM31) marcado con his

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 NdeI/XhoI 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-tiogalactopiranosido 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, 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 se dializó contra NaH₂PO₄ 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 ¹²⁵I. 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 ¹²⁵I. 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 ¹²⁵I. 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 ¹²⁵I. No se detectó unión a IgE para HBV_Phlp6_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 ¹²⁵I. 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. Después 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 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: $100 - DO_i / DO_p \times 100$.

DO_i y DO_p representan las extinciones tras la preincubación con el suero inmune y preinmune de conejo, respectivamente. La tabla 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

paciente	% de inhibición		
	rPhl p 1	HBV_Phlp1_4xP5	KLHP5
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. Después 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 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: $100 - DO_i / DO_p \times 100$.

DO_i y DO_p representan las extinciones tras la preincubación con el suero inmune y preinmune de conejo, respectivamente. La tabla 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

paciente	% de inhibición		
	rPhl p 2	HBV_Phlp2_4xP3	KLHP3
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_Phlp5_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 preincubaron con anticuerpo de conejo anti-péptido (HBV_Phlp2_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: $100 - \text{DO}_i / \text{DO}_p \times 100$.

- 15 DO_i y DO_p 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_Phlp5_V2 y antisueros anti-mezcla de péptido de KLH

paciente	% de inhibición		
	rPhl p 5	HBV_Phlp5_V2	Mezcla de HLKP
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: $100 - \text{DO}_i / \text{DO}_p \times 100$. 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.

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

paciente	% de inhibición		
	rPhl p 6	HBV_Phlp6_4xP1	KLHP1
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

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).

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 ¹²⁵I (BSM Diagnostica, Viena, Austria), anticuerpos de conejo unidos con un antisuero de cabra anti-conejo marcado con ¹²⁵I (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.

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

Se obtuvieron muestras de sangre heparinizadas 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.

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

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 10⁵ 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 [³H] timidina y se expresaron como índices de estimulación (IE).

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. Después 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.

Ejemplo 23: Análisis de sueros de conejo inmunizados 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

Se recubrieron placas de ELISA (Maxisorp, Nunc) con 1 µg/ml de rBet v 1 o de alérgenos homólogos de aliso (rAln 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 inmunizados 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.

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

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 Pharmingen). 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 = $100 - (DO^i \times 100 / DO^p)$. DO^p y DO^i representan las extinciones tras la preincubación con IgG específica de conejo (DO^i) o sueros preinmunes (DO^p), respectivamente. (Fig. 12)

10 **Ejemplo 25: Uso de una formulación de vacuna que comprende una mezcla de 4 proteínas de fusión hipoaérgicas 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 hipoaérgicas 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-etilbenzotiazolin-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.

35 La vacuna no provocó ninguna reactividad de linfocitos T relevante contra las proteínas de fusión hipoaérgicas 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 hipoaérgicas.

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 heparinizadas de los pacientes alérgicos al polen de gramíneas mediante centrifugación de gradiente de densidad de Ficoll (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, R. U.). Después, se cultivaron las PBMC (2×10^5) por triplicado en placas de 96 pocillos (Nuncclone; 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-mercaptoetanol 50 µM (SIGMA) y 0,1 mg de gentamicina por ml (SIGMA) a 37 °C y CO₂ 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.

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).

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 p 5 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 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 ¹²⁵I. 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 epítopos 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-DO_p/DO_p x 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 con Der p 1 de tipo silvestre en lugar de Der p 2.

10
15
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 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

<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 5 10 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 5 10 15

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

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

35 <220>
 <223> Péptido

<400> 3

40 Ile Pro Lys Val Pro Pro Gly Pro Asn Ile Thr Ala Thr Tyr Gly Asp
 1 5 10 15

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

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

50 <220>
 <223> Péptido

ES 2 720 140 T3

<400> 4

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

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

5 <210> 5
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Péptido
 <400> 5

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

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

<210> 6
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido

25 <400> 6

Val Pro Lys Val Thr Phe Thr Val Glu Lys Gly Ser Asn Glu Lys His
 1 5 10 15

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

Leu Cys

30 <210> 7
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Péptido

<400> 7

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 8
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Péptido
 <400> 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

15 <210> 9
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Péptido
 <400> 9

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

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

30 <210> 10
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido
 35 <400> 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

ES 2 720 140 T3

5 <210> 11
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<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

<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 <210> 13
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Péptido

<400> 13

35 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

<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

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
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido

<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

5

10

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									

<210> 16
 <211> 307
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Péptido

10

<400> 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 Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp
290 295 300

Lys Tyr Arg
305

<210> 17
<211> 305
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido

<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 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
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<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

ES 2 720 140 T3

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

ES 2 720 140 T3

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

ES 2 720 140 T3

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 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

5

<220>
 <223> Péptido

10

<400> 20

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

<400> 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

<400> 22

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

ES 2 720 140 T3

Lys Ala Ala Leu Ala 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

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

20 <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

35 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 1

<400> 25

40 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
 <212> PRT
 <213> Artificial

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

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

<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

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

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

5 <210> 29
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 2
<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

25 Glu Pro Glu Leu Thr Val Tyr Thr
35 40

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

<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

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

10 <400> 32

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

15 <210> 33
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <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

25 <210> 34
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Artificial

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

<400> 34

35 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

40

ES 2 720 140 T3

<210> 35
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6
 <400> 35
 10
 Glu Lys Gly Val Pro Leu Tyr Ala His Ile Ser Asp Leu Ala Gly Thr
 1 5 10 15
 Lys Lys Pro Tyr Val Leu Pro Val Pro Phe Gln Asn Val Leu Asn Gly
 20 25 30
 Gly Ser His Ala Gly Gly Arg Leu Ala
 35 40
 <210> 36
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Alt a 6
 20
 <400> 36
 Cys Glu Ala Pro Thr Phe Ser Glu Ala Met Arg Gln Gly Ala Glu Val
 1 5 10 15
 Tyr Gln Lys Leu Lys Ala Leu Ala Lys Lys Thr Tyr Gly Gln Ser Ala
 20 25 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
 <400> 37
 Ile Lys Ile Ala Met Asp Val Ala Ser Ser Glu Phe Tyr Lys Ala Asp
 1 5 10 15
 Glu Lys Lys Tyr Asp Leu Asp Phe Lys Asn Pro Asp Ser Asp Lys Ser
 20 25 30
 35
 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
 15
 <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

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

 <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

 <220>
 20 <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

 30 <210> 43
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial

 <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

<210> 46

<211> 37

20

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

25

<400> 46

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

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

30

Ala Ile Gly Gly Ser
35

<210> 47

<211> 46

35

<212> PRT

<213> Artificial

ES 2 720 140 T3

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

<400> 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

<210> 48

<211> 41

10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Amb a 1

15

<400> 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

<210> 49

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Art a 1

<400> 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

<210> 50

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

40

<220>

ES 2 720 140 T3

<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

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

<210> 51

<211> 41

10 <212> PRT

<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

20 <211> 38

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <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

30 Asp Ser Val Thr Pro Met
35

<210> 53

<211> 40

35 <212> PRT

<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

5 <210> 54
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 1
 <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

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 57
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 2
 <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

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 60
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Can f 2
 <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

ES 2 720 140 T3

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>
10 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2
<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
30 <211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
35 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2
<400> 65

ES 2 720 140 T3

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

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

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

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

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

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

<210> 70

<211> 42

10 <212> PRT

<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

<210> 71

20 <211> 41

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <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

<210> 72

<211> 42

35 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Del d 2

40

<400> 72

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 73
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial

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

ES 2 720 140 T3

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 hipoalergénica 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 hipoalergénica 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 hipoalergénica derivada de Del d 2
<400> 78

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 79
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Ole e 1
 <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

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 82
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Ole e 1
 <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

30 <210> 84
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Par j 2
 <400> 84

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 85
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Par j 2
 <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

5 <210> 88
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1
<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 hipoalergénica 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
30 <210> 90
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Molécula hipoalergénica 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

5 <210> 91
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1
 <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

30 <210> 93
 <211> 33
 <212> PRT
 <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

5 <210> 94
 <211> 34
 <212> PRT
 <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

15 <210> 95
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 1

<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
 <213> Artificial

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

<400> 96

35 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

<220>
5 <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

20
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

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

45 <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

5 <210> 101
<211> 35
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 5
<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

5 <210> 104
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 5
 <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

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

30 <210> 106
 <211> 31
 <212> PRT
 <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

<220>
5 <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

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

ES 2 720 140 T3

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

Met Thr Lys Val Leu Ala Pro Ala Phe Lys Lys Glu Leu Glu Arg Asn
 20 25 30

Asn Gln

5 <210> 111
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10
 <400> 111

Met Glu Ala Ile Lys Lys Lys Met Gln Ala Met Lys Leu Glu Lys Asp
 1 5 10 15

Asn Ala Ile Asp Arg Ala Glu Ile Ala Glu Gln Lys Ala Arg Asp Ala
 20 25 30

Asn Leu Arg
 35

15 <210> 112
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10
 <400> 112

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

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

Asn Thr Lys
 35

30 <210> 113
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10
 <400> 113

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 114
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 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

30 <210> 116
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10
 35 <400> 116

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 117
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 10
 <400> 117

Ser Glu Glu Lys Ala Gln Gln Arg Glu Glu Ala His Glu Gln 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

25 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

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 120
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 21
 <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

30 <210> 122
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Der p 21
 <400> 122

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 123
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada del clon 30
 <400> 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 <210> 124
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada del clon 30
 <400> 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

25 **Ser Asn**

30 <210> 125
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada del clon 30
 35 <400> 125

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 126
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Molécula hipoalergénica derivada de Bet v 1
 <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

30 <210> 128
 <211> 30
 <212> PRT
 <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

ES 2 720 140 T3

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
5 <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

20
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

<220>

5 <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

20

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

<220>

<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5

30

<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

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 136
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5
<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

30 <210> 138
<211> 33
<212> PRT
<213> Artificial

35 <220>
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5
<400> 138

ES 2 720 140 T3

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

5 <210> 139
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Molécula hipoalergénica derivada de Phl p 5
<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 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

30 <210> 141
<211> 37
<212> PRT

ES 2 720 140 T3

<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

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

20

<210> 143

<211> 41

<212> PRT

25

<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

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

<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

35 <220>
<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

ES 2 720 140 T3

<210> 148
 <211> 39
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <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
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia artificial

<400> 150

5

10

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
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia artificial

<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

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 epítomos 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:

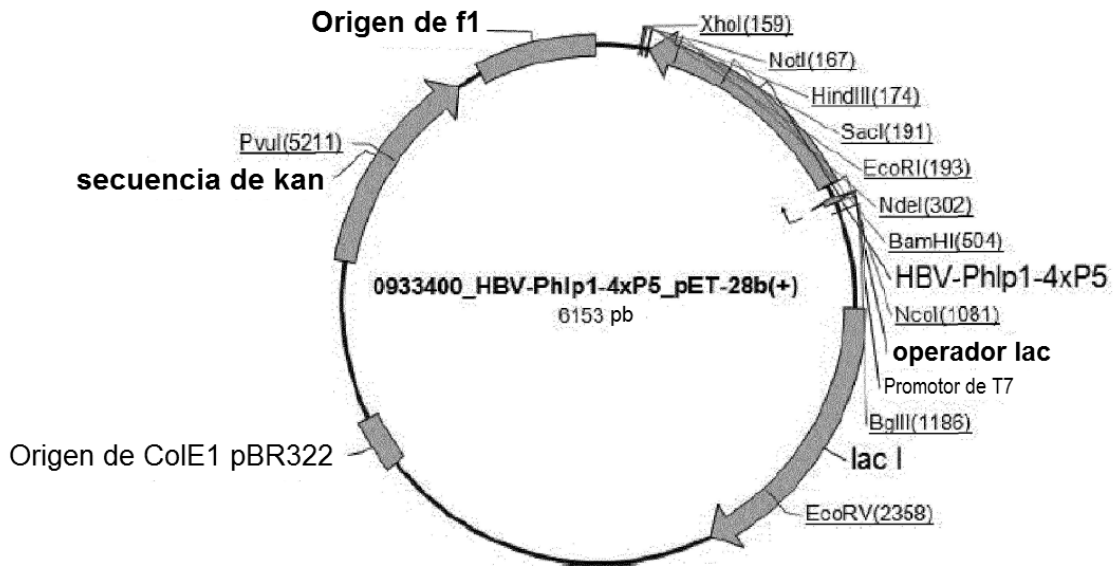


Fig. 1A

Mapa del plásmido:

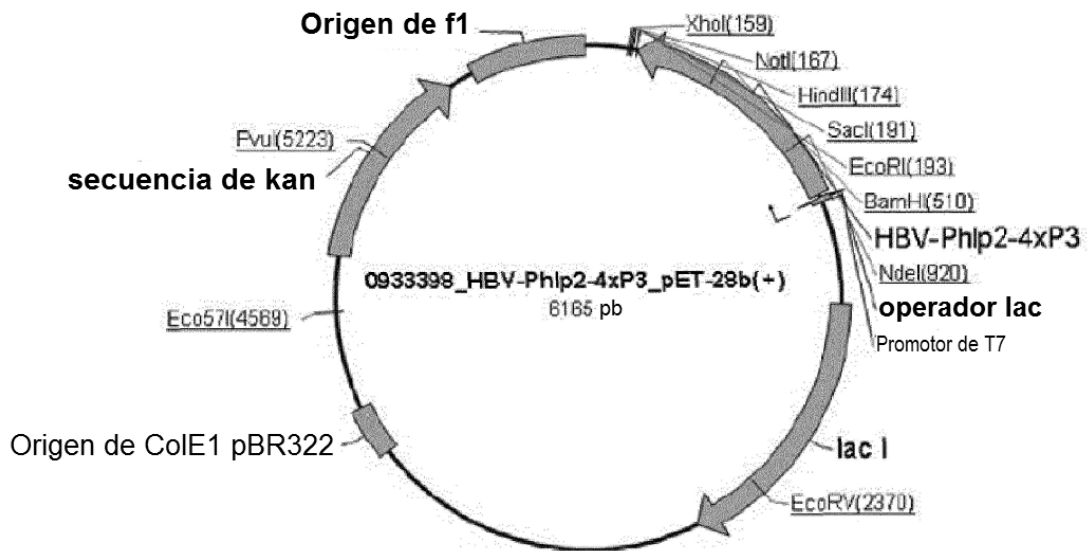


Fig 1B

Mapa del plásmido:

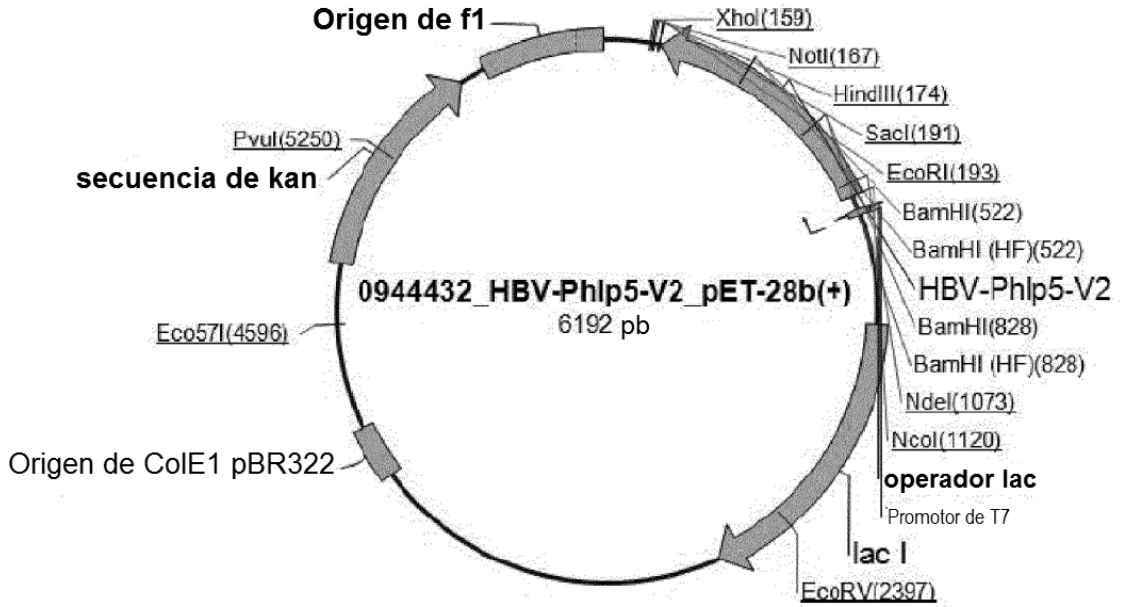


Fig 1 C

Mapa del plásmido:

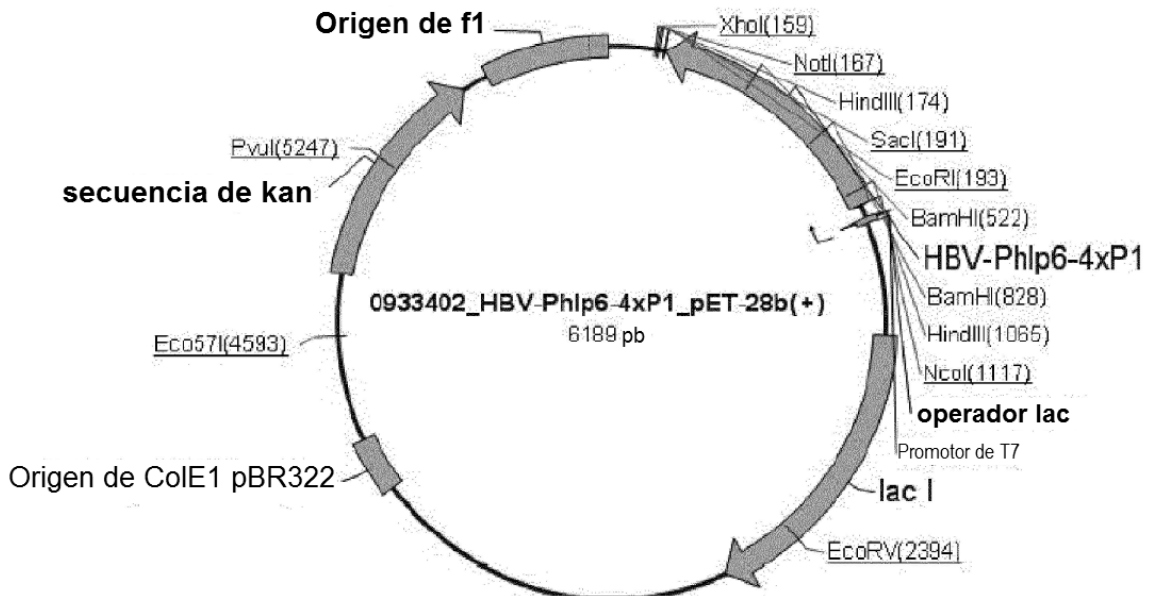


Fig 1 D

1 **MVRYTTEGGT KTEAEDVIPE GWKADTSYES KVRYYTTEGGT KTEAEDVIPE GWKADTSYES**
 61 **KGGWSSKPRK** GMGTNLSVNP PLGFFPDHQL DPAFGANSNN PDWDFNPIKD HWPAAANQVGV
 121 **GAFGPGLTPP** HGGILGWSPQ AQQILTTVST IPPPASTNRQ SGRQPTPISP PLRDSHPQAM
 181 **QWNSTAFHQA** LQDPRVRGLY FPAGSSSGT VNPAPNIASH ISSISARTGD PVTN**VRYTTE**
 241 **GGTKTEAEDV IPEGWKADTS YESKVRYYTTE GGTKTEAEDV IPEGWKADTS YESK**

Fig. 2 A

1 **MFRFLTEKGM KNVFDDVVE KYTIGATYAP EEFRLTEKG MKNVDDVVP EKYTIGATYA**
 61 **PEEGWSSKP** RKGMTNLSV PNPLGFFPDH QLDPAFGANS NNPWDFNPI KDHWPAANQV
 121 **GVGAFGPGLT** PPHGGILGWS PQAQILTTV STIPPPASTN RQSGRQPTPI SPPLRDSHPQ
 181 **AMQWNSTAFH** QALQDPRVRG LYFPAGSSS GTVNPAPNIA SHISSISART GDPVTN**FRFL**
 241 **TEKGMKNVFD DVVPEKYTIG ATYAPEEFRF LTEKGMKNVF DDVPEKYTI GATYAPEE**

Fig. 2 B

1 **MEAAFNDAIK ASTGGAYESY KFIPALEAAV KAEEVKVIPA GELQVIEKVD AAFKVAATAA**
 61 **NAAPANDKGG** WSSKPRKGMG TNLSVNPPLG FFPDHLDPDPA FGANSNNPDW DFNPIKDHWP
 121 **AANQVGVGAF** GPGLTPPHGG ILGWSPQAQG ILTTVSTIPP PASTNRQSGR QPTPISPPLR
 181 **DSHPQAMQWN** STAFHQALQD PRVRGLYFPA GGSSSGTVNP APNIASHISS ISARTGDPVT
 241 **NADLGYPAT PAAPAAGYTP ATPAAPAEA PAGKATTEEQ KLIKINAGF KAALAAAAGV**
 301 **QPADKYR.**

Fig 2 C

1 **GKATTEEQKL IEDVNASFRA AMATTANVPP ADKGKATTEE QKLIEDVNAS FRAAMATTAN**
 61 **VPPADKGGWS** SKPRKGMGTN LSVNPPLGFF PDHQLDPDPA ANSNNDWDF NPIKDHWPAA
 121 **NQVGVGAFGP** GLTPPHGGIL GWSPQAQIL TTVSTIPPPA STNRQSGRQP TPISPPLRDS
 181 **HPQAMQWNST** AFHQALQDPR VRGLYFPAGG SSSSGTVNPAP NIASHISSIS ARTGDPVTNG
 241 **KATTEEQKLI EDVNASFRAA MATTANVPPA DKGKATTEEQ KLIEDVNASF RAAMATTANV**
 301 **PPADK**

Fig. 2 D

1 **LFPKVAPQA ISSVENIEGN GPGTIKKIS FPEGPFKYVK DRVDELFPKV APQAISSVEN**
 61 **IEGNGGPGTI** **KKISPEGPFK YVKDRVDEGG** WSSKPRKGMG TNLSVNPPLG FFPDHLDPDPA
 121 FGANSNNPDW DFNPIKDHWP AANQVGVGAF GPGLTPPHGG ILGWSPQAQG ILTTVSTIPP
 181 PASTNRQSGR QPTPISPPLR DSHPQAMQWN STAFHQALQD PRVRGLYFPA GGSSSGTVNP
 241 APNIASHISS ISARTGDPVT **NLFPKVAPQA ISSVENIEGN GPGTIKKIS PEGPFKYVKD**
 301 **RVDELFPKVA PQAISSVENI EGNNGGPGTIK KISPEGPFKY VKDRVDE**

Fig 2 E

1 **LFPKVAPQA ISSVENIEGN GPGTIKKIS FPEGPFKYVK DRVDELFPKV APQAISSVEN**
 61 **IEGNGGPGTI** **KKISPEGPFK YVKDRVDEGG** WSSKPRKGMG TNLSVNPPLG FFPDHLDPDPA
 121 FGANSNNPDW DFNPIKDHWP AANQVGVGAF GPGLTPPHGG ILGWSPQAQG ILTTVSTIPP
 181 PASTNRQSGR QPTPISPPLR DSHPQAMQWN STAFHQALQD PRVRGLYFPA GGSSSGTVNP
 241 APNIASHISS ISARTGDPVT **NPEGPFKYV DRVDEVDHTN FKYNYSVIEG GPIGDTLEKI**
 301 **SNEIKIPEGF PFKYVDRVDE DHTNFKYNYS VIEGGPIGDT LEKISNEIKI**

Fig 2 F

ES 2 720 140 T3

1 MADLGYGPAT PAAPAAGYTP ATPAAPAEAA PAGKATTEEQ KLIEKINAGF KAALAAAAGV
 61 QPADKYRGGW SSKPRKGMGT NLSVPNPLGF FPDHQLDPAF GANSNNPDWD FNPIKDHWPA
 121 ANQVGVGAFG PGLTPPHGGI LGWSPQAQGI LTTVSTIPPP ASTNRQSGRQ PTPISPPLRD
 181 SHPQAMQWNS TAFHQALQDP RVRGLYFPAG GSSSGTVNPA PNIASHISSI SARTGDPVTN
 241 **EAAFNDAIKA** **STGGAYESYK** **FIPALEAAVK** AEEVKVIPAG ELOVIEKVDA AFKVAATAAN
 301 AAPANDK

Fig 2 G

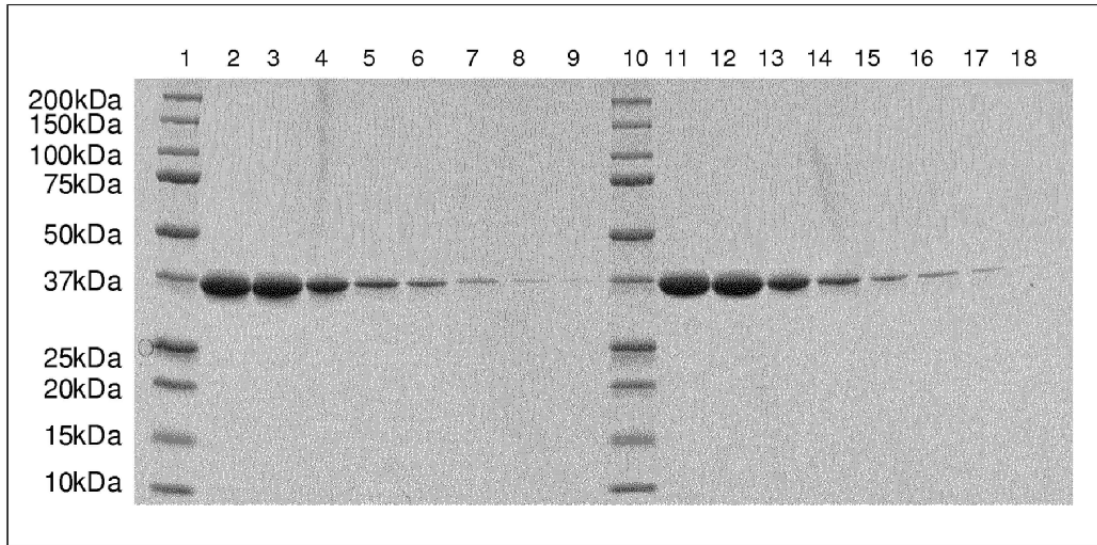


Fig. 3 A

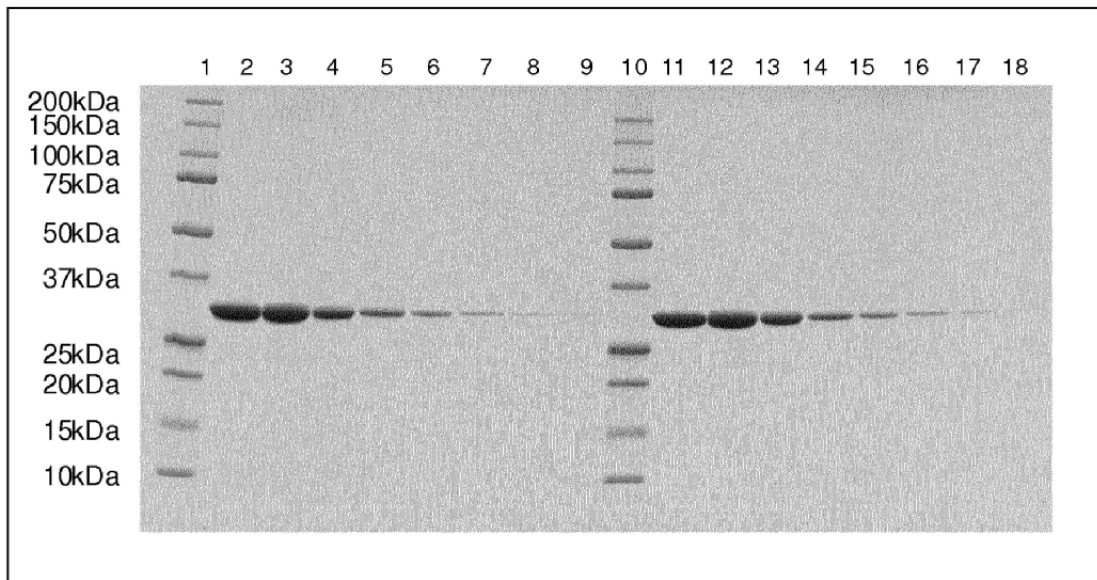


Fig. 3 B

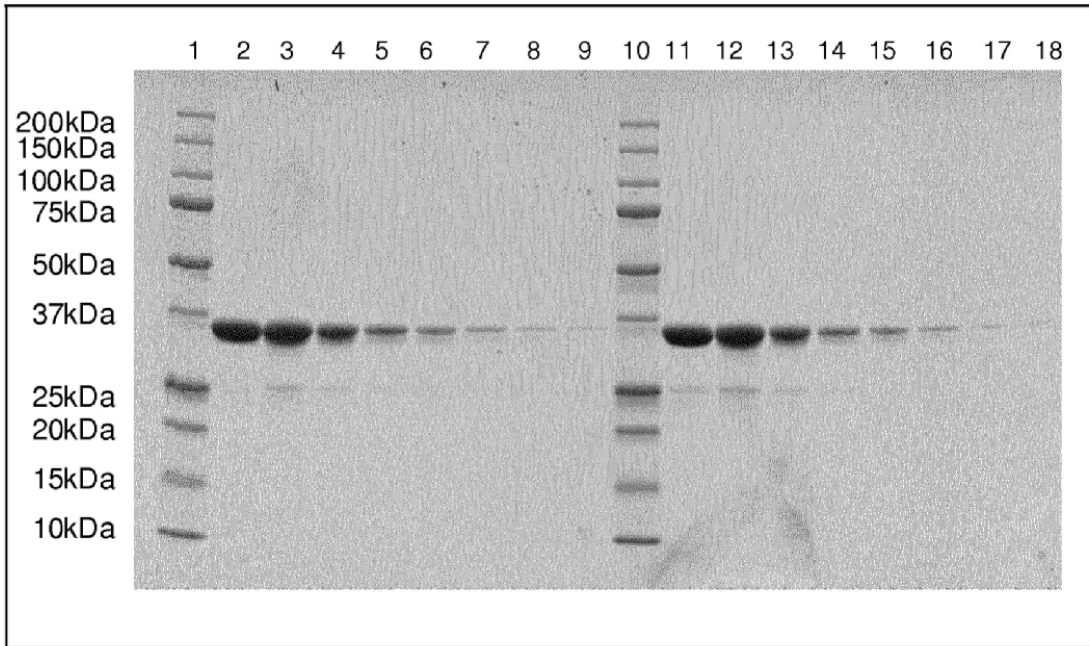


Fig 3 C

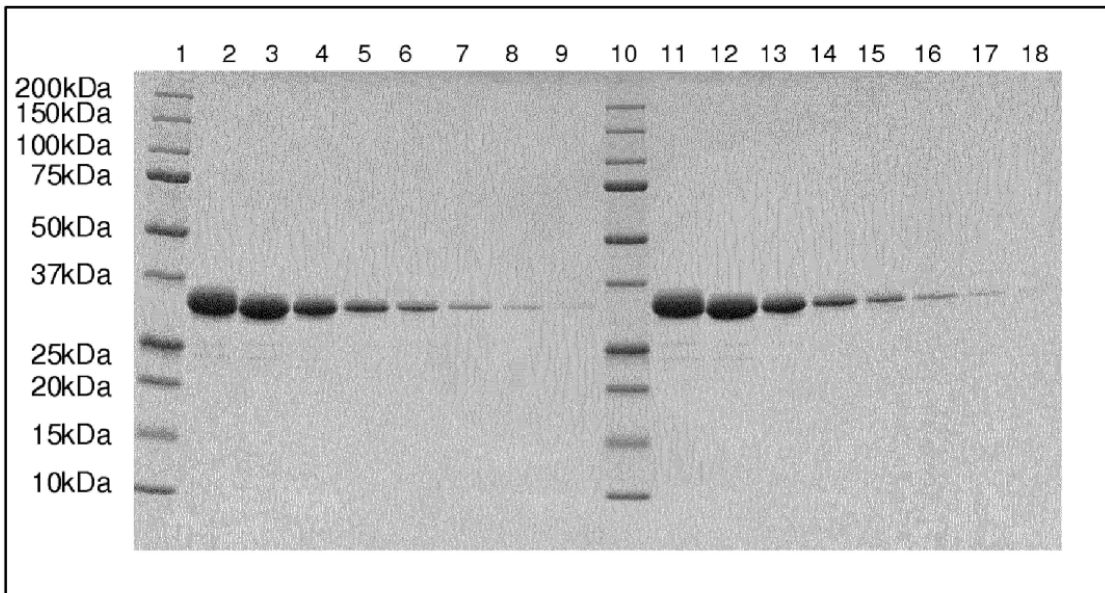


Fig. 3 D

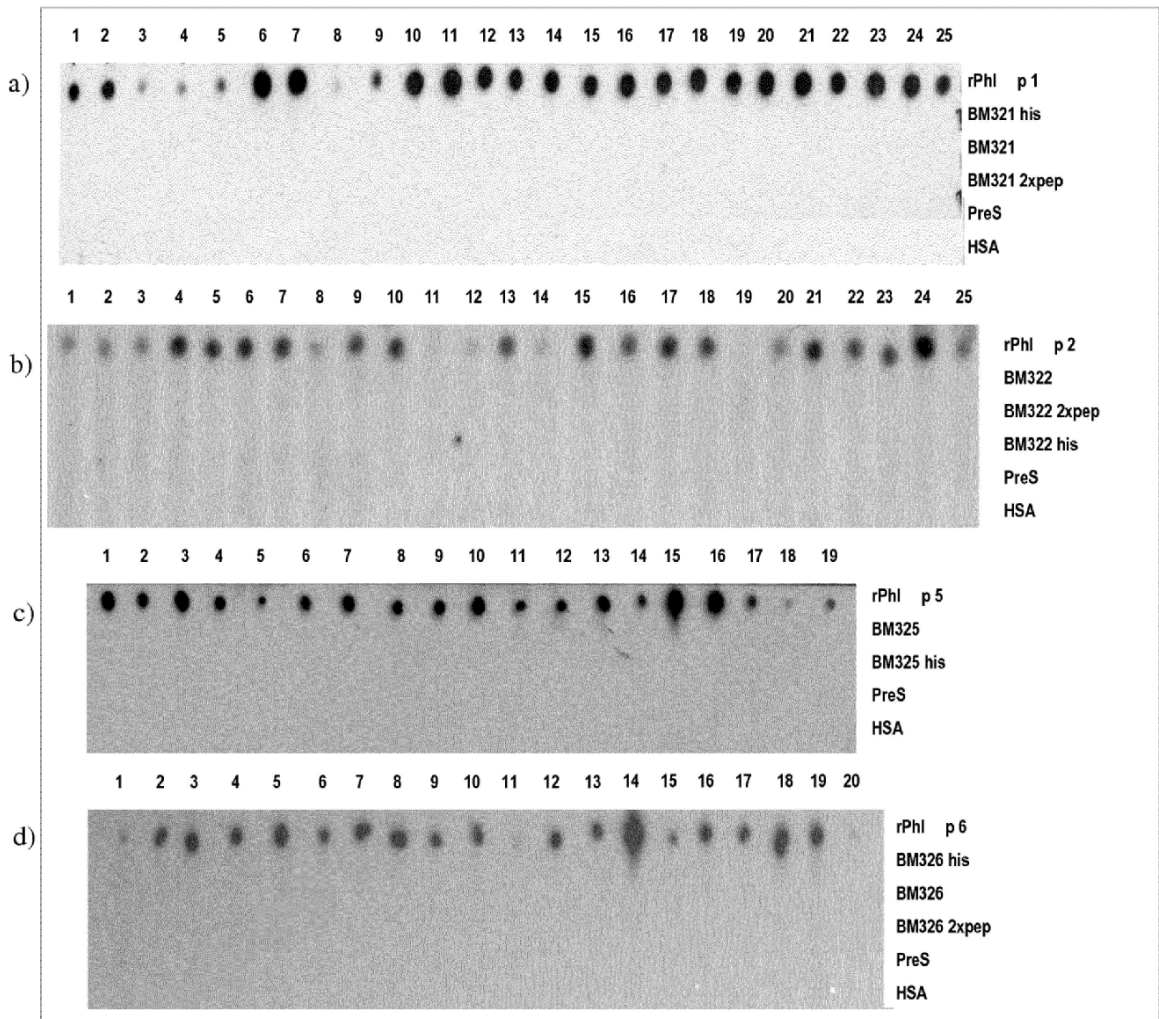


FIG 4

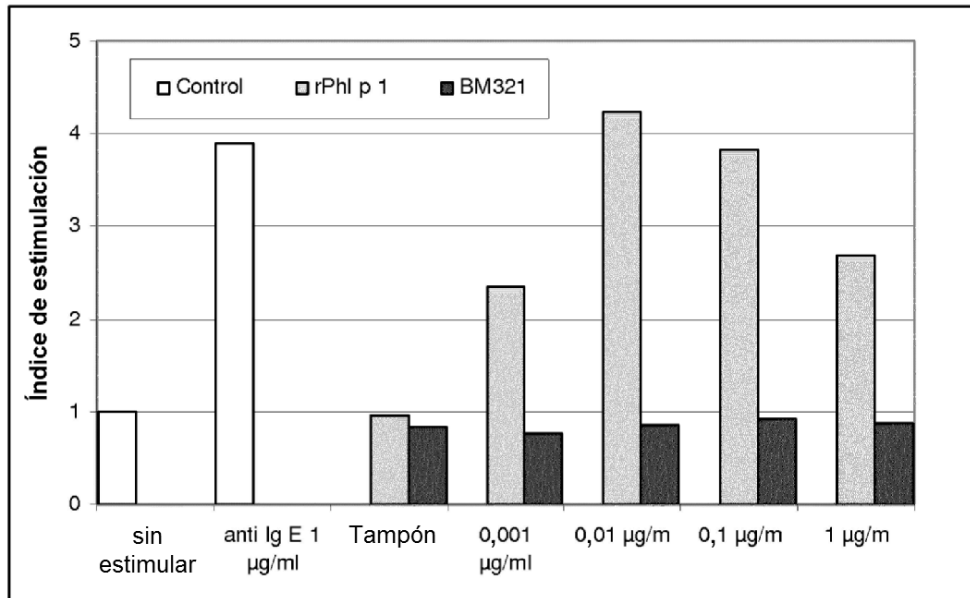


FIG 5

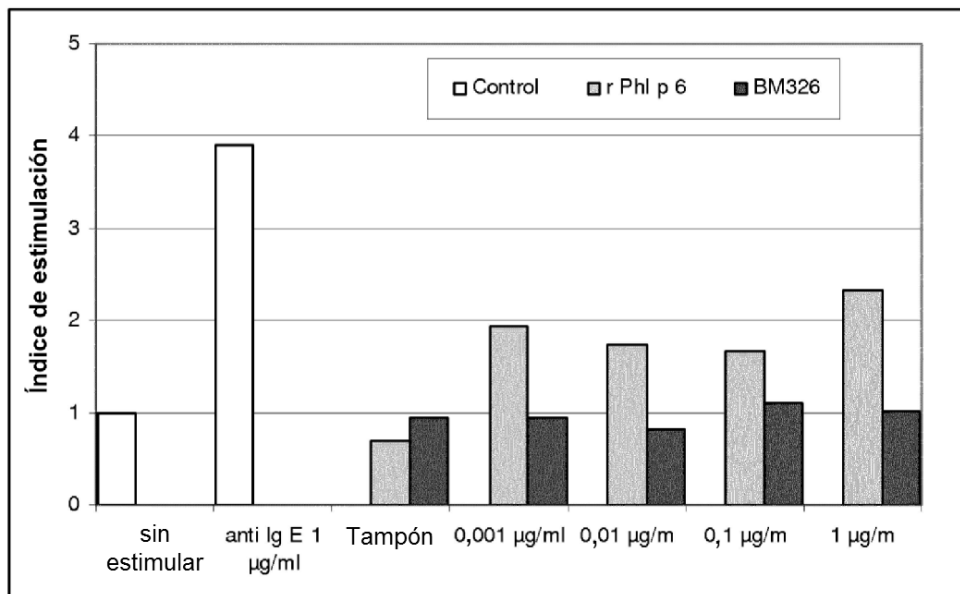


FIG 6

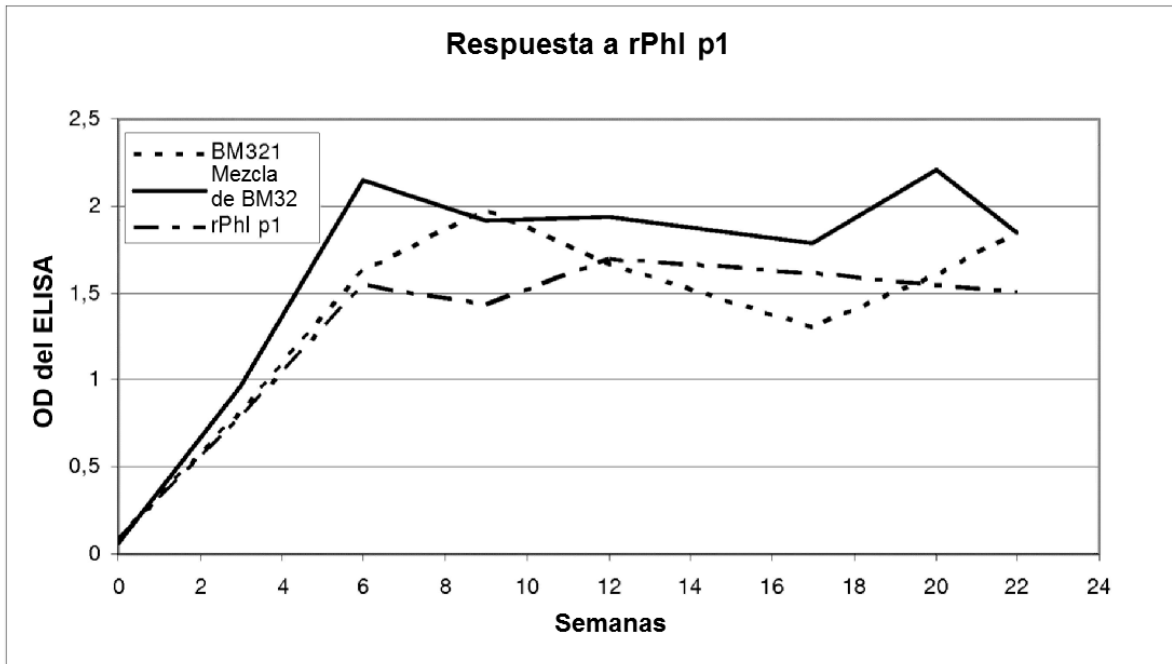


Fig. 7A

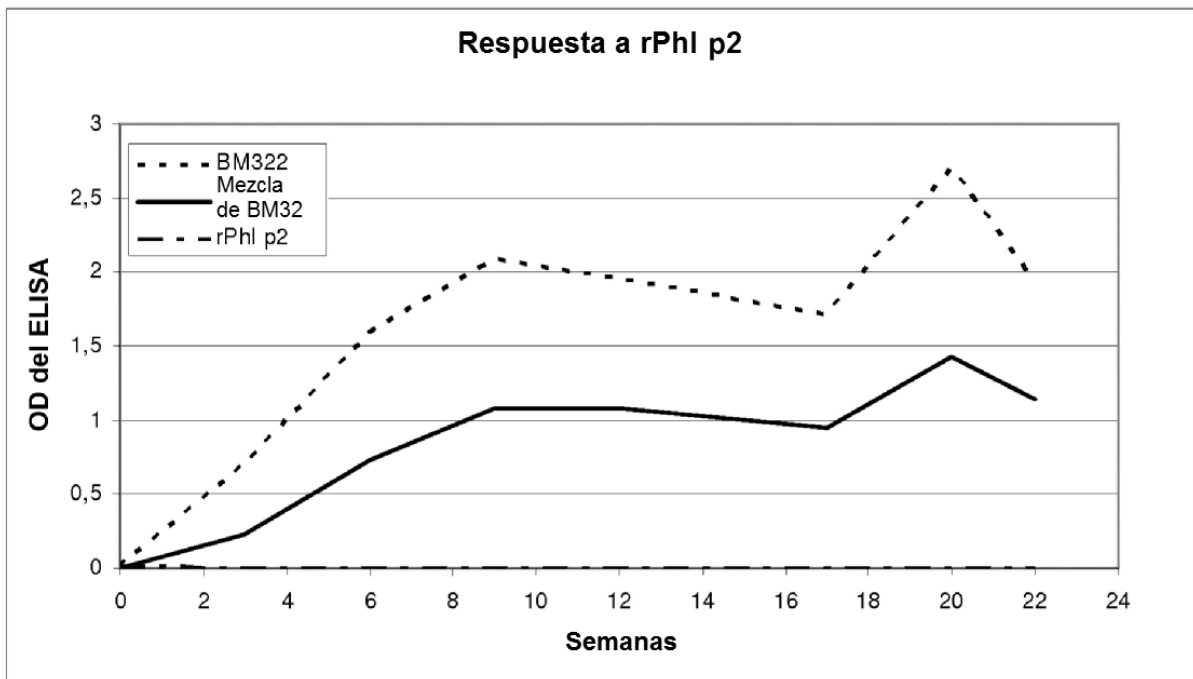


Fig. 7B

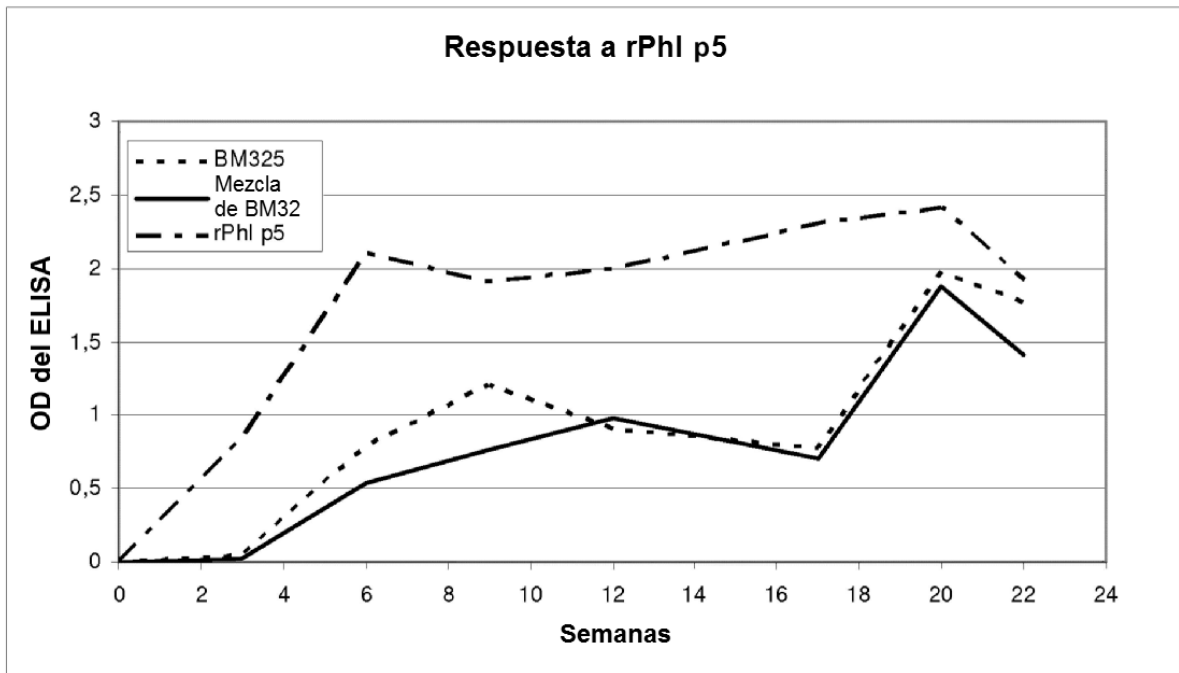


Fig. 7C

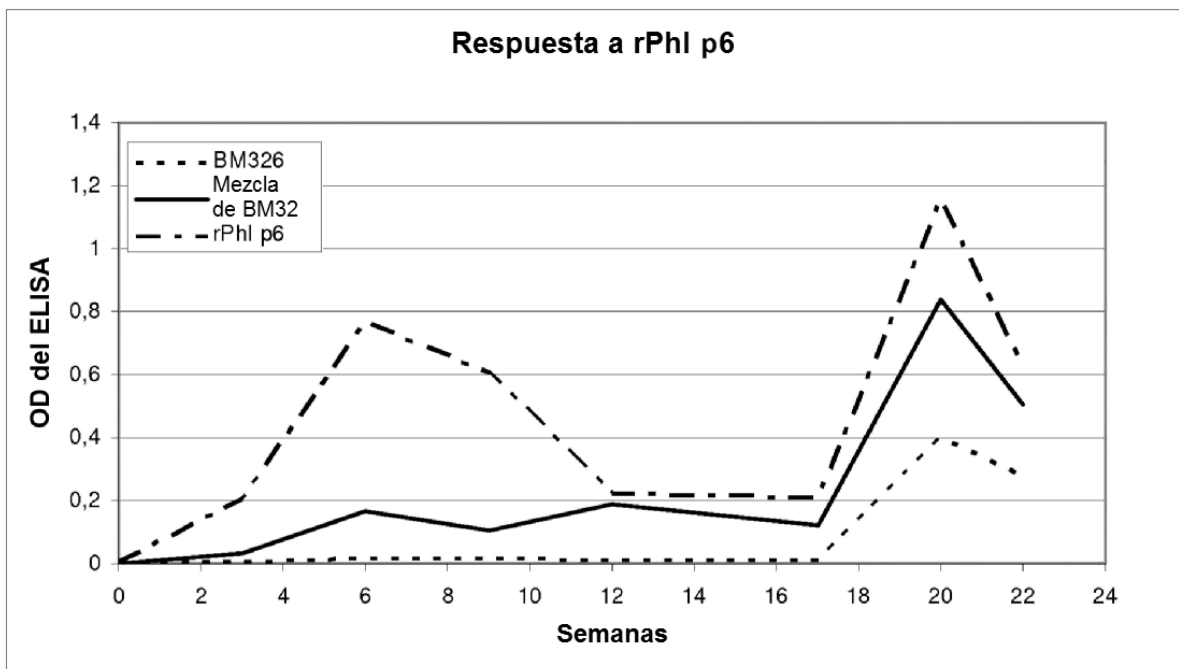


Fig. 7D

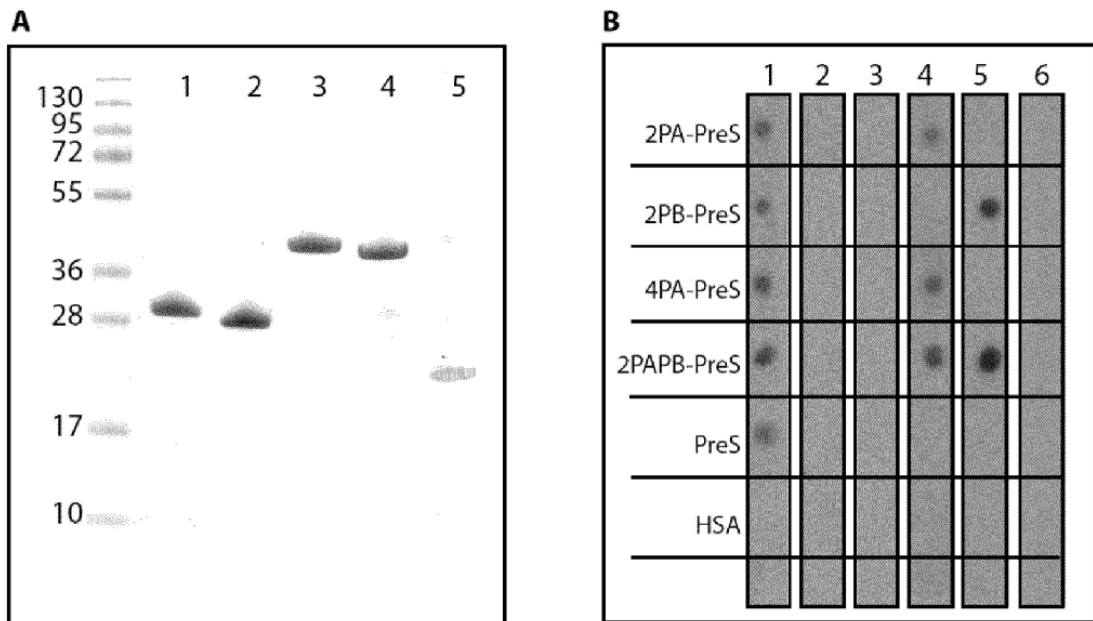


FIG 8

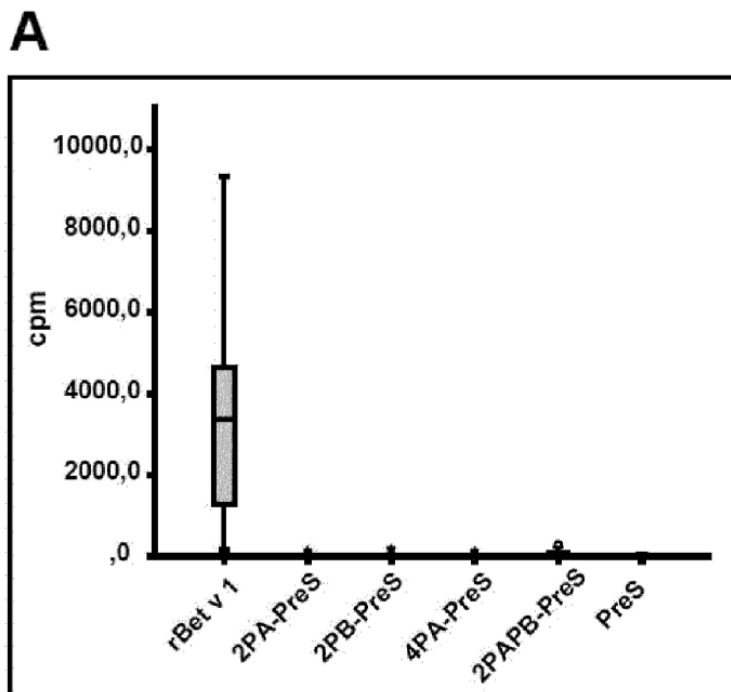


FIG 9A

B

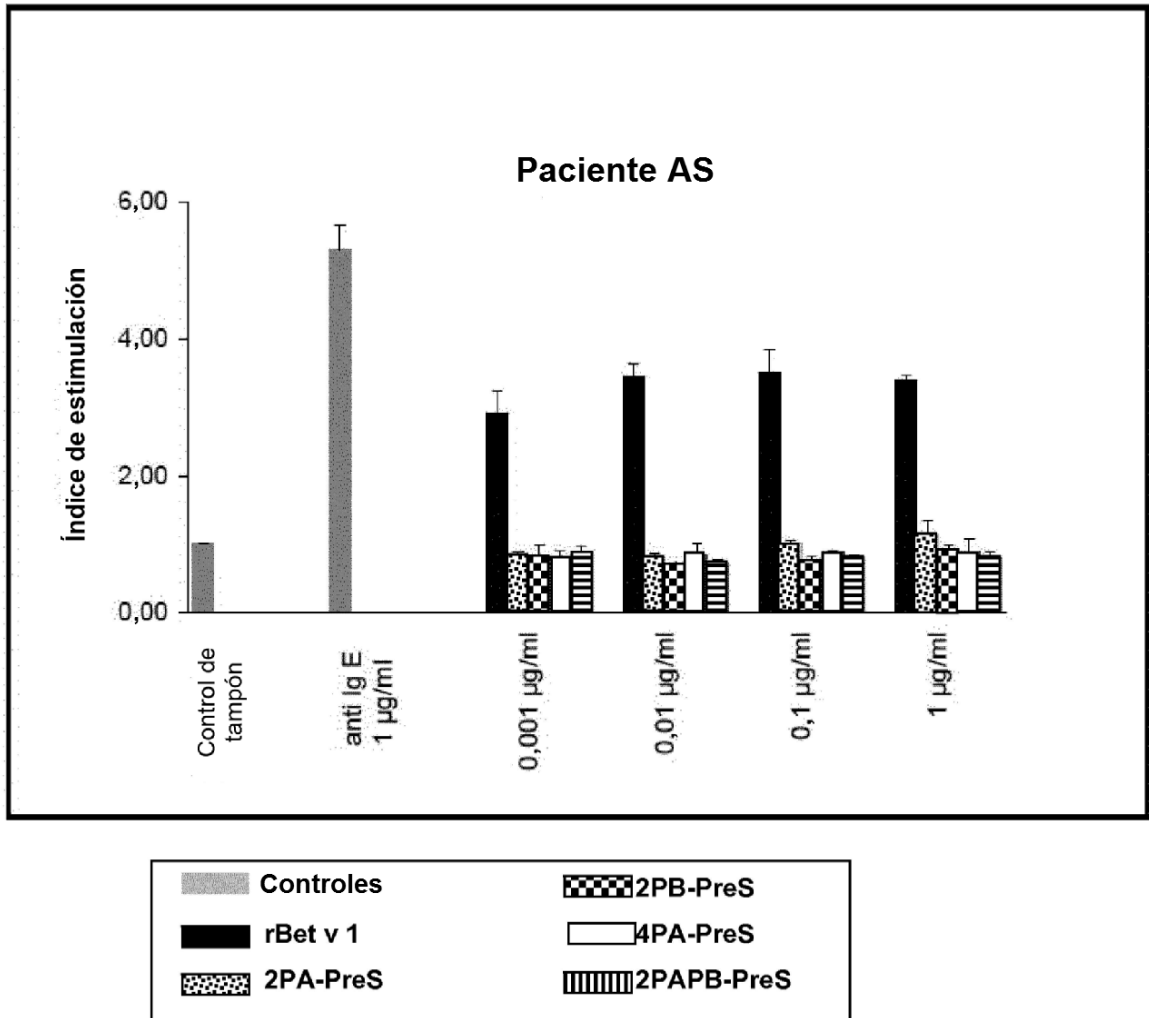


FIG 9B

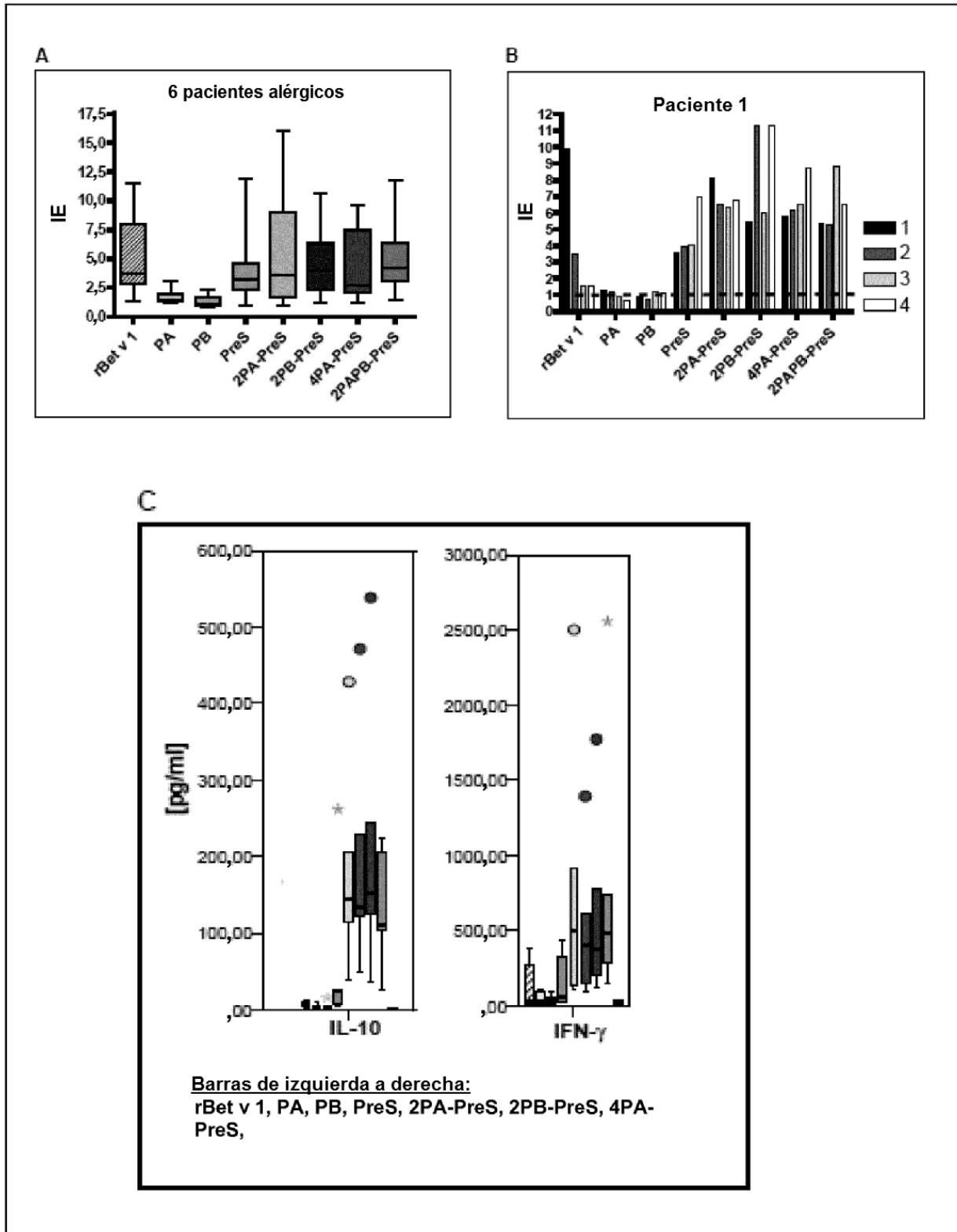


FIG 10

A

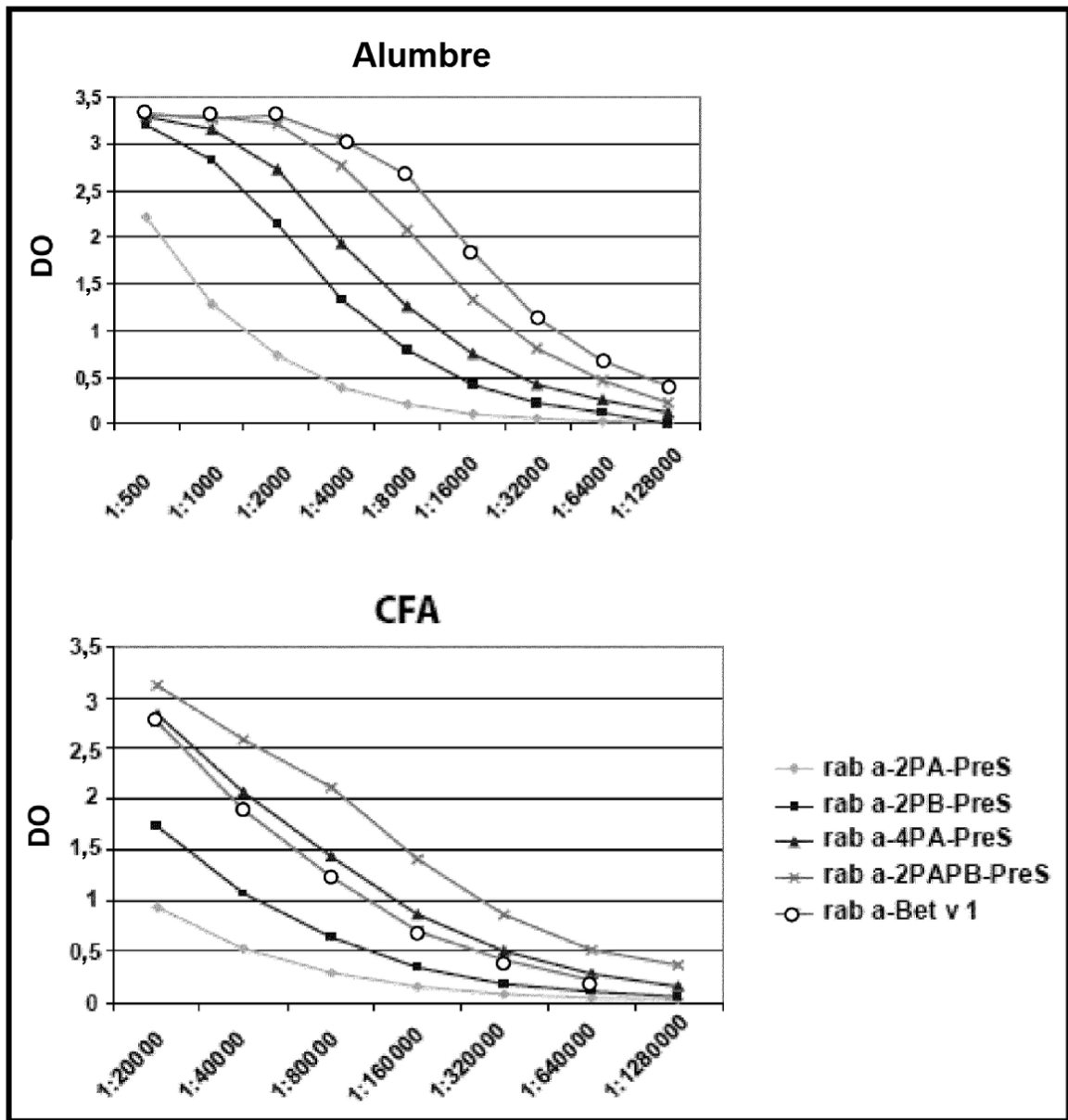


FIG 11A

	* 20 *	* 40 *	* 60 *	* 80 *	* 100 *
	PA			PB	
Bev l:	MEVENVETTSVIPAALEKAFILDGM	LFKVAPOAISSVENIEGNGGPGTIKISE	PEGEFFKXVKDRVDE	CHTNFKYNYSVIEGGPIGDTLEKISNEIKI	WATPDGG : 112
Aln g l:A.P.....L.....E.....RV.....S.....A.A.....C.....A..... : 112
Cor a l:V.P.....S.....F.I.....N.....S.SR.....E.....N.T.S.....DV.....K.....CH.....A.G..... : 112
Mal d l:T.N.F.E.PS.....A.I.....KQA.I.....I.....EAS.S.S.....DA.T.....Y.T.....CGS.S : 112
Bev l:	120 * 140 * 160				
Aln g l:	SILKISKYHKGDHEVKAQVAKENGETLLRAVESYLLAHSDAYN	: 160			
Cor a l:N.....IE.KAVG.....	: 160			
Mal d l:S.A.....N.....GA.A.K.....AE.....	: 160			
	..KS.-H.....I...E.H.VG.KAHG.F.L.....KD.P....	: 159			
		82% de identidad			
		73% de identidad			
		57% de identidad			

Fig. 11B

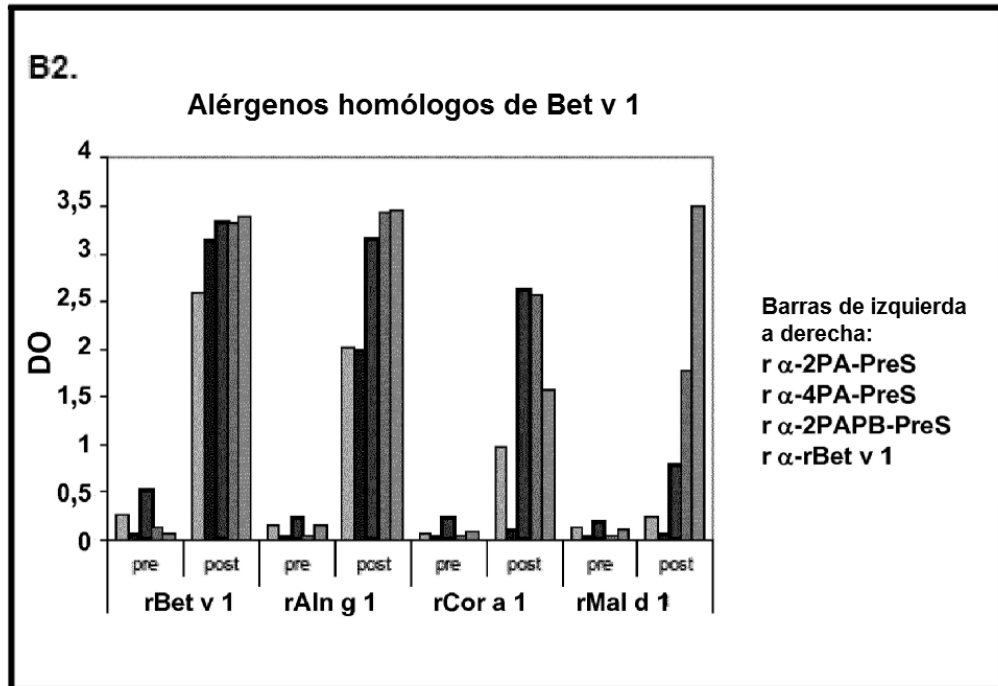


Fig 11B continuación

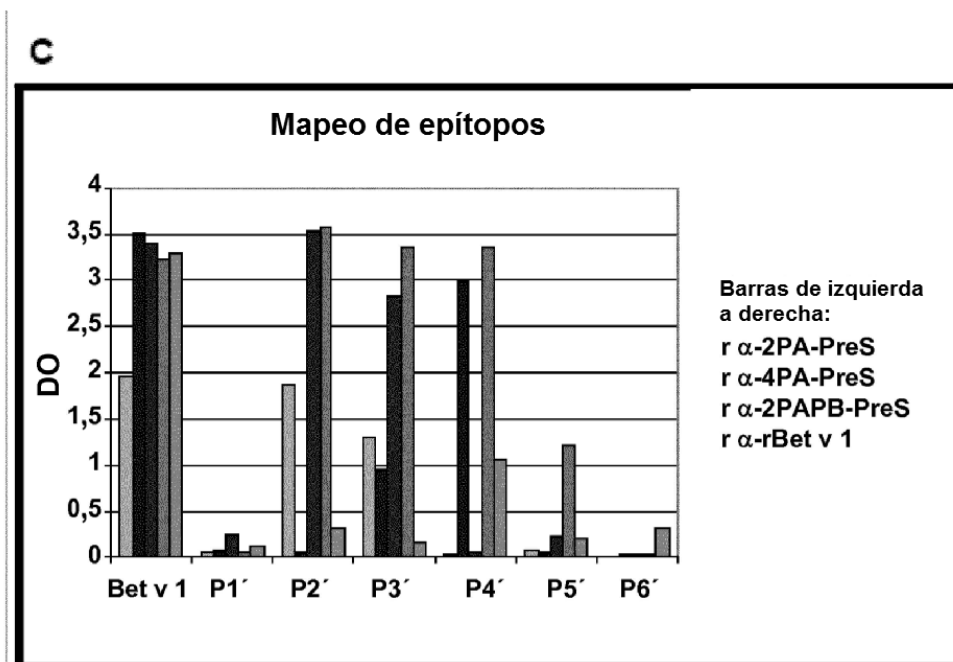


Fig.11C

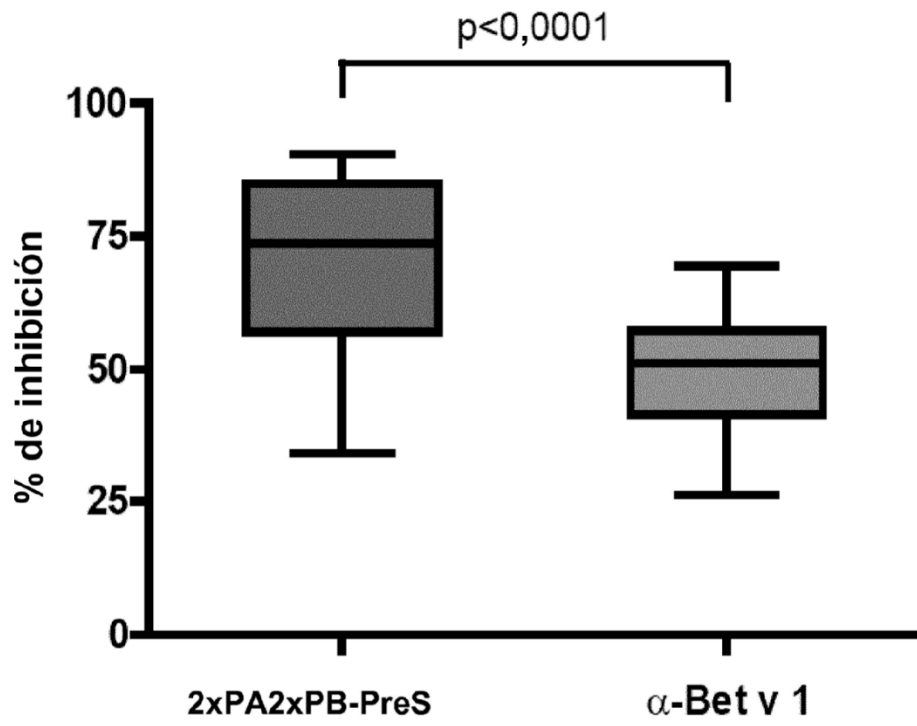


FIG 12

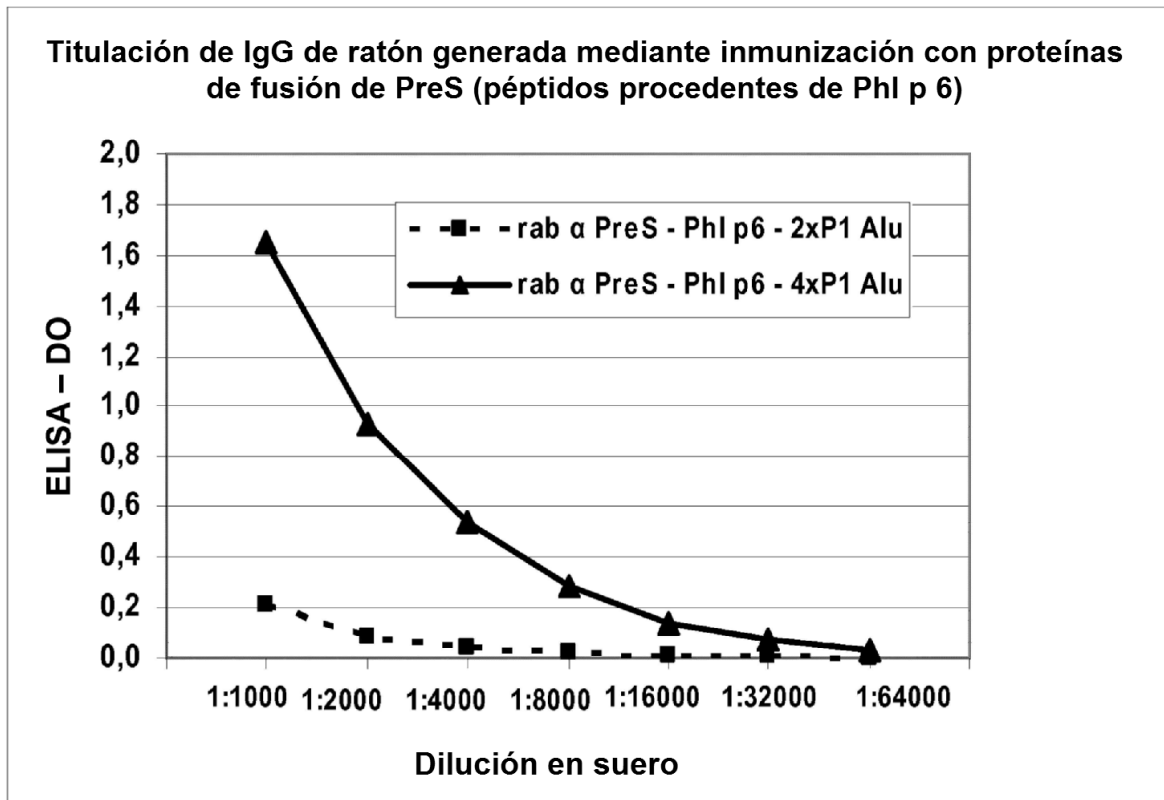


Fig. 13

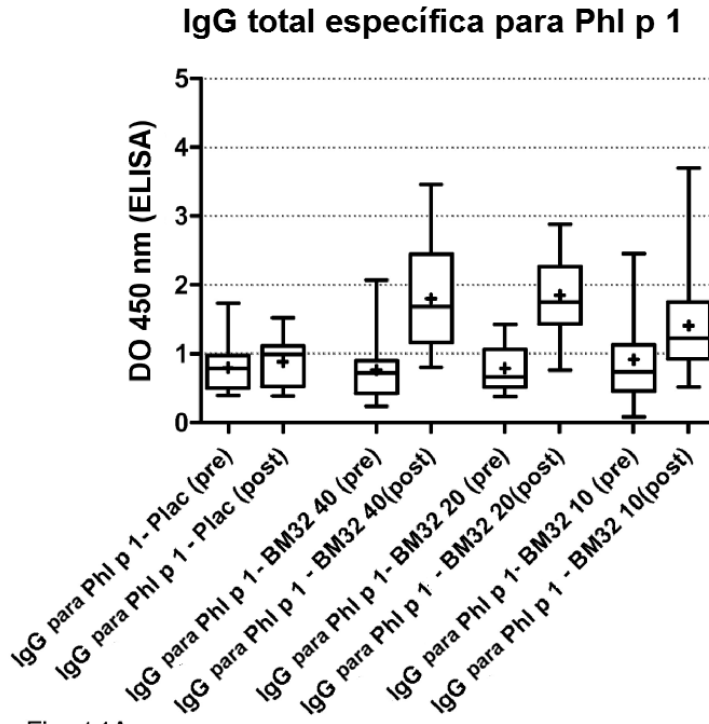


Fig. 14A

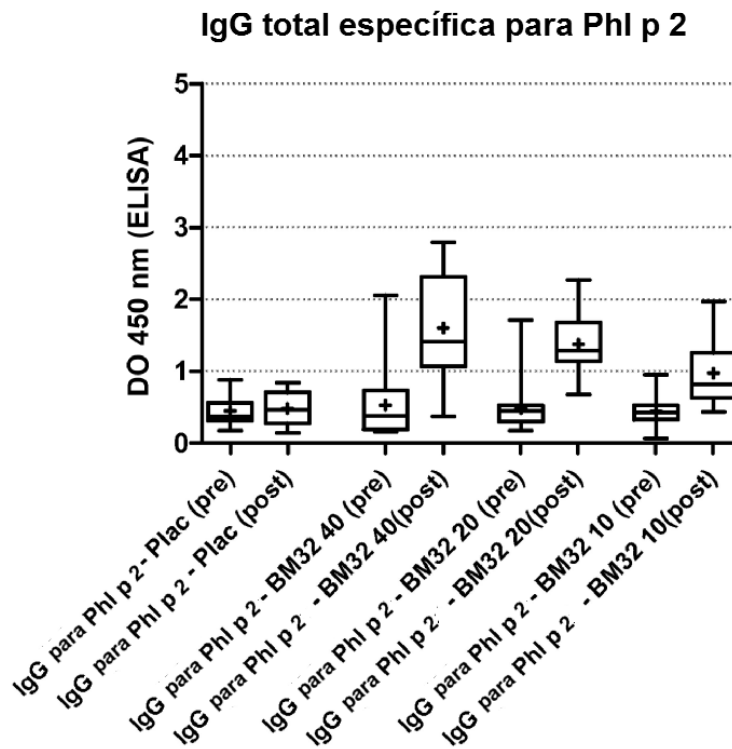


Fig. 14B

IgG total específica para Phi p 5

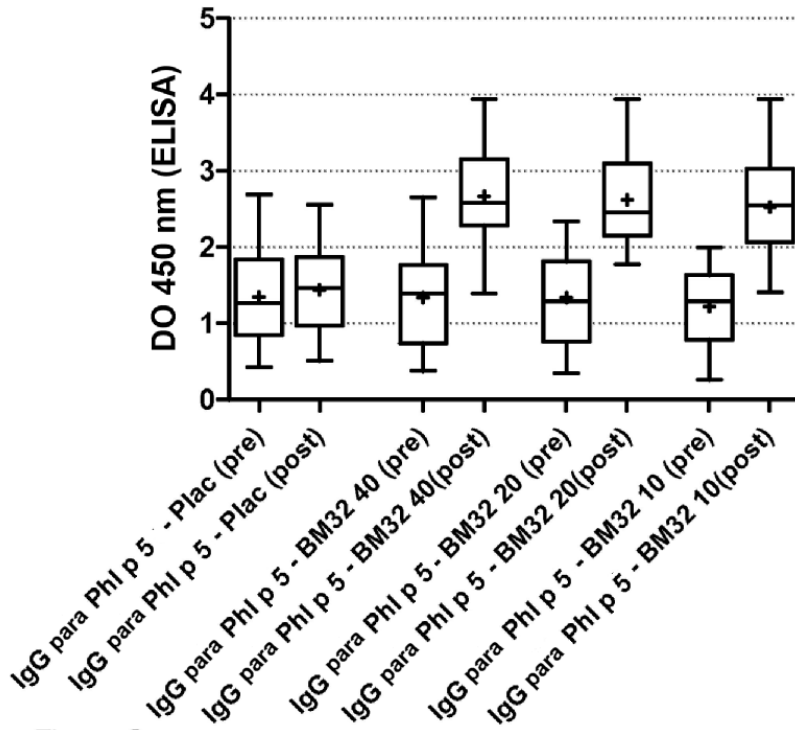


Fig. 14C

IgG total específica para Phi p 6

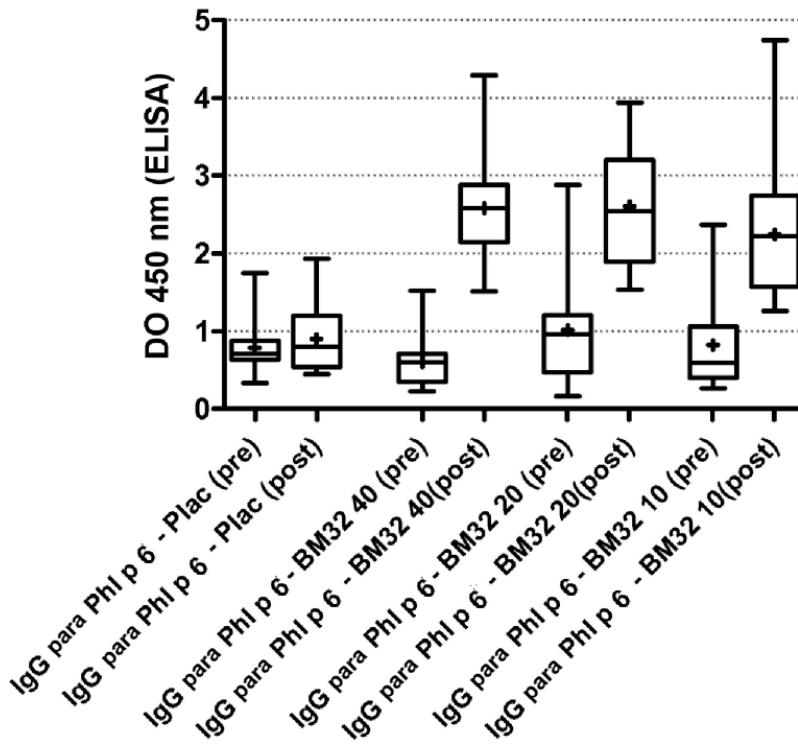


Fig. 14D

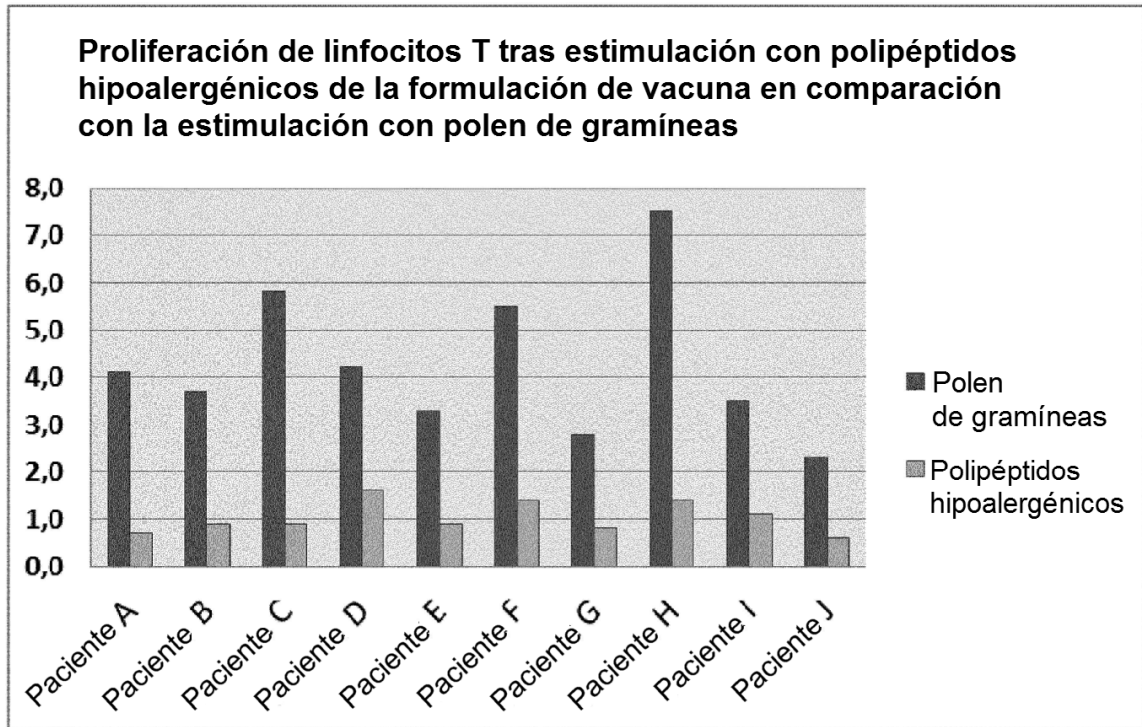


Fig. 15

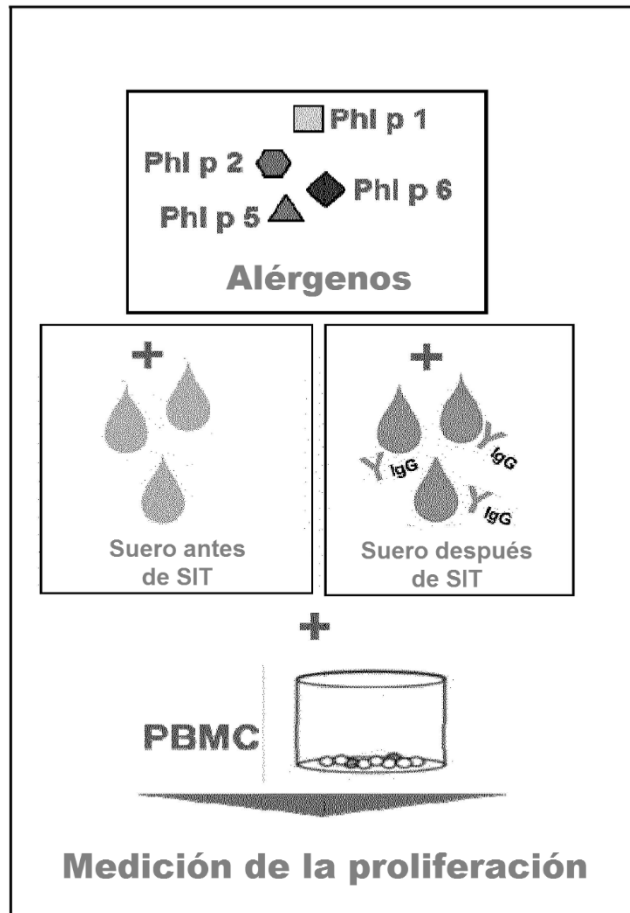


Fig. 16A

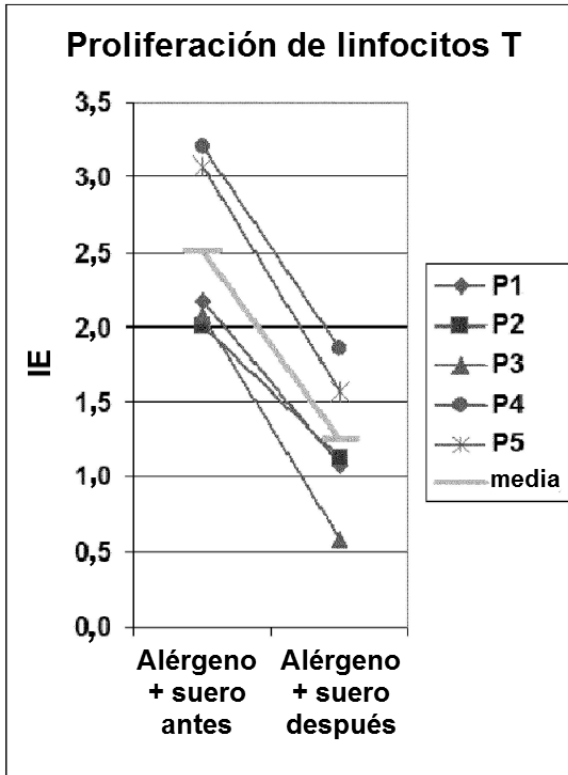


Fig. 16B

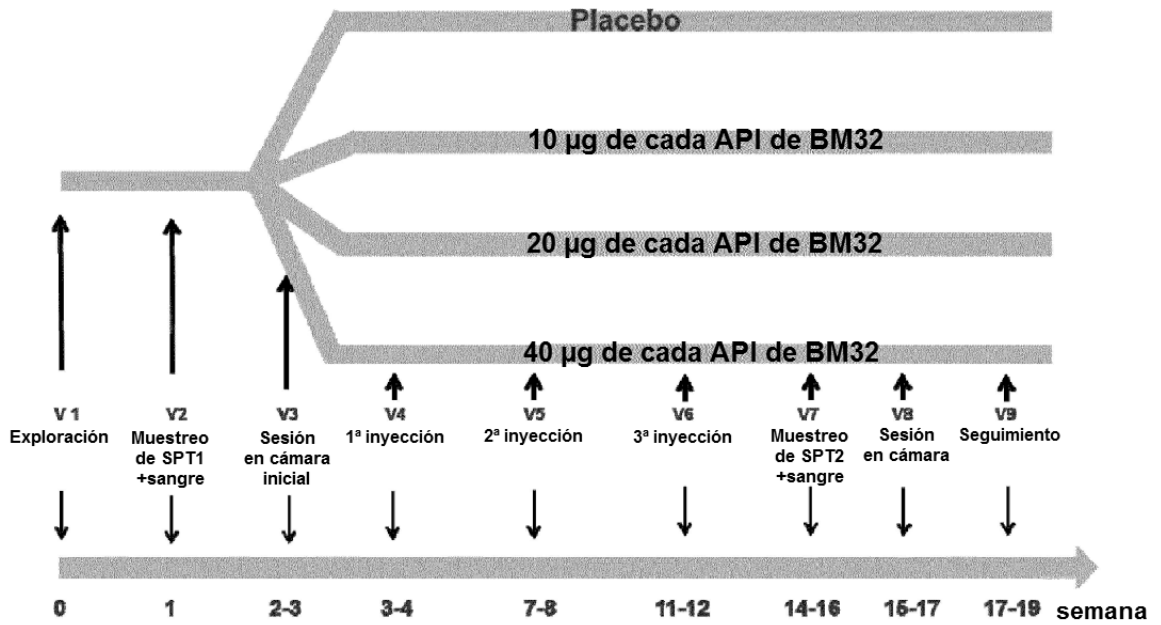


Fig. 17

HBV Der p2-2xP2-2xP4

HGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKGG
WSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAANQVGVGAFGP
GLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAF
HQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIAHISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNACHYM
KCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPK
IAPKSEN

Fig. 18A

HBV Der p2-3xP2-3xP4

HGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHGSEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKHG
SEPCI IHRGKPFQLEAVFEANQNSKTAKGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFG
ANSNNPDWDFNPIKDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPAST
NRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIA
HISSISARTGDPVTNEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDV
GIDPNACHYMKCPLVKGQQYDIKYTWIVPKIAPKSENEVDVPGIDPNACHYMKCPLVKGQQY
DIKYTWIVPKIAPKSEN

Fig. 18B

HBV Der p23-2xP4-2xP5

GYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTGYFADPKDPHKFYICSNWEAVHKDCPGNTGGWS
SKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAANQVGVGAFGPGL
TPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQ
ALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIAHISSISARTGDPVTNKFYICSNWEAVHKDCPG
NTRWNEDEETCTKFYICSNWEAVHKDCPGNTRWNEDEETCT

Fig. 18C

HBV Der p23-4xP6

GYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHK
DSPGNTRWNEDEETSTGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPI
KDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPIS
PPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIAHISSISARTGDP
VTNGYFADPKDPHKFYISSNWEAVHKDSPGNTRWNEDEETSTGYFADPKDPHKFYISSNWEA
VHKDSPGNTRWNEDEETST

Fig. 18D

Media de puntuación de síntomas nasales
totales (PSNT)

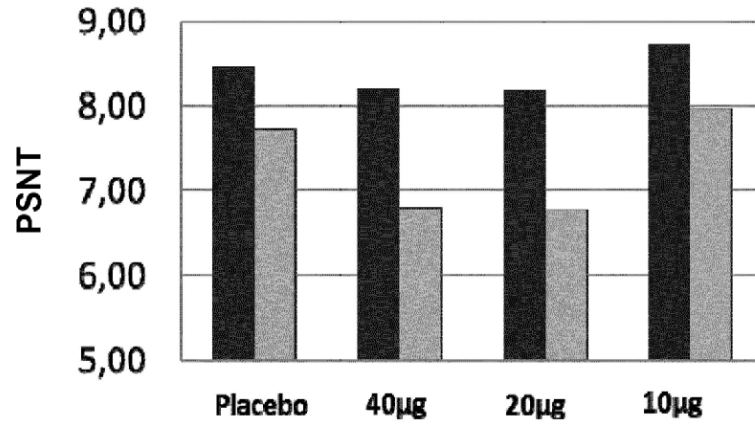


Fig. 19A

SPT: cambio en el área media
de la roncha

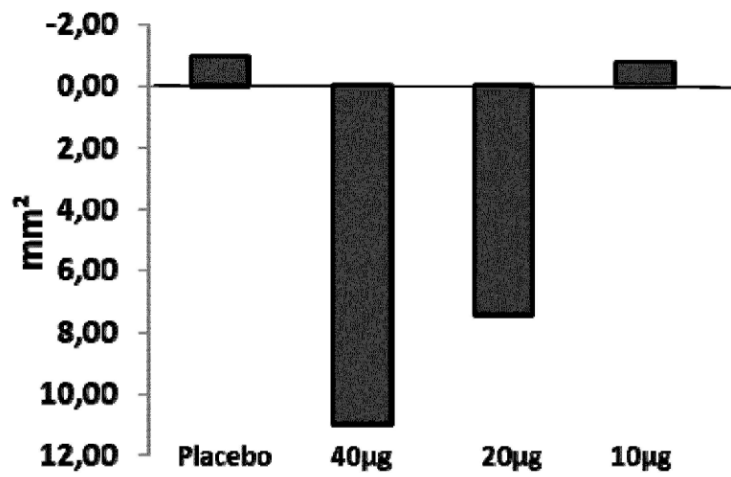
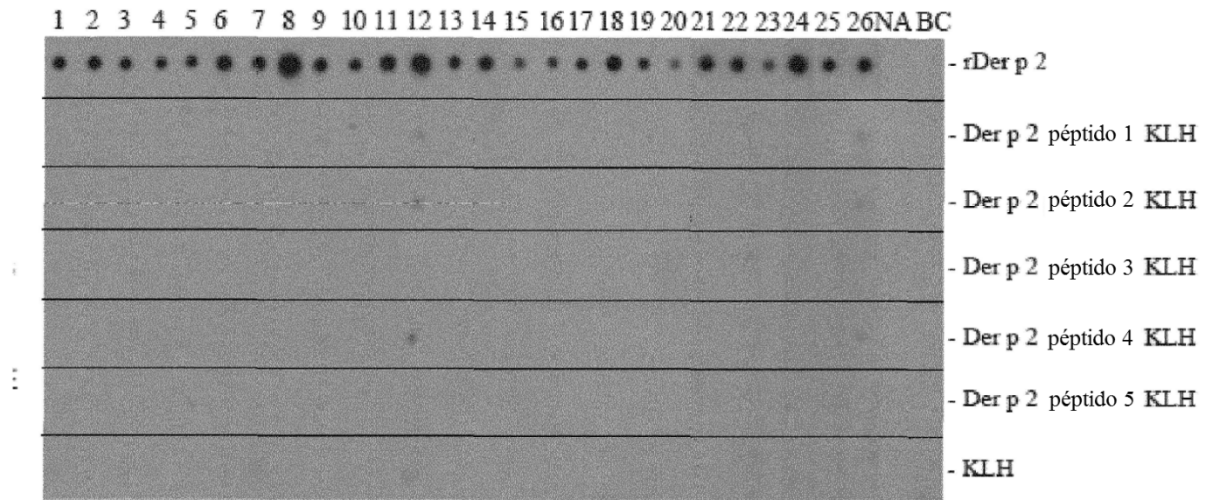


Fig. 19B



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