

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 748 381**

51 Int. Cl.:

A61K 39/12 (2006.01)

C07K 14/235 (2006.01)

C07K 14/025 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.01.2012 PCT/EP2012/051027**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.08.2012 WO12101112**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2012 E 12701110 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2019 EP 2667890**

54 Título: **Polipéptido(s) llevado(s) por CYAA y uso para inducir respuestas inmunitarias terapéuticas y profilácticas**

30 Prioridad:

24.01.2011 EP 11305069

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

16.03.2020

73 Titular/es:

**GENTICEL (100.0%)
Rue Pierre et Marie Curie, Prologue Biotech, BP
28262
31670 Labège, FR**

72 Inventor/es:

**ESQUERRÉ, MICHAEL;
MOMOT, MARIE;
GOUBIER, ANNE y
MISSERI, YOLANDE**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

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

ES 2 748 381 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

Polipéptido(s) llevado(s) por CYAA y uso para inducir respuestas inmunitarias terapéuticas y profilácticas

5 Campo de la invención

La invención está dirigida a medios, basados en polipéptidos llevados por CyaA, para su uso en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) que es (a) consecutiva a la infección por una primera cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o (b) relacionada(s) con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3 diagnosticado en un hospedador mamífero en donde dicho tratamiento se realiza suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y en donde (a) los epítomos de dicho primer grupo provienen del antígeno E6 o E7 de una cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o respectivamente en (b) los epítomos de dicho primer grupo son de un antígeno tumoral MAGE-A3 y en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en donde cuando dicha primera afección patológica es consecutiva a la infección por VPH como en (a), dicha segunda afección patológica es consecutiva a la infección por una segunda cepa de VPH diferente de la primera y dicha cepa de VPH diferente se selecciona entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o en donde dicha segunda afección determinada está relacionada con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3, en donde dicha segunda afección determinada está en el mismo hospedador mamífero y se suscita una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y en donde en dicho segundo grupo los epítomos provienen de un antígeno del segundo VPH seleccionado entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58, o respectivamente de un antígeno tumoral MAGE-A3, obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s) y en donde la secuencia de aminoácidos de dicho primer grupo de epítomos es diferente de la secuencia de aminoácidos de dicho segundo grupo de epítomos. En una realización particular, la invención está dirigida a dichos medios, basados en polipéptidos llevados por CyaA, para su uso (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero, suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en el mismo hospedador mamífero, suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y (iii) en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s), suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s).

40 Antecedentes de la invención

Una de las toxinas clave producidas por *Bordetella pertussis*, el patógeno responsable de la tos ferina, es su adenilato ciclasa (CyaA). Se demostró mediante un modelo murino que la bacteria requiere CyaA durante la fase temprana de la colonización pulmonar (Goodwin y Weiss 1990). CyaA exhibe un mecanismo único de invasión de células eucariotas al entregar de manera dedicada su dominio catalítico en el citosol celular (Simsova, Sebo et al. 2004). La CyaA desintoxicada y recombinante utilizada como vector de vacuna muestra la capacidad exquisita de dirigirse a las células presentadoras de antígeno (CPA) que expresan CD11b/CD18, como por ejemplo células dendríticas o células de Langerhans (Guermonprez et al. 2001). Estas CPA residentes son células innatas clave en el inicio de respuestas de linfocitos T específicos de antígeno siguiendo enfoques de inmunización intradérmica (Merad, Ginhoux et al. 2008). Después de la unión específica a CD11b + CPA, CyaA que lleva un antígeno vírico o tumoral puede entregar su carga antigénica de una manera dedicada (Preville, Ladant et al. 2005). Basándose en esta tecnología única, el solicitante ha desarrollado una vacuna bivalente en etapa clínica para curar pacientes infectados con VPH: ProCervix. ProCervix es una vacuna terapéutica bivalente preparada con una mezcla de dos vacunas de CyaA diferentes: una que incorpora la proteína E7 de VPH16 y la otra que lleva la proteína E7 de VPH18.

Las proteínas recombinantes que se construyen mediante la inserción de uno o más epítomos portadores de polipéptidos de antígenos de VPH en sitios permisivos de la proteína CyaA y su uso en composiciones farmacéuticas para el tratamiento o profilaxis de la infección por oncovirus se describen en el documento EP 1 576 967.

De hecho, las infecciones por el virus del papiloma humano (VPH) son generalmente duraderas y una respuesta inmunitaria comprometida del hospedador puede conducir al desarrollo de cáncer cervical, especialmente con VPH de alto riesgo como el VPH18 y el VPH16. Las oncoproteínas E7 del VPH se expresan a lo largo del ciclo replicativo del virus, convirtiéndolos así en objetivos elegidos para la inmunoterapia mediada por linfocitos T (Iwasaki 2010). Se ha demostrado que la inmunidad mediada por células B a las proteínas de la cápside viral es suficiente para una protección profiláctica contra la infección por VPH (Stanley 2010). Sin embargo, las inmunidades innatas y mediadas

por linfocitos T son críticas para curar a los pacientes que ya están infectados por el virus (Frazer 2009). Además, las vacunas profilácticas contra el VPH disponibles no son eficaces para tratar pacientes ya infectados con VPH y para curar la enfermedad, resaltando así la importancia de desarrollar vacunas terapéuticas que generen respuestas de linfocitos T específicos de antígeno contra antígenos de VPH (Trimble y Frazer 2009).

Las vacunas profilácticas se basan en el desarrollo de una inmunidad mediada por linfocitos B. Por el contrario, las vacunas terapéuticas tienen como objetivo desarrollar respuestas de los linfocitos T a CD4⁺ y CD8⁺ proinflamatorias fuertes y robustas para un tratamiento eficaz de la infección crónica (virus, bacterias, etc.) o de cáncer (Bachmann y Jennings 2010). Muchos estudios han descrito tanto en modelos de ratones como en pacientes humanos que la inducción de una inmunidad de linfocitos T específicos de antígeno puede correlacionarse con una protección contra las células enfermas, ya sea células infectadas o células tumorales (Pulendran, Li et al. 2010; Sallusto, Lanzavecchia et al. 2010). Midiendo los aspectos cualitativos y cuantitativos de la vacunación postterapéutica inducida por respuesta de linfocitos T a CD8⁺ en ratones portadores de tumores, es posible predecir el resultado terapéutico, es decir, la progresión o la regresión del tumor en animales individuales (Rosato, Zoso et al. 2006). Después de una vacunación terapéutica exitosa que conduce a una eliminación completa de las células enfermas, un aspecto clave de esta inmunoterapia sería su potencial para generar linfocitos T de memoria a largo plazo con el fin de proteger al paciente contra la infección secundaria por patógenos. Los linfocitos T de memoria se pueden clasificar en dos subconjuntos celulares principales: T_{ME} (Memoria efectora) y T_{MC} (Memoria central). T_{ME} son los primeros linfocitos T de memoria que se generan después de la fase de contracción clonal de la respuesta inmunitaria que se ajusta a la eliminación del patógeno. T_{ME} son CD62L⁻ CCR7⁻ y preferentemente residen en tejidos periféricos, como la piel, intestino y pulmones, donde proporcionan una primera línea de defensa para el hospedador (Woodland y Kohlmeier 2009). Con el paso del tiempo, T_{ME} se diferencia progresivamente hacia un fenotipo de T_{MC}: CD62L⁺ CCR7⁺. Estos linfocitos T se localizan preferentemente en órganos linfoides secundarios (Kaech, Hemby et al. 2002; Ahmed, Bevan et al. 2009). Sin embargo, ambos T_{ME} y T_{MC} se encuentran en la circulación. Un aspecto crítico de la eficacia de la respuesta de memoria de CD8 es la velocidad a la que los linfocitos T CD8⁺ de memoria adquieren potencial lítico y, por lo tanto, eliminan las células infectadas tras una nueva infección por el mismo patógeno para evitar la propagación de la infección y, a su vez, el desarrollo de la enfermedad asociada. Se ha demostrado que los ratones, que han sido capaces de eliminar la infección aguda por el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) a través del desarrollo de las respuestas de linfocitos T CD8⁺ específicos de antígeno, también desarrolló linfocitos T CD8⁺ de memoria que pueden eliminar rápidamente las células infectadas (Barber et al., 2003).

Basándose en este conocimiento, los inventores han ampliado el enfoque de la vacunación terapéutica que implica la respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T para idear un nuevo concepto de tratamiento terapéutico y profiláctico de afección(es) patológica(s) mediante la combinación de la administración de ingredientes activos en una composición inmunogénica multivalente diseñada que involucra epítopos vectorizados.

En particular, los inventores diseñaron vacunas terapéuticas multivalentes adecuadas para inducir, en un solo paciente, un tratamiento inmunoterapéutico contra una patología diagnosticada mientras se monta una respuesta profiláctica robusta contra antígenos o epítopos que no están relacionados con dicha patología tratada, y opcionalmente, se monta una respuesta protectora y preventiva contra la reaparición de dicha patología tratada.

De hecho, el uso de enfoques terapéuticos multivalentes basados en CyaA destaca el potencial de los polipéptidos llevados por CyaA para tratar y posiblemente erradicar una infección determinada o un cáncer a la vez que proporciona en el mismo paciente una fuerte respuesta inmunitaria, preferiblemente una respuesta de memoria de linfocitos T protectora, contra epítopos dirigidos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) contra los cuales se busca una protección profiláctica, y opcionalmente, una respuesta protectora y preventiva contra la reaparición de dicha infección o cáncer determinados.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Secuencia de proteína de la adenilato ciclasa (CyaA) de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. bronquiseptica* (SEQ ID NO: 1 a 3), y secuencia de nucleótidos de CyaA de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. Bronquiseptica* (SEQ ID NO: 4 a 6).

Figura 2. Alineamiento de proteínas de las proteínas CyaA de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. Bronchiseptica*.

Figura 3. Mapa esquemático de pkTRACE5 en el que se indican sitios de restricción relevantes y secuencias insertadas para CyaA-VPH16E7_{D30-42} (A) y para CyaA-VPH18E7_{D32-42} (B).

Figura 4. (A) Mapa esquemático de pTRACE5 en el que se indican sitios de restricción relevantes y secuencias insertadas para CyaA-CysOVA; (B) Mapa esquemático de pkTRACE5 en el que se indican sitios de restricción relevantes y secuencias insertadas para CyaA-MAGEA3_{97-178/190-295}. *MAGE-A3₁₉₀₋₂₉₅ representa los restos 190 a 221 fusionados a los restos 242 a 295 de MAGE A3. Los números 97, 178, 190, 221, 242 y 295 indican la posición de los restos de aminoácidos de toda la secuencia de MAGE-A3; (C) Secuencia de proteína del vector CyaA-MAGEA3 (SEQ ID NO: 7). La secuencia de MAGEA3 está subrayada. Los sitios de restricción están en negrita: NheI (AS), KpnI (GT), AgeI (TG) y SpeI (TS).

Figura 5. La vacunación terapéutica con ProCervix adyuvado en el día 11 erradica los tumores inducidos por TC-1 sólidos establecidos. Al final de la monitorización: el grupo de ratones vacunados con PBS + Aldara™ muestra 3/10 ratones bajo regresión tumoral (A), El grupo de ratones vacunados con ProCervix 8 µg solo muestra 0/10 ratones bajo regresión tumoral (B). Los ratones vacunados con ProCervix adyuvado con Aldara™ (Imiquimod tópico) (C) o Poly-ICLC (D) muestran 7/10 ratones bajo regresión tumoral.

Figura 6. La vacunación terapéutica con ProCervix adyuvado induce una alta tasa de supervivencia y un alto porcentaje de ratones sin tumores en el día 50. En el día 50, los ratones vacunados con ProCervix + Aldara™ o ProCervix + Poly-ICLC no muestran tumor (A). Con respecto a la tasa de supervivencia en el día 50: el 100 % y el 70 % de los ratones que recibieron el día 11 respectivamente ProCervix + Aldara™ y ProCervix + Poly-ICLC están vivos (B).

Figura 7. Sesenta días después de la vacunación terapéutica por ProCervix adyuvado, los ratones sin tumor exhiben linfocitos T CD8⁺ de memoria específicos de VPH16 E7₄₉₋₅₇ funcional y VPH18 E7_{AS43-49}. En el día 60, se inyectaron iv ratones sin tumor en los diferentes grupos con células diana impulsadas por CFSE^{hi} VPH16_{E749-57}, células diana no impulsadas por CFSEⁱⁿ y células diana impulsadas por CFSE^{lo} VPH18E7_{AS43-49} en una relación 1:1:1. Después de una noche, los ratones fueron sacrificados, se recogieron los bazo y la citotoxicidad específica de antígeno *in vivo* se midió mediante análisis FACS. Cada punto representa los resultados obtenidos de un ratón individual; los círculos abiertos representan el porcentaje de destrucción de las células diana impulsadas por VPH18 E7_{AS43-49} y los círculos negros representan el porcentaje de destrucción de células diana impulsadas por VPH16 E7₄₉₋₅₇. Las barras representan el valor medio para un grupo de ratones.

Figura 8. Esquema general de vacunación (D significa día); la tabla resume la naturaleza y el sitio de las inoculaciones y vacunas celulares (/: sin inoculación).

Figura 9. La vacunación terapéutica mediante las vacunas bivalentes CyaA adyuvadas con Aldara™ que incorporan el antígeno VPH16 E7 conduce a la eliminación del tumor sólido inducido por TC-1. El volumen de las células tumorales TC1 (mm³) fue seguido desde el día 0 (D₀) hasta el día 100 (D₁₀₀), en el flanco derecho de 10 ratones por grupo. Los ratones del grupo 1 fueron vacunados con placebo, los ratones del grupo 2 fueron vacunados con Placebo + Aldara™, los ratones del grupo 3 fueron vacunados con CyaA-MAGEA3_{97-178/190-295}/CyaA-VPH16 E7 adyuvado con Aldara™, los ratones del grupo 4 fueron vacunados con CyaA-cysOVA/CyaA-VPH16 E7 adyuvado con Aldara™, y los ratones de los grupos 5 y 6 fueron vacunados con ProCervix adyuvado con Aldara™. El número a la derecha de cada gráfico corresponde al número asignado a cada ratón de cada grupo.

Figura 10. Los ratones que se han curado de un tumor inducido por TC1 con vacunación bivalente basada en CyaA están protegidos contra otra exposición tumoral no relacionada de una manera específica de antígeno. El volumen de las células tumorales B16 MAGE A3 (a y c) o de las células tumorales EG7-OVA (b y d) se siguió desde el día 60 (D₆₀) hasta el día 100 (D₁₀₀), en el flanco izquierdo de los ratones que han sobrevivido, en el día 60, a la exposición de TC1. El número a la derecha de cada gráfico corresponde al número previamente asignado a cada ratón en la exposición de TC1 (Figura 9).

Descripción detallada

La invención está dirigida a medios para su uso (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) que es (a) consecutiva a la infección por una primera cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o (b) relacionada(s) con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3 diagnosticado en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en donde cuando dicha primera afección patológica es consecutiva a la infección por VPH como en (a), dicha segunda afección patológica es consecutiva a la infección por una segunda cepa de VPH diferente de la primera y dicha cepa de VPH diferente se selecciona entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o en donde dicha segunda afección determinada está relacionada con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3, en donde dicha segunda afección determinada se encuentra en el mismo hospedador mamífero, y (iii) opcionalmente en la prevención de la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s). La respuesta inmunitaria se obtiene (i) suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en el (los) polipéptido(s) y en donde en (a) los epítomos de dicho primer grupo provienen del antígeno E6 o E7 de una cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o respectivamente en (b) los epítomos de dicho primer grupo provienen de un antígeno tumoral MAGE-A3 diseñado como principio(s) activo(s) para tratar dicha(s) afección(es) patológica(s) diagnosticada(s) y (ii) suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en el (los) polipéptido(s) y en donde en dicho segundo grupo los epítomos provienen de un antígeno del segundo VPH seleccionado entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58, o respectivamente de un antígeno tumoral MAGE-A3, diseñado como principio(s) activo(s) para prevenir la aparición o el desarrollo de dicha(s) segunda(s) afección(es) determinada(s) y (iii) opcionalmente suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos para prevenir la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s), obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s)

afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s) y en donde la secuencia de aminoácidos de dicho primer grupo de epítomos es diferente de la secuencia de aminoácidos de dicho segundo grupo de epítomos. Estos medios incluyen:

- 5 (1) como principios activos, polipéptido(s) llevado(s) por un vector, en donde dicho vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuado para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero;
- 10 (2) una composición que comprende o que contiene dichos principios activos que incluyen una composición que comprende el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector como se define en (1) en combinación con un excipiente o formulación farmacéuticamente aceptable; y
- 15 (3) una composición que comprende un(os) primer(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector que contiene(n) dicho primer grupo de epítomos y un(os) segundo(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector separado(s) que contiene(n) dicho segundo grupo de epítomos.

Por lo tanto, en una primera realización, la invención se refiere a polipéptido(s) llevado(s) por un vector, en donde dicho vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuado para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, para su uso como se describe en las reivindicaciones (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) diagnosticada(s) en dicho hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en el mismo hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), y (iii) opcionalmente en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s).

La invención también proporciona una composición que comprende, en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, en donde dicho vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuado para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, para su uso como se describe en las reivindicaciones (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) diagnosticada(s) en dicho hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y (ii)) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en el mismo hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), y (iii) opcionalmente en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicha composición en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector de dicha composición administrada.

La invención también se refiere a una composición que comprende, opcionalmente en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable:

- (a) un(os) primer(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, en donde dicho primer vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuado para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, y en donde dicho primer grupo de epítomos está contenido en dicho(s) polipéptido(s) de dicho primer vector;
- (b) un(os) segundo(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector separado(s), en donde dicho segundo vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuado para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, y en donde dicho segundo grupo de epítomos está contenido en dicho(s) polipéptido(s) en dicho segundo vector; y
- (c) opcionalmente, uno o más polipéptido(s) llevado(s) por un vector adicional(es) distinto(s) de los de (a) y (b), para su uso como se divulga en las reivindicaciones en (i) el tratamiento inmunoterapéutico combinado contra patología asociada con dicho primer grupo de epítomos y (ii) el tratamiento de inmunoprofilaxis asociado con dicho segundo grupo de epítomos y (iii) opcionalmente la prevención contra la reaparición de dicha(s) primer(as) afección(es) patológica(s) determinada(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector de dicha composición administrada.

En una realización específica, dicha composición con (a), (b) y (c) es para su uso como se divulga en las reivindicaciones (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) diagnosticada(s) en dicho hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra el primer grupo de epítomos y (ii)) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en el mismo hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra el segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), y (iii) opcionalmente en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), dichas respuestas inmunitarias se obtienen después de la administración de dicha composición en dicho hospedador.

El término "CyaA" significa una adenilato ciclasa (o adenilciclasa) de una especie de *Bordetella*, en particular una CyaA de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* o *Bordetella bronchiseptica*. La proteína adenilato ciclasa de *Bordetella pertussis* es una toxina de 1706 restos (SEQ ID NO: 1), que comprende un dominio catalítico N-terminal de 400 restos de aminoácidos y una parte C-terminal de 1306 restos. La parte C-terminal es responsable de la unión de la toxina a la membrana de la célula diana y el posterior suministro del resto catalítico al citosol de la célula diana. La secuencia de CyaA de *Bordetella pertussis* se proporciona en la Figura 1. La proteína CyaA de B. *parapertussis* de B. *bronchiseptica* tiene 1740 aminoácidos, y su secuencia respectiva (SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 3) se divulga en la Figura 1.

La expresión "Fragmento de CyaA" significa una parte de la proteína CyaA, opcionalmente abarcando todo o parte de la parte C-terminal de la proteína CyaA de longitud completa, siempre que dicho fragmento sea capaz de presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, es decir, que sea capaz de conducir a la inducción de respuesta(s) inmunitaria(s) específica(s) contra epítomos contenidos en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o favorecer dicha respuesta. En particular, dicho fragmento de CyaA es capaz de unirse específicamente a las células que expresan CD11b y, opcionalmente, entregar dicho(s) polipéptido(s) al citosol de la célula. Dicho fragmento abarca una proteína CyaA que se ha truncado (deleción de los extremos N-terminal y/o C-terminal) o una proteína de longitud completa con deleción interna de resto(s) de aminoácidos. Por lo tanto, un fragmento particular de proteína CyaA según la invención consiste en los restos de aminoácidos 372 a 1706 de proteína CyaA de B. *pertussis* (truncamiento de los primeros 371 restos). Otro fragmento particular es la proteína CyaA de B. *pertussis* en donde se han eliminado los restos de aminoácidos 225 a 234, proporcionando así un fragmento de CyaA que consiste en los restos 1 a 224 y 235 a 1706 (deleción interna). El término "específicamente" significa dentro del contexto de la presente invención que la adenilato ciclasa o su fragmento, cuando se usa como molécula vector, se dirige preferentemente a células que expresan CD11b, ofreciendo así medios para dirigirse al(a los) polipéptido(s) en la superficie de dichas células o dentro de dichas células de manera selectiva con respecto a otras células (que no expresan CD11b).

El término "CyaA" también abarca una proteína CyaA o sus fragmentos que se modifican, preferiblemente por una o más sustitución(es) de aminoácidos, inserción interna de aminoácidos o deleción interna de aminoácidos, para dar lugar a un producto desintoxicado o no tóxico o un producto desprovisto de actividad enzimática (invasiva y citotóxica). Por lo tanto, dicha proteína CyaA (o sus fragmentos) no tiene actividad catalítica, pero la capacidad de presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, y opcionalmente la unión específica al receptor CD11b/CD18 y/o el proceso de translocación del dominio catalítico de la proteína CyaA original, no está(n) afectado(s). Un ejemplo de una proteína CyaA no tóxica bien conocida es una CyaA de *Bordetella pertussis* en la que el dipéptido Leu-Gln se ha insertado en fase entre los restos Asp188 e Ile189 (parte esencial del sitio catalítico). La ausencia de toxicidad o actividad enzimática de esta proteína CyaA (o sus fragmentos) se puede analizar como se describe en Ladant et al. (1992). La capacidad de la proteína CyaA (o sus fragmentos) para dirigirse a las células CD11b/CD18 se puede analizar especialmente de acuerdo con los métodos descritos en los documentos EP03291486 o WO02/22169. Además, la capacidad de la proteína CyaA (o sus fragmentos) para translocar el polipéptido antigénico en el citosol de la célula diana se puede analizar aplicando el método descrito en el documento WO02/22169.

En una realización particular adicional, el término "CyaA" también abarca, la proteína CyaA (o sus fragmentos) que ha sido modificada por modificaciones postraduccionales, por ejemplo, por palmitoilación postraducciona de al menos uno de sus restos, en particular los dos restos internos de lisina (lisinas 860 y 983). Esta(s) modificación(es) postraducciona(es) pueden obtenerse mediante la coexpresión de los genes *cyaA* y *cyaC*. Por lo tanto, la proteína CyaA o un fragmento de la misma, dentro del (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, puede ser una proteína CyaA o un fragmento de la misma que es el resultado de la coexpresión en una célula, especialmente en una célula recombinante, de los genes *cyaA* y *cyaC*.

El término "vector" o "molécula vector" utilizados en la presente solicitud abarca la proteína CyaA de longitud completa, o fragmentos de la misma, modificada o no, como se detalla en el presente documento.

Por "células que expresan CD11b", se hace referencia a las células que expresan el receptor CD11b/CD18 en su superficie (CD11b⁺). En particular, estas células son granulocitos/neutrófilos, macrófagos, linfocitos NK, subconjuntos de T CD8⁺, subconjuntos de linfocitos B, células de Langerhans, células dendríticas y células dendríticas mieloides.

La expresión "*polipéptido(s) llevado(s) por un vector*" significa que la proteína CyaA (o sus fragmentos) lleva al menos un polipéptido que es heterólogo con respecto a CyaA, en particular, que no es un fragmento de CyaA como se define en el presente documento, y especialmente no reacciona inmunológicamente de forma cruzada con CyaA. La expresión "*al menos uno*" significa un polipéptido o más, en particular, cualquiera de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 polipéptido(s), preferiblemente 1, 2 o 3 polipéptido(s).

El término "*lleva*" abarca diversas estructuras que asocian la proteína CyaA o un fragmento de la misma de acuerdo con la presente invención y el (los) polipéptido(s). Dichas estructuras pueden obtenerse como resultado de:

- acoplamiento químico de al menos un(os) polipéptido(s) de acuerdo con la invención a CyaA o sus fragmentos. Los métodos para acoplar químicamente un polipéptido a CyaA o sus fragmentos son bien conocidos en la técnica y comprenden, por ejemplo, enlace(s) de disulfuro, preferiblemente usando sulfhidrilo activado con N-piridilsulfonilo. Dado que la proteína CyaA nativa no tiene restos de cisteína en su secuencia primaria, se introduce genéticamente un resto de cisteína en la proteína CyaA, en particular, en su dominio catalítico, preferiblemente en un sitio permisivo como se define a continuación (tal como la posición 235) o en uno de los extremos de CyaA; y

- enlace genético o fusión genética de al menos un(os) polipéptido(s) a CyaA o sus fragmentos. El enlace o fusión genético incluye la inserción genética del ácido nucleico que codifica al menos uno o más polipéptidos según la invención en fase en el ácido nucleico que codifica la proteína CyaA o fragmento de la misma (es decir, sin cambio del marco de la proteína CyaA), preferiblemente en la región del dominio catalítico de la proteína CyaA, dando como resultado una proteína recombinante. Por lo tanto, el o los polipéptidos al menos se pueden insertar en cualquier sitio permisivo de la proteína CyaA (véase el documento WO 93/21324). Como se usa en el presente documento, el término "*sitio permisivo*" se refiere a un sitio donde el (los) polipéptido(s) puede(n) insertarse sin afectar sustancialmente a las propiedades funcionales deseadas de la adenilato ciclasa, es decir, sin afectar a la capacidad de la proteína CyaA para presentar dichos polipéptidos al sistema inmunitario del hospedador mamífero, en particular, sin afectar a la unión específica al receptor CD11b/CD18 y opcionalmente sin afectar al proceso de translocación del(de los) polipéptido(s) al citosol de la célula diana. Los sitios permisivos de la adenilato ciclasa de *Bordetella pertussis* incluyen, pero sin limitación, restos 107-108 (Gly-His), 132-133 (Met-Ala), 137-138 (Val-Ala), 224-225 (Arg-Ala), 228-229 (Glu-Ala), 232-233 (Gly-Leu), 235-236 (Arg-Glu), 317-318 (Ser-Ala) y 335-336 (Gly-Gln) (Sebo et al., 1985; Glaser et al., 1988). Para otras especies de *Bordetella*, los sitios permisivos correspondientes se pueden definir mediante la comparación de secuencias y la determinación de los restos correspondientes (Figura 2). De acuerdo con otra realización, el enlace genético también incluye la fusión del ácido nucleico que codifica al menos un(os) polipéptido(s) en uno y/u otros extremos de la proteína CyaA o sus fragmentos.

Cuando una proteína CyaA (o sus fragmentos) lleva más de un polipéptido, estos polipéptidos pueden ser llevados por acoplamiento químico, todos llevados por enlace genético (preferiblemente todos insertados genéticamente), o uno(s) de ellos es(son) llevado(s) por acoplamiento químico mientras que el (los) otro(s) es(son) llevado(s) por enlace genético. En una realización particular, cuando todos los polipéptidos se insertan genéticamente en CyaA, preferiblemente en sitios permisivos de CyaA, los polipéptidos se insertan en diferentes sitios, preferiblemente diferentes sitios permisivos. En otra realización, cuando todos los polipéptidos se insertan genéticamente en CyaA, preferiblemente en sitios permisivos de CyaA, los polipéptidos se insertan en el mismo sitio, preferiblemente en el mismo sitio permisivo.

El término "*polipéptido*" se refiere a una concatenación de aminoácidos, y tiene al menos 9 restos de aminoácidos y, en particular, tiene de 9 a 500 restos, de 9 a 200, de 9 a 100, de 9 a 50 restos, o de 30 o 50 a 500 o a 200 restos, o de 100 a 500 o de 100 a 200 restos de longitud. En la invención, el término "*polipéptido*" significa un polipéptido que es capaz, una vez llevado por la molécula vector, de inducir una respuesta inmunitaria, en particular, una respuesta inmunitaria de linfocitos T, contra el (los) epítipo(s) contenido(s) en este polipéptido. El (los) polipéptido(s) contenido(s) en la(s) molécula(s) vector pueden derivarse de un antígeno tumoral, es decir, un péptido expresado por tumor o células cancerosas, si el tumor es propio o inducido por un patógeno; el antígeno tumoral puede ser propio (en particular de origen humano) o del patógeno que induce el tumor.

El término "*antígeno tumoral*" abarca los siguientes grupos de antígenos tumorales, y el (los) polipéptido(s) contenido(s) en la(s) molécula(s) vector de la invención pueden elegirse en al menos uno de los siguientes grupos: (a) antígenos tumorales oncofetales, (b) antígenos tumorales oncovíricos, (c) antígenos tumorales sobreexpresados/acumulados, expresados en una amplia variedad de tejidos normales y sobreexpresados en tumores, (d) antígenos específicos de tumor compartidos o antígenos de cáncer testicular, expresados en muchos tumores pero no en tejidos normales (incluida la familia BAGE, familia GAGE, familia MAGE, familia SAGE y familia XAGE), (e) antígenos tumorales de linaje restringido, (f) antígenos tumorales mutados, resultantes de mutaciones puntuales en genes que se expresan de manera ubicua; y (g) antígenos tumorales de diferenciación, expresados en el tejido normal de origen de los tumores pero que no son específicos del tumor.

En un aspecto de la presente divulgación, cuando se usa más de un polipéptido en una molécula de un solo vector para provocar una respuesta inmunoterapéutica o una molécula de un solo vector para obtener una respuesta inmunoprolifáctica, todos los polipéptidos se derivan de antígenos tumorales.

En otro aspecto de la divulgación, el (los) polipéptido(s) contenido(s) en la(s) molécula(s) del vector también o alternativamente pueden derivarse de un antígeno de patógeno, es decir, un antígeno que es producido por el

patógeno en el hospedador mamífero infectado, y posiblemente procesado en las células de dicho hospedador mamífero infectado o un componente de dicho patógeno. Ejemplos de antígenos patógenos son un antígeno bacteriano, un antígeno vírico, un antígeno fúngico o un antígeno parásito. En estos ejemplos, como una realización particular, se pueden distinguir los patógenos implicados en la tumorigénesis (oncopatógenos) y los patógenos que no están implicados en la tumorigénesis. Ejemplos de patógenos son los patógenos intracelulares, en particular patógenos que inducen respuesta(s) inmunitaria(s) de linfocitos T en su hospedador. Por lo tanto, el (los) polipéptido(s) puede(n) derivarse de, pero sin limitación, *Chlamydia*, *Plasmodium*, *Leishmania*, *Mycobacterium tuberculosis*, HIV, VPH, VHB, VHC, adenovirus, VEB, herpesvirus, virus HTLV.1 y CMV. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) contenido(s) en la(s) molécula(s) vector puede(n) derivarse de una proteína de superficie del patógeno (como la proteína de envoltura del VIH) o derivarse de un polipéptido que interactúa con la maquinaria de la célula infectada (como E6 o E7 de VPH).

En una realización particular, cuando se usa más de una proteasa, en una sola molécula vector o en una combinación de vectores, todos los polipéptidos se derivan de antígenos de patógenos, posiblemente de distintos patógenos, géneros o especies.

De acuerdo con la divulgación, los polipéptidos contenidos en la(s) molécula(s) vector son todos derivados de antígenos bacterianos, son todos derivados de antígenos víricos, son todos derivados de antígenos fúngicos o son todos derivados de antígenos parásitos. En otra realización, los distintos polipéptidos contenidos en la(s) molécula(s) vector descrita(s) en el presente documento son derivados independientemente de un antígeno bacteriano, un antígeno vírico, un antígeno fúngico o un antígeno parásito. En otra realización, los polipéptidos, en una sola molécula vector o en una combinación de vectores, son derivados de un tumor y son derivados de un patógeno.

La expresión "*derivado de*", con respecto a un polipéptido llevado por una molécula vector, significa la proteína antigénica de longitud completa, o un fragmento de esta proteína antigénica, o un polipéptido sintético, no natural, lleva el (los) epítipo(s) que consiste(n) en varias partes de la proteína antigénica fusionada o un polipéptido sintético, no natural, que consiste en una o varias partes de varias proteínas fusionadas, siempre que el fragmento o el polipéptido sintético, no natural, es capaz de inducir, una vez llevado por la(s) molécula(s) vector, una respuesta inmunitaria, en particular, una respuesta inmunitaria de linfocitos T, contra un determinante antigénico contenido en este fragmento o polipéptido. De acuerdo con esta definición, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por la(s) molécula(s) vector es o comprende un epítipo único, o es o comprende un grupo de epítipos. La expresión "*grupo de epítipos*" abarca al menos un epítipo, es decir, un epítipo o más, en particular entre 10 y 500 epítipos, entre 50 y 200 epítipos y entre 80 y 150 epítipos. En una realización particular, la expresión "*grupo de epítipos*" significa 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 epítipos. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por la(s) molécula(s) vector es o comprende un polipéptido, es decir, un polipéptido con al menos dos epítipos, en particular al menos dos epítipos de linfocitos T. Los epítipos de la presente invención son, ya sea lineales o conformacionales, preferiblemente lineales, y son cualquier secuencia de aminoácidos implicada en la inducción de una respuesta inmunitaria mediada por células, especialmente una respuesta inmunitaria de linfocitos T. En consecuencia, los epítipos en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector descritos en el presente documento incluyen aquellos que son procesados por CpA (células presentadoras de antígeno) en un hospedador, especialmente los epítipos T reconocidos en asociación con las moléculas CMH (complejo mayor de histocompatibilidad) de clase I, tales como epítipos cuyas células diana son los linfocitos T CD8⁺ o epítipos T reconocidos en asociación con moléculas de CMH de clase II, como aquellos cuyas células diana son linfocitos T CD4⁺. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) también contienen epítipo(s) B implicado(s) en la respuesta humoral. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por la(s) molécula(s) vector consiste(n) o comprende(n) varios epítipos diferentes o varios idénticos.

De acuerdo con la invención, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector contienen al menos dos grupos diferentes de epítipos, es decir, un grupo de epítipos es capaz de provocar una respuesta inmunitaria de linfocitos T para permitir un tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero, mientras que el segundo grupo de epítipos puede provocar una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T para permitir la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en el mismo hospedador mamífero. En una realización particular, el primer grupo de epítipos es opcionalmente capaz de provocar, además de una respuesta de linfocitos T que proporciona tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero, una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítipos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) para permitir la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s).

De acuerdo con la invención, en ausencia de dicho segundo grupo de epítipos en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, no se observa la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s). Esto significa que el segundo grupo de epítipos como se define en este documento es necesario para obtener la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s).

En una realización particular, el segundo grupo de epítipos [en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector] es necesario y suficiente para obtener la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s); en esta realización, la contribución del único segundo grupo de epítipos, en la respuesta inmunitaria suscitada, es

suficiente para obtener la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s). En otras palabras, existe una relación causal entre la administración de dicho segundo grupo de epítomos y dicha respuesta profiláctica.

La divulgación también describe que, el segundo grupo de epítomos [en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector] es necesario para obtener la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s), pero no es suficiente o se beneficia de la contribución del primer grupo, lo que significa que la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) se obtiene después de una sinergia entre la respuesta inmunitaria suscitada contra el segundo grupo de epítomos y la respuesta inmunitaria suscitada contra el primer grupo de epítomos. En este último caso, la contribución de ambos grupos de epítomos es necesaria para obtener la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s).

La contribución necesaria del segundo grupo de epítomos en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) puede manifestarse comparando el efecto de la administración del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector de la invención en dicha(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) [el término profilaxis se define a continuación] en los dos siguientes grupos de mamíferos, en particular, en los siguientes dos grupos de ratones: (1) mamíferos administrados con polipéptido(s) llevado(s) por un vector de la invención que no tienen un segundo grupo de epítomos como se define en la solicitud y (2) mamíferos administrados con polipéptido(s) llevado(s) por un vector de la invención que tienen un segundo grupo de epítomos como se define en la solicitud.

Como se entiende por la expresión *"en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s)"*, se excluye que el primer grupo de epítomos como se define en el presente documento sea suficiente (es decir, solo) para obtener la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s).

Por lo tanto, la secuencia de aminoácidos del primer grupo de epítomos (o polipéptido(s) que consiste(n) en este primer grupo de epítomos) es diferente de la secuencia de aminoácidos del segundo grupo de epítomos (o polipéptido(s) que consisten en este segundo grupo de epítomos). El término *"diferente"* significa que ambas secuencias difieren en al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 %, calculado sobre la longitud completa de la secuencia de los polipéptidos (alineación global calculada, por ejemplo, por el algoritmo de Needleman y Wunsch). En una definición alternativa o en una realización particular de dichas *"diferentes secuencias"*, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90% de los epítomos del primer grupo tienen una secuencia que es diferente de la secuencia de los epítomos del segundo grupo. En una realización particular adicional, el primer y el segundo grupo de epítomos (o el (los) polipéptido(s) que consiste(n) en el primer grupo de epítomos y el (los) polipéptido(s) que consiste(n) en el segundo grupo de epítomos) no tienen una secuencia de epítomos en común. En una realización particular, la respuesta inmunitaria de linfocitos T obtenida contra el primer grupo de epítomos es eficaz contra la(s) afección(es) patológica(s) asociada(s) con dicho primer grupo de epítomos y no es eficaz o no específicamente eficaz contra una afección(es) patológica(s) asociada(s) con el segundo grupo de epítomos. Por lo tanto, en una realización particular, la respuesta inmunitaria de linfocitos T obtenida contra un grupo de epítomos es específica para este grupo, es decir, los linfocitos T involucrados en la respuesta inmunitaria contra este grupo de epítomos no reconoce el otro grupo de epítomos.

El (los) polipéptido(s) contiene(n) al menos un epítopo de cepas de VPH. Las cepas de VPH abarcan el género Alfa-papilomavirus, Beta-papilomavirus, Gamma-papilomavirus, Delta-papilomavirus, Epsilon-papilomavirus, Zeta-papilomavirus, Eta-papilomavirus, Theta-papilomavirus, Iota-papilomavirus, Kappa-papilomavirus, Lambda-papilomavirus, Mu-papilomavirus, Nu-papilomavirus, Xi-papilomavirus, Omikron-papilomavirus y Pi-papilomavirus. En particular, los virus del papiloma tienen un tropismo humano, como las cepas del género Alfa-papilomavirus, Beta-papilomavirus, Gamma-papilomavirus, Mu-papilomavirus o Nu-papilomavirus. El (los) polipéptido(s) más particular(es) contiene(n) al menos un epítopo de cepas de VPH del género Alfa-papilomavirus, especialmente la cepa de las especies de VPH 7 y 9 del género Alfa-papilomavirus (de Villiers et al. Virology 2004). Por lo tanto, en una realización de la presente invención, los polipéptidos contienen al menos un epítopo de especies de tipo altamente oncogénico de VPH seleccionadas entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58. Entre estas especies tipo, el VPH 18 y el VPH 16 son de particular interés. Los polipéptidos llevados por la(s) molécula(s) vector descrita(s) en el presente documento son de diferentes cepas de VPH o diferentes especies de tipo de VPH elegidas entre las descritas anteriormente. Según la invención, cualesquiera que sean las cepas de VPH o las especies de tipo VPH, los polipéptidos son derivados de las proteínas E6 o E7. En una realización particular, los polipéptidos llevados por la(s) molécula(s) descrita(s) en el presente documento son de la misma proteína de VPH pero de diferentes cepas de VPH o diferentes especies de tipo de VPH elegidas entre las descritas anteriormente. En una realización particular de la invención, la proteína E7 de VPH16 y la proteína E7 de VPH18 se usan para el diseño de polipéptidos. De acuerdo con una realización particular de la invención, una molécula vector lleva varios polipéptidos, preferiblemente por inserción genética, cada uno de ellos contiene o consiste en uno o varios epítomos de una o varias proteínas de VPH de al menos dos cepas de VPH distintas o dos especies de tipos de VPH distintos. Por lo tanto, una realización particular son polipéptidos llevados por un vector que consisten en una proteína CyaA o un fragmento de la misma que lleva un polipéptido o varios polipéptidos que abarcan epítomos derivados de la proteína E7 de las especies de tipo VPH, VPH16 y VPH18. En otra realización, la invención se refiere a una composición que comprende una primera

molécula vector que lleva un polipéptido o varios polipéptidos que abarcan epítomos derivados de la proteína E7 de VPH16 (los primeros polipéptidos llevados por un vector con un primer grupo de epítomos) y una molécula vector separada que lleva un polipéptido o varios polipéptidos que abarcan epítomos derivados de la proteína E7 de VPH18 (los polipéptidos llevados por un vector separados con un segundo grupo de epítomos). Cuando varios polipéptidos son llevados por una sola molécula vector, estos polipéptidos pueden consistir en diferentes fragmentos de la misma proteína, por ejemplo, de una proteína E7 o E6, que se insertan en diferentes sitios, en particular, sitios permisivos, de la molécula vector.

Por lo tanto, una composición utilizada dentro de la presente invención comprende un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector cuyo(s) polipéptido(s) se deriva(n) de la proteína E7 de VPH16 y un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, polipéptido(s) que se deriva(n) de la proteína E7 de VPH18. Un ejemplo de dicha composición comprende:

(a) una primera molécula vector que lleva un primer polipéptido que es un fragmento que comprende los restos 1 a 29 o un fragmento que consiste en los restos 1 a 29 de E7 de VPH16 y que lleva un segundo polipéptido que es un fragmento que comprende los restos 43 a 98 o un fragmento que consiste en los restos 43 a 98 de la proteína E7 de VPH16. En una realización preferida, el primer polipéptido son los primeros 29 restos de aminoácidos de VPH16-E7 y se inserta entre los codones 319 y 320 de CyaA, y el segundo polipéptido consta de los restos 43 a 98 de VPH16-E7 y se inserta entre los codones 224 y 235 de CyaA (ejemplificado en el vector pKTRACE5-VPH16E7_{Δ30-42}); y

(b) una molécula vector separada que lleva un primer polipéptido que es un fragmento que comprende los restos 1 a 31 de E7 de VPH18 o un fragmento que consiste en los restos 1 a 31 de E7 de VPH18, y un segundo polipéptido que es un fragmento que comprende los restos 43 a 105 de E7 de VPH18 o un fragmento que consiste en los restos 43 a 105 de E7 de VPH18. En una realización preferida, el primer polipéptido son los primeros 31 restos de aminoácidos de VPH18-E7 y se inserta entre los codones 319 y 320 de CyaA, y el segundo polipéptido consta de los restos 43 a 105 de VPH18-E7 y se inserta entre los codones 224 y 235 de CyaA (ejemplificado en el vector pKTRACE5-VPH18E7_{Δ32-42}).

En otra realización, el (los) polipéptido(s) contiene(n) al menos un epítomo derivado del antígeno tumoral MAGE A3, tal como un polipéptido que consiste en los restos 97 a 178 de MAGE A3 (SEQ ID NO: 8), o tal como un polipéptido que consiste en los restos 190 a 221 fusionados a los restos 242 a 295 de MAGE A3 (SEQ ID NO: 9). En una realización particular, un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector de la invención (o una composición que lo(s) contiene) consiste en una proteína CyaA, preferiblemente CyaA de *B. pertussis*, en la que dos polipéptidos derivados de MAGE A3 se han insertado en dos sitios diferentes. Tal(es) polipéptido(s) llevado(s) por un vector consiste en la CyaA de *B. pertussis*, en donde (1) se ha insertado un primer polipéptido que consiste en los restos 97 a 178 de MAGE A3 entre los codones 224 y 235 de CyaA y (2) se ha fusionado un segundo polipéptido que consiste en los restos 190 a 221 fusionados a los restos 242 a 295 de MAGE A3 insertado entre los codones 319 a 320 de CyaA. Un ejemplo particular de un vector CyaA-MAGE A3 se proporciona en la Figura 4C (SEQ ID NO: 7).

El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector tal como se define en el presente documento, como tal o en una composición, se usa(n) para obtener en un mismo hospedador mamífero, especialmente en un hospedador humano, (i) un tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en dicho hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en dicho (s) polipéptido(s) y (ii) la profilaxis contra una(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), y (iii) opcionalmente la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s), obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s). El (los) polipéptido(s), como se define en el presente documento, llevado(s) por la(s) molécula(s) vector, se elige(n) de acuerdo con los grupos de epítomos que se buscan y se pueden clasificar de acuerdo con dos grupos:

- el primer grupo de epítomos se refiere a polipéptido(s) que se deriva(n) de un antígeno que se sabe que se expresa o presenta al sistema inmunitario en un hospedador mamífero infectado por un patógeno particular, desarrollando un tumor particular o presentándose con una primera afección patológica determinada, habiendo sido diagnosticado dicho hospedador mamífero con dicha infección particular, dicho tumor particular o dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) antes de la administración del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición definidos en el presente documento; y

- el segundo grupo de epítomos se refiere a polipéptido(s) que se deriva(n) de un antígeno que se sabe que se expresa o presenta al sistema inmunitario en un hospedador mamífero infectado por otro patógeno particular, desarrollando otro tipo particular de tumor o presentando una segunda afección patológica determinada, dicho hospedador mamífero que no está o no ha sido infectado por dicho otro patógeno particular, que no ha desarrollado dicho otro tipo particular de tumor o que no ha presentado dicha(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) antes de la administración del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición definidos en el presente documento.

La invención se basa en las observaciones de que:

(i) puede obtenerse un tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer

grupo de epítomos contenidos en polipéptidos llevados por una molécula vector;

(ii) la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en el mismo hospedador mamífero puede obtenerse suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en el (los) polipéptido(s); y

(iii) opcionalmente, la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) puede(n) obtenerse suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por una molécula vector;

estando llevado dicho segundo grupo de epítomos por la misma molécula vector, o llevado por una molécula vector separada, y administrado en la misma composición y simultáneamente con la primera molécula vector.

Por tanto, la molécula vector tal como se define en el presente documento o en una composición, o las moléculas vector de una composición tal como se define en el presente documento lleva al menos un, preferiblemente uno, polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo y al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo. La molécula vector tal como se define en el presente documento o en una composición o las moléculas vector de una composición como se define en el presente documento lleva(n) (a) un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo y al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo, (b) un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo y al menos un polipéptido que comprende epítomo(s) del segundo grupo seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5 o 6 polipéptidos, (c) al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo seleccionado entre 2 o 3 polipéptidos y al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo y (d) al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo seleccionado(s) entre 2 o 3 polipéptidos y al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5 o 6 polipéptidos.

Cuando un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector se usa como tal o en una composición, el vector puede llevar un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo y un(os) epítomo(s) del segundo grupo, es decir, que dicho segundo grupo de epítomos está contenido en el mismo polipéptido que el primer grupo de epítomos.

En otra realización, dicho primer y segundo grupo de epítomos están contenidos en diferentes polipéptidos. El polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo y el polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo pueden ser llevados por la misma molécula vector. En otra realización, el polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo y el polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo pueden ser llevados por diferentes moléculas de vector e incluirse en una misma composición. Cuando una composición, que contiene un primer y un segundo polipéptido(s) llevado(s) por un vector separado(s), se usa, la primera molécula vector lleva al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo, lo que significa que un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del primer grupo como mínimo es llevado por dicha primera molécula vector. En la misma composición, la segunda molécula vector lleva al menos un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo, lo que significa que un polipéptido que comprende un(os) epítomo(s) del segundo grupo como mínimo es llevado por dicha segunda molécula vector separada. Finalmente, opcional uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6) polipéptido(s) llevado(s) por un vector también pueden incluirse en dicha composición, cualquiera que sea el grupo de epítomos contenidos en este/estos polipéptido(s) llevado(s) por un vector.

Por "*respuesta inmunitaria*", se entiende una respuesta inmunitaria mediada por células, especialmente una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T. En una realización particular, dicha respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T es una respuesta inmunitaria citotóxica de CTL mediada por células, especialmente una respuesta inmunitaria CD8⁺.

En el caso de polipéptidos derivados del antígeno tumoral, la respuesta inmunitaria es preferiblemente una respuesta inmunitaria citotóxica específica de tumor, que implica linfocitos citotóxicos específicos de tumor. En una realización particular, dicha respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T es una respuesta inmunitaria CD4⁺, especialmente una respuesta inmunitaria de T-colaboradores. En una realización particular, la respuesta inmunitaria, en particular la(s) respuesta(s) inmunitaria(s) inducida(s) contra los epítomos del segundo grupo (como se define en el presente documento), después de la administración del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición definidos en el presente documento, es una respuesta inmunitaria de linfocitos T de memoria. La expresión "*respuesta inmunitaria*" también puede abarcar, además de una respuesta inmunitaria mediada por células como se definió anteriormente, una respuesta inmunitaria humoral (producción de anticuerpos). Las respuestas inmunitarias descritas en la presente solicitud se obtienen después de la administración, en el hospedador, del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector de la invención, como tal o dentro de una composición.

La expresión "*tratamiento inmunoterapéutico*" se refiere al tratamiento de una(s) (primera(s)) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero, suscitando especialmente una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por la(s) molécula(s) vector administrada(s) como se define en el presente documento. El uso del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento tiene como objetivo mejorar las condiciones clínicas de un hospedador mamífero, que lo necesite, que ha sido diagnosticado como infectado por un patógeno o que padece un estado patológico, tal como un tumor, o tiene como objetivo la eliminación del agente u organismo causante de la enfermedad, o reducir dicho agente u organismo. En una situación de infección por patógenos, el tratamiento inmunoterapéutico da como resultado una disminución significativa en la carga de patógenos en el sitio de infección o en el sitio de replicación de este patógeno, en particular en el plasma o en la mucosa del hospedador, y posiblemente

da como resultado una carga de patógenos, como la carga de plasma, que es menos de lo que se puede detectar cuando se mide o, en la reducción del tamaño o el desarrollo del tumor, si lo hay.

La expresión "*inmunoprofilaxis*" o "*profilaxis*" se refiere a una respuesta que previene o protege contra la exposición, infección, aparición o el desarrollo de una(s) segunda(s) afección(es) patológicas determinada(s) o enfermedad o consecuencias clínicas de las mismas en el mismo hospedador mamífero suscitando especialmente una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por la(s) molécula(s) vector administrada(s) como se define en el presente documento. El uso del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento da como resultado una respuesta inmunitaria profiláctica contra una futura infección, futuros eventos malignos o enfermedades y, en consecuencia, previene la aparición de un estado patológico en dicho hospedador mamífero.

La eficacia de la respuesta para conferir profilaxis puede analizarse mediante la detección del marcador del estado patológico. En una realización particular, los criterios de eficacia se seleccionan para alcanzar relevancia estadística.

La expresión "*prevención contra la reaparición*" se refiere a la obtención de una respuesta inmunitaria para prevenir una nueva exposición futura, una nueva infección futura, una nueva aparición futura o un nuevo desarrollo futuro de la(s) primera(s) afección(s) patológica(s) determinada(s), afecciones que se han diagnosticado previamente y se han tratado después de la administración del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición como se define en el presente documento.

La expresión "*hospedador mamífero*" abarca todos los mamíferos, en particular, primates y humanos (por ejemplo, un paciente).

Se entiende que, después de la(s) administración(es) del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento, tanto la respuesta inmunitaria de los linfocitos T contra un primer grupo de epítomos como la respuesta inmunitaria de la memoria de los linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos y, opcionalmente, la respuesta contra dicho primer grupo de epítomos, se inducen en el mismo hospedador mamífero, dentro de una ventana de tiempo particular. Por lo tanto, la al menos una administración del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento conduce a la inducción de una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos y una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos y opcionalmente una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos, que puede manifestarse y/o medirse de 1 mes a 12 meses o más después de la administración (en particular a los 2, 3, 6, 9 o 12 meses), aunque los linfocitos T participan en una de estas o en ambas respuestas inmunitarias aún pueden manifestarse varios años después de la administración. La expresión "*al menos una administración*" o "*administrando una vez*" significa que el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición como se define en el presente documento se administra en el hospedador mamífero, especialmente el paciente, una o más, preferiblemente una o dos veces. Cada administración consiste en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, siempre que un primer grupo de epítomos y un segundo grupo de epítomos contenidos en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por al menos una(s) molécula(s) vector, con al menos un epítomo de dicho segundo grupo de epítomos, se administran al hospedador mamífero al mismo tiempo. Si es apropiado, la segunda y posibles administraciones posteriores (refuerzo principal) se llevan a cabo con el mismo polipéptido(s) llevado(s) por un vector o con la misma composición, con respecto al(a los) polipéptido(s), como la primera administración. Los experimentos informados a continuación muestran que un tratamiento y profilaxis inmunoterapéuticos, y opcionalmente, la prevención contra la reaparición, pueden obtenerse después de una única administración del(de los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento.

La divulgación describe el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento para su uso (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a una infección por patógeno, en particular consecutiva(s) a una infección bacteriana o vírica, diagnosticada en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra una(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a una infección por un patógeno diferente, en particular consecutiva(s) a una infección por una bacteria diferente o un virus diferente (o una cepa diferente de los mismos) y (iii) opcionalmente, en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra dicha(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el segundo grupo de epítomos unidos a dicho patógeno diferente (por ejemplo, diferentes bacterias o virus diferentes) no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s). En el caso particular de afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a diferentes cepas de virus, especialmente cepas de VPH diferentes o especies de tipos de VPH diferentes, la invención se refiere al(a los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento para su uso de acuerdo con las reivindicaciones (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por un primer virus, primera cepa de VPH o primeras cepas de tipo de VPH, diagnosticados en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra una(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por un segundo virus diferente, segunda cepa de VPH diferente o segunda cepa de tipo de VPH diferente, y (iii) opcionalmente en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el segundo grupo de epítomos se une a dicho segundo virus diferente, la segunda cepa diferente de

VPH o la segunda cepa diferente de tipo VPH no está contenida en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s). En una realización preferida, la invención se refiere a polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento, que comprende un polipéptido derivado de la proteína E7 de VPH16 y un polipéptido derivado de la proteína E7 de VPH18, para su uso: (1) (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH16, diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH18 y (iii) opcionalmente en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el polipéptido derivado de la proteína E7 de VPH18 no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s); o (2) (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH18, diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH16 y (iii) opcionalmente, en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el polipéptido derivado de la proteína E7 de VPH16 no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s).

La divulgación describe el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento para su uso (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a las primeras células tumorales, diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra una(s) segunda(s) afección(es) patológicas consecutivas a segundas células tumorales, cuyo origen y/o histología es diferente de las primeras células tumorales, y (iii) opcionalmente, en la prevención contra la reaparición de dichas primeras afecciones patológicas, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el segundo grupo de epítomos unidos a dichas segundas células tumorales no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s).

La divulgación describe el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento para su uso (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a una infección por patógeno, en particular consecutiva(s) a una infección bacteriana o vírica, diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) al desarrollo de células tumorales y (iii) opcionalmente en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el segundo grupo de epítomos unidos a dichas células tumorales no está contenido en dicho polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s).

La divulgación describe el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composición tal como se define en el presente documento para su uso (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) al desarrollo de células tumorales, diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra una(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a una infección por patógeno, en particular consecutiva(s) a una infección bacteriana o vírica, y (iii) opcionalmente en la prevención contra la recurrencia de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el segundo grupo de epítomos unidos a dicho patógeno diferente (por ejemplo, diferentes bacterias o virus diferentes) no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s).

La divulgación describe un método para obtener en un mismo hospedador mamífero, (i) un tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero, especialmente suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos, y (ii) la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s), especialmente suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, comprendiendo dicho método administrar, al menos una vez, a dicho hospedador mamífero ya sea:

(1) un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, en donde dicho vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuado para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, dicho primer grupo de epítomos y el segundo grupo de epítomos están contenidos en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por dicho vector, y al menos un epítopo de dicho segundo grupo de epítomos es diferente de los epítomos del primer grupo de epítomos;

(2) una composición que comprende el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector como se define en (1) en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable; o

(3) una composición que comprende (a) un(os) primer(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en donde dicho primer vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuados para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, dicho primer grupo de epítomos está contenido en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por dicho primer vector y (b) un(os) segundo(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector separado(s) en donde dicha segunda molécula vector que lleva el (los)

polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuados para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, dicho segundo grupo de epítomos está contenido en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por dicho segundo vector.

Según la divulgación, se describe un método para obtener en un mismo hospedador mamífero, (i) un tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero, especialmente suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos, (ii) la profilaxis contra una(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s), especialmente suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos y (iii) opcionalmente la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s), especialmente suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, comprendiendo dicho método administrar al menos una vez a dicho paciente:

(1) un(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector, en donde dicho vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuado para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, dicho primer grupo de epítomos y el segundo grupo de epítomos están contenidos en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por dicho vector, y al menos un epítomo de dicho segundo grupo de epítomos es diferente de los epítomos del primer grupo de epítomos;

(2) una composición que comprende el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector como se define en (1) en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable; o

(3) una composición que comprende (a) un(os) primer(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en donde dicho primer vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuados para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, dicho primer grupo de epítomos está contenido en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por dicho primer vector y (b) un(os) segundo(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector separado(s) en donde dicha segunda molécula vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína CyaA o un fragmento de la misma adecuados para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, dicho segundo grupo de epítomos está contenido en al menos un(os) polipéptido(s) llevado(s) por dicho segundo vector.

Las composiciones como se definen en el presente documento pueden, en una realización particular, comprender un excipiente o formulación farmacéuticamente aceptable, o un diluyente fisiológicamente aceptable, que se elige entre agentes tampón, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, agua, etanol o similares y combinaciones de los mismos.

Además, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición como se define en el presente documento como medio para obtener un tratamiento inmunoterapéutico y la profilaxis se puede combinar o mezclar con, o la composición como se define en el presente documento como medio para obtener un tratamiento inmunoterapéutico y la profilaxis puede comprender además, al menos un inmunopotenciador, como al menos un adyuvante, preferiblemente un adyuvante, y/o un tensioactivo y/o sustancias inmunomoduladoras (tales como citocinas o quimiocinas).

Se conocen varios adyuvantes en la técnica e incluyen el adyuvante completo de Freund (ACF), adyuvante incompleto de Freund (AIF), montanide ISA (adyuvante de Seppic incompleto), péptidos de muramilo tales como dipéptido de muramilo (MDP) MDP-Lys (L18) (N^{α} -acetilomuramyl-L-alanil-D-isoglutaminil- N^m iesteoroil-L-lisina), sulfato de zinc, hidróxido de hierro coloidal, fosfato de calcio o cloruro de calcio, CpG oligodesoxinucleótidos (CPG ODN) como CPG ODN 1826 y CPG ODN 2007, MF59, que es una emulsión de aceite en agua estabilizada con detergente que contiene 5 % de escualeno (p/v), 0,5 % de Tween® 80 (p/v) y 0,5 % de Span (p/v) en agua, Ligandos TLR4 (como MPL, GLA), ligandos TLR3 (como Hiltonol®), polisacáridos (como la inulina) y liposomas (como los liposomas catiónicos, ISCOM).

El al menos un adyuvante se elige entre las moléculas que tienen la capacidad de activar la respuesta inmunitaria de los linfocitos T, en particular la respuesta de memoria de linfocitos T. Los adyuvantes preferidos son los que se unen o son agonistas de TLR (receptor similar a Toll) 3, 4, 7, 8 y/o 9 en células inmunes (como CPA). En una realización particular, el adyuvante es un ligando TLR (por sus siglas en inglés), en particular un ligando TLR seleccionado del grupo que consiste en ligandos TLR de clase 3, tal como poly-ICLC, ligandos TLR de clase 4, ligandos TLR de clase 9, tales como CpG y los ligandos TLR de la clase 7/8, como Imiquimod. Ejemplos de adyuvantes son Imiquimod vendido como una crema que contiene 5 % de Imiquimod (Aldara™) y Poly-ICLC vendido por Oncovir (Inc, WA, EE. UU.) Como Hiltonol®.

Mediante "combinado", se entiende que el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición como se define en el presente documento y el inmunopotenciador se ponen en contacto con el hospedador, en diferentes momentos y/o por diferentes modos de administración, preferiblemente en el mismo sitio de contacto. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición como se define en el presente documento se inyecta en el hospedador y el inmunopotenciador (tal como un adyuvante) se aplica tópicamente, por ejemplo, cutáneamente (sobre la piel), al hospedador. Por ejemplo, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la

composición como se define en el presente documento se inyecta en el hospedador y el inmunopotenciador (como un adyuvante) se aplica sobre la piel del hospedador después de la inyección, en el sitio de inyección. Por el contrario, "mezclado" significa que el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición como se define en el presente documento y el inmunopotenciador están en la misma formulación cuando se administran.

Cabe destacar que en la presente solicitud, cuando un inmunopotenciador (como un adyuvante) se mezcla o combina con el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición como se define en el presente documento, se usa el inmunopotenciador, al menos, cada vez que el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición como se define para su uso de acuerdo con la invención se administra en el hospedador. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición de la invención se administran dos veces, y se aplica el inmunopotenciador (mezclado o combinado, preferiblemente por vía cutánea), en el sitio de administración del (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición de la invención, en el día de cada administración. En otra realización particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición para su uso de acuerdo con la invención se administran dos veces, y se aplica el inmunopotenciador (mezclado o combinado, preferiblemente por vía cutánea), en el sitio de administración del (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición de la invención, en el día de cada administración y al día siguiente del día de cada administración. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición de la invención se administra(n) dos veces, y el adyuvante (preferiblemente Imiquimod, tal como Aldara™) se aplica por vía cutánea en el sitio de administración del (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición de la invención, en el día de cada administración y al día siguiente del día de cada administración.

El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector como se define(n) en el presente documento o la composición como se define en el presente documento como medio para obtener un tratamiento inmunoterapéutico y la profilaxis y, opcionalmente, la prevención contra la reaparición, adicionalmente se puede(n) combinar o mezclar, en regímenes de administración, con otros compuestos activos adecuados para tratar la infección por patógenos, células tumorales o afecciones patológicas asociadas con esta infección o tumor, tales como compuestos activos antitumorales o antivíricos.

El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o las composiciones definidos en el presente documento pueden inyectarse en un paciente a través de diferentes vías: subcutánea (s.c.), intradérmica (i.d.), intramuscular (i.m.) o intravenosa (i.v.), administración oral y administración en la mucosa, especialmente administración o inhalación intranasal. En una realización particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composiciones definidos en el presente documento se administran por vía intradérmica.

En particular, el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o composiciones definidas en el presente documento, ya sea mezclados o combinados con al menos un inmunopotenciador o no, cualesquiera que sean las vías de administración, se administran en un sitio, independiente de la(s) (primera(s)) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en el hospedador mamífero, es decir, para un tumor, en un sitio que no sea el del desarrollo del tumor (por ejemplo, que no sea la mucosa) y para un patógeno, en un sitio que no sea el sitio de replicación del patógeno.

El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o las composiciones definidos en el presente documento pueden estar en forma sólida (oblea, polvo, gélula, píldora, supositorio, comprimido de liberación rápida, comprimido gastrorresistente, comprimido de liberación retardada), una forma en polvo, preferiblemente después de la liofilización (forma liofilizada o forma en polvo liofilizado) que necesita reconstruirse, por ejemplo, con diluyente(s) antes de la inyección, o en forma líquida, como una solución inyectable o suspensión inyectable.

La cantidad de polipéptido(s) llevado(s) por un vector que se debe administrar (dosis) depende del sujeto a tratar, incluyendo considerar la afección del paciente, el estado del sistema inmunitario del individuo, la vía de administración y el tamaño del hospedador. Las dosis convencionales varían de 1 a 1200 µg, de 100 a 1000 µg, de 200 a 1000 µg, de 500 a 1000 µg. Se elige una dosis particular del grupo que consiste en 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 µg. En otra realización, las dosis convencionales varían de 1 a 100 µg, de 1 a 50 µg y de 1 a 10 µg de polipéptido(s) llevado(s) por un vector. Estos ejemplos pueden ser modificados por un experto en la materia, dependiendo de las circunstancias.

Cada realización específica se puede combinar con cualquier realización particular.

Ejemplos

A. MATERIALES Y MÉTODOS

Ratones

Ratones hembra C57BL/6 de seis semanas de edad (H-2^{si}) se compran en Charles River Laboratories. Los ratones se alojan en condiciones sin patógenos con agua y alimentos *ad libitum*. Los procedimientos que involucran animales y su cuidado se ajustan a las pautas de Gentecel que cumplen con las leyes y políticas nacionales e internacionales y

que son revisadas por el comité de ética local.

Líneas celulares tumorales

5 Las células tumorales TC-1 (cultivo de tejidos número uno) (Lin, Guarnieri et al. 1996) se prepararon por transformación de células de pulmón de ratón primarias C57BL/6 con oncogenes E6 y E7 de VPH16 y oncogén c-Ha-Ras humano activado. Las células utilizadas en este estudio se obtuvieron del ATCC. Los linfocitos TC1 se descongelan antes de cada experimento y luego se cultivan y expanden *in vitro* durante al menos 10 días antes de la inyección.

10 EG7, la línea celular murina de linfoma EL4 transfectada con OVA (antecedentes genéticos C57BL/6), se usan para inducir un tumor sólido que expresa la proteína ovoalbúmina. Este modelo se describe ampliamente y se usa como un modelo de tumor murino de cáncer (Schreiber, Deyev et al. 2009). Los linfocitos EG7 se descongelan antes de cada experimento y luego se cultivan y expanden *in vitro* durante al menos 10 días antes de la inyección.

Inoculación de células tumorales

En el día 0, los ratones C57BL/6 son inyectados con linfocitos TC-1 ($0,5 \times 10^6$ células por ratón para VPH_TUR008, 1×10^6 células por ratón para los otros estudios) diluidos en 100 μ l de PBS 1X por vía subcutánea en el flanco. En algunos experimentos, los ratones se inyectan en el día 60 con células EG7 diluidas en 100 μ l de PBS 1X a través de la vía subcutánea en el flanco.

Preparación del vector

25 - Construcción y purificación de CyaA-VPH16E7 $_{\Delta 30-42}$ recombinante (C16-1) y CyaA-VPH18E7 $_{\Delta 32-42}$ (C18-1) (Figuras 3A y 3B) ya se describen en el documento EP1576967B1. Las dos masas finales de CyaA-VPH16E7 $_{\Delta 30-42}$ (C16-1) y CyaA-VPH18E7 $_{\Delta 32-42}$ (C18-1) se mezclaron en Genticel en una relación 1:1 para producir el ProCervix que luego se almacena a -80 °C en partes alícuotas.

30 - CyaA-CysOVA incorpora el epítipo restringido OVA $_{257-264}$ (SIINFEKL) H-2^b de la proteína ovoalbúmina (OVA). Se codifica como BTPR_103, lote VPH043_Cova_PB_8M purificado en Genticel. Este lote de CyaA-CysOVA se caracterizó por su inmunogenicidad en ratones en Genticel (resultados internos) (Figura 4).

- el vector CyaA-MAGEA3 $_{97-178/190-295}$ (Figura 4C y SEQ ID NO: 7) abarca dos polipéptidos:

35 (1) el epítipo MAGE A3 $_{97-178}$ insertado entre los restos 224 y 235 de CyaA de *B. pertussis*:
 LGDNQIMPKAGLLIIVLAIIAREGDCAPEEKIPKLLTQHFVQENY
 LEYRQVPGSDPACYEFLWGPRALVETSYVKVLHMHMVKISG (SEQ ID NO: 8); y

40 (2) el epítipo MAGE-A3 $_{190-295}$ correspondiente a los restos 190-221 fusionados a los restos 242-295 de la secuencia
 MAGE A3, insertado entre los restos 319 a 320 de CyaA:
 TFPDLESEFQAALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGN
 WQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLYIF (SEQ ID NO:9).

Administración de vacunas

45 En el día 11, después de la medición tumoral, los ratones con tumores sólidos detectables se vacunan mediante inyección intradérmica (id) en la dermis de los oídos (se inyectan ambos oídos). En algunos experimentos, los ratones reciben una vacuna de dos inyecciones el día 11 y el día 39 después de la inoculación de células tumorales TC-1. En cuanto a ProCervix, a los ratones se les administró 5 μ g de CyaA-VPH16E7 $_{\Delta 30-42}$ y 5 μ g de CyaA-VPH18E7 $_{\Delta 32-42}$.

Moléculas adyuvantes

55 Aldara™ es una formulación farmacéutica de una molécula que activa la inmunidad innata a través de una unión preferencial en TLR7 a las células inmunes como, por ejemplo, CPA. Esta molécula activa es Imiquimod, un pequeño compuesto sintético. Aldara™ se comercializa como una crema que contiene 5 % de Imiquimod en paquetes de uso de dosis única de 250 mg (12,5 mg de Imiquimod activo). La dosis que induce un efecto adyuvante para la vacunación de ratones con ProCervix es de 25 mg de Aldara™ por sitio de inmunización, por lo que, respectivamente, 1,25 mg de Imiquimod activo por sitio de inyección (50 mg para un ratón). Una aplicación tópica (cutánea) de Aldara™ se realiza en el día de la inmunización y 24 h después de la inmunización. Se preparan tubos individuales, cada uno contiene 25 mg de Aldara™ para su aplicación en la piel del oído (2 tubos para un ratón). Para evaluar con precisión la cantidad real de crema Aldara™ aplicada en cada sitio de inyección de ProCervix (correspondiente a cada oreja para un ratón individual); cada tubo Eppendorf se pesa antes y después del depósito de la crema en el interior. Después de la aplicación de la crema Aldara™ en la piel del oído, el peso de los tubos Eppendorf se reevalúa para calcular aproximadamente la cantidad de crema restregada en la piel. Para cada tubo, todo el contenido de la crema se restregó durante al menos 15 segundos y hasta la penetración completa en la piel.

Poly-ICLC (agonista de TLR3) fue proporcionado por Oncovir (Inc, WA, EE. UU.) en frascos que contienen 1 ml de solución estéril opalescente de 2 mg/ml. El Poly-ICLC se deja en el recipiente original y se almacena a +4 °C. Poly-ICLC para inyección contiene 2 mg/ml de poly-IC estabilizado con 1,5 mg/ml de poli-L-lisina y 5 mg/ml de carboximetilcelulosa de sodio en solución de cloruro de sodio al 0,9 % y ajustado a pH 7,6-7,8 con hidróxido de sodio.

Medida tumoral

Se tienen en cuenta diferentes parámetros para evaluar el desarrollo tumoral en ratones:

- Tamaño tumoral: Los tumores se miden manualmente usando un calibrador dos veces por semana, comenzando 5 días después de la inoculación de las células tumorales y hasta el día 60. El volumen tumoral se calcula de la siguiente manera: volumen = (Largo x ancho²)/2;
- Supervivencia de ratones: Por razones éticas, los ratones que se desarrollan de manera anormalmente importante (tamaño límite: 2000 mm³) y/o tumores necróticos, o con movilidad alterada inducida por el tumor son sacrificados;
- Número de ratones sin tumor: Esta información indica cuándo la vacunación terapéutica ha inducido una regresión tumoral completa (ausencia de tumor palpable).

Medición de respuestas citotóxicas de memoria de linfocitos T CD8

El método para medir la citotoxicidad de linfocitos T CD8⁺ *in vivo* ha sido ampliamente descrito (Barchet, Oehen et al. 2000; Ingulli 2007). En resumen, los esplenocitos singénicos de ratones sin tratamiento previo se marcan con diferentes concentraciones de CFSE (éster succinimidílico de carboxifluoresceína, Molecular Probes Invitrogen) y se impulsan *in vitro* con péptidos restringidos con H-2^b relevantes o se dejan sin impulsar. Tanto las poblaciones de células diana impulsadas con péptidos como sin impulsar se transfieren de forma adoptiva por vía intravenosa a hospedadores vacunados singénicos y la pérdida de las dianas impulsadas por péptidos se mide por citometría de flujo (BD FACSCalibur) en el bazo. El porcentaje de destrucción se estima a partir de la reducción en la relación del porcentaje de células diana impulsadas a células no impulsadas, corregido por la relación inicial (ver más abajo). Las preparaciones celulares se analizan mediante citometría de flujo antes de la inyección para verificar la carga de CFSE de las diferentes células diana y obtener valores de referencia (porcentaje real de cada población celular) para el cálculo de la destrucción *in vivo*. Las tres poblaciones de células diana se inyectan por vía intravenosa en una proporción 1:1:1 a cada ratón vacunado. El porcentaje de destrucción *in vivo* se calcula como se describe en otra parte con la siguiente fórmula (Barber, Wherry et al. 2003)

$$\text{PORCENTAJE DE DESTRUCCIÓN} = 100 - \left(\left(\frac{\% \text{ de péptido impulsado en vacunado}}{\% \text{ no impulsado en vacunado}} \right) / \left(\frac{\% \text{ de péptido impulsado antes de la inyección}}{\% \text{ no impulsado antes de la inyección}} \right) \right) \times 100$$

Ensayo ELISpot (*inmunopuntos ligados a enzimas*) de IFN-γ

Frecuencias de IFN-γ de E7₄₉₋₅₇ de VPH16 y E7_{AS43-49} de VPH18 que producen linfocitos T CD8⁺ específicos se evalúan en esplenocitos reestimulados *ex vivo* por un ensayo ELISpot de IFN-γ:

- Se realizan ensayos ELISpot en ratones individuales, no en bazo agrupado.
- Los ratones recibieron el día anterior a la infusión intravenosa de esplenocitos diana cargados con CFSE singénicos (debido al ensayo de destrucción *in vivo*, véase más arriba).
- En resumen, los esplenocitos totales obtenidos de ratones vacunados se dejan sin estimular o se reestiman durante 20 h a 37 °C, 5 % de CO₂ con 1 µg/ml de cada péptido como se describe a continuación:
- 1x10⁶ células/pocillo con el péptido E7₄₉₋₅₇ de VPH16 (epítipo relevante restringido con H-2^b)
- 1x10⁶ células/pocillo con OVA₂₅₇₋₂₆₄ (epítipo irrelevante restringido con H-2^b).
- 0,25x10⁶ células/pocillo con E7_{AS43-49} de VPH18 (epítipo relevante restringido con H-2^b).

La secreción de IFN-γ se controla mediante un ELISpot con base de sándwich revelado por BCIP/NBT usando estreptavidina-AKP. Los datos se analizaron en un Bioreader 5000-Pro S (Biosys).

Vacunas terapéuticas/profilácticas

El esquema terapéutico, detallado a continuación, se resume en la Figura 8.

En el día 0, se inocularon dos grupos de ratones (grupos 1 y 2) en el flanco derecho con linfocitos TC-1 (1x10⁶ células por ratón). Después, los ratones recibieron dos vacunas, la primera en el día 11 y la segunda en el día 39, con Placebo (PBS 1X + urea) (grupo 1) o con Placebo + AldaraTM (grupo 2). Los grupos 1 y 2 son un control negativo.

En el día 0, se inocularon cuatro grupos de ratones (grupos 3 a 6) en el flanco derecho, con linfocitos TC-1 (1x10⁶ células por ratón) (grupos 3 a 6); entonces, los ratones recibieron dos vacunas, la primera en el día 11 y la segunda

en el día 39, con CyaA-MAGEA3^{97-178/190-295}/CyaA-VP16 E7 (5 µg de cada vector basado en CyaA) en presencia de Aldara™ (grupo 3), con CyaA-cysOVA/CyaA-VP16 E7 (5 µg de cada vector basado en CyaA) en presencia de Aldara™ (grupo 4) o con ProCervix adyuvado con Aldara™ (grupos 5 y 6, como control positivo para la eliminación del tumor TC-1). El flanco derecho de estos ratones se controló hasta el día 100 (Figura 9). En el día 60, los ratones de supervivencia fueron inoculados con una segunda línea celular tumoral, ya sean las células tumorales B16 que expresan la proteína MAGE A3 (grupos 3 y 5) o las células tumorales EG7 (células singénicas malignas que expresan la proteína ovoalbúmina) (grupos 4 y 6). El flanco izquierdo de estos ratones se controló hasta el día 100.

Cuando se usa, se aplica tópicamente Aldara™ (cutáneamente), en el sitio de vacunación, en el día de la vacunación y al día siguiente a la vacunación (es decir, en los días 12 y 40).

B. RESULTADOS

Ratones portadores de tumores sólidos que expresan E7 de VPH16 vacunados por ProCervix muestran una alta tasa de regresión tumoral y una mejor supervivencia

Los ratones vacunados en el día 11 con PBS y que recibieron la aplicación de Aldara™ no mostraron inhibición del crecimiento tumoral con la excepción de 2 ratones de 10 que eliminaron completamente el tumor antes del día 50 (Figura 5A y 6A). Cuatro ratones estaban vivos en este grupo en el día 50 (Figura 6B; final de la monitorización del tamaño del tumor). No se incluyó ningún grupo tratado solo con PBS en este estudio y, por lo tanto, es difícil tener una idea clara del impacto de Aldara™ en comparación con la respuesta natural de los ratones contra el tumor. Sin embargo, es obvio que el efecto observado con Aldara™ solo es mucho más débil que los observados con ProCervix adyuvado con Aldara™ (véase más adelante). Esto indica que incluso si Aldara™ puede tener algún efecto por vecindad en la progresión del tumor, probablemente debido a la activación inmunitaria innata y los procesos inflamatorios resultantes (citocinas proinflamatorias, etc. (Schon y Schon 2008)), no es lo suficientemente potente como para usarse solo con este esquema terapéutico como tratamiento de tumores sólidos inducidos por VPH.

Los ratones vacunados en el día 11 con ProCervix sin adyuvante también mostraron crecimiento tumoral importante sin ratones sin tumor en el día 50 (Figura 5B y 6A). Solo dos ratones estaban vivos en el día 50 en este grupo (Figura 6B). La vacunación terapéutica con ProCervix adyuvado con Imiquimod tópico (Aldara™) indujo una regresión tumoral significativa (Figura 5D) que condujo a altas tasas de supervivencia (figura 6B) y una mayoría de ratones sin tumor al final del estudio (figura 6A). Para el grupo de ProCervix adyuvado con Aldara™, observamos un escape tumoral después de un período de control aparente (el tamaño disminuyó a menos de 50 mm³) en 3 ratones de 10. El escape ocurrió entre el día 30 y el día 40 con un crecimiento importante hasta el día 50. Este fenómeno podría deberse a mecanismos de escape desarrollados por tumores y, en este caso, se deben tener en cuenta los refinamientos del esquema terapéutico, pero es más probable debido a la pérdida de moléculas de MHC de clase I en la superficie de las células tumorales como se describió anteriormente para células TC-1 (Zwaveling, Ferreira Mota et al. 2002). La vacunación terapéutica con ProCervix adyuvado con poly-ICLC dio resultados comparables de regresión tumoral y tasa de supervivencia (Figura 5C y 6). Estos resultados muestran que la vacunación terapéutica de ratones que tienen tumores sólidos que expresan E7 de VPH16 con ProCervix, ya sea adyuvados con Poly-ICLC o Imiquimod tópico (Aldara™), produce un fuerte efecto terapéutico.

La vacuna terapéutica ProCervix promueve el desarrollo de CTL de memoria funcional específica para E7 de VPH16 y E7 de HVP18

Se describió por Rafi Ahmed y colaboradores en un modelo murino de infección vírica aguda con LCMV que los linfocitos T CD8⁺ de memoria pueden exhibir un potencial lítico rápido *in vivo* (Barber, Wherry et al. 2003). Basándose en estas observaciones, los inventores decidieron investigar si los ratones que eliminaron completamente los tumores sólidos inducidos por TC-1, después de la administración de ProCervix en el día 11, muestran linfocitos T CD8⁺ de memoria específicos de antígeno funcionales después de la erradicación del tumor.

Con este fin, en el día 60 después de la inoculación de linfocitos TC-1, los ratones sin tumor restantes en cada grupo se transfirieron de forma adoptiva con esplenocitos singénicos cargados con CFSE para medir en paralelo la citotoxicidad *in vivo* (como se describió anteriormente en la sección Materiales y métodos) de los linfocitos T CD8⁺ de memoria contra los dos siguientes epítomos restringidos con H-2^S: E7⁴⁹⁻⁵⁷ de VPH16 y E7^{AS43-49} de VPH18. En los grupos de ratones vacunados con ProCervix adyuvados con Aldara™ o con Poly-ICLC, se tomaron 5 ratones sin tumor (seleccionados al azar en el grupo) para realizar el ensayo de destrucción *in vivo*. En todos los ratones probados, que han erradicado completamente el tumor, detectamos una fuerte citotoxicidad contra células diana impulsadas con E7⁴⁹⁻⁵⁷ de VPH16 (Figura 7). No se pueden observar diferencias entre los grupos. La detección de la respuesta citotóxica específica de VPH16E7 en placebo con el grupo vacunado con Aldara™ se debe al uso para esta prueba de los dos ratones sin tumor (todos los demás ratones estaban muertos debido a la excrecencia del tumor en el día 60). Estos datos indican que estos dos ratones han podido desarrollar una respuesta inmunitaria específica para E7 de VPH16 lo suficientemente fuerte como para eliminar los tumores sólidos inducidos por TC-1. Curiosamente, solo los ratones vacunados con ProCervix adyuvado también mostraron células diana impulsadas con VPH18E7. Estos datos son más informativos ya que los linfocitos TC-1 no expresan antígenos de VPH18, indicando así que la citotoxicidad específica de VPH18 informada solo se debió a los linfocitos T de memoria inducidos por la vacuna. De hecho, no se observó

citotoxicidad *in vivo* contra células diana impulsadas por VPH18E7 en ratones tratados únicamente con Aldara™ (Figura 7).

Tomados en conjunto, los datos de los inventores demuestran la exquisita eficacia de ProCervix para inducir, con una sola inyección, una respuesta de memoria dependiente de CD8 funcional contra los antígenos E7 de VPH16 y E7 de VPH18. Una vacuna ProCervix de una sola inyección puede inducir la diferenciación de un grupo de linfocitos T CD8⁺ de memoria específicos de antígeno que confieren a ratones vacunados, tanto una protección a largo plazo contra una exposición secundario con células injertadas singénicas que expresan E7 de VPH16 (antígeno expresado por tumores) y en paralelo una protección contra una nueva exposición con células injertadas singénicas que expresan E7 de VPH18 (antígeno que no se expresa por tumores y que solo se entrega por el vector CyaA-VPH18E7_{Δ32-42}).

La vacuna terapéutica bivalente de CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-MAGE A3 proporciona la erradicación de los tumores sólidos que expresan E7 de VPH16 y protección contra el desarrollo de tumores inducidos por MAGE-A3

Los ratones vacunados con CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-MAGE A3 + Aldara como adyuvante transcutáneo (grupo 3) y los ratones vacunados con ProCervix adyuvado con Aldara (grupos 5 y 6) eliminaron los tumores sólidos inducidos por TC1 en 40 días: 9 de cada 10 ratones en el grupo 3 (Figura 9c); 8 de cada 10 ratones en el grupo 5 y 9 de cada 10 en el grupo 6 (Figura 9 e y f). La fuerte eliminación de los tumores se confirmó hasta el día 100. Por el contrario, los ratones que fueron vacunados con el placebo, con o sin adyuvante (grupo 1 y 2 respectivamente), ya que los controles negativos desarrollaron tumores sólidos inducidos por TC1: 9/10 ratones en el grupo 1 (Figura 9a) y 8/10 ratones en el grupo 2 (Figura 9b).

En el día 60, los ratones de supervivencia de los grupos 3 y 5 fueron inoculados, en su flanco izquierdo, con células tumorales B16 que expresan la proteína MAGE A3. Ninguno de los ratones, que fueron vacunados con CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-MAGE A3 en presencia de Aldara™ y que han eliminado los tumores inducidos por TC1, mostró desarrollo de tumor B16-MAGEA3 después de la exposición (0 de 9 ratones desarrollaron tumores B16-MAGEA3; Figura 10a), que indica que estos ratones estaban protegidos contra la exposición con tumores sólidos inducidos por B16-MAGE A3.

Por el contrario, los ratones vacunados con ProCervix adyuvado con Aldara™ y que han eliminado los tumores inducidos por TC1 desarrollan tumores B16-MAGEA3 (6 de 8 ratones desarrollaron tumores B16-MAGEA3; Figura 10c), que indica que ProCervix (VPH16E7/VPH18E7) no confirió inmunidad de linfocitos T de memoria protectora contra la exposición por las células tumorales B16-MAGEA3. Por lo tanto, la protección contra el desarrollo de tumores inducidos por MAGE A3 observados en ratones del grupo 3 se logró como resultado de la inducción de una respuesta de memoria mediada por linfocitos T específicos de MAGE A3 en ratones vacunados con CyaA-MAGEA3, mientras que la respuesta de memoria mediada por linfocitos T provocada en ratones del grupo 5 se generó contra un antígeno (E7 de VPH18) que es irrelevante con respecto a la naturaleza de las células tumorales B16-MAGEA3.

En conclusión, estos experimentos demuestran que se puede usar CyaA bivalente, después de una administración, tanto para erradicar los linfocitos TC-1 (respuesta inmunitaria específica de VPH18E7) como para prevenir el desarrollo de células tumorales B16-MAGEA3 (respuesta de memoria mediada por linfocitos T específicos de MAGE A3). Además, los resultados obtenidos después del día 60 mostraron que el efecto profiláctico obtenido contra las células tumorales B16-MAGEA3 no perjudicó el efecto terapéutico obtenido contra los linfocitos TC-1 (erradicación de linfocitos TC1 hasta el día 100; figura 9c).

La vacuna terapéutica bivalente CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-cysOVA proporciona la erradicación de los tumores sólidos que expresan E7 de VPH16 y protección contra el desarrollo de tumores inducidos por EG7-OVA

Ratones vacunados con CyaA-VPH1 6E7_{Δ30-42}/ CyaA-CysOVA en presencia de Aldara™ como adyuvante transcutáneo (grupo 4) y los ratones vacunados con ProCervix adyuvado con Aldara (grupo 5 y 6) eliminaron los tumores sólidos inducidos por TC1 en 40 días: 9 de cada 10 ratones en el grupo 4 (Figura 9d) y 8 de cada 10 ratones en el grupo 5 y 9 de cada 10 en el grupo 6 (Figura 9 e y f). La fuerte eliminación de los tumores se confirmó hasta el día 100. Por el contrario, los ratones que fueron vacunados con Placebo con o sin adyuvante (grupo 1 y 2 respectivamente), como controles negativos, desarrollaron tumores sólidos inducidos por TC1: 9/10 ratones en el grupo 1 (Figura 9a) y 8/10 ratones en el grupo 2 (Figura 9b).

En el día 60, los ratones de supervivencia de los grupos 4 y 6 fueron inoculados, en su flanco izquierdo, con células tumorales EG7-OVA (células singénicas malignas que expresan la proteína ovoalbúmina). En el grupo 6, el ratón 6004 desarrolló un tumor después del día 60 (Figura 9f), de modo que se inoculó con células tumorales EG7-OVA como los otros 9 ratones del grupo que no desarrollaron tumores. Ninguno de los ratones, que fueron vacunados con CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-CysOVA en presencia de Aldara™ y que han eliminado los tumores inducidos por TC1, mostraron desarrollo de tumor EG7-OVA después de la exposición (0 de 9 ratones desarrollaron tumores EG7-OVA; Figura 10b), demostrando que estos ratones estaban protegidos contra la exposición con células tumorales EG7-OVA. Por el contrario, los ratones que fueron vacunados con ProCervix adyuvado con Aldara™ y que han eliminado los tumores inducidos por TC1 desarrollaron tumores EG7-OVA (8 de cada 10 ratones desarrollaron tumores EG7-OVA; Figura 10d), que indica que ProCervix (VPH16E7/VPH18E7) no confirió inmunidad de linfocitos T de memoria

protectora contra la exposición por las células tumorales EG7-OVA. Por lo tanto, la protección contra el desarrollo de tumores sólidos inducidos por EG7-OVA observados en el grupo 4 se logró como resultado de la inducción de una respuesta de memoria mediada por linfocitos T específicos de OVA en ratones vacunados con CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-CysOVA, mientras que la respuesta de memoria mediada por linfocitos T suscitada en ratones del grupo 6 se generó contra un antígeno (VPH18 E7) que es irrelevante con respecto a la naturaleza de los tumores EG7-OVA.

En conclusión, estos experimentos demuestran que se puede usar CyaA bivalente, después de una administración, tanto para erradicar los linfocitos TC-1 (respuesta inmunitaria específica de VPH18E7) como para prevenir el desarrollo de tumores sólidos inducidos por EG7-OVA. Además, los resultados obtenidos después del día 60 mostraron que el efecto profiláctico obtenido contra las células tumorales EG7-OVA no perjudicó el efecto terapéutico obtenido contra los linfocitos TC-1 (erradicación de linfocitos TC1 hasta el día 100; figura 9d).

C. CONCLUSIÓN

El concepto novedoso presentado en la presente solicitud, con la vacuna terapéutica bivalente ProCervix es, por una parte, tratar, por ejemplo, pacientes infectados por VPH16, erradicar la infección y, por otra parte, proporcionar respuestas de memoria mediadas por linfocitos T para los antígenos E7 de VPH16 y E7 de VPH18, estableciendo así para los pacientes vacunados con ProCervix una protección a largo plazo contra una posible reinfección por VPH16 y también contra una infección posterior por VPH18.

Esto se confirmó con otras dos vacunas bivalentes (CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-MAGE A3 y CyaA-VPH16E7_{Δ30-42}/CyaA-CysOVA) que se han mostrado, por una parte, para tratar ratones infectados por VPH16 (erradicación de linfocitos TC1) y, por otra parte, para proporcionar protección contra el desarrollo de tumores B16-MAGE A3 o tumores EG7-OVA respectivamente.

Utilizando un modelo preclínico murino de carcinoma cervical [células tumorales TC-1 (Lin, Guarnieri et al. 1996; Zwaveling, Ferreira Mota et al. 2002)], se demostró que la vacunación terapéutica de ratones con tumores que expresan E7 de VPH16 sólido con ProCervix se combinó con una molécula adyuvante [agonistas de TLR como Aldara™ (Johnston y Bystryn 2006; Heib, Becker et al. 2007; Schon y Schon 2008) o Poly-ICLC (Longhi, Trumpfheller et al. 2009)] conducen a una regresión tumoral eficaz.

Además, se demostró que la eliminación del tumor inducida por la vacuna puede correlacionarse con la presencia de respuestas de memoria de CTL específicos de E7 de VPH16 de larga duración en ratones que han erradicado completamente el tumor. Inesperadamente, también se evidenció que en estos ratones sin tumores, la vacuna terapéutica ProCervix genera, en paralelo, respuestas funcionales de memoria de CTL específicos de E7 de VPH18. Tanto CTL de memoria E7 de VPH16 como E7 de VPH18 mostraron un potencial lítico *in vivo*.

Las observaciones de que los polipéptidos llevados por CyaA pueden generar una(s) respuesta(s) preventiva(s) de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos en un hospedador mamífero (respuesta inmunitaria profiláctica) mientras permiten generar un tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en dicho hospedador mamífero suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos, es sorprendente. De hecho, es bien sabido que existe competencia entre diferentes epítomos, ya sea con respecto al acceso a CPA, procesamiento y presentación por CPA y disponibilidad de citocinas. Este fenómeno conduce a una jerarquía de epítomos dominantes y subdominantes, y permite activar la respuesta inmunitaria de los linfocitos T y suprimir otra(s) respuesta(s) inmunitaria(s) de los linfocitos T. Este fenómeno se esperaba en la situación actual donde los linfocitos T que reconocen el primer grupo de epítomos ya existen en el paciente antes de la administración de los polipéptidos llevados por un vector (ya que uno o algunos epítomos del primer grupo ya se han presentado al sistema inmunitario del hospedador), mientras que los linfocitos T nativos tienen que activarse con respecto al segundo grupo de epítomos. Curiosamente, la presente invención ha demostrado que, en contraste con lo que se espera, la respuesta inmunitaria preventiva contra el segundo grupo de epítomos contenidos en un polipéptido llevado por CyaA no parece estar desfavorecida con respecto a la respuesta inmunitaria terapéutica contra el primer grupo de epítomos. Estos resultados significan que no se observa competencia entre la respuesta inmunitaria inducida contra el primer grupo de epítomos y la respuesta inmunitaria inducida contra el segundo grupo de epítomos. En consecuencia, los inventores han demostrado que el (los) polipéptido(s) llevado(s) por CyaA es/son suficientemente eficaces para suscitar una respuesta inmunitaria de linfocitos T en un tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y para suscitar una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T en la profilaxis contra una(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en el mismo hospedador mamífero.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, R., M. J. Bevan, et al. (2009). "The precursors of memory: models and controversies". *Nat Rev Immunol* 9(9): 662-668.
- Bachmann, M.F. y G.T. Jennings (2010). "Vaccine delivery: a matter of size, geometry, kinetics and molecular patterns". *Nat Rev Immunol* 10(11): 787-796.
- Barber, D.L., E. J. Wherry, et al. (2003). "Cutting edge: rapid *in vivo* killing by memory CD8 T cells". *J Immunol* 171(1):

27-31.

Barchet, W., S. Oehen et al. (2000). "Direct quantitation of rapid elimination of viral antigen-positive lymphocytes by antiviral CD8(+) T cells *in vivo*". Eur J Immunol 30(5): 1356-1363.

Frazer, I. H. (2009). "Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: a well evolved relationship". Virology 384(2): 410-414.

Goodwin, M. S. y A. A. Weiss (1990). "Adenylate cyclase toxin is critical for colonization and pertussis toxin is critical for lethal infection by *Bordetella pertussis* in infant mice". Infect Immun 58(10): 3445-3447.

Guermonprez et al. Journal of Experimental Medicine, 193(9), págs. 1035-1044, 2001 Heib, V., M. Becker et al. (2007). "Mast cells are crucial for early inflammation, migration of Langerhans cells, and CTL responses following topical application of TLR7 ligand in mice". Blood 110(3): 946-953.

Ingulli, E. (2007). "Tracing tolerance and immunity *in vivo* by CFSE-labeling of administered cells". Methods Mol Biol 380: 365-376.

Iwasaki, A. (2010). "Antiviral immune responses in the genital tract: clues for vaccines". Nat Rev Immunol 10(10): 699-711.

Johnston, D. y J. C. Bystry (2006). "Topical imiquimod is a potent adjuvant to a weakly-immunogenic protein prototype vaccine". Vaccine 24(11): 1958-1965.

Kaech, S. M., S. Hemby, et al. (2002). "Molecular and functional profiling of memory CD8 T cell differentiation". Cell 111(6): 837-851.

Ladant et al. Journal of Biological Chemistry, 267(4): 2244-2250, 1992.

Lin, K. Y., F. G. Guarnieri, et al. (1996). "Treatment of established tumors with a novel vaccine that enhances major histocompatibility class II presentation of tumor antigen". Cancer Res 56(1): 21-26.

Longhi, M. P., C. Trumpfheller, et al. (2009). "Dendritic cells require a systemic type I interferon response to mature and induce CD4⁺ Th1 immunity with poly IC as adjuvant". J Exp Med 206(7): 1589-1602.

Merad, M., F. Ginhoux, et al. (2008). "Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells". Nat Rev Immunol 8(12): 935-947.

Preville, X., D. Ladant, et al. (2005). "Eradication of established tumors by vaccination with recombinant *Bordetella pertussis* adenylate cyclase carrying the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein". Cancer Res 65(2): 641-649.

Pulendran, B., S. Li, et al. (2010). "Systems vaccinology". Immunity 33(4): 516-529.

Rosato, A., A. Zoso, et al. (2006). "Predicting tumor outcome following cancer vaccination by monitoring quantitative and qualitative CD8⁺ T cell parameters". J Immunol 176(3): 1999-2006.

Sallusto, F., A. Lanzavecchia, et al. (2010). "From vaccines to memory and back". Immunity 33(4): 451-463.

Schon, M. P. y M. Schon (2008). "TLR7 and TLR8 as targets in cancer therapy". Oncogene 27(2): 190-199. Schreiber, T. H., V. V. Deyev, et al. (2009). "Tumor-induced suppression of CTL expansion and subjugation by gp96-Ig vaccination". Cancer Res 69(5): 2026-2033.

Simsova, M., P. Sebo, et al. (2004). "The adenylate cyclase toxin from *Bordetella pertussis*--a novel promising vehicle for antigen delivery to dendritic cells". Int J Med Microbiol 293(7-8): 571-576.

Stanley, M. (2010). "Potential mechanisms for HPV vaccine-induced long-term protection". Gynecol Oncol 118(1 Supl): S2-7.

Trimble, C. L. y I. H. Frazer (2009). "Development of therapeutic HPV vaccines". Lancet Oncol 10(10): 975-980.

Woodland, D. L. y J. E. Kohlmeier (2009). "Migration, maintenance and recall of memory T cells in peripheral tissues". Nat Rev Immunol 9(3): 153-161.

Zwaveling, S., S. C. Ferreira Mota, et al. (2002). "Established human papillomavirus type 16-expressing tumors are effectively eradicated following vaccination with long peptides". J Immunol 169(1): 350-358.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GENTICEL

<120> POLIPÉPTIDO(S) LLEVADO(S) POR CYAA Y USO PARA INDUCIR RESPUESTAS INMUNITARIAS TERAPÉUTICAS Y PROFILÁTICAS.

<130> B09250A - AD/LV/KN

<140> PCT/EP XXXXXX

<141> 2012-01-24

<150> EP 11305069.4

<151> 2011-01-24

<160> 9

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1706

<212> PRT

<213> Bordetella pertussis / CyaA

<400> 1

```

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

Ser Gly Ile Pro Ala Ala Val Leu Asp Gly Ile Lys Ala Val Ala Lys
          20          25          30

Glu Lys Asn Ala Thr Leu Met Phe Arg Leu Val Asn Pro His Ser Thr
          35          40          45

Ser Leu Ile Ala Glu Gly Val Ala Thr Lys Gly Leu Gly Val His Ala
 50          55          60

Lys Ser Ser Asp Trp Gly Leu Gln Ala Gly Tyr Ile Pro Val Asn Pro
65          70          75          80

Asn Leu Ser Lys Leu Phe Gly Arg Ala Pro Glu Val Ile Ala Arg Ala
          85          90          95

Asp Asn Asp Val Asn Ser Ser Leu Ala His Gly His Thr Ala Val Asp
          100          105          110

Leu Thr Leu Ser Lys Glu Arg Leu Asp Tyr Leu Arg Gln Ala Gly Leu
          115          120          125

Val Thr Gly Met Ala Asp Gly Val Val Ala Ser Asn His Ala Gly Tyr
          130          135          140

Glu Gln Phe Glu Phe Arg Val Lys Glu Thr Ser Asp Gly Arg Tyr Ala

```

ES 2 748 381 T3

145		150		155		160
Val	Gln	Tyr	Arg	Arg	Lys	Val
			165			175
Ile	Gly	Asn	Ala	Ala	Gly	Ile
		180				185
Ala	Ile	Met	Pro	His	Leu	Ser
		195				200
Val	Thr	Ser	Gly	Asp	Ser	Val
		210				215
Ala	Ala	Ser	Glu	Ala	Thr	Gly
						230
Leu	Trp	Lys	Ile	Ala	Arg	Ala
						245
Ala	Arg	Arg	Gln	Phe	Arg	Tyr
						260
Thr	Asp	Phe	Glu	Leu	Glu	Val
		275				280
Ala	Val	Gly	Ala	Gln	Asp	Val
		290				295
Pro	Phe	Pro	Glu	Ala	Asp	Glu
						310
Glu	Ser	Gln	Met	Leu	Thr	Arg
						325
Gln	Arg	Gly	Glu	Gly	Tyr	Val
						340
Ala	Gly	Lys	Ser	Leu	Phe	Asp
						355
Pro	Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Phe
						370
Ala	Ser	Pro	Gly	Leu	Arg	Arg
						385

Asp Ser Gly Tyr Asp Ser Leu Asp Gly Val Gly Ser Arg Ser Phe Ser
 405 410 415
 Leu Gly Glu Val Ser Asp Met Ala Ala Val Glu Ala Ala Glu Leu Glu
 420 425 430
 Met Thr Arg Gln Val Leu His Ala Gly Ala Arg Gln Asp Asp Ala Glu
 435 440 445
 Pro Gly Val Ser Gly Ala Ser Ala His Trp Gly Gln Arg Ala Leu Gln
 450 455 460
 Gly Ala Gln Ala Val Ala Ala Ala Gln Arg Leu Val His Ala Ile Ala
 465 470 475 480
 Leu Met Thr Gln Phe Gly Arg Ala Gly Ser Thr Asn Thr Pro Gln Glu
 485 490 495
 Ala Ala Ser Leu Ser Ala Ala Val Phe Gly Leu Gly Glu Ala Ser Ser
 500 505 510
 Ala Val Ala Glu Thr Val Ser Gly Phe Phe Arg Gly Ser Ser Arg Trp
 515 520 525
 Ala Gly Gly Phe Gly Val Ala Gly Gly Ala Met Ala Leu Gly Gly Gly
 530 535 540
 Ile Ala Ala Ala Val Gly Ala Gly Met Ser Leu Thr Asp Asp Ala Pro
 545 550 555 560
 Ala Gly Gln Lys Ala Ala Ala Gly Ala Glu Ile Ala Leu Gln Leu Thr
 565 570 575
 Gly Gly Thr Val Glu Leu Ala Ser Ser Ile Ala Leu Ala Leu Ala Ala
 580 585 590
 Ala Arg Gly Val Thr Ser Gly Leu Gln Val Ala Gly Ala Ser Ala Gly
 595 600 605
 Ala Ala Ala Gly Ala Leu Ala Ala Ala Leu Ser Pro Met Glu Ile Tyr
 610 615 620
 Gly Leu Val Gln Gln Ser His Tyr Ala Asp Gln Leu Asp Lys Leu Ala
 625 630 635 640
 Gln Glu Ser Ser Ala Tyr Gly Tyr Glu Gly Asp Ala Leu Leu Ala Gln
 645 650 655

ES 2 748 381 T3

Leu Tyr Arg Asp Lys Thr Ala Ala Glu Gly Ala Val Ala Gly Val Ser
 660 665 670
 Ala Val Leu Ser Thr Val Gly Ala Ala Val Ser Ile Ala Ala Ala Ala
 675 680 685
 Ser Val Val Gly Ala Pro Val Ala Val Val Thr Ser Leu Leu Thr Gly
 690 695 700
 Ala Leu Asn Gly Ile Leu Arg Gly Val Gln Gln Pro Ile Ile Glu Lys
 705 710 715 720
 Leu Ala Asn Asp Tyr Ala Arg Lys Ile Asp Glu Leu Gly Gly Pro Gln
 725 730 735
 Ala Tyr Phe Glu Lys Asn Leu Gln Ala Arg His Glu Gln Leu Ala Asn
 740 745 750
 Ser Asp Gly Leu Arg Lys Met Leu Ala Asp Leu Gln Ala Gly Trp Asn
 755 760 765
 Ala Ser Ser Val Ile Gly Val Gln Thr Thr Glu Ile Ser Lys Ser Ala
 770 775 780
 Leu Glu Leu Ala Ala Ile Thr Gly Asn Ala Asp Asn Leu Lys Ser Val
 785 790 795 800
 Asp Val Phe Val Asp Arg Phe Val Gln Gly Glu Arg Val Ala Gly Gln
 805 810 815
 Pro Val Val Leu Asp Val Ala Ala Gly Gly Ile Asp Ile Ala Ser Arg
 820 825 830
 Lys Gly Glu Arg Pro Ala Leu Thr Phe Ile Thr Pro Leu Ala Ala Pro
 835 840 845
 Gly Glu Glu Gln Arg Arg Arg Thr Lys Thr Gly Lys Ser Glu Phe Thr
 850 855 860
 Thr Phe Val Glu Ile Val Gly Lys Gln Asp Arg Trp Arg Ile Arg Asp
 865 870 875 880
 Gly Ala Ala Asp Thr Thr Ile Asp Leu Ala Lys Val Val Ser Gln Leu
 885 890 895
 Val Asp Ala Asn Gly Val Leu Lys His Ser Ile Lys Leu Asp Val Ile
 900 905 910

ES 2 748 381 T3

Gly Gly Asp Gly Asp Asp Val Val Leu Ala Asn Ala Ser Arg Ile His
 915 920 925
 Tyr Asp Gly Gly Ala Gly Thr Asn Thr Val Ser Tyr Ala Ala Leu Gly
 930 935 940
 Arg Gln Asp Ser Ile Thr Val Ser Ala Asp Gly Glu Arg Phe Asn Val
 945 950 955 960
 Arg Lys Gln Leu Asn Asn Ala Asn Val Tyr Arg Glu Gly Val Ala Thr
 965 970 975
 Gln Thr Thr Ala Tyr Gly Lys Arg Thr Glu Asn Val Gln Tyr Arg His
 980 985 990
 Val Glu Leu Ala Arg Val Gly Gln Leu Val Glu Val Asp Thr Leu Glu
 995 1000 1005
 His Val Gln His Ile Ile Gly Gly Ala Gly Asn Asp Ser Ile Thr
 1010 1015 1020
 Gly Asn Ala His Asp Asn Phe Leu Ala Gly Gly Ser Gly Asp Asp
 1025 1030 1035
 Arg Leu Asp Gly Gly Ala Gly Asn Asp Thr Leu Val Gly Gly Glu
 1040 1045 1050
 Gly Gln Asn Thr Val Ile Gly Gly Ala Gly Asp Asp Val Phe Leu
 1055 1060 1065
 Gln Asp Leu Gly Val Trp Ser Asn Gln Leu Asp Gly Gly Ala Gly
 1070 1075 1080
 Val Asp Thr Val Lys Tyr Asn Val His Gln Pro Ser Glu Glu Arg
 1085 1090 1095
 Leu Glu Arg Met Gly Asp Thr Gly Ile His Ala Asp Leu Gln Lys
 1100 1105 1110
 Gly Thr Val Glu Lys Trp Pro Ala Leu Asn Leu Phe Ser Val Asp
 1115 1120 1125
 His Val Lys Asn Ile Glu Asn Leu His Gly Ser Arg Leu Asn Asp
 1130 1135 1140
 Arg Ile Ala Gly Asp Asp Gln Asp Asn Glu Leu Trp Gly His Asp

1145		1150		1155
Gly Asn Asp Thr Ile Arg	Gly Arg Gly Gly Asp Asp	Ile Leu Arg		
1160	1165	1170		
Gly Gly Leu Gly Leu Asp	Thr Leu Tyr Gly Glu Asp	Gly Asn Asp		
1175	1180	1185		
Ile Phe Leu Gln Asp Asp	Glu Thr Val Ser Asp Asp	Ile Asp Gly		
1190	1195	1200		
Gly Ala Gly Leu Asp Thr	Val Asp Tyr Ser Ala Met	Ile His Pro		
1205	1210	1215		
Gly Arg Ile Val Ala Pro	His Glu Tyr Gly Phe Gly	Ile Glu Ala		
1220	1225	1230		
Asp Leu Ser Arg Glu Trp	Val Arg Lys Ala Ser Ala	Leu Gly Val		
1235	1240	1245		
Asp Tyr Tyr Asp Asn Val	Arg Asn Val Glu Asn Val	Ile Gly Thr		
1250	1255	1260		
Ser Met Lys Asp Val Leu	Ile Gly Asp Ala Gln Ala	Asn Thr Leu		
1265	1270	1275		
Met Gly Gln Gly Gly Asp	Asp Thr Val Arg Gly Gly	Asp Gly Asp		
1280	1285	1290		
Asp Leu Leu Phe Gly Gly	Asp Gly Asn Asp Met Leu	Tyr Gly Asp		
1295	1300	1305		
Ala Gly Asn Asp Thr Leu	Tyr Gly Gly Leu Gly Asp	Asp Thr Leu		
1310	1315	1320		
Glu Gly Gly Ala Gly Asn	Asp Trp Phe Gly Gln Thr	Gln Ala Arg		
1325	1330	1335		
Glu His Asp Val Leu Arg	Gly Gly Asp Gly Val Asp	Thr Val Asp		
1340	1345	1350		
Tyr Ser Gln Thr Gly Ala	His Ala Gly Ile Ala Ala	Gly Arg Ile		
1355	1360	1365		
Gly Leu Gly Ile Leu Ala	Asp Leu Gly Ala Gly Arg	Val Asp Lys		
1370	1375	1380		

Leu Gly 1385	Glu Ala Gly Ser Ser 1390	Ala Tyr Asp Thr Val 1395	Ser Gly Ile
Glu Asn 1400	Val Val Gly Thr Glu 1405	Leu Ala Asp Arg Ile 1410	Thr Gly Asp
Ala Gln 1415	Ala Asn Val Leu Arg 1420	Gly Ala Gly Gly Ala 1425	Asp Val Leu
Ala Gly 1430	Gly Glu Gly Asp Asp 1435	Val Leu Leu Gly Gly 1440	Asp Gly Asp
Asp Gln 1445	Leu Ser Gly Asp Ala 1450	Gly Arg Asp Arg Leu 1455	Tyr Gly Glu
Ala Gly 1460	Asp Asp Trp Phe Phe 1465	Gln Asp Ala Ala Asn 1470	Ala Gly Asn
Leu Leu 1475	Asp Gly Gly Asp Gly 1480	Arg Asp Thr Val Asp 1485	Phe Ser Gly
Pro Gly 1490	Arg Gly Leu Asp Ala 1495	Gly Ala Lys Gly Val 1500	Phe Leu Ser
Leu Gly 1505	Lys Gly Phe Ala Ser 1510	Leu Met Asp Glu Pro 1515	Glu Thr Ser
Asn Val 1520	Leu Arg Asn Ile Glu 1525	Asn Ala Val Gly Ser 1530	Ala Arg Asp
Asp Val 1535	Leu Ile Gly Asp Ala 1540	Gly Ala Asn Val Leu 1545	Asn Gly Leu
Ala Gly 1550	Asn Asp Val Leu Ser 1555	Gly Gly Ala Gly Asp 1560	Asp Val Leu
Leu Gly 1565	Asp Glu Gly Ser Asp 1570	Leu Leu Ser Gly Asp 1575	Ala Gly Asn
Asp Asp 1580	Leu Phe Gly Gly Gln 1585	Gly Asp Asp Thr Tyr 1590	Leu Phe Gly
Val Gly 1595	Tyr Gly His Asp Thr 1600	Ile Tyr Glu Ser Gly 1605	Gly Gly His
Asp Thr 1610	Ile Arg Ile Asn Ala 1615	Gly Ala Asp Gln Leu 1620	Trp Phe Ala

Arg Gln Gly Asn Asp Leu Glu Ile Arg Ile Leu Gly Thr Asp Asp
1625 1630 1635

Ala Leu Thr Val His Asp Trp Tyr Arg Asp Ala Asp His Arg Val
1640 1645 1650

Glu Ile Ile His Ala Ala Asn Gln Ala Val Asp Gln Ala Gly Ile
1655 1660 1665

Glu Lys Leu Val Glu Ala Met Ala Gln Tyr Pro Asp Pro Gly Ala
1670 1675 1680

Ala Ala Ala Ala Pro Pro Ala Ala Arg Val Pro Asp Thr Leu Met
1685 1690 1695

Gln Ser Leu Ala Val Asn Trp Arg
1700 1705

<210> 2

<211> 1740

<212> PRT

<213> Bordetella parapertussis / CyaA

<400> 2

Met Leu Asp Val Trp Phe Leu Gln Lys Asp Glu Val Leu Ser Ala Thr
1 5 10 15

His Arg Leu Arg Arg Cys Glu Ser Val Gln Ser Thr Thr Tyr Arg Gln
20 25 30

Ile His Met Gln Gln Ser His Gln Ala Gly Tyr Ala Asn Ala Ala Asp
35 40 45

Arg Glu Ser Gly Ile Pro Ala Ala Val Leu Asp Gly Ile Lys Ala Val
50 55 60

Ala Lys Glu Lys Asn Ala Thr Leu Met Phe Arg Leu Val Asn Pro His
65 70 75 80

Ser Thr Ser Leu Ile Ala Glu Gly Val Ala Thr Lys Gly Leu Gly Val
85 90 95

His Ala Lys Ser Ser Asp Trp Gly Leu Gln Ala Gly Tyr Ile Pro Val
100 105 110

Asn Pro Asn Leu Ser Lys Leu Phe Gly Arg Ala Pro Glu Val Ile Ala
115 120 125

ES 2 748 381 T3

Arg Ala Asp Asn Asp Val Asn Ser Ser Leu Ala His Gly His Thr Ala
 130 135 140
 Val Asp Leu Thr Leu Ser Lys Glu Arg Leu Asp Tyr Leu Arg Gln Ala
 145 150 155 160
 Gly Leu Val Thr Gly Met Ala Asp Gly Val Val Ala Ser Asn His Ala
 165 170 175
 Gly Tyr Glu Gln Phe Glu Phe Arg Val Lys Glu Thr Ser Asp Gly Arg
 180 185 190
 Tyr Ala Val Gln Tyr Arg Arg Lys Gly Gly Asp Asp Phe Glu Ala Val
 195 200 205
 Lys Val Ile Gly Asn Ala Ala Gly Ile Pro Leu Thr Ala Asp Ile Asp
 210 215 220
 Met Phe Ala Ile Met Pro His Leu Ser Asn Phe Arg Asp Ser Ala Arg
 225 230 235 240
 Ser Ser Val Thr Ser Gly Asp Ser Val Thr Asp Tyr Leu Ala Arg Thr
 245 250 255
 Arg Arg Ala Ala Ser Glu Ala Thr Gly Gly Leu Asp Arg Glu Arg Ile
 260 265 270
 Asp Leu Leu Trp Lys Ile Ala Arg Ala Gly Ala Arg Ser Ala Val Gly
 275 280 285
 Thr Glu Ala Arg Arg Gln Phe Arg Tyr Asp Gly Asp Met Asn Ile Gly
 290 295 300
 Val Ile Thr Asp Phe Glu Leu Glu Val Arg Asn Ala Leu Asn Arg Arg
 305 310 315 320
 Ala His Ala Val Gly Ala Gln Asp Val Val Gln His Gly Thr Glu Gln
 325 330 335
 Asn Asn Pro Phe Pro Glu Ala Asp Glu Lys Ile Phe Val Val Ser Ala
 340 345 350
 Thr Gly Glu Ser Gln Met Leu Thr Arg Gly Gln Leu Lys Glu Tyr Ile
 355 360 365
 Gly Gln Gln Arg Gly Glu Gly Tyr Val Phe Tyr Glu Asn Arg Ala Tyr
 370 375 380

Gly Val Ala Gly Lys Ser Leu Phe Asp Asp Gly Leu Gly Ala Ala Pro
 385 390 395 400
 Gly Val Pro Gly Gly Arg Ser Lys Ser Ser Pro Asp Val Leu Glu Thr
 405 410 415
 Val Pro Ala Ser Pro Gly Leu Arg Arg Pro Ser Leu Gly Ala Val Glu
 420 425 430
 Arg Gln Asp Ser Gly Tyr Asp Ser Leu Asp Gly Val Gly Ser Arg Ser
 435 440 445
 Phe Ser Leu Gly Glu Val Ser Asp Met Ala Ala Val Glu Ala Ala Glu
 450 455 460
 Leu Glu Met Thr Arg Gln Val Leu His Ala Gly Ala Arg Gln Asp Asp
 465 470 475 480
 Ala Glu Pro Gly Val Ser Gly Ala Ser Ala His Trp Gly Gln Arg Ala
 485 490 495
 Leu Gln Gly Ala Gln Ala Val Ala Ala Ala Gln Arg Leu Val His Ala
 500 505 510
 Ile Ala Leu Met Thr Gln Phe Gly Arg Ala Gly Ser Thr Asn Thr Pro
 515 520 525
 Gln Glu Ala Ala Ser Leu Ser Ala Ala Val Phe Gly Leu Gly Glu Ala
 530 535 540
 Ser Ser Ala Val Ala Glu Thr Val Ser Gly Phe Phe Arg Gly Ser Ser
 545 550 555 560
 Arg Trp Ala Gly Gly Phe Gly Val Ala Gly Gly Ala Met Ala Leu Gly
 565 570 575
 Gly Gly Ile Ala Ala Ala Val Gly Ala Gly Met Ser Leu Thr Asp Asp
 580 585 590
 Ala Pro Ala Gly Gln Lys Ala Ala Val Gly Ala Glu Ile Ala Leu Gln
 595 600 605
 Leu Thr Gly Gly Thr Val Glu Leu Ala Ser Ser Ile Ala Leu Ala Leu
 610 615 620
 Ala Ala Ala Arg Gly Val Thr Ser Gly Leu Gln Val Ala Gly Ala Ser

625					630						635				640
Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Leu	Ser	Pro	Met	Glu
				645					650					655	
Ile	Tyr	Gly	Leu	Val	Gln	Gln	Ser	His	Tyr	Ala	Asp	Gln	Leu	Asp	Lys
			660					665					670		
Leu	Ala	Gln	Glu	Ser	Ser	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Glu	Gly	Asp	Ala	Leu	Leu
		675					680					685			
Ala	Gln	Leu	Tyr	Arg	Asp	Lys	Thr	Ala	Ala	Glu	Gly	Ala	Val	Ala	Gly
		690				695					700				
Val	Ser	Ala	Val	Leu	Ser	Thr	Val	Gly	Ala	Ala	Val	Ser	Ile	Ala	Ala
705					710					715					720
Ala	Ala	Ser	Val	Val	Gly	Ala	Pro	Val	Ala	Val	Val	Thr	Ser	Leu	Leu
				725					730					735	
Thr	Gly	Ala	Leu	Asn	Gly	Ile	Leu	Arg	Gly	Val	Gln	Gln	Pro	Ile	Ile
			740					745					750		
Glu	Lys	Leu	Ala	Asn	Asp	Tyr	Ala	Arg	Lys	Ile	Asp	Glu	Leu	Gly	Gly
		755					760					765			
Pro	Gln	Ala	Tyr	Phe	Glu	Lys	Asn	Leu	Gln	Ala	Arg	His	Glu	Gln	Leu
		770				775					780				
Ala	Asn	Ser	Asp	Gly	Leu	Arg	Lys	Met	Leu	Ala	Asp	Leu	Gln	Ala	Gly
785					790					795					800
Trp	Asn	Ala	Ser	Ser	Val	Ile	Gly	Val	Gln	Thr	Thr	Glu	Ile	Ser	Lys
				805					810					815	
Ser	Ala	Leu	Glu	Leu	Ala	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	Ala	Asp	Asn	Leu	Lys
			820					825					830		
Ser	Ala	Asp	Val	Phe	Val	Asp	Arg	Phe	Ile	Gln	Gly	Glu	Arg	Val	Ala
		835					840					845			
Gly	Gln	Pro	Val	Val	Leu	Asp	Val	Ala	Ala	Gly	Gly	Ile	Asp	Ile	Ala
		850				855						860			
Ser	Arg	Lys	Gly	Glu	Arg	Pro	Ala	Leu	Thr	Phe	Ile	Thr	Pro	Leu	Ala
865					870					875					880

Ala Pro Gly Glu Glu Gln Arg Arg Arg Thr Lys Thr Gly Lys Ser Glu
885 890 895

Phe Thr Thr Phe Val Glu Ile Val Gly Lys Gln Asp Arg Trp Arg Ile
900 905 910

Arg Asp Gly Ala Ala Asp Thr Thr Ile Asp Leu Ala Lys Val Val Ser
915 920 925

Gln Leu Val Asp Ala Asn Gly Val Leu Lys His Ser Ile Lys Leu Glu
930 935 940

Val Ile Gly Gly Asp Gly Asp Asp Val Val Leu Ala Asn Ala Ser Arg
945 950 955 960

Ile His Tyr Asp Gly Gly Ala Gly Thr Asn Thr Val Ser Tyr Ala Ala
965 970 975

Leu Gly Arg Gln Asp Ser Ile Thr Val Ser Ala Asp Gly Glu Arg Phe
980 985 990

Asn Val Arg Lys Gln Leu Asn Asn Ala Asn Val Tyr Arg Glu Gly Val
995 1000 1005

Ala Thr Gln Lys Thr Ala Tyr Gly Lys Arg Thr Glu Asn Val Gln
1010 1015 1020

Tyr Arg His Val Glu Leu Ala Arg Val Gly Gln Leu Val Glu Val
1025 1030 1035

Asp Thr Leu Glu His Val Gln His Ile Ile Gly Gly Ala Gly Asn
1040 1045 1050

Asp Ser Ile Thr Gly Asn Ala His Asp Asn Phe Leu Ala Gly Gly
1055 1060 1065

Ala Gly Asp Asp Arg Leu Asp Gly Gly Ala Gly Asn Asp Thr Leu
1070 1075 1080

Val Gly Gly Glu Gly His Asn Thr Val Val Gly Gly Ala Gly Asp
1085 1090 1095

Asp Val Phe Leu Gln Asp Leu Gly Val Trp Ser Asn Gln Leu Asp
1100 1105 1110

Gly Gly Ala Gly Val Asp Thr Val Lys Tyr Asn Val His Gln Pro
1115 1120 1125

ES 2 748 381 T3

Ser	Glu	Glu	Arg	Leu	Glu	Arg	Met	Gly	Asp	Thr	Gly	Ile	His	Ala
1130						1135					1140			
Asp	Leu	Gln	Lys	Gly	Thr	Val	Glu	Lys	Trp	Pro	Ala	Leu	Asn	Leu
1145						1150					1155			
Phe	Ser	Val	Asp	His	Val	Lys	Asn	Ile	Glu	Asn	Leu	His	Gly	Ser
1160						1165					1170			
Ser	Leu	Asn	Asp	Ser	Ile	Ala	Gly	Asp	Asp	Arg	Asp	Asn	Glu	Leu
1175						1180					1185			
Trp	Gly	Asp	Asp	Gly	Asn	Asp	Thr	Ile	His	Gly	Arg	Gly	Gly	Asp
1190						1195					1200			
Asp	Ile	Leu	Arg	Gly	Gly	Leu	Gly	Leu	Asp	Thr	Leu	Tyr	Gly	Glu
1205						1210					1215			
Asp	Gly	Asn	Asp	Ile	Phe	Leu	Gln	Asp	Asp	Glu	Thr	Val	Ser	Asp
1220						1225					1230			
Asp	Ile	Asp	Gly	Gly	Ala	Gly	Leu	Asp	Thr	Val	Asp	Tyr	Ser	Ala
1235						1240					1245			
Met	Ile	His	Ala	Gly	Lys	Ile	Val	Ala	Pro	His	Glu	Tyr	Gly	Phe
1250						1255					1260			
Gly	Ile	Glu	Ala	Asp	Leu	Ser	Glu	Gly	Trp	Val	Arg	Lys	Ala	Ala
1265						1270					1275			
Arg	Arg	Gly	Met	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Val	Arg	Ser	Val	Glu	Asn
1280						1285					1290			
Val	Ile	Gly	Thr	Ser	Met	Lys	Asp	Val	Leu	Ile	Gly	Asp	Ala	Gln
1295						1300					1305			
Ala	Asn	Thr	Leu	Met	Gly	Gln	Gly	Gly	Asp	Asp	Thr	Val	Arg	Gly
1310						1315					1320			
Gly	Asp	Gly	Asp	Asp	Leu	Leu	Phe	Gly	Gly	Asp	Gly	Asn	Asp	Met
1325						1330					1335			
Leu	Tyr	Gly	Asp	Ala	Gly	Asn	Asp	Thr	Leu	Tyr	Gly	Gly	Leu	Gly
1340						1345					1350			
Asp	Asp	Thr	Leu	Glu	Gly	Gly	Ala	Gly	Asn	Asp	Trp	Phe	Gly	Gln
1355						1360					1365			

ES 2 748 381 T3

Thr	Pro	Ala	Arg	Glu	His	Asp	Val	Leu	Arg	Gly	Gly	Ala	Gly	Val
	1370					1375					1380			
Asp	Thr	Val	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ala	Gly	Ala	His	Ala	Gly	Val	Ala
	1385					1390					1395			
Thr	Gly	Arg	Ile	Gly	Leu	Gly	Ile	Leu	Ala	Asp	Leu	Gly	Ala	Gly
	1400					1405					1410			
Arg	Val	Asp	Lys	Leu	Gly	Glu	Ala	Gly	Ser	Ser	Ala	Tyr	Asp	Thr
	1415					1420					1425			
Val	Ser	Gly	Ile	Glu	Asn	Val	Val	Gly	Thr	Glu	Leu	Ala	Asp	Arg
	1430					1435					1440			
Ile	Thr	Gly	Asp	Ala	Gln	Ala	Asn	Val	Leu	Arg	Gly	Ala	Gly	Gly
	1445					1450					1455			
Ala	Asp	Val	Leu	Ala	Gly	Gly	Glu	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Leu	Gly
	1460					1465					1470			
Gly	Glu	Gly	Asp	Asp	Gln	Leu	Ser	Gly	Asp	Ala	Gly	Arg	Asp	Arg
	1475					1480					1485			
Leu	Tyr	Gly	Glu	Ala	Gly	Asp	Asp	Trp	Phe	Phe	Gln	Asp	Ala	Ala
	1490					1495					1500			
Asn	Ala	Gly	Asn	Leu	Leu	Asp	Gly	Gly	Asp	Gly	Asn	Asp	Thr	Val
	1505					1510					1515			
Asp	Phe	Ser	Gly	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Asp	Ala	Gly	Ala	Lys	Gly
	1520					1525					1530			
Val	Phe	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Gly	Phe	Ala	Ser	Leu	Met	Asp	Glu
	1535					1540					1545			
Pro	Glu	Thr	Ser	Asn	Val	Leu	Arg	His	Ile	Glu	Asn	Ala	Val	Gly
	1550					1555					1560			
Ser	Val	Arg	Asp	Asp	Val	Leu	Ile	Gly	Asp	Ala	Gly	Ala	Asn	Val
	1565					1570					1575			
Leu	Asn	Gly	Leu	Ala	Gly	Asn	Asp	Val	Leu	Ser	Gly	Gly	Ala	Gly
	1580					1585					1590			
Asp	Asp	Val	Leu	Leu	Gly	Asp	Glu	Gly	Ser	Asp	Leu	Leu	Ser	Gly

ES 2 748 381 T3

```

1595                      1600                      1605

Asp Ala Gly Asn Asp Asp Leu Phe Gly Gly Gln Gly Asp Asp Thr
1610                      1615                      1620

Tyr Leu Phe Gly Ala Gly Tyr Gly His Asp Thr Ile Tyr Glu Ser
1625                      1630                      1635

Gly Gly Gly His Asp Thr Ile Arg Ile Asn Ala Gly Ala Asp Gln
1640                      1645                      1650

Leu Trp Phe Ala Arg Gln Gly Asn Asp Leu Glu Ile Arg Ile Leu
1655                      1660                      1665

Gly Thr Asp Asp Ala Leu Thr Val His Asp Trp Tyr Arg Asp Ala
1670                      1675                      1680

Asp His Arg Val Glu Ala Ile His Ala Ala Asn Gln Ala Ile Asp
1685                      1690                      1695

Pro Ala Gly Ile Glu Lys Leu Val Glu Ala Met Ala Gln Tyr Pro
1700                      1705                      1710

Asp Pro Gly Ala Ala Ala Ala Ala Pro Pro Ala Ala Arg Val Pro
1715                      1720                      1725

Asp Thr Leu Met Gln Ser Leu Ala Val Asn Trp Arg
1730                      1735                      1740

```

<210> 3
 <211> 1740
 <212> PRT
 <213> Bordetella bronchiseptica / CyaA
 <400> 3

```

Met Leu Asp Val Trp Phe Leu Gln Lys Asp Glu Val Leu Ser Ala Thr
1      5      10      15

His Arg Leu Arg Arg Cys Glu Ser Val Gln Ser Thr Thr Tyr Arg Gln
20      25      30

Ile His Met Gln Gln Ser His Gln Ala Gly Tyr Ala Asn Ala Ala Asp
35      40      45

Arg Glu Ser Gly Ile Pro Ala Ala Val Leu Asp Gly Ile Lys Ala Val
50      55      60

Ala Lys Glu Lys Asn Ala Thr Leu Met Phe Arg Leu Val Asn Pro His

```


ES 2 748 381 T3

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

Ala His Ala Val Gly Ala Gln Asp Val Val Gln His Gly Thr Glu Gln
325 330 335

Asn Asn Pro Phe Pro Glu Ala Asp Glu Lys Ile Phe Val Val Ser Ala
340 345 350

Thr Gly Glu Ser Gln Met Leu Thr Arg Gly Gln Leu Lys Glu Tyr Ile
355 360 365

Gly Gln Gln Arg Gly Glu Gly Tyr Val Phe Tyr Glu Asn Arg Ala Tyr
370 375 380

Gly Val Ala Gly Lys Ser Leu Phe Asp Asp Gly Leu Gly Ala Ala Pro
385 390 395 400

Gly Val Pro Gly Gly Arg Ser Lys Ser Ser Pro Asp Val Leu Glu Thr
405 410 415

Val Pro Ala Ser Pro Gly Leu Arg Arg Pro Ser Leu Gly Ala Val Glu
420 425 430

Arg Gln Asp Ser Gly Tyr Asp Ser Leu Asp Gly Val Gly Ser Arg Ser
435 440 445

Phe Ser Leu Gly Glu Val Ser Asp Met Ala Ala Val Glu Ala Ala Glu
450 455 460

Leu Glu Met Thr Arg Gln Val Leu His Ala Gly Ala Arg Gln Asp Asp
465 470 475 480

Ala Glu Pro Gly Val Ser Gly Ala Ser Ala His Trp Gly Gln Arg Ala
485 490 495

Leu Gln Gly Ala Gln Ala Val Ala Ala Ala Gln Arg Leu Val His Ala
500 505 510

Ile Ala Leu Met Thr Gln Phe Gly Arg Ala Gly Ser Thr Asn Thr Pro
515 520 525

Gln Glu Ala Ala Ser Leu Ser Ala Ala Val Phe Gly Leu Gly Glu Ala
530 535 540

Ser Ser Ala Val Ala Glu Thr Val Ser Gly Phe Phe Arg Gly Ser Ser
545 550 555 560

Arg Trp Ala Gly Gly Phe Gly Val Ala Gly Gly Ala Met Ala Leu Gly
565 570 575

ES 2 748 381 T3

Gly Gly Ile Ala Ala Ala Val Gly Ala Gly Met Ser Leu Thr Asp Asp
 580 585 590

Ala Pro Ala Gly Gln Lys Ala Ala Ala Gly Ala Glu Ile Ala Leu Gln
 595 600 605

Leu Thr Gly Gly Thr Val Glu Leu Ala Ser Ser Ile Ala Leu Ala Leu
 610 615 620

Ala Ala Ala Arg Gly Val Thr Ser Gly Leu Gln Val Ala Gly Ala Ser
 625 630 635 640

Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Leu Ala Ala Ala Leu Ser Pro Met Glu
 645 650 655

Ile Tyr Gly Leu Val Gln Gln Ser His Tyr Ala Asp Gln Leu Asp Lys
 660 665 670

Leu Ala Gln Glu Ser Ser Ala Tyr Gly Tyr Glu Gly Asp Ala Leu Leu
 675 680 685

Ala Gln Leu Tyr Arg Asp Lys Thr Ala Ala Glu Gly Ala Val Ala Gly
 690 695 700

Val Ser Ala Val Leu Ser Thr Val Gly Ala Ala Val Ser Ile Ala Ala
 705 710 715 720

Ala Ala Ser Val Val Gly Ala Pro Val Ala Val Val Thr Ser Leu Leu
 725 730 735

Thr Gly Ala Leu Asn Gly Ile Leu Arg Gly Val Gln Gln Pro Ile Ile
 740 745 750

Glu Lys Leu Ala Asn Asp Tyr Ala Arg Lys Ile Asp Glu Leu Gly Gly
 755 760 765

Pro Gln Ala Tyr Phe Glu Lys Asn Leu Gln Ala Arg His Glu Gln Leu
 770 775 780

Ala Asn Ser Asp Gly Leu Arg Lys Met Leu Ala Asp Leu Gln Ala Gly
 785 790 795 800

Trp Asn Ala Ser Ser Val Ile Gly Val Gln Thr Thr Glu Ile Ser Lys
 805 810 815

Ser Ala Leu Glu Leu Ala Ala Ile Thr Gly Asn Ala Asp Asn Leu Lys
 820 825 830

ES 2 748 381 T3

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

ES 2 748 381 T3

1070		1075		1080
Val Gly 1085	Gly Glu Gly His	Asn 1090	Thr Val Val Gly Gly 1095	Ala Gly Asp
Asp Val 1100	Phe Leu Gln Asp	Leu 1105	Gly Val Trp Ser Asn 1110	Gln Leu Asp
Gly Gly 1115	Ala Gly Val Asp	Thr 1120	Val Lys Tyr Asn Val 1125	His Gln Pro
Ser Glu 1130	Glu Arg Leu Glu	Arg 1135	Met Gly Asp Thr Gly 1140	Ile His Ala
Asp Leu 1145	Gln Lys Gly Thr	Val 1150	Glu Lys Trp Pro Ala 1155	Leu Asn Leu
Phe Ser 1160	Val Asp His Val	Lys 1165	Asn Ile Glu Asn Leu 1170	His Gly Ser
Ser Leu 1175	Asn Asp Ser Ile	Ala 1180	Gly Asp Asp Arg Asp 1185	Asn Glu Leu
Trp Gly 1190	Asp Asp Gly Asn	Asp 1195	Thr Ile His Gly Arg 1200	Gly Gly Asp
Asp Ile 1205	Leu Arg Gly Gly	Leu 1210	Gly Leu Asp Thr Leu 1215	Tyr Gly Glu
Asp Gly 1220	Asn Asp Ile Phe	Leu 1225	Gln Asp Asp Glu Thr 1230	Val Ser Asp
Asp Ile 1235	Asp Gly Gly Ala	Gly 1240	Leu Asp Thr Val Asp 1245	Tyr Ser Ala
Met Ile 1250	His Ala Gly Lys	Ile 1255	Val Ala Pro His Glu 1260	Tyr Gly Phe
Gly Ile 1265	Glu Ala Asp Leu	Ser 1270	Glu Gly Trp Val Arg 1275	Lys Ala Ala
Arg Arg 1280	Gly Met Asp Tyr	Tyr 1285	Asp Ser Val Arg Ser 1290	Val Glu Asn
Val Ile 1295	Gly Thr Ser Met	Lys 1300	Asp Val Leu Ile Gly 1305	Asp Ala Gln

ES 2 748 381 T3

Ala Asn 1310	Thr Leu Met Gly Gln 1315	Gly Gly Asp Asp Thr 1320	Val Arg Gly
Gly Asp 1325	Gly Asp Asp Leu Leu 1330	Phe Gly Gly Asp Gly 1335	Asn Asp Met
Leu Tyr 1340	Gly Asp Ala Gly Asn 1345	Asp Thr Leu Tyr Gly 1350	Gly Leu Gly
Asp Asp 1355	Thr Leu Glu Gly Gly 1360	Ala Gly Asn Asp Trp 1365	Phe Gly Gln
Thr Pro 1370	Ala Arg Glu His Asp 1375	Val Leu Arg Gly Gly 1380	Ala Gly Val
Asp Thr 1385	Val Asp Tyr Ser Gln 1390	Ala Gly Ala His Ala 1395	Gly Val Ala
Thr Gly 1400	Arg Ile Gly Leu Gly 1405	Ile Leu Ala Asp Leu 1410	Gly Ala Gly
Arg Val 1415	Asp Lys Leu Gly Glu 1420	Ala Gly Ser Ser Ala 1425	Tyr Asp Thr
Val Ser 1430	Gly Ile Glu Asn Val 1435	Val Gly Thr Glu Leu 1440	Ala Asp Arg
Ile Thr 1445	Gly Asp Ala Gln Ala 1450	Asn Val Leu Arg Gly 1455	Ala Gly Gly
Ala Asp 1460	Val Leu Ala Gly Gly 1465	Glu Gly Asp Asp Val 1470	Leu Leu Gly
Gly Asp 1475	Gly Asp Asp Gln Leu 1480	Ser Gly Asp Ala Gly 1485	Arg Asp Arg
Leu Tyr 1490	Gly Glu Ala Gly Asp 1495	Asp Trp Phe Phe Gln 1500	Asp Ala Ala
Asn Ala 1505	Gly Asn Leu Leu Asp 1510	Gly Gly Asp Gly Asn 1515	Asp Thr Val
Asp Phe 1520	Ser Gly Pro Gly Arg 1525	Gly Leu Asp Ala Gly 1530	Ala Lys Gly
Val Phe 1535	Leu Ser Leu Gly Lys 1540	Gly Phe Ala Ser Leu 1545	Met Asp Glu

Pro	Glu	Thr	Ser	Asn	Val	Leu	Arg	His	Ile	Glu	Asn	Ala	Val	Gly
1550						1555					1560			
Ser	Val	Arg	Asp	Asp	Val	Leu	Ile	Gly	Asp	Ala	Gly	Ala	Asn	Val
1565						1570					1575			
Leu	Asn	Gly	Leu	Ala	Gly	Asn	Asp	Val	Leu	Ser	Gly	Gly	Ala	Gly
1580						1585					1590			
Asp	Asp	Val	Leu	Leu	Gly	Asp	Glu	Gly	Ser	Asp	Leu	Leu	Ser	Gly
1595						1600					1605			
Asp	Ala	Gly	Asn	Asp	Asp	Leu	Phe	Gly	Gly	Gln	Gly	Asp	Asp	Thr
1610						1615					1620			
Tyr	Leu	Phe	Gly	Ala	Gly	Tyr	Gly	His	Asp	Thr	Ile	Tyr	Glu	Ser
1625						1630					1635			
Gly	Gly	Gly	His	Asp	Thr	Ile	Arg	Ile	Asn	Ala	Gly	Ala	Asp	Gln
1640						1645					1650			
Leu	Trp	Phe	Ala	Arg	Gln	Gly	Asn	Asp	Leu	Glu	Ile	Arg	Ile	Leu
1655						1660					1665			
Gly	Thr	Asp	Asp	Ala	Leu	Thr	Val	His	Asp	Trp	Tyr	Arg	Asp	Ala
1670						1675					1680			
Asp	His	Arg	Val	Glu	Ala	Ile	His	Ala	Ala	Asn	Gln	Ala	Ile	Asp
1685						1690					1695			
Pro	Ala	Gly	Ile	Glu	Lys	Leu	Val	Glu	Ala	Met	Ala	Gln	Tyr	Pro
1700						1705					1710			
Asp	Pro	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Pro	Pro	Ala	Ala	Arg	Val	Pro
1715						1720					1725			
Asp	Thr	Leu	Met	Gln	Ser	Leu	Ala	Val	Asn	Trp	Arg			
1730						1735					1740			

<210> 4
 <211> 5121
 <212> ADN
 <213> Bordetella pertussis / gen de CyaA

<400> 4

atgcagcaat cgcatacaggc tggttacgca aacgccgccg accgggagtc tggcatcccc	60
gcagccgtac tcgatggcat caaggccgtg gcgaaggaaa aaaacgccac attgatgttc	120

cgcttggtca	acccccattc	caccagcctg	attgccgaag	gggtggccac	caaaggattg	180
ggcgtgcacg	ccaagtcgtc	cgattggggg	ttgcaggcgg	gctacattcc	cgtaacccg	240
aatctttcca	aactgttcgg	ccgtgcgccc	gaggtgatcg	cgcgggccga	caacgacgtc	300
aacagcagcc	tggcgcatgg	ccatacccg	gtcgacctga	cgctgtcgaa	agagcggctt	360
gactatctgc	ggcaagcggg	cctggtcacc	ggcatggccg	atggcgtggt	cgcgagcaac	420
cacgcaggct	acgagcagtt	cgagtttcgc	gtgaaggaaa	cctcggacgg	gcgtatgcc	480
gtgcagtatc	gccgaagg	cgcgacgat	ttcgaggcgg	tcaaggatgat	cggaatgcc	540
gccggtattc	cactgacggc	ggatatcgac	atgttcgcca	ttatgccgca	tctgtccaac	600
ttccgcgact	cggcgcgcag	ttcggtgacc	agcggcgatt	cggtgaccga	ttacctggcg	660
cgcacgcggc	gggcccag	cgaggccacg	ggcggcctgg	atcgcgaa	catcgacttg	720
ttgtggaaaa	tcgctcgcgc	cggcgcccgt	tccgcagtgg	gcaccgaggc	gcgtcgccag	780
ttccgctacg	acggcgacat	gaatatcggc	gtgatcaccg	atttcgagct	ggaagtgcgc	840
aatgcgctga	acaggcgggc	gcacgccgtc	ggcgcgcagg	acgtggtcca	gcatggcact	900
gagcagaaca	atcctttccc	ggaggcagat	gagaagattt	tcgtcgtatc	ggccaccggt	960
gaaagccaga	tgctcacgcg	cgggcaactg	aaggaataca	ttggccagca	gcgcggcgag	1020
ggctatgtct	tctacgagaa	ccgtgcatac	ggcgtggcgg	ggaaaagcct	gttcgacgat	1080
gggctgggag	ccgcgcccgg	cgtgccgagc	ggacgttcga	agttctcgcc	ggatgtactg	1140
gaaacggtgc	cggcgtcacc	cggattgcgg	cgccgctgcg	tgggcgcagt	ggaacgccag	1200
gattccggct	atgacagcct	tgatgggggtg	ggatcgcgat	cgttctcgtt	ggcgagggtg	1260
tccgacatgg	ccgccgtgga	agcggcggaa	ctggaaatga	cccggcaagt	cttgcaagcc	1320
ggggcgcggc	aggacgatgc	cgagccgggc	gtgagcggtg	cgtcggcgca	ctgggggcag	1380
cgggcgctgc	agggcgccca	ggcggtggcg	gcggcgacgc	ggctggttca	tgccattgcc	1440
ctgatgacgc	aattcggcgg	ggccggttcc	accaacacgc	cgcaggaagc	ggcctcgttg	1500
tcggcgggccg	tgttcggctt	gggcgaggcc	agcagcgccg	tggccgaaac	cgtgagcggg	1560
tttttccgcg	ggtcttcgcg	ctgggcccgc	ggtttcggcg	tggctggcgg	cgcatggcg	1620
ctgggaggcg	gcatcgccgc	ggccgttggc	gccgggatgt	cgttgaccga	tgacgcgccg	1680
gccggacaga	aggccgccgc	cggcgcccag	atcgcgctgc	agttgacagg	tggaacggtc	1740
gagctggctt	cttccatcgc	gttggcgctg	gccgcggcgc	gcggcgtagc	cagcggcttg	1800
caggtggccg	gggcgtcggc	cggggcggct	gccggcgcat	tggccgcggc	gctcagtcct	1860
atggagatct	acggcctggt	gcagcaatcg	cactatgcgg	atcagctgga	caagctggcg	1920
caggaatcga	gcgcatacgg	ttacgagggc	gacgccttgc	tggcccagct	gtatcgcgac	1980
aagacggccg	ccgagggcgc	cgtcgccggc	gtctccgccc	tcctgagcac	ggtgggggcg	2040

ES 2 748 381 T3

gcggtgtcga	tcgccgcggc	ggccagcgtg	gtagggggcc	cggtggcggg	ggtcacttcc	2100
ttgctgaccg	gggtctctca	cggcatacctg	cgcggcgtgc	agcagcccat	catcgaaaag	2160
ctggccaacg	attacgctcg	caagatcgac	gagctgggcg	ggccgcaagc	gtacttcgag	2220
aaaaacctgc	aggcgcgtca	cgaacaactg	gccaatcggg	acggcctacg	gaaaatgctg	2280
gccgacctgc	aggccgggtg	gaacgccagc	agcgtgatcg	gggtgcagac	gacagagatc	2340
tccaagtogg	cgctcgaact	ggccgccatt	accggcaacg	cggacaacct	gaaatccgtc	2400
gacgtgttcg	tggaccgctt	cgtccagggc	gagcgggtgg	ccggccagcc	ggtggctctc	2460
gacgtcgccg	ccggcgccat	cgatatcgcc	agccgcaagg	gcgagcggcc	ggcgtcgacg	2520
ttcatcacgc	cgctggccgc	gccaggagaa	gagcagcgcc	ggcgcacgaa	aacgggcaag	2580
agcgaattca	ccacattcgt	cgagatcgtg	ggcaagcagg	accgctggcg	catccgggac	2640
ggcgcggccg	acaccacat	cgatctggcc	aagtggtgtg	cgcaactggg	cgacgccaat	2700
ggcgtgctca	agcacagcat	caaactggat	gtgatcggcg	gagatggcga	tgacgtcgtg	2760
cttgccaatg	cttcgcgcgt	ccattatgac	ggcggcgccg	gcaccaacac	ggtcagctat	2820
gccgccctgg	gtcgacagga	ttccattacc	gtgtccgccg	acggggaacg	tttcaacgtg	2880
cgcaagcagt	tgaacaacgc	caacgtgtat	cgcaaggcg	tggctacca	gacaaccgcc	2940
tacggcaagc	gcacggagaa	tgtccaatac	cgccatgtcg	agctggcccg	tgtcgggcaa	3000
ctggtggagg	tcgacacgct	cgagcatgtg	cagcacatca	tcggcggggc	cggcaacgat	3060
tcgatcaccg	gcaatgcgca	cgacaacttc	ctagccggcg	ggtcggggcg	cgacaggctg	3120
gatggcggcg	ccggcaacga	caccctgggt	ggcggcgagg	gccaaaacac	ggtcatcggc	3180
ggcgcggcg	acgacgtatt	cctgcaggac	ctgggggtat	ggagcaacca	gctcgatggc	3240
ggcgcggcg	tcgataccgt	gaagtacaac	gtgcaccagc	cttcogagga	gcgcctcgaa	3300
cgcatggggc	acacgggcat	ccatgccgat	cttcaaaagg	gcacggtcga	gaagtggccg	3360
gccctgaacc	tgttcagcgt	cgaccatgtc	aagaatatcg	agaatctgca	cggctcccgc	3420
ctgaacgacc	gcatcgccgg	cgacgaccag	gacaacgagc	tctggggcca	cgatggcaac	3480
gacacgatac	gcggccgggg	cggcgacgac	atcctgcgcg	gcggcctggg	cctggacacg	3540
ctgtatggcg	aggacggcaa	cgacatcttc	ctgcaggacg	acgagaccgt	cagcgatgac	3600
atcgacggcg	gcgcggggct	ggacaccgtc	gactactccg	ccatgatcca	tccaggcagg	3660
atcgttgccg	cgcatgaata	cggcttcggg	atcgaggcgg	acctgtccag	ggaatgggtg	3720
cgcaaggcgt	ccgcgctggg	cgtggactat	tacgataatg	tccgcaatgt	cgaaaacgtc	3780
atcgttacga	gcatgaagga	tgtgctcatc	ggcgacgcgc	aagccaatac	cctgatgggc	3840
cagggcgggc	acgataccgt	gcgcggcggc	gacggcgatg	atctgctgtt	cggcgggcgac	3900

ggcaacgaca tgctgtatgg cgacgccggc aacgacaccc tctacggggg gctgggcgac 3960
gatacccttg aaggcggcgc gggcaacgat tggttcggcc agacgcaggc gcgcgagcat 4020
gacgtgctgc gcgccggaga tggggtggat accgtcgatt acagccagac cggcgcgcat 4080
gccggcattg ccgccgggtcg catcgggctg ggcacacctg ctgacctggg ccgccggccgc 4140
gtcgacaagc tgggcgaggc cggcagcagc gcctacgata cggtttccgg tatcgagaac 4200
gtggtgggca cggaactggc cgaccgcac acgggcgatg cgaggccaa cgtgctgcgc 4260
ggcgcgggtg gcgccgacgt gcttgcgggc ggcgagggcg acgatgtgct gctgggcggc 4320
gacggcgacg accagctgtc gggcgacgcc ggacgcgac gcttgtacgg cgaagccggt 4380
gacgactggt tcttccagga tgccccaat gccggcaatc tgctcgacgg cggcgacggc 4440
cgcgataccg tggatttcag cgcccgggc cggggcctcg acgccggcg aaagggcgta 4500
ttcctgagct tgggcaaggg gttcgccagc ctgatggacg aaccgaaac cagcaacgtg 4560
ttgcgcaata tcgagaacgc cgtgggcagc gcgcgtgatg acgtgctgat cggcgacgca 4620
ggcgccaacg tcctcaatgg cctggcgggc aacgacgtgc tgtccggcgg cgctggcgac 4680
gatgtgctgc tgggcgacga gggctcggac ctgctcagcg gcgatgcggg caacgacgat 4740
ctgttcggcg ggcagggcga tgatacttat ctgttcgggg tcgggtacgg gcacgacacg 4800
atctacgaat cgggcggcgg ccatgacacc atccgcatca acgcgggggc ggaccagctg 4860
tggttcgcgc gccagggcaa cgacctggag atccgcattc tcggcaccga cgatgcactt 4920
accgtgcacg actggtatcg cgacccgat caccgggtgg aaatcatcca tgccgccaac 4980
caggcggtag accaggcagg catcgaaaag ctggtcgagg caatggcgca gtatccggac 5040
cccggcgcg cggcggctgc cccgccggcg gcgcgcgtgc cggacacgct gatgcagtcc 5100
ctggctgtca actggcgctg a 5121

<210> 5
<211> 5223
<212> ADN
<213> Bordetella parapertussis / gen de CyaA

<400> 5

gtgctggatg tttggttctt gcagaaggat gaggttctga gcgctacaca ccggttgct 60
cgggtcgaat ccgttcaatc gactacttat cgacagatcc acatgcagca atcgcatcag 120
gctggttacg caaacgccgc cgaccgggag tctggcatcc ccgcagccgt actcgatggc 180
atcaaggccg tggcgaagga aaaaaacgcc acattgatgt tccgcctggt caacccccat 240
tccaccagcc tgattgccga aggggtggcc accaaaggat tgggcgtgca cgccaagtgc 300
tccgattggg ggttgcaggc gggctacatt cccgtcaacc cgaatctttc caaactgttc 360
ggccgtgcgc ccgaggtgat gcgcggggcc gacaacgacg tcaacagcag cctggcgcat 420

ggccataaccg	cggtcgacct	gacgctgtcg	aaagagcggc	ttgactatct	gcggaagcg	480
ggcctgggtca	ccggcatggc	cgatggcgtg	gtcgcgagca	accacgcagg	ctacgagcag	540
ttcgagtttc	gcgtgaagga	aacctcggac	gggcgctatg	ccgtgcagta	tcgccgcaag	600
ggcggcgacg	atttcgaggc	ggtcaaggtg	atcggcaatg	ccgccggtat	tccactgacg	660
gcggatatcg	acatgttcgc	catcatgccg	catctgtcca	acttccgcga	ctcggcgcg	720
agttcgggtga	ccagcggcga	ttcggtgacc	gattacctgg	cgcgcacgcg	gcgggccgcc	780
agcgaggcca	cgggcggcct	ggatcgcgaa	cgcacgcact	tgttgtggaa	aatcgctcgc	840
gcgggcgcc	gttccgcagt	gggcaccgag	gcgcgtcgcc	agttccgcta	cgacggcgac	900
atgaatatcg	gcgtgatcac	cgatttcgag	ctggaagtgc	gcaatgcgct	gaacaggcgg	960
gcgcacgccg	tcggcgcgca	ggacgtggtc	cagcatggca	ctgagcagaa	caatcctttc	1020
ccggaggcag	atgagaagat	tttcgtcgta	tcggccaccg	gtgaaagcca	gatgctcacg	1080
cgcgggcaac	tgaaggaata	cattggccag	cagcgcggcg	agggctatgt	cttctacgag	1140
aaccgtgcat	acggcgtggc	ggggaaaagc	ctgttcgacg	atgggctggg	agccgcgcc	1200
ggcgtgccgg	gcggacgttc	gaagtcctcg	ccggatgtac	tggaaacggc	gccggcgtca	1260
cccggattgc	ggcgcccgtc	gctgggcgca	gtggaacgcc	aggattccgg	ctatgacagc	1320
cttgatgggg	tgggatcgcg	atcgttctcg	ttgggcgagg	tgtccgacat	ggccgcctg	1380
gaagcggcgg	aactggaaat	gaccgcgcaa	gtcttgacg	ccggggcgcg	gcaggacgat	1440
gccgagccgg	gcgtgagcgg	tgcgtcggcg	cactgggggc	agcgggcgct	gcagggcgcc	1500
caggcgggtg	cggcggcgca	gcggctgggt	catgccattg	ccctgatgac	gcaattcggc	1560
cgggcgggtt	ccaccaacac	gccgcaggaa	gcggcctcgt	tgtcggcggc	cgtgttcggc	1620
ttgggcgagg	ccagcagcgc	cgtggccgaa	accgtgagcg	gttttttcgg	cgggtcttcg	1680
cgtggggccg	gcgttttcgg	cgtggctggc	ggcgcgatgg	cgtgggagg	cggcatcgcc	1740
gcggccgttg	gcgcgggat	gtcgttgacc	gatgacgcgc	cggccggaca	gaaggccgcc	1800
gtcggcgccg	agatcgcgct	gcagttgaca	ggtggaacgg	tcgagctggc	ttcttccatc	1860
gcgttggcgc	tggccgcggc	gcgcggcgtg	accagcggct	tcaggtggc	gggggcgtcg	1920
gcggggcgcg	ctgccggcgc	attggccgcg	gcgctcagtc	ccatggagat	ctacggcctg	1980
gtgcagcaat	cgactatgc	ggatcagctg	gacaagctgg	cgcaggaatc	gagcgcatac	2040
ggttacgagg	gcgacgcctt	gctggcccag	ctgtatcgcg	acaagacggc	cggcgagggc	2100
gccgtcgccg	gcgtctccgc	cgtcctgagc	acgggtgggg	cggcggtgtc	gatcgccgcg	2160
gcggccagcg	tggtaggcgc	cccggtggcg	gtggctcactt	ccttgttgac	cggggctctc	2220
aacggcatcc	tgcgcggcgt	gcagcagccc	atcatcgaaa	agctggccaa	tgattacgct	2280
cgaagatcg	acgagctggg	cgggccgcaa	gcgtacttcg	agaaaaacct	gcaggcgcg	2340

cacgaacaac	tggccaattc	ggacggccta	cggaaaatgc	tggctgacct	gcaggccggg	2400
tggaacgcca	gcagcgtgat	cggggtgcag	acgacagaga	tttccaagtc	ggcgtcgaa	2460
ctggccgcca	ttaccggcaa	cgcggacaac	ctgaaatccg	ccgacgtgtt	cgtggaccgc	2520
ttcatccagg	gcgagcgggt	ggccggccag	ccggtggtac	tcgacgtcgc	cgccggcggc	2580
atcgatatcg	ccagccgcaa	ggcgagcgg	ccggcgctga	cgttcatcac	gccgctggcc	2640
gcgccaggag	aagagcagcg	ccggcgcacg	aagacgggca	agagcgaatt	caccacattc	2700
gtcgagatcg	tgggcaagca	ggaccgctgg	cgcacccggg	acggcgcggc	cgacaccacc	2760
atcgatctgg	ccaagtggt	gtcgcaactg	gtcgacgcca	atggcgtgct	caagcacagc	2820
atcaaactgg	aggtgatcgg	cggagatggc	gatgatgtcg	tgcttgccaa	tgcttcgcgc	2880
atccattacg	acggcggcgc	gggaaccaac	acggtcagct	atgccgccct	gggccgacag	2940
gattccatta	ccgtgtccgc	cgacggggaa	cgtttcaacg	tgcgcaagca	gttgaacaac	3000
gccaacgtgt	atcggaagg	cgtggctacc	cagaaaaccg	cctacggcaa	gcgcacggag	3060
aatgtccaat	accgccatgt	cgagctggcc	cgtgtcgggc	aactggtgga	ggtcgacacg	3120
ctcgagcatg	tgcagcacat	catcggcggg	gccggcaacg	attcgatcac	cggcaatgcg	3180
cacgacaact	tcctggccgg	cggggcgggc	gacgacaggc	tggtatggcg	cgccggcaac	3240
gacacactgg	tcggcggcga	gggccacaac	acggtcgtcg	gcggcgctgg	cgacgacgta	3300
ttcctgcagg	acctgggggt	atggagcaac	cagctcgatg	gcggcgcggg	cgctcgatacc	3360
gtgaagtaca	acgtgcacca	gccttccgag	gaacgcctcg	aacgcattgg	cgacacgggc	3420
atccatgccg	atcttcaaaa	gggcacggtc	gagaagtggc	cggccctgaa	cctgttcagc	3480
gtcgaccatg	tcaagaatat	cgagaatctg	cacggctcca	gcctgaacga	cagcatcgcc	3540
ggcgacgacc	gggacaacga	gctctggggc	gacgatggca	acgacacgat	acacggccgg	3600
ggcggcgacg	atatcctgcg	cggcggcctg	ggcctggaca	cgctgtatgg	cgaggacggc	3660
aacgacatct	tcctgcagga	cgacgagacc	gtcagcgatg	acatcgacgg	cggcgcgggg	3720
ctggacaccg	tcgactattc	cgccatgatc	catgcaggca	agatcgttgc	gccgcatgaa	3780
tacggcttcg	ggatcgaggc	ggacctgtcc	gaaggggtgg	tgcgcaaggc	ggcccggcgc	3840
ggcatgggct	actacgacag	tgtccgcagt	gtcgaaaacg	tcacgggcac	gagcatgaag	3900
gatgtgctca	tcggcgacgc	gcaagccaat	accctgatgg	gccagggcgg	cgacgatacc	3960
gtgcgcggcg	gcgacggcga	tgatctgctg	ttcggcgcg	acggcaacga	catgctgtat	4020
ggagacgccg	gcaacgacac	cctctacgga	gggctgggcg	acgataccct	tgaaggcggc	4080
gcgggcaacg	attggttcgg	ccagacgccg	gcgcgcgagc	atgacgtgct	gcgcggcggg	4140
gctgggggtg	ataccgtgga	ttacagccag	gcgggcgcgc	atgccggcgt	tgccacgggt	4200

ES 2 748 381 T3

cgcatcgggc tgggtattct ggcggacctg ggcgcgggcc gcgtcgacaa gctgggcgag	4260
gccggcagca gcgcctacga tacggtttcc ggcacgaaa atgtggtggg cacggaactg	4320
gccgaccgca tcacgggcga tgcgcaggcc aacgtactgc gcggcgcggg tgggtccgac	4380
gtgcttgccg gcggcgaggg cgacgatgtg ctgctgggcg gcgagggcga tgaccagctg	4440
tcgggcgacg ccggacgcga ccgcttgtag ggcgaagccg gtgacgactg gttcttcag	4500
gatgccgcca atgccggcaa tctgctcgac ggtggtgacg gcaacgatac cgtggatttc	4560
agcgcccgcg gccggggcct cgacgcgggc gcaaagggcg tattcctgag cctgggcaag	4620
gggttcgcca gcctgatgga cgaacccgaa accagcaacg tgttgcgcca tatcgagaac	4680
gccgtgggca gcgtgcgtga tgacgtgctg atcggcgacg caggcgccaa cgtcctcaat	4740
ggcctggcgg gcaacgacgt gttgtccggc ggcgcgggcg acgatgtgct gctgggcgac	4800
gagggctcgg acctgctcag cggcgatgcg ggcaacgacg atctgttcgg cgggcagggc	4860
gatgatacct atctgttcgg ggccgggtac ggacatgaca cgatctacga atcggggcg	4920
ggccatgaca ccatccgtat caacgcgggg gcggaccagc tgtggtttgc gcgccagggc	4980
aacgacctgg agatccgcat tcttggcacc gacgatgcac ttaccgtgca cgactggtat	5040
cgcgacgcgg atcaccgggt ggaagccatc catgccgcca accaggccat agaccggcc	5100
ggcatcgaaa agctggtcga ggcaatggcg cagtaccggg accccggcg gcggcgggct	5160
gccccgcgg cggcgcgcgt gccggacacg ctgatgcagt ccctggctgt caactggcgc	5220
tga	5223

<210> 6
 <211> 5223
 <212> ADN
 <213> Bordetella bronchiseptica / gen de CyaA

<400> 6

gtgctggatg tttggttctt gcagaaggat gaggttctga gcgctacaca ccggttgct	60
cggtgcgaat ccgttcaatc gactacttat cgacagatcc acatgcagca atcgcatcag	120
gctggttacg caaacgcgc cgaccgggag tctggcatcc ccgcagccgt actcgatggc	180
atcaaggccg tggcgaagga aaaaaacgcc acattgatgt tccgcctggt caaccccat	240
tccaccagcc tgattgccga aggggtggcc accaaaggat tgggcgtgca cgccaagtcg	300
tccgattggg ggttgaggc gggctacatt cccgtcaacc cgaatcttc caaactgttc	360
ggccgtgcgc ccgaggtgat cgcgcgggcc gacaacgacg tcaacagcag cctggcgcat	420
ggccataccg cggtcgacct gacgctgtcg aaagagcggc ttgactatct gcggcaagcg	480
ggcctggtca ccggcatggc cgatggcgtg gtcgcgagca accacgcagg ctacgagcag	540
ttcgagtttc gcgtgaagga aacctcggac gggcgctatg ccgtgcagta tcgccgaag	600

ggcggcgacg atttcgaggc ggtcaaggtg atcggcaatg ccgccggtat tccactgacg	660
gcg gatatcg acatgttcgc catcatgccg catctgtcca acttcgcga ctcggcgcgc	720
agttcgggtga ccagcggcga ttccggtgacc gattacctgg cgcgcacgcg gcgggcccgc	780
agc gaggcca cgggcggcct ggatcgcgaa cgc atcgact tgttgtgaa aatcgctcgc	840
gccggcgccc gttccgcagt gggcaccgag gcgcgtcgcc agttccgcta cgacggcgac	900
atgaatatcg gcgtgatcac cgatttcgag ctggaagtgc gcaatgcgct gaacaggcgg	960
gcgcacgccg tcggcgcgca ggacgtggtc cagcatggca ctgagcagaa caatcctttc	1020
ccggaggcag atgagaagat tttcgtcgta tcggccaccg gtgaaagcca gatgctcacg	1080
cgcgggcaac tgaaggaata cattggccag cagcgcggcg agggctatgt cttctacgag	1140
aaccgtgctg acggcgtggc ggggaaaagc ctgttcgacg atgggctggg agccgcgccc	1200
ggcgtgccgg gcggacgttc gaagtcctcg ccggatgtac tggaaacggt gccggcgta	1260
cccggattgc ggcggccgct gctgggcgca gtggaacgcc aggattccgg ctatgacagc	1320
cttgatgggg tgggatcgcg atcgttctcg ttgggcgagg tgtccgacat ggccgccgtg	1380
gaagcggcgg aactggaaat gacccggcaa gtcttgacg ccggggcgcg gcaggacgat	1440
gccgagccgg gcgtgagcgg tgcgtcggcg cactgggggc agcgggcgct gcagggcgcc	1500
caggcgggtg cggcggcgca gcggctggtt catgccattg ccctgatgac gcaattcggc	1560
cgggccggtt ccaccaacac gccgcaggaa gcggcctcgt tgtcggcggc cgtgttcggc	1620
ttgggcgagg ccagcagcgc cgtggccgaa accgtgagcg gttttttccg cgggtcttcg	1680
cgctgggccg gcggtttcgg cgtggctggc ggcgcgatgg cgctgggagg cggcatcgcc	1740
gcggccgttg gcgccgggat gtcgttgacc gatgacgcgc cggccggaca gaaggccgcc	1800
gccggcgccg agatcgcgct gcagttgaca ggtggaacgg tcgagctggc ttcttccatc	1860
gcgttggcgc tggccgcggc gcgcggcggt accagcggct tgcagggtggc gggggcgctc	1920
gccggggcgg ctgccggcg attgccgcg gcgctcagtc ccatggagat ctacggcctg	1980
gtgcagcaat cgcactatgc ggatcagctg gacaagctgg cgcaggaatc gagcgatac	2040
ggttacgagg gcgacgcctt gctggcccag ctgtatcgcg acaagacggc cgccgagggc	2100
gccgtcgccg gcgtctccgc cgtcctgagc acggtggggg ctgcggtgtc gatcgccgcg	2160
gcggccagcg tggtaggcgc cccggtggcg gtggtcactt ccttggtgac cggggctctc	2220
aacggcatcc tgcgcggcgt gcagcagccc atcatcgaaa agctggccaa tgattacgct	2280
cgcaagatcg acgagctggg cgggccgcaa gcgtacttcg agaaaaacct gcaggcgct	2340
cacgaacaac tggccaattc ggacggccta cggaatatgc tggccgacct gcaggccggg	2400
tggaacgcca gcagcgtgat cggggtgcag acgacagaga tttccaagtc ggcgctcgaa	2460
ctggccgcca ttaccggcaa cgcggacaac ctgaaatccg ccgacgtgtt cgtggaccgc	2520

ttcatccagg gcgagcgggt ggccggccag ccggtggtac tgcacgtcgc cgccggcggc	2580
atcgatatcg ccagccgcaa gggcgagcgg ccggcgctga cgttcatcac gccgctggcc	2640
gcgccaggag aagagcagcg ccggcgcacg aaaacgggca agagcgaatt caccacattc	2700
gtcgagatcg tgggcaagca ggaccgctgg cgcacccggg acggcgcggc cgacaccacc	2760
atcgatctgg ccaaggtggt gtcgcaactg gtcgacgcca atggcgtgct caagcacagc	2820
atcaaactgg aggtgatcgg cggagatggc gatgatgtcg tgcttgccaa tgcttcgcgc	2880
atccattacg acggcggcgc gggaaccaac acggtcagct atgccgccct gggccgacag	2940
gattccatta ccgtgtccgc cgacggggaa cgtttcaacg tgcgcaagca gttgaacaac	3000
gccaacgtgt atcgcaagg cgtggctacc cagaaaaccg cctacggcaa gcgcacggag	3060
aatgtccaat accgccatgt cgagctggcc cgtgtcgggc aactggtgga ggtcgacacg	3120
ctcgagcatg tgcagcacat catcgcgggg gccggcaacg attcgatcac cggcaatgcg	3180
cacgacaact tcctggccgg cggggcgggc gacgacaggc tggatggcgg cgccggcaac	3240
gacacactgg tcggcggcga gggccacaac acggtcgtcg gcggcgctgg cgacgacgta	3300
ttcctgcagg acctgggggt atggagcaac cagctcgatg gcggcgcggg cgtcgatacc	3360
gtgaagtaca acgtgcacca gccttccgag gaacgcctcg aacgcatggg cgacacgggc	3420
atccatgccg atcttcaaaa gggcacggtc gagaagtggc cggccctgaa cctgttcagc	3480
gtcgaccatg tcaagaatat cgagaatctg cagggctcca gcctgaacga cagcatcgcc	3540
ggcgacgacc gggacaacga gctctggggc gacgatggca acgacacgat acacggccgg	3600
ggcgcgacg atatcctgcg cggcggcctg ggcctggaca cgctgtatgg cgaggacggc	3660
aacgacatct tcctgcagga cgacgagacc gtcagcgatg acatcgacgg tggcgcggga	3720
ctggacaccg tcgactattc cgccatgatc catgcaggca agatcgttgc gccgcatgaa	3780
tacggcttcg ggatcgaggc ggacctgtcc gaagggtggg tgcgcaaggc ggcccggcgc	3840
ggcatggact actacgacag tgtccgcagt gtcgaaaacg tcatcggcac gagcatgaag	3900
gatgtgctca tcggcgacgc gcaagccaat accctgatgg gccagggcgg cgacgatacc	3960
gtgcgcggcg gcgacggcga tgatctgctg ttcggcggcg acggcaacga catgctgtat	4020
ggagacgccg gcaacgacac cctctacgga gggctggcg acgataccct tgaaggcggc	4080
gcgggcaacg attggttcgg ccagacgccg gcgcgcgagc atgacgtgct gcgcggcggg	4140
gctggggtgg ataccgtgga ttacagccag gcgggcgcgc atgccggcgt tgccacgggt	4200
cgcacgggc tgggtattct ggcgacctg ggcgccggcc gcgtcgacaa gctggcgag	4260
gccggcagca gcgcctacga tacggtttcc ggcatcgaaa atgtggtggg cacggaactg	4320
gccgaccgca tcacgggcga tgcgcaggcc aacgtactgc gcggcgcggg tggcgccgac	4380

```

gtgcttgccg gcggcgaggg cgacgatgtg ctgctgggcg gcgacggcga cgaccagctg 4440
tcgggagcag ccggagcgga ccgcttgtag gggaagccg gtgacgactg gttcttccag 4500
gatgccgcca atgccggcaa tctgctcgac ggtggtgacg gcaacgatac cgtggatttc 4560
agcggccccg gccggggcct cgacgccggc gcaaagggcg tattcctgag cctgggcaag 4620
gggttcgcca gcctgatgga cgaacccgaa accagcaacg tgttgcgcca tatcgagaac 4680
gccgtgggca gcgtgcgtga tgacgtgctg atcggcgacg caggcgccaa cgtcctcaat 4740
ggcctggcgg gcaacgacgt gctgtccggc ggcgccggcg acgatgtgct gctgggagac 4800
gagggctcgg acctgctcag cggcgatgag ggcaacgacg atctgttcgg cgggcagggc 4860
gatgatacct atctgttcgg ggccgggtac ggacatgaca cgatctacga atcgggcggc 4920
ggccatgaca ccatccgtat caacgcgggg gcggaccagc tgtggtttgc gcgccagggc 4980
aacgacctgg agatccgcat tcttggcacc gacgatgcac ttaccgtgca cgactggtat 5040
cgcgacgccg atcaccgggt ggaagccatc catgccgcca accaggccat agaccgggcc 5100
ggcatcgaaa agctggtcga ggcaatggcg cagtaccggg accccggcgc ggcgggggct 5160
gccccgccgg cggcgcgcggt gccggacacg ctgatgcagt ccctggctgt caactggcgc 5220
tga 5223

```

<210> 7
 <211> 1872
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> CyaA - vector mage A3
 <400> 7

```

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

Ser Gly Ile Pro Ala Ala Val Leu Asp Gly Ile Lys Ala Val Ala Lys
          20          25          30

Glu Lys Asn Ala Thr Leu Met Phe Arg Leu Val Asn Pro His Ser Thr
          35          40          45

Ser Leu Ile Ala Glu Gly Val Ala Thr Lys Gly Leu Gly Val His Ala
          50          55          60

Lys Ser Ser Asp Trp Gly Leu Gln Ala Gly Tyr Ile Pro Val Asn Pro
          65          70          75          80

Asn Leu Ser Lys Leu Phe Gly Arg Ala Pro Glu Val Ile Ala Arg Ala
          85          90          95

```


Asp Asn Asp Val Asn Ser Ser Leu Ala His Gly His Thr Ala Val Asp
 100 105 110
 Leu Thr Leu Ser Lys Glu Arg Leu Asp Tyr Leu Arg Gln Ala Gly Leu
 115 120 125
 Val Thr Gly Met Ala Asp Gly Val Val Ala Ser Asn His Ala Gly Tyr
 130 135 140
 Glu Gln Phe Glu Phe Arg Val Lys Glu Thr Ser Asp Gly Arg Tyr Ala
 145 150 155 160
 Val Gln Tyr Arg Arg Lys Gly Gly Asp Asp Phe Glu Ala Val Lys Val
 165 170 175
 Ile Gly Asn Ala Ala Gly Ile Pro Leu Thr Ala Asp Leu Gln Ile Asp
 180 185 190
 Met Phe Ala Ile Met Pro His Leu Ser Asn Phe Arg Asp Ser Ala Arg
 195 200 205
 Ser Ser Val Thr Ser Gly Asp Ser Val Thr Asp Tyr Leu Ala Arg Thr
 210 215 220
 Arg Arg Ala Ser Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala
 225 230 235 240
 Leu Ser Arg Lys Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr
 245 250 255
 Arg Ala Arg Glu Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val
 260 265 270
 Gly Asn Trp Gln Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser
 275 280 285
 Ser Leu Gln Leu Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile
 290 295 300
 Gly His Leu Tyr Ile Phe Gly Thr Arg Ala Arg Leu Lys Leu Leu Trp
 305 310 315 320
 Lys Ile Ala Arg Ala Gly Ala Arg Ser Ala Val Gly Thr Glu Ala Arg
 325 330 335
 Arg Gln Phe Arg Tyr Asp Gly Asp Met Asn Ile Gly Val Ile Thr Asp

340	345	350
Phe Glu Leu Glu Val Arg Asn Ala Leu Asn Arg Arg Ala His Ala Val		
355	360	365
Gly Ala Gln Asp Val Val Gln His Gly Thr Glu Gln Asn Asn Pro Phe		
370	375	380
Pro Glu Ala Asp Glu Lys Ile Phe Val Val Ser Ala Thr Gly Leu Gly		
385	390	400
Asp Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala		
405	410	415
Ile Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Pro Lys		
420	425	430
Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr Arg		
435	440	445
Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu Trp Gly Pro		
450	455	460
Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His His Met Val		
465	470	475
Lys Ile Ser Gly Thr Ser Glu Ser Gln Met Leu Thr Arg Gly Gln Leu		
485	490	495
Lys Glu Tyr Ile Gly Gln Gln Arg Gly Glu Gly Tyr Val Phe Tyr Glu		
500	505	510
Asn Arg Ala Tyr Gly Val Ala Gly Lys Ser Leu Phe Asp Asp Gly Leu		
515	520	525
Gly Ala Ala Pro Gly Val Pro Ser Gly Arg Ser Lys Phe Ser Pro Asp		
530	535	540
Val Leu Glu Thr Val Pro Ala Ser Pro Gly Leu Arg Arg Pro Ser Leu		
545	550	555
Gly Ala Val Glu Arg Gln Asp Ser Gly Tyr Asp Ser Leu Asp Gly Val		
565	570	575
Gly Ser Arg Ser Phe Ser Leu Gly Glu Val Ser Asp Met Ala Ala Val		
580	585	590

Glu	Ala	Ala	Glu	Leu	Glu	Met	Thr	Arg	Gln	Val	Leu	His	Ala	Gly	Ala		
		595					600					605					
Arg	Gln	Asp	Asp	Ala	Glu	Pro	Gly	Val	Ser	Gly	Ala	Ser	Ala	His	Trp		
	610					615					620						
Gly	Gln	Arg	Ala	Leu	Gln	Gly	Ala	Gln	Ala	Val	Ala	Ala	Ala	Gln	Arg		
625					630					635					640		
Leu	Val	His	Ala	Ile	Ala	Leu	Met	Thr	Gln	Phe	Gly	Arg	Ala	Gly	Ser		
				645					650					655			
Thr	Asn	Thr	Pro	Gln	Glu	Ala	Ala	Ser	Leu	Ser	Ala	Ala	Val	Phe	Gly		
			660					665						670			
Leu	Gly	Glu	Ala	Ser	Ser	Ala	Val	Ala	Glu	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Phe		
		675					680						685				
Arg	Gly	Ser	Ser	Arg	Trp	Ala	Gly	Gly	Phe	Gly	Val	Ala	Gly	Gly	Ala		
	690					695					700						
Met	Ala	Leu	Gly	Gly	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Val	Gly	Ala	Gly	Met	Ser		
705					710					715					720		
Leu	Thr	Asp	Asp	Ala	Pro	Ala	Gly	Gln	Lys	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Glu		
				725					730						735		
Ile	Ala	Leu	Gln	Leu	Thr	Gly	Gly	Thr	Val	Glu	Leu	Ala	Ser	Ser	Ile		
			740					745					750				
Ala	Leu	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly	Val	Thr	Ser	Gly	Leu	Gln	Val		
		755					760					765					
Ala	Gly	Ala	Ser	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala	Gly	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Leu		
	770					775					780						
Ser	Pro	Met	Glu	Ile	Tyr	Gly	Leu	Val	Gln	Gln	Ser	His	Tyr	Ala	Asp		
785					790					795					800		
Gln	Leu	Asp	Lys	Leu	Ala	Gln	Glu	Ser	Ser	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Glu	Gly		
			805						810					815			
Asp	Ala	Leu	Leu	Ala	Gln	Leu	Tyr	Arg	Asp	Lys	Thr	Ala	Ala	Glu	Gly		
			820					825						830			
Ala	Val	Ala	Gly	Val	Ser	Ala	Val	Leu	Ser	Thr	Val	Gly	Ala	Ala	Val		
		835					840					845					

ES 2 748 381 T3

Ser Ile Ala Ala Ala Ala Ser Val Val Gly Ala Pro Val Ala Val Val
 850 855 860
 Thr Ser Leu Leu Thr Gly Ala Leu Asn Gly Ile Leu Arg Gly Val Gln
 865 870 875 880
 Gln Pro Ile Ile Glu Lys Leu Ala Asn Asp Tyr Ala Arg Lys Ile Asp
 885 890 895
 Glu Leu Gly Gly Pro Gln Ala Tyr Phe Glu Lys Asn Leu Gln Ala Arg
 900 905 910
 His Glu Gln Leu Ala Asn Ser Asp Gly Leu Arg Lys Met Leu Ala Asp
 915 920 925
 Leu Gln Ala Gly Trp Asn Ala Ser Ser Val Ile Gly Val Gln Thr Thr
 930 935 940
 Glu Ile Ser Lys Ser Ala Leu Glu Leu Ala Ala Ile Thr Gly Asn Ala
 945 950 955 960
 Asp Asn Leu Lys Ser Val Asp Val Phe Val Asp Arg Phe Val Gln Gly
 965 970 975
 Glu Arg Val Ala Gly Gln Pro Val Val Leu Asp Val Ala Ala Gly Gly
 980 985 990
 Ile Asp Ile Ala Ser Arg Lys Gly Glu Arg Pro Ala Leu Thr Phe Ile
 995 1000 1005
 Thr Pro Leu Ala Ala Pro Gly Glu Glu Gln Arg Arg Arg Thr Lys
 1010 1015 1020
 Thr Gly Lys Ser Glu Phe Thr Thr Phe Val Glu Ile Val Gly Lys
 1025 1030 1035
 Gln Asp Arg Trp Arg Ile Arg Asp Gly Ala Ala Asp Thr Thr Ile
 1040 1045 1050
 Asp Leu Ala Lys Val Val Ser Gln Leu Val Asp Ala Asn Gly Val
 1055 1060 1065
 Leu Lys His Ser Ile Lys Leu Asp Val Ile Gly Gly Asp Gly Asp
 1070 1075 1080
 Asp Val Val Leu Ala Asn Ala Ser Arg Ile His Tyr Asp Gly Gly
 1085 1090 1095

Ala Gly	Thr Asn Thr Val	Ser	Tyr Ala Ala Leu Gly	Arg Gln Asp
1100		1105		1110
Ser Ile	Thr Val Ser Ala Asp	Gly Glu Arg Phe Asn	Val Arg Lys	
1115		1120		1125
Gln Leu	Asn Asn Ala Asn Val	Tyr Arg Glu Gly Val	Ala Thr Gln	
1130		1135		1140
Thr Thr	Ala Tyr Gly Lys Arg	Thr Glu Asn Val Gln	Tyr Arg His	
1145		1150		1155
Val Glu	Leu Ala Arg Val Gly	Gln Leu Val Glu Val	Asp Thr Leu	
1160		1165		1170
Glu His	Val Gln His Ile Ile	Gly Gly Ala Gly Asn	Asp Ser Ile	
1175		1180		1185
Thr Gly	Asn Ala His Asp Asn	Phe Leu Ala Gly Gly	Ser Gly Asp	
1190		1195		1200
Asp Arg	Leu Asp Gly Gly Ala	Gly Asn Asp Thr Leu	Val Gly Gly	
1205		1210		1215
Glu Gly	Gln Asn Thr Val Ile	Gly Gly Ala Gly Asp	Asp Val Phe	
1220		1225		1230
Leu Gln	Asp Leu Gly Val Trp	Ser Asn Gln Leu Asp	Gly Gly Ala	
1235		1240		1245
Gly Val	Asp Thr Val Lys Tyr	Asn Val His Gln Pro	Ser Glu Glu	
1250		1255		1260
Arg Leu	Glu Arg Met Gly Asp	Thr Gly Ile His Ala	Asp Leu Gln	
1265		1270		1275
Lys Gly	Thr Val Glu Lys Trp	Pro Ala Leu Asn Leu	Phe Ser Val	
1280		1285		1290
Asp His	Val Lys Asn Ile Glu	Asn Leu His Gly Ser	Arg Leu Asn	
1295		1300		1305
Asp Arg	Ile Ala Gly Asp Asp	Gln Asp Asn Glu Leu	Trp Gly His	
1310		1315		1320
Asp Gly	Asn Asp Thr Ile Arg	Gly Arg Gly Gly Asp	Asp Ile Leu	

ES 2 748 381 T3

1325	1330	1335
Arg Gly 1340	Gly Leu Gly Leu Asp 1345	Thr Leu Tyr Gly Glu Asp Gly Asn 1350
Asp Ile 1355	Phe Leu Gln Asp Asp 1360	Glu Thr Val Ser Asp Asp Ile Asp 1365
Gly Gly 1370	Ala Gly Leu Asp Thr 1375	Val Asp Tyr Ser Ala Met Ile His 1380
Pro Gly 1385	Arg Ile Val Ala Pro 1390	His Glu Tyr Gly Phe Gly Ile Glu 1395
Ala Asp 1400	Leu Ser Arg Glu Trp 1405	Val Arg Lys Ala Ser Ala Leu Gly 1410
Val Asp 1415	Tyr Tyr Asp Asn Val 1420	Arg Asn Val Glu Asn Val Ile Gly 1425
Thr Ser 1430	Met Lys Asp Val Leu 1435	Ile Gly Asp Ala Gln Ala Asn Thr 1440
Leu Met 1445	Gly Gln Gly Gly Asp 1450	Asp Thr Val Arg Gly Gly Asp Gly 1455
Asp Asp 1460	Leu Leu Phe Gly Gly 1465	Asp Gly Asn Asp Met Leu Tyr Gly 1470
Asp Ala 1475	Gly Asn Asp Thr Leu 1480	Tyr Gly Gly Leu Gly Asp Asp Thr 1485
Leu Glu 1490	Gly Gly Ala Gly Asn 1495	Asp Trp Phe Gly Gln Thr Gln Ala 1500
Arg Glu 1505	His Asp Val Leu Arg 1510	Gly Gly Asp Gly Val Asp Thr Val 1515
Asp Tyr 1520	Ser Gln Thr Gly Ala 1525	His Ala Gly Ile Ala Ala Gly Arg 1530
Ile Gly 1535	Leu Gly Ile Leu Ala 1540	Asp Leu Gly Ala Gly Arg Val Asp 1545
Lys Leu 1550	Gly Glu Ala Gly Ser 1555	Ser Ala Tyr Asp Thr Val Ser Gly 1560

ES 2 748 381 T3

Ile	Glu	Asn	Val	Val	Gly	Thr	Glu	Leu	Ala	Asp	Arg	Ile	Thr	Gly
1565						1570					1575			
Asp	Ala	Gln	Ala	Asn	Val	Leu	Arg	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Asp	Val
1580						1585					1590			
Leu	Ala	Gly	Gly	Glu	Gly	Asp	Asp	Val	Leu	Leu	Gly	Gly	Asp	Gly
1595						1600					1605			
Asp	Asp	Gln	Leu	Ser	Gly	Asp	Ala	Gly	Arg	Asp	Arg	Leu	Tyr	Gly
1610						1615					1620			
Glu	Ala	Gly	Asp	Asp	Trp	Phe	Phe	Gln	Asp	Ala	Ala	Asn	Ala	Gly
1625						1630					1635			
Asn	Leu	Leu	Asp	Gly	Gly	Asp	Gly	Arg	Asp	Thr	Val	Asp	Phe	Ser
1640						1645					1650			
Gly	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Asp	Ala	Gly	Ala	Lys	Gly	Val	Phe	Leu
1655						1660					1665			
Ser	Leu	Gly	Lys	Gly	Phe	Ala	Ser	Leu	Met	Asp	Glu	Pro	Glu	Thr
1670						1675					1680			
Ser	Asn	Val	Leu	Arg	Asn	Ile	Glu	Asn	Ala	Val	Gly	Ser	Ala	Arg
1685						1690					1695			
Asp	Asp	Val	Leu	Ile	Gly	Asp	Ala	Gly	Ala	Asn	Val	Leu	Asn	Gly
1700						1705					1710			
Leu	Ala	Gly	Asn	Asp	Val	Leu	Ser	Gly	Gly	Ala	Gly	Asp	Asp	Val
1715						1720					1725			
Leu	Leu	Gly	Asp	Glu	Gly	Ser	Asp	Leu	Leu	Ser	Gly	Asp	Ala	Gly
1730						1735					1740			
Asn	Asp	Asp	Leu	Phe	Gly	Gly	Gln	Gly	Asp	Asp	Thr	Tyr	Leu	Phe
1745						1750					1755			
Gly	Val	Gly	Tyr	Gly	His	Asp	Thr	Ile	Tyr	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly
1760						1765					1770			
His	Asp	Thr	Ile	Arg	Ile	Asn	Ala	Gly	Ala	Asp	Gln	Leu	Trp	Phe
1775						1780					1785			
Ala	Arg	Gln	Gly	Asn	Asp	Leu	Glu	Ile	Arg	Ile	Leu	Gly	Thr	Asp
1790						1795					1800			

ES 2 748 381 T3

Asp Ala Leu Thr Val His Asp Trp Tyr Arg Asp Ala Asp His Arg
1805 1810 1815

Val Glu Ile Ile His Ala Ala Asn Gln Ala Val Asp Gln Ala Gly
1820 1825 1830

Ile Glu Lys Leu Val Glu Ala Met Ala Gln Tyr Pro Asp Pro Gly
1835 1840 1845

Ala Ala Ala Ala Ala Pro Pro Ala Ala Arg Val Pro Asp Thr Leu
1850 1855 1860

Met Gln Ser Leu Ala Val Asn Trp Arg
1865 1870

<210> 8
<211> 86
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> MAGE A3 97-178

<400> 8

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

Leu Ala Ile Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile
20 25 30

Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu
35 40 45

Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu Trp
50 55 60

Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His His
65 70 75 80

Met Val Lys Ile Ser Gly
85

<210> 9
<211> 82
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> MAGE A3 190-295*

<400> 9

ES 2 748 381 T3

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

Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu
20 25 30

Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln
35 40 45

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu
50 55 60

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr
65 70 75 80

Ile Phe

REIVINDICACIONES

1. Polipéptido(s) llevado(s) por un vector, en donde dicho vector que lleva el (los) polipéptido(s) consiste en una proteína adenilciclase de una proteína CyaA de la especie *Bordetella* o un fragmento de la misma adecuados para presentar dicho(s) polipéptido(s) al sistema inmunitario en un hospedador mamífero, para su uso:

(i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) que es (a) consecutiva a la infección por una primera cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o (b) relacionado con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3 diagnosticado en dicho hospedador mamífero en donde dicho tratamiento se realiza suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y en donde (a) los epítomos de dicho primer grupo provienen de los antígenos E6 o E7 de una cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o respectivamente en (b) los epítomos de dicho primer grupo son de un antígeno tumoral MAGE-A3 y

(ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en donde cuando dicha primera afección patológica es consecutiva a la infección por VPH como en (a), dicha segunda afección patológica es consecutiva a la infección por una segunda cepa de VPH diferente de la primera y dicho VPH diferente se selecciona entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o en donde dicha segunda afección determinada está relacionada con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3, en donde dicha segunda afección patológica se encuentra en el mismo hospedador mamífero y se genera una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y en dicho segundo grupo los epítomos son de un antígeno del segundo VPH seleccionado entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o respectivamente de un antígeno tumoral MAGE-A3, obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s) y en donde la secuencia de aminoácidos de dicho primer grupo de epítomo es diferente del aminoácido de dicho segundo grupo de epítomos.

2. El polipéptido llevado por un vector para su uso adicional de acuerdo con la reivindicación 1, (iii) en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s), suscitando una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra dicho primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s).

3. El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicho segundo grupo de epítomos está contenido en el polipéptido que comprende el primer grupo de epítomos o en donde dicho primer y segundo grupos de epítomos están contenidos en diferentes polipéptidos.

4. El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, una molécula vector lleva todos los polipéptidos.

5. Una composición que comprende, en combinación con un excipiente o formulación farmacéuticamente aceptable, al menos un polipéptido(s) llevado por un vector como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso:

(i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) que es (a) consecutiva a la infección por una primera cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o (b) relacionado con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3 diagnosticado en dicho hospedador mamífero en donde dicho tratamiento se realiza suscitando una respuesta inmunitaria de linfocitos T contra un primer grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y en donde (a) los epítomos de dicho primer grupo provienen de los antígenos E6 o E7 de una cepa de VPH seleccionada entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o respectivamente en (b) los epítomos de dicho primer grupo son de un antígeno tumoral MAGE-A3 y

(ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) en donde cuando dicha primera afección patológica es consecutiva a la infección por VPH como en (a), dicha segunda afección patológica es consecutiva a la infección por una segunda cepa de VPH diferente de la primera y dicho VPH diferente se selecciona entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o en donde dicha segunda afección determinada está relacionada o en donde dicha segunda afección determinada está relacionada con un tumor que expresa el antígeno MAGE-A3, en donde dicha segunda afección patológica se encuentra en el mismo hospedador mamífero y se genera una respuesta inmunitaria de memoria de linfocitos T contra un segundo grupo de epítomos contenidos en dicho(s) polipéptido(s) y en donde en dicho segundo grupo los epítomos son de un antígeno del segundo VPH seleccionado entre VPH16, VPH18, VPH31, VPH33, VPH35, VPH45, VPH52 o VPH58 o respectivamente de un antígeno tumoral MAGE-A3, obteniéndose dichas respuestas inmunitarias después de la administración de dicha composición en dicho hospedador, en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando dicho segundo grupo de epítomos no está contenido en el (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector de dicha composición administrada y en donde la secuencia de aminoácidos de dicho primer grupo de epítomos es diferente del aminoácido de dicho segundo grupo

de epítomos, dicha composición comprende opcionalmente al menos un adyuvante, y opcionalmente compuestos activos antitumorales o antivíricos.

6. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, que comprende al menos dos polipéptidos llevados por un vector, en donde el primer grupo de epítomos está contenido en un primer polipéptido llevado por un vector y el segundo grupo de epítomos está contenido en un polipéptido llevado por un vector separado.
7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho primer grupo de epítomos está contenido en polipéptidos separados llevados por dicho(s) primer(os) polipéptido(s) llevado(s) por un vector y/o el segundo grupo de epítomos está contenido en polipéptidos separados llevados por dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector separado(s).
8. El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde dicha CyaA es una CyaA de la especie *Bordetella* que se origina de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* o *Bordetella bronchiseptica*.
9. El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde
 - dicho fragmento de CyaA es capaz de unirse específicamente a las células que expresan CD11b y, opcionalmente, entregar dicho(s) polipéptido(s) al citosol celular, como un fragmento de CyaA de *B. pertussis* que consiste en los restos 1 a 224 y 235 a 1706 y/o
 - dicha proteína CyaA o fragmento de CyaA está desintoxicado, es no tóxico o carente de actividad enzimática, como una CyaA de *B. pertussis* en la que se inserta un dipéptido Leu-Gln en fase entre los restos 188 y 189.
10. El polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicho al menos uno, preferentemente todos, los polipéptidos son llevados por dicha proteína CyaA o fragmento de CyaA como resultado de la fusión genética.
11. El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde dicho al menos uno, preferentemente todos, los polipéptidos se insertan genéticamente en CyaA, en particular en sitios permisivos de CyaA.
12. Los polipéptidos llevados por un vector o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 5, en donde dicho primer grupo de epítomos constituye un fragmento antigénico de la proteína E7 de VPH16, y el segundo grupo de epítomos constituye un fragmento antigénico de la proteína E7 de VPH18.
13. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, que comprende:
 - (a) un primer polipéptido llevado por un vector que consiste en los primeros 29 restos de aminoácidos de VPH16-E7 insertados entre los codones 319 y 320 de CyaA, y los restos 43 a 98 de VPH16-E7 insertados entre los codones 224 y 235 de CyaA; y
 - (b) un polipéptido llevado por un vector separado que consiste en los primeros 31 restos de aminoácidos de VPH18-E7 insertados entre los codones 319 y 320 de CyaA y los restos 43 a 105 de VPH18-E7 insertados entre los codones 224 y 235 de CyaA.
14. El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho polipéptido llevado por un vector consiste en CyaA de *B. pertussis* en donde:
 - (1) un primer polipéptido que consiste en los restos 97 a 178 de MAGE A3 se ha insertado entre los codones 224 y 235 de CyaA; y
 - (2) un segundo polipéptido que consiste en los restos 190 a 221 fusionados a los restos 242 a 295 de MAGE A3 se ha insertado entre los codones 319 a 320 de CyaA.
15. El (los) polipéptido(s) llevado(s) por un vector o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, para su uso:
 - (1) (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH16, diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH18 y (iii) opcionalmente en la prevención contra la reaparición de dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el polipéptido derivado de la proteína E7 de VPH18 no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s); o
 - (2) (i) en el tratamiento inmunoterapéutico de la(s) primera(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH18, diagnosticada(s) en un hospedador mamífero y (ii) en la profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) consecutiva(s) a la infección por VPH16 y (iii) opcionalmente, en la prevención contra la reaparición de

dicha(s) primera(s) afección(es) patológica(s), en donde dicha profilaxis contra la(s) segunda(s) afección(es) patológica(s) determinada(s) no se observa cuando el polipéptido derivado de la proteína E7 de VPH16 no está contenido en dicho(s) polipéptido(s) llevado(s) por un vector administrado(s).

B. pertussis [NP_879578.1]

MQQSHQAGYANAADRESGIPAAVLGDGIKAVAKEKNATLMFRLVNPSTSLIAEGVATKGLGVHAKSSDWG
 LQAGYIPVNPNSKLFGRAPVIARADNDVNSSLAHGHTAVDLTSLKERLDYLRQAGLVTGMADGVVASN
 HAGYEQFEFRVKETSDGRYAVQYRRKGGDDFEAVKVGNAAGIPLTADIDMFAIMPHLSNFRDSARSSVT
 SGDSVTDYLARTRRRAASEATGGDLRERIDLLWKIARAGARSAGVTEARRQFRYDGMNIGVITDFFELEVR
 NALNRRHAHGAQDVVQHGTEQNNPFPEADEKIFVVSATGESQMLTRGQLKEYIGQQRGEGYVFFENRAY
 GVAGKSLFDDGLGAAPGVPSGRSKFSPDVLETVPASPGLRRPSLGAVRQDSGYDSLGDVGSRFSLSLGEV
 SDMAAVEAAELEMTRQVLHAGARQDDAEPGVSGASAHWGQALQGAQAVAAAQRLVHAIALMTQFGRAGS
 TNTPQEAASLSAAVFLGEASSAVAETVSGFFRGSSRWAGGFGVAGGAMALGGGIAAAVGAGMSLTDDAP
 AGQKAAAGAEIALQLTGGTVELASSIALALAAARGVTSGLQVAGASAGAAAGALAAALS PMEIYGLVQQS
 HYADQLDKLAQESSAYGYEGDALLAQLYRDKTAAGAVAGVSAVLSTVGAAVSIAAAASVVGAPVAVVTS
 LLTGALNGILRGVQQPIIEKLANDYARKIDELGGPQAYFEKNLQARHEQLANS DGLRKMLADLQAGWNAS
 SVIGVQTTEISKSALAEITGNADNLKSVDFVDRFVQGERVAGQPVVLDVAAGGIDIASRKGERPALT
 FITPLAAPGEEQRRRTKTGKSEFTTFVEIVGKQDRWIRDGAADTTIDLAKVVSQVLVDANGVLKHSIKLE
 VIGGDGDDVVLANASRIHYDGGAGTNTVSYAALGRQDSITVSADGERFNVRKQLNNANVYREGVATQTTA
 YGKRTENVQYRHVELARVGQLVEVDLTLEHVQHIIGGAGNDSITGNAHDNFLAGGSGDDRLDGGAGNDTLV
 GGEGQNTVIGGAGDDVFLQDLGVWSNQLDGGAGVDTVKYNVHQPSEERLERMGDTGIHADLQKGTVEKWP
 ALNLFSDVHVKNIENLHGSRLNDR IAGDDQDNELWGHGDN DITIRGRGDDILRGGGLD TLTYGEDGNDIF
 LQDDETVDSDIDGGAGLDTVDYSAMIHPGRIVAPHEYGFGIEADLSREWVRKASALGVDDYDNRVENV
 IGTSMKDVLI GDAQANTLMGQGGDDTVRGDDGDDLLFGGDGNDMLYGDAGNDTLTYGGLGDDTLEGGAGND
 WFGQTQAREHDLVRGGDGVDTVDYSQTGAHAGIAAGRIGLILADLGAGRVDKLGEAGSSAYDTVSGIEN
 VVGTELADRITGDAQANVLRGAGGADVLGAGGDDVLLGGDGDQLSGDAGRDRLYGEAGDDWFFQDAAN
 AGNLLDGGDGRD TVDFSGPGRGLDAGAKGVFLSLGKGFASLMDEPETS NVLRNIENAVGSARDVDLIGDA
 GANVLNGLAGNDVLSGGAGDDVLLGDEGSDLLSGDAGNDDLFGGQGGDDTYLFGVGYGHDTIYESGGGHDT
 IRINAGADQLWFARQGNLDIRILGTDDALTVHDWYRDADHRVEIIHAANQAVDQAGIEKLVEAMAQYPD
 PGAAAAAPPAARVPDTLMQSLAVNWR (SEQ ID NO :1)

B. parapertussis [NP_882677.1]

MLDVWFLQKDEVLSATHRLRRCESVQSTTYRQIHMQQSHQAGYANAADRESGIPAAVLGDGIKAVAKEKNA
 TLMFRLVNPSTSLIAEGVATKGLGVHAKSSDWGLQAGYIPVNPNSKLFGRAPVIARADNDVNSSLAH
 GHTAVDLTSLKERLDYLRQAGLVTGMADGVVASNHAGYEQFEFRVKETSDGRYAVQYRRKGGDDFEAVKV
 IGNAAGIPLTADIDMFAIMPHLSNFRDSARSSVTSGDSVTDYLARTRRRAASEATGGDLRERIDLLWKIAR
 AGARSAGVTEARRQFRYDGMNIGVITDFFELEVRNALNRRHAHGAQDVVQHGTEQNNPFPEADEKIFVVS
 SATGESQMLTRGQLKEYIGQQRGEGYVFFENRAYGVAGKSLFDDGLGAAPGVPGGRSKSSPDVLETVPAS
 PGLRRPSLGAVRQDSGYDSLGDVGSRFSLSLGEVSDMAAVEAAELEMTRQVLHAGARQDDAEPGVSGASA
 HWGQALQGAQAVAAAQRLVHAIALMTQFGRAGSTNTPQEAASLSAAVFLGEASSAVAETVSGFFRGSS
 RWAGGFGVAGGAMALGGGIAAAVGAGMSLTDDAPAGQKAAVGAETALQLTGGTVELASSIALALAAARGV
 TSGLQVAGASAGAAAGALAAALS PMEIYGLVQQSHYADQLDKLAQESSAYGYEGDALLAQLYRDKTAAG
 AVAGVSAVLSTVGAAVSIAAAASVVGAPVAVVTSLLTGALNGILRGVQQPIIEKLANDYARKIDELGGPQ
 AYFEKNLQARHEQLANS DGLRKMLADLQAGWNASSVIGVQTTEISKSALAEITGNADNLKSVDFVDR
 FIQGERVAGQPVVLDVAAGGIDIASRKGERPALTFITPLAAPGEEQRRRTKTGKSEFTTFVEIVGKQDRW
 RIRDGAADTTIDLAKVVSQVLVDANGVLKHSIKLEVIGGDGDDVVLANASRIHYDGGAGTNTVSYAALGRQ
 DSITVSADGERFNVRKQLNNANVYREGVATQKTAYGKRTENVQYRHVELARVGQLVEVDLTLEHVQHIIGG
 AGNDSITGNAHDNFLAGGAGDDRLDGGAGNDTLVGGEGHNTVVGAGDDVFLQDLGVWSNQLDGGAGVDT
 VKYNVHQPSEERLERMGDTGIHADLQKGTVEKWPALNLFSDVHVKNIENLHGSRLNDSIAGDDRDNELWG
 DDGNDTIHGRGDDILRGGGLD TLTYGEDGNDIFLQDDETVDSDIDGGAGLDTVDYSAMIHAGKIVAPHE
 YGFGIEADLSEGWVRKAARRGMGYDSVRSVENVITSMKDVLI GDAQANTLMGQGGDDTVRGDDGDDLL
 FGGDGNMMLYGDAGNDTLTYGGLGDDTLEGGAGNDWFGQTPAREHDLVRGGAGVDTVDYSQAGAHAGVATG
 RIGLILADLGAGRVDKLGEAGSSAYDTVSGIENVVGTELADRITGDAQANVLRGAGGADVLGAGGDDV
 LLGGEGDDQLSGDAGRDRLYGEAGDDWFFQDAANAGNLLDGGDGN DTVDFSGPGRGLDAGAKGVFLSLGK
 GFASLMDEPETS NVLRNIENAVGSVRDDVLIGDAGANVLNGLAGNDVLSGGAGDDVLLGDEGSDLLSGDA
 GNDDLFGGQGGDDTYLFGAGYGHDTIYESGGGHDTIRINAGADQLWFARQGNLDIRILGTDDALTVHDWY
 RDADHRVEIHAANQAI DPAGIEKLVEAMAQYPDPGAAAAAPPAARVPDTLMQSLAVNWR (SEQ ID NO :2)

Fig. 1A

B. bronchiseptica [NP_886873.1]
 MLDVWFLQKDEVLSATHRLRRCESVQSTTYRQIHMQQSHQAGYANAADRESGIPAAVL DGIKAVAKEKNA
 TLMFRLVNPSTSLIAEGVATKGLGVHAKSSDWGLQAGYIPVNP NLSKLFGRAP EVIARADNDVNSSLAH
 GHTAVDLTLSKERLDYLRQAGLVTGMADGVVASNHAGYEQFEFRVKETSDGRYAVQYRRKGGDDFEAVKV
 IGNAAGIPLTADIDMFAIMPHLSNFRDSARSSVTS GDSVTDYLARTTAAASEATGG LDRERIDLLWKIAR
 AGARSAVGTEARRQFRYDGMNIGVITD FELEVRNALNRRRAHVG AQDVVQHGT EQNNPFP EADEKIFVV
 SATGESQMLTRGQLKEYIGQQRGEGYVFYENRAYGVAGKSLFDDGLGAAPGVPGGRSKSSPDVLETVPAS
 PGLRRPSLGAVERQDSGYDSL DGVGSRSFSLGEVSDMAAVEAAELEMTRQVLHAGARQDDAEPGVSGASA
 HWGQALQGAQAVAAAQRLVHAIALMTQFGRAGSTNTPOEAASLSAAVFGLGEASSAVAETVSGFFRGSS
 RWAGGFGVAGGAMALGGGIAAAVGAGMSLTDDAPAGQKAAAGAEIALQLTGGTVELASSIALALAAARGV
 TSG LQVAGASAGAAAGALAAALSPMEIYGLVQQSHYADQLDKLAQESSAYGYEGDALLAQLYRDKTAAEG
 AVAGVSAVLSTVGA AVSIAAAASVVGAPVAVVTSLLTGALNGILRGVQQPIIEKLANDYARKIDELGGPQ
 AYFEKNLQARHEQLANS DGLRKMLADLQAGWNASSVIGVQTTEISKSALELAAITGNADNLKSADVFVDR
 FIQGERVAGQPVVLDVAAGGIDIASRKGERPALTFITPLAAPGEEQRRRTKTGKSEFTTFVEIVGKQDRW
 RIR DGAADTTIDLAKVVSQ LVDANGVLKHSIKLEVIGGDGDDVLANASRIHYDGGAGTNTVSYAALGRQ
 DSITVSADGERFNVKQLNNANVYREGVATQKTAYGKR TENVQYRHVELARVGQLVEVD TLEHVQHIIGG
 AGNDSITGNAHDNFLAGGAGDDRLDGGAGNDTLVGGEHNTVVGAGDDVFLQDLGVWSNQLDGGAGVDT
 VKYNVHPSEERLERMGDTGIHADLQKGTVEKWPALNLFSDHVKN IENLHGSSLNDSIAGDDRDNELWG
 DDGNDTIHGRGGDDILRGGLGLDTLYGEDGNDIFLQDDET VSDIDGGAGLDTVDYSAMIHAGKIVAPHE
 YGFGIEADLSEGWVRKAARRGMDYYDSVRSVENVIGTSMKDV LIGDAQANTLMGQGGDDTVRGGDGDLL
 FGGDGNMMLYGDAGNDTLYGGLGDDTLEGGAGNDWFGQTPAREHDVLRGGAGVDTVDYSQAGAHAGVATG
 RIGLGILADL GAGRVDKLGEAGSSAYDTVSGIENVVGT ELADRITGDAQANVLRGAGGADVLAGEGDDV
 LLGGDGDQLSGDAGRDRLYGEAGDDWFFQDAANAGNLLDGGDGNDTVDFSGPGRGLDAGAKGVFLSLGK
 GFASLMDEPETS NVLRHIENAVGSVRDDVLIGDAGANVLNGLAGNDVLSGGAGDDVLLGDEGSDLLSGDA
 GNDDLFGGQGGDDTYLFGAGYGHDTIYESGGGHDTIRINAGADQLWFARQGN DLEIRILGTDDALTVDHWY
 RDADHRVEAIIHAANQAIDPAGIEKLVEAMAQYPDPGAAAAAPPAARVPDTLMQSLAVNWR (SEQ ID NO :3)

Fig. 1B

B. pertussis

ATGCAGCAATCGCATCAGGCTGGTTACGCAAACGCCGCCGACCGGGAGTCTGGCATCCCCGAGCCGTAC
 TCGATGGCATCAAGGCCGTGGCGAAGGAAAAAACGCCACATTGATGTTCCGCCTGGTCAACCCCCATT
 CACCAGCCTGATTGCCGAAGGGGTGGCCACCAAAGGATTGGCGTGCACGCCAAGTCGTCCGATTGGGG
 TTGCAGGCGGGCTACATTCCCGTCAACCCGAATCTTTCCAACTGTTCCGCCGTGCGCCCCGAGGTGATCG
 CGCGGGCCGACAACGACGTCAACAGCAGCCTGGCGCATGGCCATACCGCGGTGACCTGACGCTGTGAA
 AGAGCGGCTTGACTATCTGCGCAAGCGGGCCTGGTCACCGGCATGGCCGATGGCGTGGTTCGCGAGCAAC
 CACGCAGGCTACGAGCAGTTTCGAGTTTCGCGTGAAGGAAACCTCGGACGGGCGCTATGCCGTGCAGTATC
 GCCGAAGGGCGGCGACGATTTTCGAGGCGGTCAAGGTGATCGGCAATGCCGCCGGTATTCCACTGACGGC
 GGATATCGACATGTTTCGCCATTATGCCGCATCTGTCCAACCTCCGCGACTCGGCGCGCAGTTCGGTGACC
 AGCGGCGATTTCGGTGACCGATTACCTGGCGCGCACGCGGCGGGCCGCCAGCGAGGCCACGGGCGGCTGG
 ATCGCGAACGCATCGACTTGTGTGGAATTCGCTCGCGCCGGCGCCCGTTCCGCGAGTGGGCACCGAGGC
 GCGTCGCCAGTTCGCGTACGACGGCGACATGAATATCGGCGTGATCACCGATTTCGAGCTGGAAGTGC
 AATGCGCTGAACAGGCGGGCGCACGCCGTTCGGCGCGCAGGACGTGGTCCAGCATGGCACTGAGCAGAACA
 ATCTTTCCCGGAGGCGAGATGAGAAGATTTTCGTCTGATCGGCCACCGGTGAAGGCCAGATGCTCACGCG
 CGGGCAACTGAAGGAATACATTGGCCAGCAGCGCGGCGAGGGCTATGTCTTCTACGAGAACCCTGTCATAC
 GGCGTGGCGGGGAAAAGCCTGTTTCGACGATGGGCTGGGAGCCGCGCCCGCGTGCAGAGCGGACGTTTCGA
 AGTTCTCGCCGATGTACTGGAACGGTGCCGGCGTCAACCGGATTGCGCGGCGCGTTCGCTGGGCGCAGT
 GGAACGCCAGGATTCCGGCTATGACAGCCTTGATGGGGTGGGATCGCGATCGTTCTCGTTGGGCGAGGTG
 TCCGACATGGCCCGCTGGAAGCGGCGGAACTGGAATGACCCGGCAAGTCTTGACGCGCGGGGCGCGGC
 AGGACGATGCCGAGCCGGCGTGAGCGGTGCGTCGGCGCACTGGGGGCGAGCGGGCGTGCAGGGCGCCCA
 GCGGCTGGCGGCGCGCAGCGGCTGGTTTCATGCCATTGCCCTGATGACGCAATTTCGGCCGGGCGGTTCC
 ACCAACACGCCGAGGAAGCGGCTCGTTGTGCGCGGCGTGTTCGGCTTGGGCGAGGCCAGCAGCGCCG
 TGGCCGAAACCGTGAGCGGTTTTTTCCGCGGCTTTCGCGCTGGGCGGCGGTTTCGGCGTGGCTGGCGG
 CGCGATGGCGCTGGGAGGCGGCATCGCCGCGGCGGTTGGCGCCGGGATGTCTGTTGACCGATGACGCGCCG
 GCCGACAGAAGGCCGCGCGCGGCGGAGATCGCGCTGCAGTTGACAGGTGGAACGGTTCGAGCTGGCTT
 CTTCCATCGCGTTGGCGCTGGCCGCGGCGCGCGGCTGACCAGCGGCTTGAGGTGGCGGGGCGTTCGGC
 CGGGGCGGCTGCCGGCGCATTTGGCCGCGGCGCTCAGTCCCATGGAGATCTACGGCCTGGTGCAGCAATCG
 CACTATGCGGATCAGCTGGACAAGCTGGCGCAGGAATCGAGCGCATACGGTTACGAGGGCGACGCTTGC
 TGGCCAGCTGTATCGCGACAAGACGGCCGCCGAGGGCGCCGTTCGCCGCGTCTCCGCCGTCTGAGCAC
 GGTGGGGCGGCGGTGTGATCGCCGCGGCGGCCAGCGTGGTAGGGGCCCCGGTGGCGGTGGTCACTTCC
 TTGCTGACCGGGCTCTCAACGGCATCTGCGCGGCGTGACGAGCCCATCATCGAAAAGCTGGCCAACG
 ATTACGCTCGAAGATCGACGAGCTGGGCGGGCCGCAAGCGTACTTCGAGAAAAACCTGACGGCGCCCA
 CGAACAACTGGCCAATTTCGACGGCTTACGGAATAATGCTGGCCGACCTGCAGGCCGTTGGAACGCCAGC
 AGCGTGATCGGGGTGCAGACGACAGAGATCTCAAGTCGGCGCTCGAACTGGCCGCCATTACCGGCAACG
 CGGACAACCTGAAATCCGTGACGTGTTTCGTGGACCGCTTCGTCCAGGGCGAGCGGGTGGCCGGCCAGCC
 GGTGGTCTCGACGTGCGCCCGGCGGCATCGATATCGCCAGCCGCAAGGGCGAGCGGCCGCGCTGACG
 TTCATACGCCGCTGGCCGCGCCAGGAGAAGAGCAGCGCCGGCGCACGAAAAACGGGCAAGAGCGAATTCA
 CCACATTCGTGAGATCGTGGGCAAGCAGGACCGCTGGCGCATCGGGACGGCGCGGACACCACTTCA
 CGAACTTGGCCAAGGTGGTGTGCAACTGGTCAGCCCAATGGCGTGCTCAAGCACAGCATCAAACTGGAT
 GTGATCGGCGGAGATGGCGATGACGTGCTGCTTGCCAATGCTTCGCGCATCCATTATGACGGCGGCGCGG
 GCACCAACACGGTCAGCTATGCCGCCCTGGGTGACAGGATTCATTACCGTGTTCGCCGACGGGGAACG
 TTTCAACGTGCGCAAGCAGTTGAACAACGCCAACGTGTATCGCGAAGGCGTGGCTACCCAGACAACCGCC
 TACGGCAAGCGCACGGAGAATGTCCAATACCGCCATGTGAGCTGGCCCGTGTGGGGCACTGGTGGAGG
 TCGACACGCTCGAGCATGTGCAGCACATCATCGGCGGGGCCGCAACGATTTCGATCACCGGCAATGCGCA
 CGAACCTTCTAGCCGGCGGGTGGGCGACGACAGGCTGGATGGCGGCGCGGCAACGACACCTGGTT
 GGCGGCGAGGGCCAAAACACGGTCATCGGCGGCGCGGCGACGACGTATTCCTGCAGGACCTGGGGGTAT
 GGAGCAACAGCTCGATGGCGGCGCGGGCGTGCATACCGTGAAGTACAACGTGCACACAGCCTTCGAGGA
 GCGCCTCGAACGCATGGGCGACACGGGCATCCATGCCGATCTTCAAAGGGCACGGTTCGAGAAGTGGCCG
 GCCCTGAACCTGTTTCAGCGTCGACCATGTCAAGAATATCGAGAATCTGCACGGCTCCCGCTGAACGACC
 GCATCGCGGCGGACGACACGAGCTCTGGGGCCAGATGGCAACGACAGCATACGCGGCGGGG
 CGGCGACGACATCTGCGCGGCGGCTGGGCTGGACACGCTGTATGGCGAGGACGGCAACGACATCTTC
 CTGCGAGGACGACGAGACCGTCAGCGATGACATCGACGGCGGCGGGGCTGGACACCGTTCGACTACTCCG
 CCATGATCCATCCAGGAGGATCGTTGCGCCGATGAATACGGCTTCGGGATCGAGGCGGACCTGTCCAG
 GGAATGGGTGCGCAAGGCGTCCGCGCTGGGCGTGGACTATTACGATAATGTCCGCAATGTGAAAAACGTC
 ATCGGTACGAGCATGAAGGATGTGCTCATCGGCGACGCGCAAGCCAATACCTGATGGGCCAGGGCGGCG
 ACGATCCGTGCGCGGCGGACGCGATGTCTGTTCGCGGCGGACGGCAACGACATGCTGTATGG
 CGACCGCGCAACGACACCTCTACGGGGGCTGGGCGACGATACCTTGAAGGCGGCGGGGCAACGAT
 TGGTTCGGCCAGACGAGGCGCGGAGCATGACGTGCTGCGCGCGGAGATGGGGTGGATACCGTTCGATT

Fig. 1C

(*B. pertussis*/continuación)

ACAGCCAGACCGGCGCGCATGCCGGCATTGCCGCGGGTCGCATCGGGCTGGGCATCCTGGCTGACCTGGG
CGCCGGCCGCGTCGACAAGCTGGGCGAGGCGGCGAGCGCCTACGATACGGTTTCGGTATCGAGAAC
GTGGTGGGCGACGGAACCTGGCCGACCGCATCACGGGCGATGCGCAGGCCAACGTGCTGCGCGGCGCGGGTG
GCGCCGACGTGCTTGCGGGCGGCGAGGGCGACGATGTGCTGCTGGGCGGCGACGGCGACGACCAGCTGTC
GGGCGACGCCGACGCGATCGCTTGACGGCGAAGCCGGTGACGACTGGTTCTTCAGGATGCCGCCAAT
GCCGGCAATCTGCTCGACGGCGGCGACGGCCGCGATACCGTGGATTTCAGCGGCCCGGGCCGGGGCTCG
ACGCCGGCGCAAAGGGCGTATTCCTGAGCTTGGGCAAGGGGTTCCGCCAGCCTGATGGACGAACCCGAAAC
CAGCAACGTGTTGCGCAATATCGAGAACGCCGTGGGCGAGCGCGGTGATGACGTGCTGATCGGCGACGCA
GGCGCAACGTCTCTCAATGGCTGGCGGGCAACGACGTGCTGTCCGGCGGCGCTGGCGACGATGTGCTGC
TGGGCGACGAGGGCTCGGACCTGCTCAGCGGCGATGCGGGCAACGACGATCTGTTCCGGCGGGCAGGGCGA
TGATACTTATCTGTTCCGGGTCCGGTACGGGCGACGACGATCTACGAATCGGGCGGCGGCATGACACC
ATCCGCATCAACGCGGGGGCGGACGAGCTGTGGTTCCGCGCGCCAGGGCAACGACCTGGAGATCCGCATT
TCGGCACCGACGATGCACTTACCGTGCACGACTGGTATCGCGACGCCGATCACCGGGTGGAAATCATCCA
TGCCGCCAACGAGCGGTAGACCAGGCAGGCATCGAAAAGCTGGTTCGAGGCAATGGCGCAGTATCCGGAC
CCCGCGCGCGCGGGCTGCCCGCGGCGCGCGCTGCCGGACACGCTGATGCAGTCCCTGGCTGTCA
ACTGGCGCTGA (SEQ ID NO :4)

B. parapertussis

GTGCTGGATGTTTGGTTCTTGCGAGAAGGATGAGGTTCTGAGCGCTACACACCGGTTGCGTCGGTGCGAAT
CCGTTCAATCGACTACTTATCGACAGATCCACATGCAGCAATCGCATCAGGCTGGTTACGCAAAACGCCG
CGACCGGGAGTCTGGCATCCCCGAGCCGTAATCGATGGCATCAAGGCCGTGGCGAAGGAAAAAACGCC
ACATTGATGTTCCGCTGGTCAACCCCAATTCACAGCCTGATTGCCGAAGGGGTGGCCACCAAGGAT
TGGGCGTGACGCCAAGTCGTCCGATTGGGGGTTGACGGCGGGCTACATTCCCGTCAACCCGAATCTTTC
CAAATGTTCCGCCGTGCGCCGAGGTGATCGCGCGGGCCGACAACGACGTCAACAGCAGCCTGGCGCAT
GGCCATACCGCGGTGACCTGACGCTGTGAAAGAGCGGCTGACTATCTGCGGCAAGCGGGCTGGTCA
CCGGCATGGCCGATGGCGTGGTTCGCGAGCAACACGCGAGGCTACGAGCAGTTTCGAGTTTCGCGTGAAGGA
AACCTCGGACGGGCGCTATGCCGTGCAGTATCGCCGCAAGGGCGGCGACGATTTCGAGGCGGTCAAGGTG
ATCGGCAATGCCCGCGGTATTCCTGACGCGGATATCGACATGTTCCGCATCATGCCGCATCTGTCCA
ACTTCCGCGACTCGGCGCGCAGTTCCGTGACGAGCGGCGATTCCGTGACCGATTACCTGGCGCGCACGCG
GCGGGCCGCCAGCGAGGCCACGGGCGGCTGGATCGCGAACGCATCGACTTGTGTGGAATCGCTCGC
GCCGGCGCCGTTCCGCGAGTGGGCACCGAGGCGCGTCCGCGATTCCGCTACGACGGCGACATGAATATCG
GCGTGATCACCGATTTCGAGCTGGAAGTGCCTGCGTGAACAGGCGGGCGCACGCCGTGCGCGCGCA
GGACGTGGTCCAGCATGGCACTGAGCAGAACATCTTCCCGAGGCGAGTGAAGATTTTCGTGCTGA
TCGGCCACCGGTGAAGCCAGATGCTCACGCGCGGGCAACTGAAGGAATACATTGGCCAGCAGCGCGCG
AGGGCTATGTCTTACGAGAACCGTGCATACGGCGTGGCGGGGAAAAGCCTGTTTCGACGATGGGCTGGG
AGCCGCGCCCGCGTGGCGGGCGGACGTTGAAAGTCTTCGCCGATGTACTGGAACCGGTGCCGGCGTCA
CCCGGATTGCGGCGGCCGTGCTGGGCGCAGTGAACGCCAGGATTCCGGCTATGACAGCCTTGATGGGG
TGGGATCGCGATCGTTCTCGTTGGGCGAGGTGTCGACATGGCCGCGGTGGAAGCGGCGGAATGGAAT
GACCCGGCAAGTCTTGACGCCGGGCGCGGAGGACGATGCCAGCCGGCGTGAGCGGTGCGTCCGGC
CACTGGGGGCGAGCGGGCGTGCAGGGCGCCAGGCGGTGGCGGCGGCGAGCGGCTGGTTATGCCATTG
CCCTGATGACGCAATTCCGCCGGGCGGTTCCACCAACGCGCGAGGAAGCGGCCTCGTTGTGCGGCGG
CGTGTTCGGCTTGGGCGAGGCCAGCAGCGCCGTGGCCGAAACCGTGAGCGGTTTTCGCGGGTCTTCG
CGCTGGGCGCGCGGTTTCGCGGTGGCTGGCGGCGCGATGGCGCTGGGAGGCGGCATCGCCGCGGCCGTTG
GCGCCGGGATGTCGTTGACCGATGACGCGCCGGCCGACAGAAGGCCCGCGTGGCGCGGAGATCGCGCT
GCAGTTGACAGGTGGAACGGTGCAGCTGGCTTCTTCATCGGTTGGCGCTGGCCGCGGCGCGCGCGT
ACCAGCGGCTTGACAGTGGCGGGGCGTGGCGGGGCGGCTGCCGCGCATTGGCCGCGGCGCTCAGTC
CCATGGAGATCTACGGCTGGTGCAGCAATCGCACTATGCGGATCAGCTGGACAAGCTGGCGCAGGAATC
GAGCGCATACGGTTACGAGGGCGACGCTTGCTGGCCAGCTGTATCGCGACAAGACGGCCCGGAGGGC
GCCGTGCGCGCGCTCTCCGCGTCTGAGCACGGTGGGGGCGGCGGTGTCGATCGCCGCGGCGGCCAGCG
TGGTAGGCGCCCCGGTGGCGGTGGTCACTTCTTGTGACCGGGGCTCTCAACGGCATCTGCGCGGCGT
GCAGCAGCCCATCATCGAAAAGCTGGCCATGATTACGCTCGCAAGATCGACGAGCTGGGCGGGCCGCA
GCGTACTTTCGAGAAAAACCTGCAGGCGCGTCACGAACAACCTGGCCAATTCGACGGCCTACGGAATGC
TGGCTGACCTGCAGGCGGGTGAACGCCAGCAGCGTGATCGGGGTGACGACGACAGAGATTTCAAGTC
GGCGCTCGAACTGGCCGCCATTACGGCAACGCGGACAACCTGAAATCCGCCGACGTGTTCTGTGGACCGC
TTCATCCAGGGCGAGCGGGTGGCCGGCCAGCGGTGGTACTCGACGTGCGCCCGGGCGGCATCGATATCG
CCAGCCGCAAGGGCGAGCGGCGGCGCTGACGTTTCATCACGCCGCTGGCCGCGCCAGGAGAAGAGCAGCG
CCGGCGCACGAAGACGGGCAAGAGCGAATTACACCATTCGTCGAGATCTGGGCAAGCAGGACCGCTGG

Fig. 1D

(*B. paraptussis*/continuación)

CGCATCCGGGACGGCGCGCGGACACCACCATCGATCTGGCCAAGGTGGTGTGCGAACTGGTTCGACGCCA
ATGGCGTGTCTAAGCACAGCATCAAACCTGGAGGTGATCGGCGGAGATGGCGATGATGTCTGTGCTTGCCAA
TGCTTCGCGCATCCATTACGACGGCGCGGGAACCAACACGGTCAGCTATGCCGCCCTGGGCCGACAG
GATTCCATTACCGTGTCCGCCGACGGGGAACGTTTCAACGTGCGCAAGCAGTTGAACAACGCCAACGTGT
ATCGCGAAGGCGTGGCTACCCAGAAAACCGCTACGGCAAGCGCACGGAGAATGTCCAATACGCCCATGT
CGAGCTGGCCCGTGTGCGGCAACTGGTGGAGGTGCGACACGTCGAGCATGTGCGACACATCATCGGCCGG
GCCGGCAACGATTTCGATCACCGGCAATGCGCACGACAACCTTCTGGCCGGCGGGGCGGGCGACGACAGGC
TGGATGGCGGCGCGGCAACGACACACTGGTTCGGCGGCGAGGGCCACAACACGGTCGTGCGCGCGCTGG
CGACGACGTATTCTGACGACCTGGGGGTATGGAGCAACCAGCTCGATGGCGGCGGGCGCTCGATACC
GTGAAGTACAACGTGCACACGCTTCCGAGGAACGCTCGAACGCATGGGCGACACGGGCATCCATGCCG
ATCTTCAAAGGGCACGGTCGAGAAGTGGCGGCCCTGAACCTGTTTCAGCGTCGACCATGTCAAGAATAT
CGAGAATCTGCACGGCTCCAGCCTGAACGACAGCATCGCCGCGCAGACACGGGACAACGAGCTCTGGGGC
GACGATGGCAACGACACGATACACGGCCGGGGCGGCGACGATATCTGCGCGGCGGCTGGGCTGGACA
CGGTGTATGGCGAGGACGGCAACGACATCTTCTGCGAGGACGAGACCGTCAGCGATCGACGCGG
CGGCGCGGGCTGGACACCGTCGACTATTCCGCCATGATCCATGCGAGGCAAGATCGTTGCGCGCATGAA
TACGGCTTCGGGATCGAGGCGGACCTGTCCGAAGGGTGGGTGCGCAAGGCGGCCGGCGCGCATGGGCT
ACTACGACAGTGTCCGAGTGTGCAAAACGTATCGGCACGAGCATGAAGGATGTGCTCATCGCGGACGC
GCAAGCCAATACCCTGATGGGCCAGGGCGGCGACGATACCGTGCAGCGGCGGCGACGGCGATGATCTGCTG
TTCGGCGGCGACGGCAACGACATGCTGTATGGAGACGCCGCAACGACACCTCTACGGAGGGCTGGGCG
ACGATACCTTGAAGGCGGCGCGGGCAACGATTGGTTTCGGCCAGACGCCGCGCGGAGCATGACGTGCT
GCGCGGCGGGCTGGGGTGGATACCGTGGATTACAGCCAGGCGGGCGCGCATGCCGGCGTTGCCACGGGT
CGCATCGGGCTGGGTATTCTGGCGGACCTGGGCGCGCGCGCTGCGACAAGCTGGGCGAGGCGCGGACGA
GCGCCTACGATACGGTTTCCGGCATCGAAAATGTGGTGGGACGGAACTGGCCGACCGCATACGGGCGA
TGCGCAGGCCAACGTACTGCGCGGCGCGGGTGGTGGCAGCTGCTTGGCGGCGGCGAGGGCGACGATGTG
CTGCTGGGCGGCGAGGGCGATGACACGCTGTCGGGCGACGCCGAGCGACCGCTTGTACGGCGAAGCCG
GTGACGACTGGTTCTTCCAGGATGCCGCCAATGCCGGCAATCTGCTCGACGGTGGTGACGGCAACGATAC
CGTGGATTTCAGCGGCCCGGGCGGGGCTCGACGCCGCGCAAAGGGCGTATTCTGAGCCTGGGCAAG
GGGTTCCGCGCCTGATGGACGAACCCGAAACGACGACGTTTGGCGCATATCGAGAACGCCGTGGGCA
GCGTGCCTGATGACGTGTGATCGGCGACGAGGCGCAACGTCCTCAATGGCCTGGCGGGCAACGACGT
GTTGTCCGCGCGGCGCGGCGACGATGTGCTGCTGGGCGACGAGGGCTCGGACCTGCTCAGCGCGATGCG
GGCAACGACGATCTGTTCCGGCGGCGAGGGCGATGATACCTATCTGTTCCGGGCGGGGTACGGACATGACA
CGATCTACGAATCGGGCGGCGGCGCATGACACCATCCGTATCAACGCGGGGGCGGACGAGCTGTGGTTTGC
GCGCCAGGGCAACGACCTGGAGATCCGATTTCTTGGCACCGACGATGCACCTACCGTGCACGACTGGTAT
CGCGACGCCGATCACCGGTGGAAGCCATCCATGCCGCCAACGAGCCATAGACCGGCGCGCATCGAAA
AGCTGGTTCGAGGCAATGGCGCAGTACCCGACCCCGCGCGCGGCGGCTGCCCCGCGGCGCGCGCT
GCCGACACGCTGATGCAGTCCCTGGCTGTCAACTGGCGCTGA (SEQ ID NO :5)

B. bronchiseptica

GTGCTGGATGTTTGGTTCTTGCGAAGGATGAGGTTCTGAGCGCTACACACCGGTTGCGTTCGGTGCGAAT
CCGTTCAATCGACTACTTATCGACAGATCCACATGCAGCAATCGCATCAGGCTGGTTACGCAAACGCCGC
CGACCGGGAGTCTGGCATCCCCGAGCCGTAATCGATGGCATCAAGGCCGTGGCGAAGGAAAAAACGCC
ACATTGATGTTCCGCTGGTCAACCCCCATTCCACCAGCCTGATTGCCGAAGGGGTGGCCACCAAAGGAT
TGGGCGTGACGCCAAGTCGTCCGATTGGGGGTTGACGGCGGGCTACATTCCCGTCAACCCGAATCTTTC
CAAACGTTCGGCCGTGCGCCCGAGGTGATCGCGCGGGCGGACACGACGTCACAGCAGCCTGGCGCAT
GGCCATACCGCGGTGACCTGACGCTGTGAAAGAGCGGCTTGAATATCTGCGGCAAGCGGCGCTGGTCA
CCGGCATGGCCGATGGCGTGGTTCGCGAGCAACCACGAGGCTACGAGCAGTTTCGAGTTTCGCGTGAAGGA
AACCTCGACGGGCGCTATGCCGTGAGTATCGCCGCAAGGGCGGCGACGATTCGAGGCGGTCAAGGTG
ATCGGCAATGCCCGGCTATTCCACTGACGGCGGATATCGACATGTTCCGCATCATGCCGATCTGTCCA
ACTTCCGCGACTCGGCGCGAGTTTCGGTGACCGGCGATTTCGGTGACCGATTACCTGGCGCGCACGCG
GCGGGCCGCGAGCGAGGCCACGGGCGGCTGGATCGCGAACGCATCGACTTGTGTGGAATACTGCTCGC
GCCGGCGCCGTTCCGCGAGTGGGACCGAGGCGCGTCCGAGTTCCGCTACGACGGCGACATGAATATCG
GCGTGTACCCGATTTCGAGCTGGAAGTGCCTAATGCGCTGAACAGGCGGGCGCACGCCGTCGGCGCGCA
GGACGTGTCCAGCATGGCACTGAGCAGAACAACTCTTCCCGAGGCGAGTGAAGAATTTTCGTGCTGA
TCGGCCACCGGTGAAAGCCAGATGCTCACGCGCGGGCAACTGAAGGAATACATTGGCCAGCAGCGCGCG
AGGGCTATGTCTTCTACGAGAACCCTGCTACGGCGTGGCGGGGAAAGCCTGTTTCGACGATGGGCTGGG
AGCCGCGCCCGCGTGGCGGGCGGACGTTTCAAGTCTTCGCGGATGTACTGGAACGGTGGCGGCGTCA

Fig. 1E

(*B. bronchiseptica*/continuación)

CCCGGATTGCGGCGGCCGTCGCTGGGCGCAGTGGAAACGCCAGGATTCCGGCTATGACAGCCTTGATGGGG
 TGGGATCGCGATCGTTCTCGTTGGGCGAGGTGTCCGACATGGCCGCCGTGGAAGCGGCGGAAC TGGAAT
 GACCCGGCAAGTCTTGACGCCCGGGGCGCGGCAGGACGATGCCGAGCCGGGCGTGAGCGGTGCGTCGGCG
 CACTGGGGGCGAGCGGGCGCTGCAGGGCGCCAGGCGGTGGCGGGCGCGAGCGGCTGGTTTCATGCCATTG
 CCCTGATGACGCAATTCGGCCGGGCGCGTTCCACCAACACGCCGAGGAAGCGGCCCTCGTTGTGCGCGGC
 CGTGTTCGGCTTGCGGCGAGGCCAGCAGCGCCGTGGCCGAAACCGTGAGCGGTTTTTTTCCGCGGGTCTTCG
 CGCTGGGCGCGCGGTTTCGGCGTGCTGGCGGCGCGATGGCGCTGGGAGGCGGCATCGCCGCGGCCGTTG
 GCGCCGGGATGTCGTTGACCGATGACGCGCCGGCCGGACAGAAGGCCGCCGCCGCGCGCGAGATCGCGCT
 GCAGTTGACAGGTGGAACGGTTCGAGCTGGCTTCTTCCATCGCGTTGGCGCTGGCCGCGGCGCGCGCGCTG
 ACCAGCGGCTTGCAAGTGGCGGGGCGTCCGCCGGGGCGGCTGCCGCGCATTTGGCCGCGCGCTCAGTC
 CCATGGAGATCTACGGCTGGTGACCAATCGCACTATGCGGATCAGCTGGACAAGCAGCGCAGGAATC
 GAGCGCATACGGTTACGAGGGCGACGCTTGCTGGGCCAGCTGTATCGCGACAAGACGGCCGCCGAGGGC
 GCCGTCGCCGGCGTCTCCGCCGTCCTGAGCACGGTGGGGGCTGCGGTGTGATCGCCGCGGCGGCCAGCG
 TGGTAGGCGCCCCGGTGGCGGTGGTCACTTCTTGTGACCGGGGCTCTCAACGGCATCTGCGCGGCGT
 GCAGCAGCCCATCATCGAAAAGCTGGCCAATGATTACGCTCGCAAGATCGACGAGCTGGGCGGGCCGCAA
 GCGTACTTCGAGAAAACTGCAGGCGCGTCACGAACAACCTGGCCAATTCGAGCGGCCCTACGAAAAATGC
 TGGCCGACCTGCAGGCCGGGTGGAACGCCAGCAGCGTGATCGGGGTGACAGACAGAGATTTCCAACTC
 GCGCTCGAACTGGCCGCCATTACCGGCAACGCGGACAACCTGAAATCCGCCGACGTGTTCTGTTGACCCG
 TTCATCCAGGGCGAGCGGGTGGCCGGCCAGCCGGTGGTACTCGACGTCGCCGCCGCGCGGCATCGATATCG
 CCAGCCGCAAGGGCGAGCGGCCGGCGCTGACGTTTCATCACGCCGCTGGCCGCGCCAGGAGAAGAGCAGCG
 CCGGCGCACGAAAACGGGCAAGAGCGAATTCACCAATTCGTCGAGATCGTGGGCAAGCAGGACCCGCTGG
 CGCATCCGGGACGGCGCGGCCGACCAACCATCGATCTGGCCAAGGTGGTGTGCAACTGGTTCGACGCCA
 ATGGCGTGTCTAAGCACAGCATCAAACTGGAGGTGATCGGCGGAGATGGCGATGATGTGCTGCTTGCCAA
 TGCTTCGCGCATCCATTACGACGGCGGCGCGGGAACCAACACGGTCAGCTATGCCGCCCTGGGCGGACAG
 GATTCCATTACCGTGTCCGCCGACGGGGAACGTTTCAACGTGCGCAAGCAGTTGAACAACGCCAACGTGT
 ATCGCGAAGGCGTGGCTACCCAGAAAACCGCTACGGCAAGCGCACGGAGAATGTCCAATACCGCCATGT
 CGAGCTGGCCCGTGTGCGGCAACTGGTGGAGGTGACACGCTCGAGCATGTGACGACATCATCGGCCGG
 GCCGGCAACGATTTCGATCACCGGCAATGCGCACGACAACCTTCTGGCCGGCGGGGCGGGCGACGACAGGC
 TGGATGGCGGCGCCGGCAACGACACACTGGTGGCGGCGAGGGCCACAACACGGTCTGCGCGGCGCTGG
 CGACGAGTATTCCTGACGACCTGGGGGTATGGAGCAACAGCTCGATGGCGGCGCGGGCGTTCGATAACC
 GTGATACCTTTGAAGGCGGCGCGGGCAACGATTGGTTTCGGCCAGACGCGCGCGCGAGCATCCATGCCG
 ATCTTCAAAAGGGCACGGTTCGAGAAGTGGCCGGCCCTGAACCTGTTTCAGCGTCGACCATGTCAAGAAAT
 CGAGAATCTGCACGGCTCCAGCTGAACGACAGCATCGCCGGCGACGACCGGGACAACGAGCTCTGGGGC
 GACGATGGCAACGACACGATACACGGCCGGGGCGGCGACGATATCTGCGCGGCGGCTGGGCTTGACA
 CGCTGTATGGCGAGGACGGCAACGACATCTTCTGACGAGACGAGACCGTCAGCGATGACATCGACGG
 TGGCGCGGACTGGACACCGTCGACTATTCGCCATGATCCATGCAGGCAAGATCGTTGCGCCGATGAA
 TACGGCTTCGGGATCGAGGCGGACCTGTCCGAAGGGTGGGTGCGCAAGGCGGCCCGGCGCGGCATGGACT
 ACTACGACAGTGTCCGAGTGTGCAAAACGTCATCGGCACGAGCATGAAGGATGTGCTCATCGGCGACGC
 GCAAGCCAATACCTGATGGGCCAGGGCGGCGACGATACCGTGGCGGGCGGCGACGGCGATGATCTGCTG
 TTCGGCGGCGACGGCAACGACATGCTGTATGGAGACGCGGCAACGACACCCCTCTACGAGGGCTGGGCG
 ACGATACCTTTGAAGGCGGCGCGGGCAACGATTGGTTTCGGCCAGACGCGCGCGCGAGCATGACGTGCT
 CGCGCGGCGGGGCTGGGGTGGATACCGTGGATTACAGCCAGGCGGGCGCGCATGCCGGCGTTGCCACGGGT
 CGCATCGGGCTGGGTATTCTGGCGGACCTGGGCGCGGCGCGCTCGACAAGCTGGGCGAGGCGGGCAGCA
 GCGCTACGATACGGTTTCCGGCATCGAAAATGTGGTGGGCGACGGAACCTGGCCGACCGCATACGGGCGA
 TGCGCAGGCCAACGTACTGCGCGGCGCGGGTGGCGCCGACGTGCTTGGCGGCGGCGAGGGCGACGATGTG
 CTGCTGGGCGGCGACGGCGACGACGCTGTGCGGCGACGCCGACGCGACCGCTTGTACGGCGAAGCCG
 GTGACGACTGGTTCTTCCAGGATGCCGCCAATGCCGGCAATCTGCTCGACGGTGGTGACGGCAACGATAC
 CGTGGATTTCAGCGGCCCGGGCGGGGCTCGACGCCGGCGCAAAGGGCGTATTCCTGAGCTGGGCAAG
 GGGTTCGCCAGCCTGATGGACGAACCCGAAACAGCAACGTGTTGCGCCATATCGAGAACGCCGTGGGCA
 GCGTGCTGATGACGTGCTGATCGGCGACGACGCGGCAACGTCCTCAATGGCTTGGCGGGCAACGACGT
 GCTGTCCGGCGGCGCGGGCGACGATGTGCTGCTGGGCGACGAGGGCTCGGACCTGCTCAGCGCGCATGCG
 GGCAACGACGATCTGTTCCGGCGGGCAGGGCGATGATACCTATCTGTTCCGGGCGGGGTACGGACATGACA
 CGATCTACGAATCGGGCGGCGGCCATGACACCATCCGATCAACGCGGGGGCGGACCGAGCTGTGGTTTGC
 GCGCCAGGGCAACGACCTGGAGATCCGATCTTGGCACCGACGATGCACTTACCGTGCACGACTGGTAT
 CGCGACGCCGATACCGGGTGGAAAGCATCCATGCCGCCAACCAGGCCATAGACCGGGCGGCGATCGAAA
 AGCTGGTTCGAGGCAATGGCGCAGTACCCGACCCCGGCGCGGCGGGCTGCCCCGCCGGCGGCGCGCT
 GCCGACACGCTGATGCAGTCCCTGGCTGTCAACTGGCGCTGA (SEQ ID NO :6)

Fig. 1F

parapertussis	MLDVWFLQKDEVLSATHRLRRCESVQSTTYRQIHMQQSHQAGYANAADRESGIPAAVLGDG	60
bronchiseptica	MLDVWFLQKDEVLSATHRLRRCESVQSTTYRQIHMQQSHQAGYANAADRESGIPAAVLGDG	60
pertussis	-----MQQSHQAGYANAADRESGIPAAVLGDG	26

parapertussis	IKAVAKEKNATLMFRLVNPSTSLIAEGVATKGLGVHAKSSDWGLQAGYIPVNPNSKLF	120
bronchiseptica	IKAVAKEKNATLMFRLVNPSTSLIAEGVATKGLGVHAKSSDWGLQAGYIPVNPNSKLF	120
pertussis	IKAVAKEKNATLMFRLVNPSTSLIAEGVATKGLGVHAKSSDWGLQAGYIPVNPNSKLF	86

parapertussis	GRAPEVIARADNDVNSSLAHGHTAVDLTSLKERLDYLRQAGLVTGMADGVVASNHAGYEQ	180
bronchiseptica	GRAPEVIARADNDVNSSLAHGHTAVDLTSLKERLDYLRQAGLVTGMADGVVASNHAGYEQ	180
pertussis	GRAPEVIARADNDVNSSLAHGHTAVDLTSLKERLDYLRQAGLVTGMADGVVASNHAGYEQ	146

parapertussis	FEFRVKETSDGRYAVQYRRKGGDDFEAVKVIGNAAGIPLTADIDMFAIMPHLSNFRDSAR	240
bronchiseptica	FEFRVKETSDGRYAVQYRRKGGDDFEAVKVIGNAAGIPLTADIDMFAIMPHLSNFRDSAR	240
pertussis	FEFRVKETSDGRYAVQYRRKGGDDFEAVKVIGNAAGIPLTADIDMFAIMPHLSNFRDSAR	206

parapertussis	SSVTSGDSVTDYLARTRRRAASEATGGLDRERIDLLWKIARAGARSAVGTEARRQFRYDGD	300
bronchiseptica	SSVTSGDSVTDYLARTRRRAASEATGGLDRERIDLLWKIARAGARSAVGTEARRQFRYDGD	300
pertussis	SSVTSGDSVTDYLARTRRRAASEATGGLDRERIDLLWKIARAGARSAVGTEARRQFRYDGD	266

parapertussis	MNIGVITDFELEVNRNALNRRHAVGAQDVVQHGTEQNNPFPEADEKIFVVSATGESQMLT	360
bronchiseptica	MNIGVITDFELEVNRNALNRRHAVGAQDVVQHGTEQNNPFPEADEKIFVVSATGESQMLT	360
pertussis	MNIGVITDFELEVNRNALNRRHAVGAQDVVQHGTEQNNPFPEADEKIFVVSATGESQMLT	326

parapertussis	RGQLKEYIGQQRGEGYVFYENRAYGVAGKSLFDDGLGAAPGVPGGRSKSSPDVLETVPAS	420
bronchiseptica	RGQLKEYIGQQRGEGYVFYENRAYGVAGKSLFDDGLGAAPGVPGGRSKSSPDVLETVPAS	420
pertussis	RGQLKEYIGQQRGEGYVFYENRAYGVAGKSLFDDGLGAAPGVPSGRSKFSPDVLETVPAS	386

parapertussis	PGLRRPSLGAVRQDSGYDSLGVGSRSFSLGEVSDMAAVEAAELEMTRQVLHAGARQDD	480
bronchiseptica	PGLRRPSLGAVRQDSGYDSLGVGSRSFSLGEVSDMAAVEAAELEMTRQVLHAGARQDD	480
pertussis	PGLRRPSLGAVRQDSGYDSLGVGSRSFSLGEVSDMAAVEAAELEMTRQVLHAGARQDD	446

parapertussis	AEPGVSGASAHWGQRALQGAQAVAAQRLVHAIALMTQFGRAGSTNTPQEASLSAAVFG	540
bronchiseptica	AEPGVSGASAHWGQRALQGAQAVAAQRLVHAIALMTQFGRAGSTNTPQEASLSAAVFG	540
pertussis	AEPGVSGASAHWGQRALQGAQAVAAQRLVHAIALMTQFGRAGSTNTPQEASLSAAVFG	506

parapertussis	LGEASSAVAETVSGFFRGSSRWAGGFGVAGGAMALGGGIAAAVAGMSLTDDAPAGQKAA	600
bronchiseptica	LGEASSAVAETVSGFFRGSSRWAGGFGVAGGAMALGGGIAAAVAGMSLTDDAPAGQKAA	600
pertussis	LGEASSAVAETVSGFFRGSSRWAGGFGVAGGAMALGGGIAAAVAGMSLTDDAPAGQKAA	566

parapertussis	VGAETIALQLTGGTVELASSIALALAAARGVTSGLQVAGASAGAAAGALAAALSPMEIYGL	660
bronchiseptica	AGAEIALQLTGGTVELASSIALALAAARGVTSGLQVAGASAGAAAGALAAALSPMEIYGL	660
pertussis	AGAEIALQLTGGTVELASSIALALAAARGVTSGLQVAGASAGAAAGALAAALSPMEIYGL	626

parapertussis	VQQSHYADQLDKLAQESSAYGYEGDALLAQLYRDKTAEGAVAGVSAVLSTVGAAVSIAA	720
bronchiseptica	VQQSHYADQLDKLAQESSAYGYEGDALLAQLYRDKTAEGAVAGVSAVLSTVGAAVSIAA	720
pertussis	VQQSHYADQLDKLAQESSAYGYEGDALLAQLYRDKTAEGAVAGVSAVLSTVGAAVSIAA	686

Fig. 2A

parapertussis	AASVVGAPVAVVTSLLTGALNGILRGVQQPIIEKLANDYARKIDELGGPQAYFEKNLQAR	780
bronchiseptica	AASVVGAPVAVVTSLLTGALNGILRGVQQPIIEKLANDYARKIDELGGPQAYFEKNLQAR	780
pertussis	AASVVGAPVAVVTSLLTGALNGILRGVQQPIIEKLANDYARKIDELGGPQAYFEKNLQAR	746

parapertussis	HEQLANS DGLRKMLADLQAGWNASSVIGVQTTEISKSALELAITGNADNLKSADV FVDR	840
bronchiseptica	HEQLANS DGLRKMLADLQAGWNASSVIGVQTTEISKSALELAITGNADNLKSADV FVDR	840
pertussis	HEQLANS DGLRKMLADLQAGWNASSVIGVQTTEISKSALELAITGNADNLKSADV FVDR	806
***** , *****		
parapertussis	FIQGERVAGQPVVLDVAAGGIDIASRKGERPALTFITPLAAPGEEQRRRTKTGKSEFTTF	900
bronchiseptica	FIQGERVAGQPVVLDVAAGGIDIASRKGERPALTFITPLAAPGEEQRRRTKTGKSEFTTF	900
pertussis	FVQGERVAGQPVVLDVAAGGIDIASRKGERPALTFITPLAAPGEEQRRRTKTGKSEFTTF	866
* ; *****		
parapertussis	VEIVGKQDRWRIRDGAADTTIDLAKVVSQQLVDANGVLKHSIKLEVIGGDGDDVVLANASR	960
bronchiseptica	VEIVGKQDRWRIRDGAADTTIDLAKVVSQQLVDANGVLKHSIKLEVIGGDGDDVVLANASR	960
pertussis	VEIVGKQDRWRIRDGAADTTIDLAKVVSQQLVDANGVLKHSIKLDVIGGDGDDVVLANASR	926
***** ; *****		
parapertussis	IHYDGGAGTNTVSYAALGRQDSITVSADGERFNVRKQLNNANVYREGVATQKTAYGKRTE	1020
bronchiseptica	IHYDGGAGTNTVSYAALGRQDSITVSADGERFNVRKQLNNANVYREGVATQKTAYGKRTE	1020
pertussis	IHYDGGAGTNTVSYAALGRQDSITVSADGERFNVRKQLNNANVYREGVATQTTAYGKRTE	986
***** , *****		
parapertussis	NVQYRHVELARVGQLVEVDTLEHVQHIIGGAGNDSITGNAHDNFLAGGAGDDRLDGGAGN	1080
bronchiseptica	NVQYRHVELARVGQLVEVDTLEHVQHIIGGAGNDSITGNAHDNFLAGGAGDDRLDGGAGN	1080
pertussis	NVQYRHVELARVGQLVEVDTLEHVQHIIGGAGNDSITGNAHDNFLAGGSGDDRLDGGAGN	1046
***** ; *****		
parapertussis	DTLVGGEHNTVVGGAGDDVFLQDLGVWSNQLDGGAGVDTVKNVHQPSEERLERMGDTG	1140
bronchiseptica	DTLVGGEHNTVVGGAGDDVFLQDLGVWSNQLDGGAGVDTVKNVHQPSEERLERMGDTG	1140
pertussis	DTLVGGEQNTVIGGAGDDVFLQDLGVWSNQLDGGAGVDTVKNVHQPSEERLERMGDTG	1106
***** ; *** ; *****		
parapertussis	IHADLQKGTVEKWPALNLFSDHVKNIEHLHGSSLNDSIAGDDRDNELWGDDGNDTIHGR	1200
bronchiseptica	IHADLQKGTVEKWPALNLFSDHVKNIEHLHGSSLNDSIAGDDRDNELWGDDGNDTIHGR	1200
pertussis	IHADLQKGTVEKWPALNLFSDHVKNIEHLHGSRLNDRIAGDDQDNELWHDGNDTIHGR	1166
***** ***** ** ***** ; ***** , ***** ; **		
parapertussis	GGDDILRGGLGLDTLYGEDGNDIFLQDDETVSDDIDGGAGLDTVDSAMIHAGKIVAPHE	1260
bronchiseptica	GGDDILRGGLGLDTLYGEDGNDIFLQDDETVSDDIDGGAGLDTVDSAMIHAGKIVAPHE	1260
pertussis	GGDDILRGGLGLDTLYGEDGNDIFLQDDETVSDDIDGGAGLDTVDSAMIHGPRIVAPHE	1226
***** , * ; *****		
parapertussis	YGFGIEADLSEGWRKAARRGMGYDYSVRSVENVIGTSMKDVLIQDAQANTLMGQGGDDT	1320
bronchiseptica	YGFGIEADLSEGWRKAARRGMGYDYSVRSVENVIGTSMKDVLIQDAQANTLMGQGGDDT	1320
pertussis	YGFGIEADLSREWVRKASALGVYDYNVRNVENVIGTSMKDVLIQDAQANTLMGQGGDDT	1286
***** , ***** ; * ; *** , ** , *****		
parapertussis	VRGGDGDLLFGGDGNDMLYGDAGNDTLYGGLGDDTLEGGAGNDWFGQTPAREHVDLRRG	1380
bronchiseptica	VRGGDGDLLFGGDGNDMLYGDAGNDTLYGGLGDDTLEGGAGNDWFGQTPAREHVDLRRG	1380
pertussis	VRGGDGDLLFGGDGNDMLYGDAGNDTLYGGLGDDTLEGGAGNDWFGQTQAREHVDLRRG	1346
***** *****		
parapertussis	AGVDTVDSYQAGAHAGVATGRIGLGILADLGA GRVDKLGEAGSSAYDTVSGIENNVGTEL	1440
bronchiseptica	AGVDTVDSYQAGAHAGVATGRIGLGILADLGA GRVDKLGEAGSSAYDTVSGIENNVGTEL	1440
pertussis	DGVDTVDSYQTGAHAGIAAGRIGLGILADLGA GRVDKLGEAGSSAYDTVSGIENNVGTEL	1406
***** ; ***** ; * ; *****		

Fig. 2B

parapertussis	ADRITGDAQANVLRGAGGADVLAGGEGDDVLLGGEGDDQLSGDAGRDRLYGEAGDDWFFQ	1500
bronchiseptica	ADRITGDAQANVLRGAGGADVLAGGEGDDVLLGGEGDDQLSGDAGRDRLYGEAGDDWFFQ	1500
pertussis	ADRITGDAQANVLRGAGGADVLAGGEGDDVLLGGEGDDQLSGDAGRDRLYGEAGDDWFFQ	1466
	*****.*****	
parapertussis	DAANAGNLLDGGDGNNDTVDFSGPGRGLDAGAKGVFLSLGKGFASLMDEPETSNNVLRHIEN	1560
bronchiseptica	DAANAGNLLDGGDGNNDTVDFSGPGRGLDAGAKGVFLSLGKGFASLMDEPETSNNVLRHIEN	1560
pertussis	DAANAGNLLDGGDGRDNTVDFSGPGRGLDAGAKGVFLSLGKGFASLMDEPETSNNVLRNIEN	1526
	*****.*****	
parapertussis	AVGSVRDDVLIGDAGANVNLNLAGNDVLSGGAGDDVLLGDEGSDLLSGDAGNDDLFGGQG	1620
bronchiseptica	AVGSVRDDVLIGDAGANVNLNLAGNDVLSGGAGDDVLLGDEGSDLLSGDAGNDDLFGGQG	1620
pertussis	AVGSARDDVLIGDAGANVNLNLAGNDVLSGGAGDDVLLGDEGSDLLSGDAGNDDLFGGQG	1586
	****.*****	
parapertussis	DDTYLFGAGYGHDTIYESGGGHDTIRINAGADQLWFARQGNLEIRILGTDDALTVHDWY	1680
bronchiseptica	DDTYLFGAGYGHDTIYESGGGHDTIRINAGADQLWFARQGNLEIRILGTDDALTVHDWY	1680
pertussis	DDTYLFGVGYGHDTIYESGGGHDTIRINAGADQLWFARQGNLEIRILGTDDALTVHDWY	1646
	*****.*****	
parapertussis	RDADHRVEAIHAANQAIDPAGIEKLVEAMAQYPDPGAAAAAPPAARVPDTLMQSLAVNWR	1740
bronchiseptica	RDADHRVEAIHAANQAIDPAGIEKLVEAMAQYPDPGAAAAAPPAARVPDTLMQSLAVNWR	1740
pertussis	RDADHRVEIHAANQAVDQAGIEKLVEAMAQYPDPGAAAAAPPAARVPDTLMQSLAVNWR	1706
	***** *****:*****	

Fig. 2C

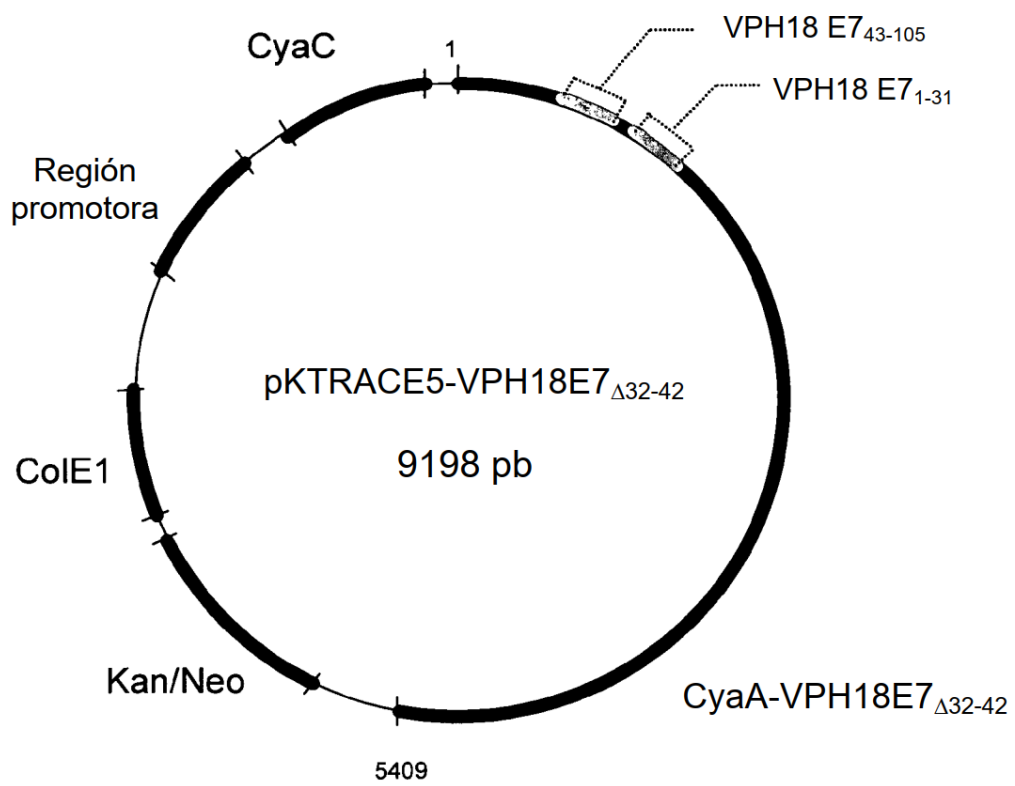
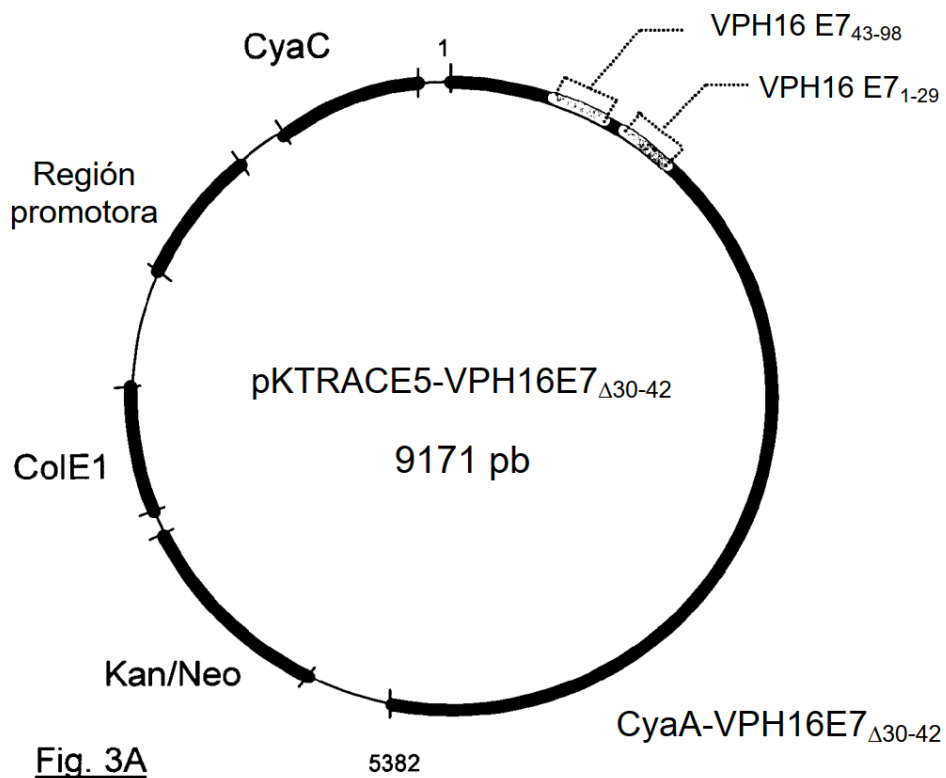
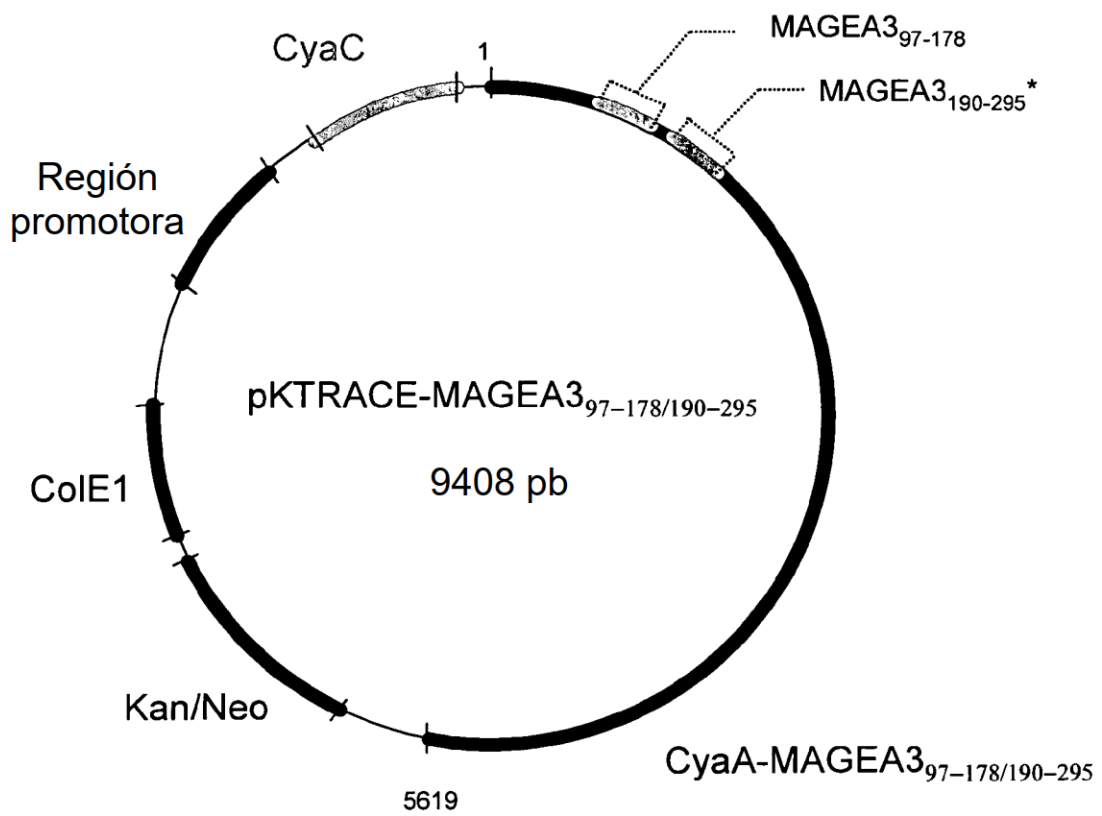
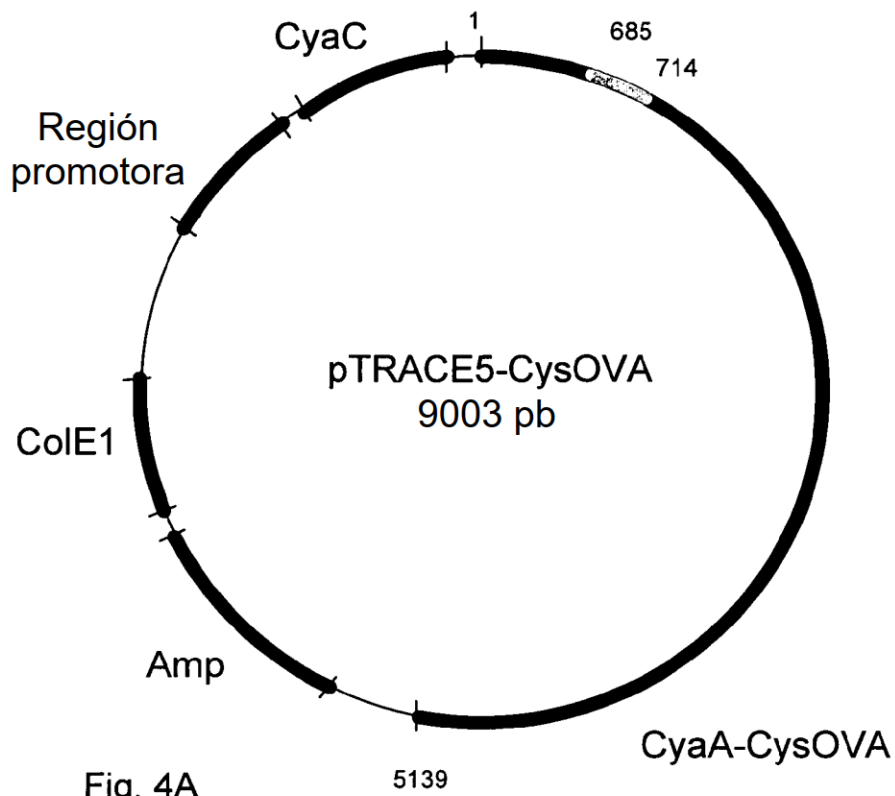


Fig. 3B



MQQSHQAGYANAADRESGIPAAVLDDGIKAVAKEKNATLMFRLVNPSTSL
 IAEGVATKGLGVHAKSSDWGLQAGYIPVNPNSKLFGRAPVIA RADNDV
 NSSLAHGHTAVDLTSLKERLDYLRQAGLVTGMADGVVASNHAGYEQFEFR
 VKETSDGRYAVQYRRKGGDDFEAVKVIGNAAGIPLTADLQIDMFAIMPHL
 SNFRDSARSSVTSGDSVTDYLARTRRASTFPDLESEFQAALSRKVAELVH
FLLKLYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELME
VDPIGHLYIFGTRARLKLLWKIARAGARS AVGTEARRQFRYDGMNIGVI
 TDFELEV RNALNRRHAVGAQDVVQHGTEQNNPFPEADEKIFVVSATGLG
DNQIMPKAGLLIIVLAI IAREGDCAPEEKIPKLLTQHVFQENYLEYRQV
PGSDPACYEFLWGPRLVETSYVKVLHMHVKISGTSESQMLTRGQLKEYI
 GQQRGEGYVFYENRAYGVAGKSLFDDGLGAAPGVPSGRSKFSPDVLETVP
 ASPGLRRPSLGAVERQDSGYDSL DGVGSRSFSLGEVSDMAAVEAAELEMT
 RQVLHAGARQDDAE PGVSGASAHWGQRALQGAQAVAAAQRLVHAIALMTQ
 FGRAGSTNTPQEAASLSAAVFGLGEASSAVAETVSGFFRGSSRWAGGFGV
 AGGAMALGGGIAAAVGAGMSLTDDAPAGQKAAAGAEIALQLTGGTVELAS
 SIALALAAARGVTSGLQVAGASAGAAAGALAAALSPMEIYGLVQQSHYAD
 QLDKLAQESSAYGYEGDALLAQLYRDKTAAEGAVAGVSAVLSTVGA AVSI
 AAAASVVGAPVAVVTSLLTGALNGILRGVQQPIIEKLANDYARKIDELGG
 PQAYFEKNLQARHEQLANS DGLRKMLADLQAGWNASSVIGVQTTEISKSA
 LELAAITGNADNLKSVDVFVDRFVQGERVAGQPVVLDVAAGGIDIASRKG
 ERPALTFITPLAAPGEEQRRRTKTGKSEFTTFVEIVGKQDRWRIRDGAAD
 TTIDLAKVVSQ LVDANGVLKHSIKLDVIGGDGDDVVLANASRIHYDGGAG
 TNTVSYAALGRQDSITVSADGERFNVRKQLNNANVYREGVATQTTAYGKR
 TENVQYRHVELARVGQLVEVD TLEHVQHIIGGAGNDSITGNAHDNFLAGG
 SGDDRLDGGAGNDTLVGGEQNTVIGGAGDDVFLQDLGVWSNQLDGGAGV
 DTVKYNVHQPS EERLERMGDTGIHADLQKGTVEKWPALNLFSDHVKNIE
 NLHGSRLNDRIAGDDQDNELWGH DGN D TIRGRGGDDILRGGLGLDTLYGE
 DGNDIFLQDDETVSDDIDGGAGLD TVDYSAMIHPGRIVAPHEYGFGIEAD
 LSREWVRKASALGV DYYDNVRN VENVIGTSMKDV LIGDAQANTLMGQGGD
 DTVRGGDGDDLLFGGDGNDMLYGDAGND TLYGGLGDDTLEGGAGNDWFGQ
 TQAREHDVLRGGDGVD TVDYSQTGAHAGIAAGRIGLGILADLGAGRVDKL
 GEAGSSAYDTVSGIENVVGTELAD RITGDAQANVLRGAGGADVLAGEGD
 DVLLGGDGDDQLSGDAGRDRLYGEAGDDWFFQDAANAGNLLDGGDGRDTV
 DFSGPGRGLDAGAKGVFLSLGKG FASLMDEPETS NVLRNIENAVGSARD
 VLIGDAGANVLNGLAGNDVLSGGAGDDVLLGDEGS DLLSGDAGNDDLFGG
 QGDDTYLFGVGYGHDTIYESGGGHDTIRINAGADQLWFARQGN DLEIRIL
 GTDDALTVHDWYRDADHRVEI IHAANQAVDQAGIEKLVEAMAQYPDPGAA
 AAAPPAARVPDTLMQSLAVNWR (SEQ ID NO :7)

Fig. 4C

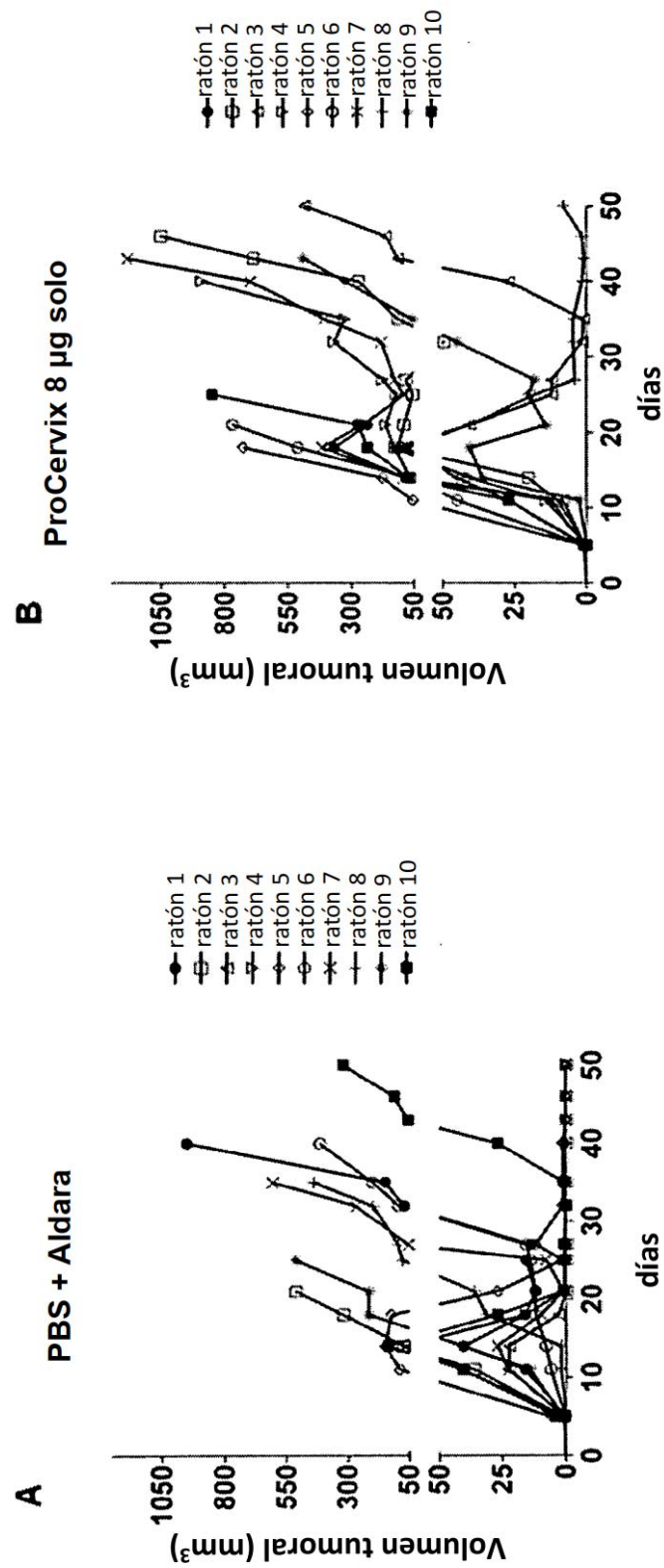
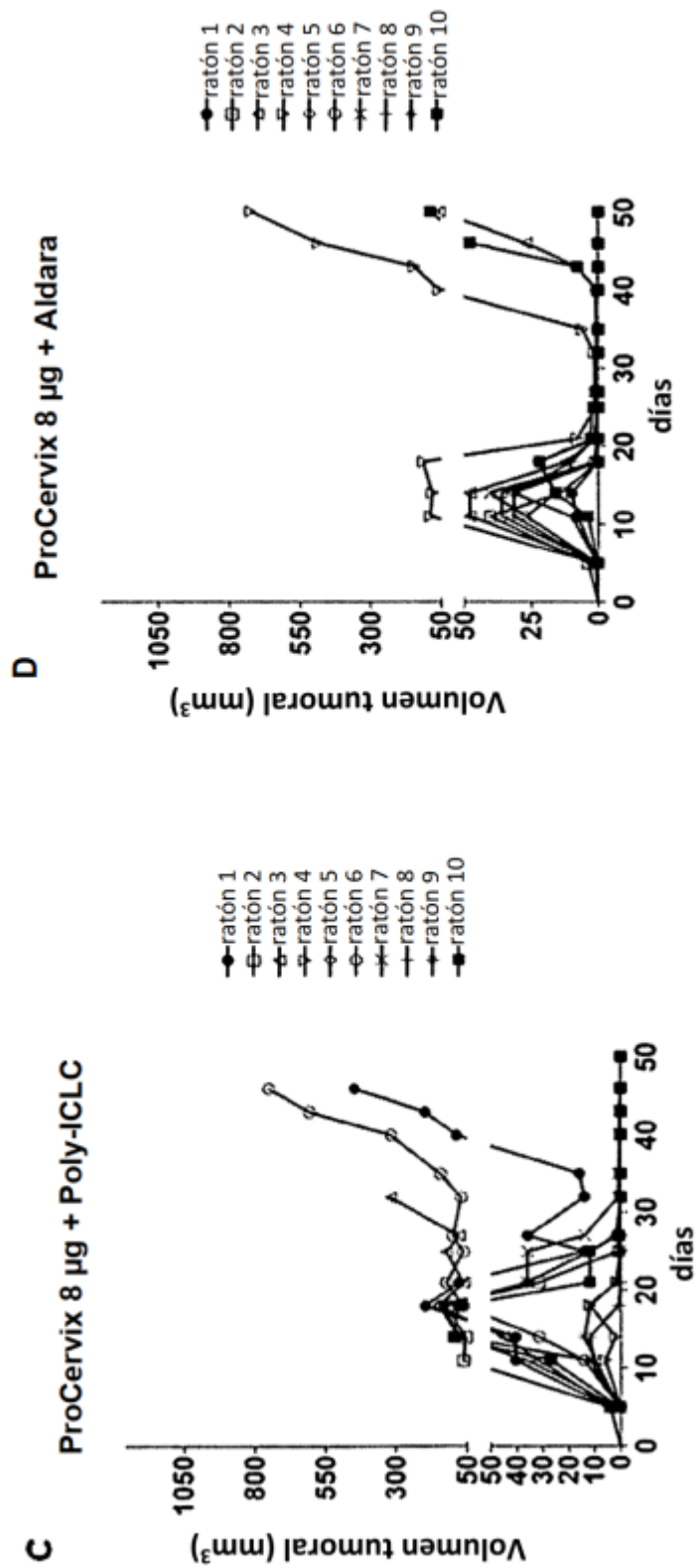


Fig. 5



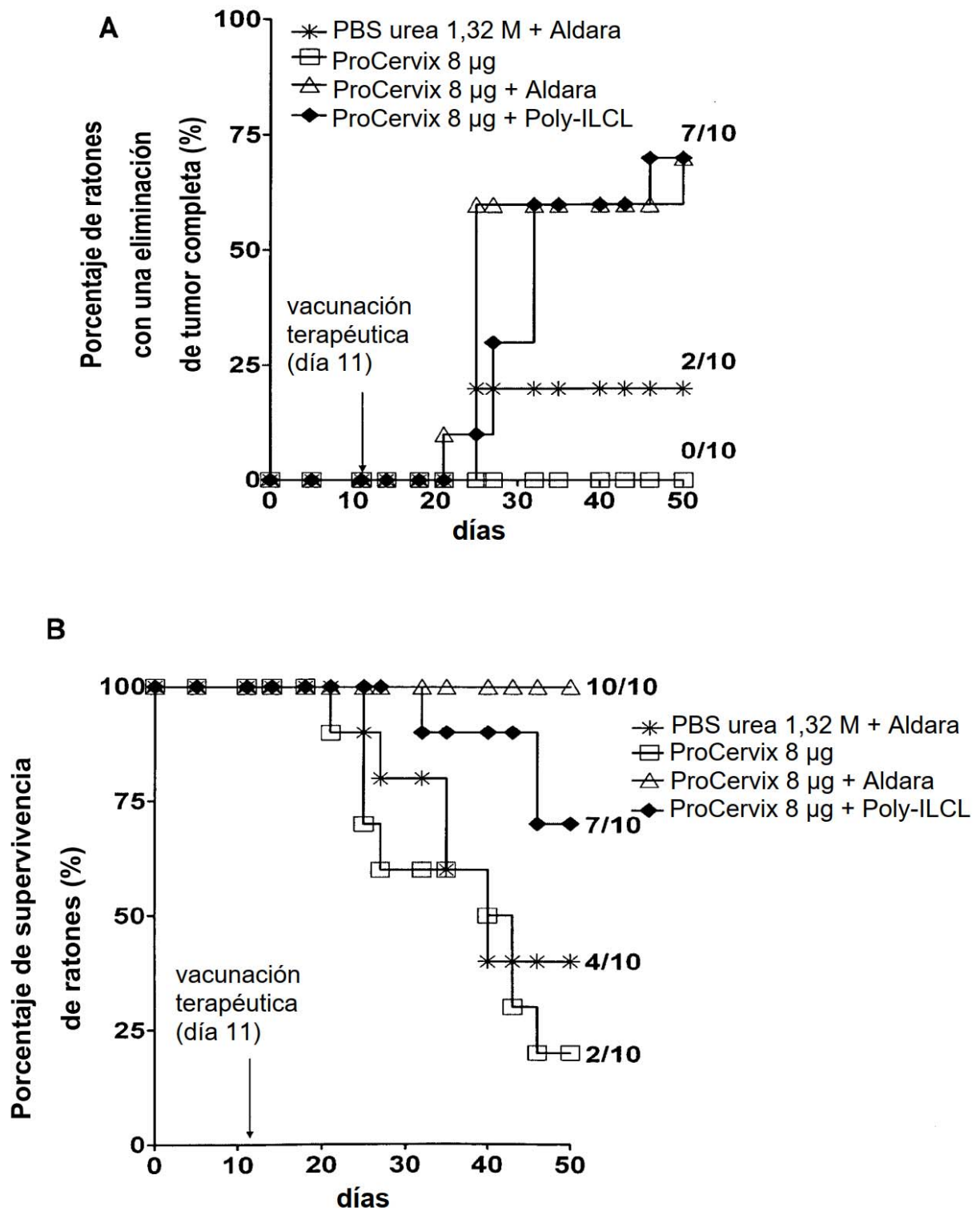
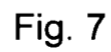
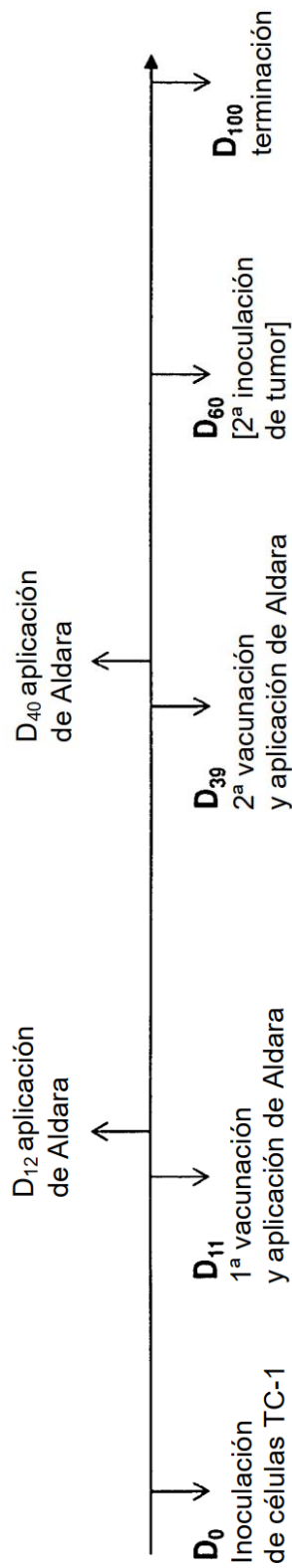


Fig. 6





Group	D ₀	D ₁₁	D ₃₉	D ₆₀
1	células TC-1	Placebo	Placebo	/
2	células TC-1	Placebo + Aldara™	Placebo + Aldara™	/
3; flanco derecho	células TC-1	CyaA-MAGEA3 _{97-178/190-295} / CyaA-VP16 E7 + Aldara™	CyaA-MAGEA3 _{97-178/190-295} / CyaA-VP16 E7 + Aldara™	células tumorales B16-MAGE A3
3; flanco izquierdo	/			
4; flanco derecho	células TC-1	CyaA-cysOVA/CyaA- VP16 E7 + Aldara™	CyaA-cysOVA/CyaA- VP16 E7 + Aldara™	células tumorales EG7-OVA
4; flanco izquierdo	/			
5; flanco derecho	células TC-1	ProCervix adyuvado con Aldara™	ProCervix adyuvado con Aldara™	células tumorales B16-MAGE A3
5; flanco izquierdo	/			
6; flanco derecho	células TC-1	ProCervix adyuvado con Aldara™	ProCervix adyuvado con Aldara™	células tumorales EG7-OVA
6; flanco izquierdo	/			

Fig. 8

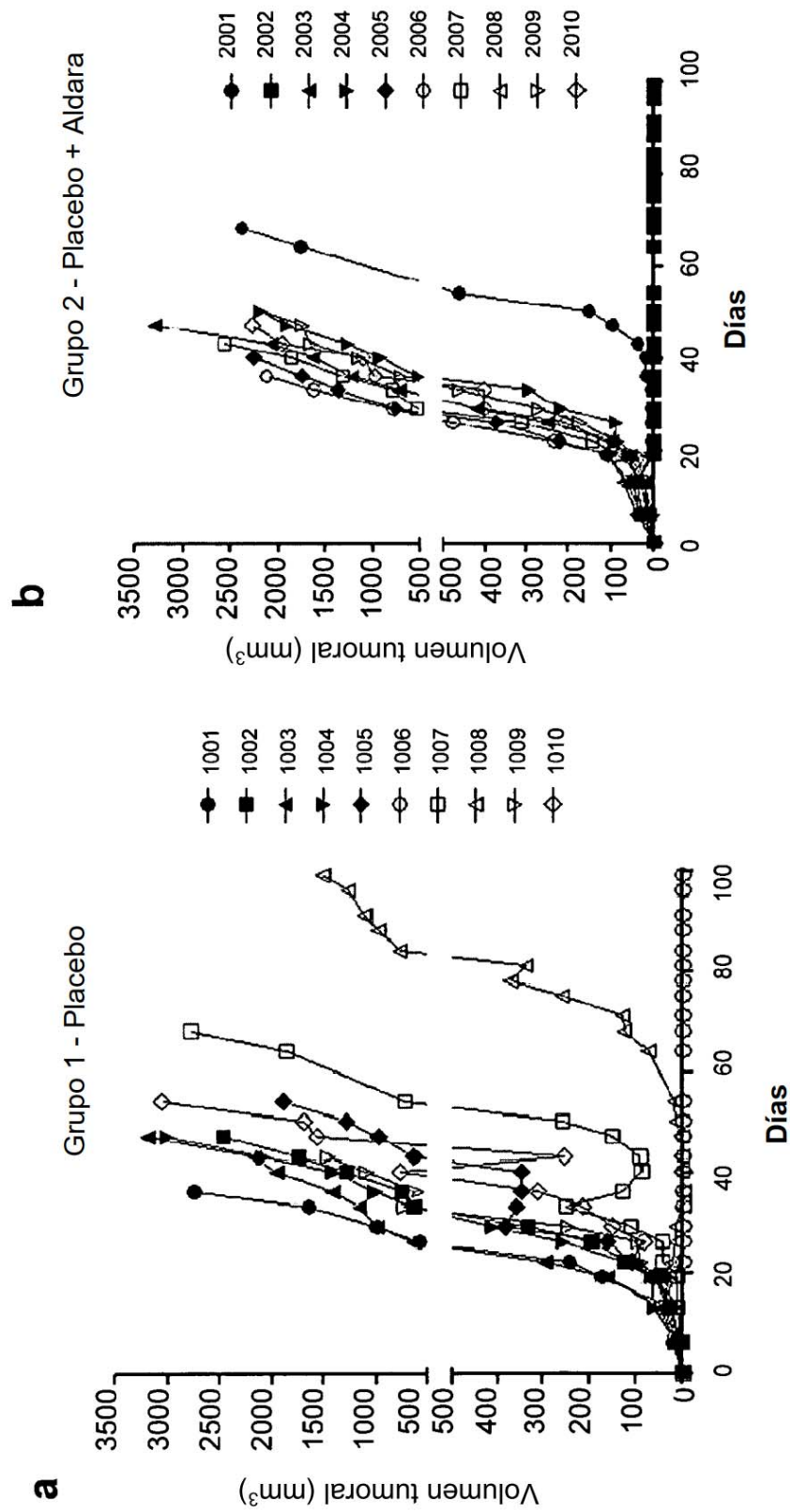


FIG. 9

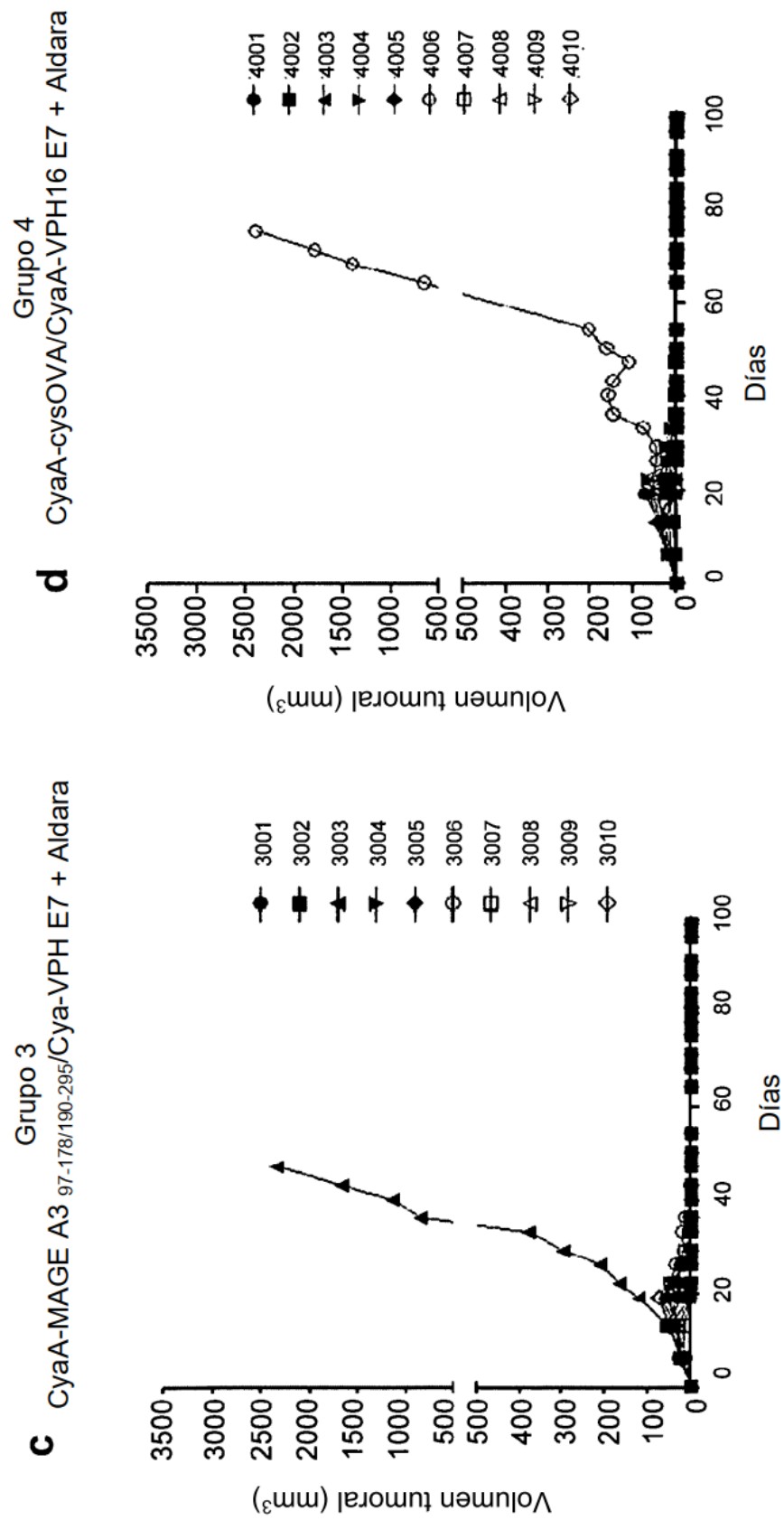


FIG. 9

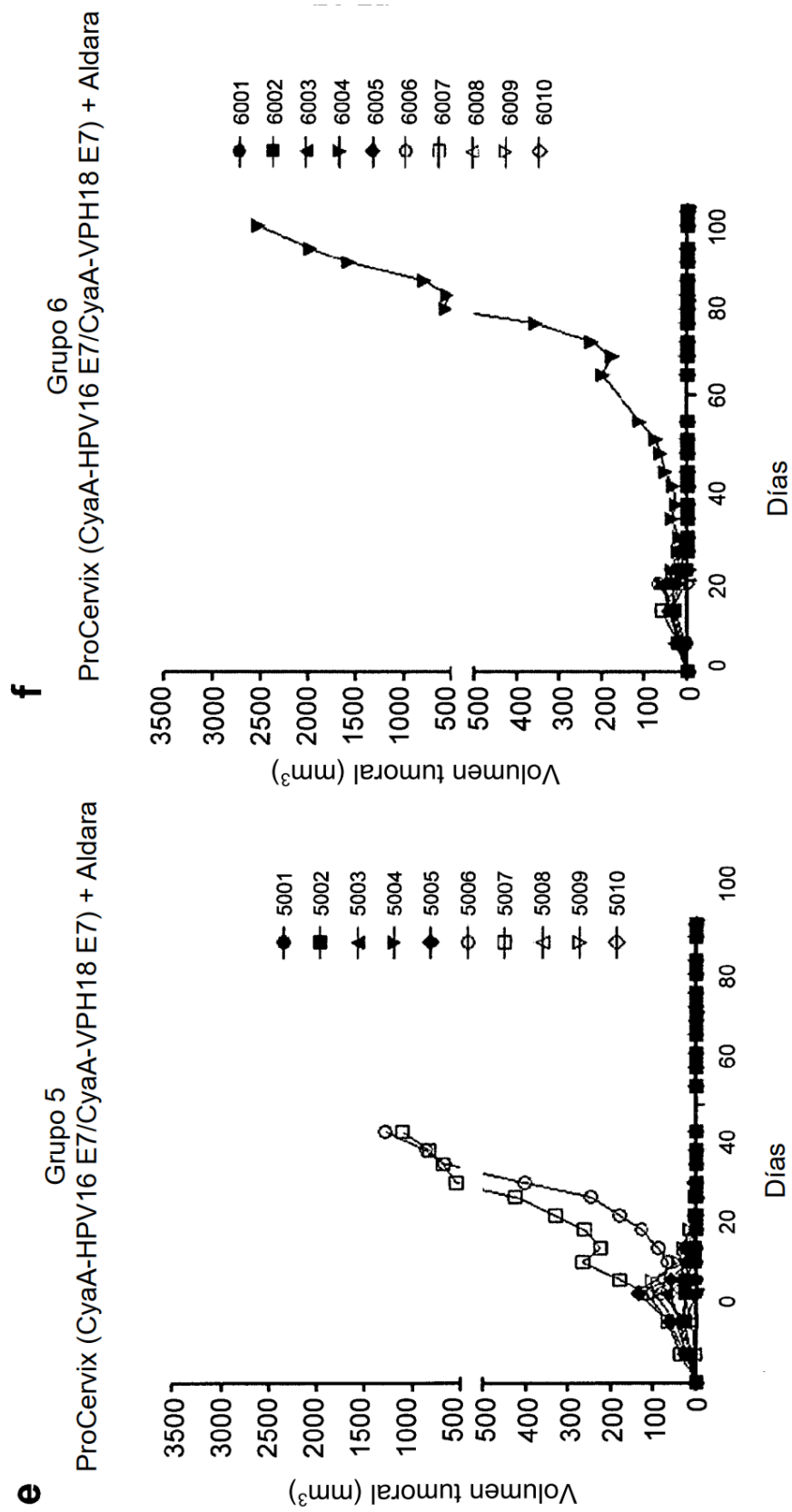


FIG. 9

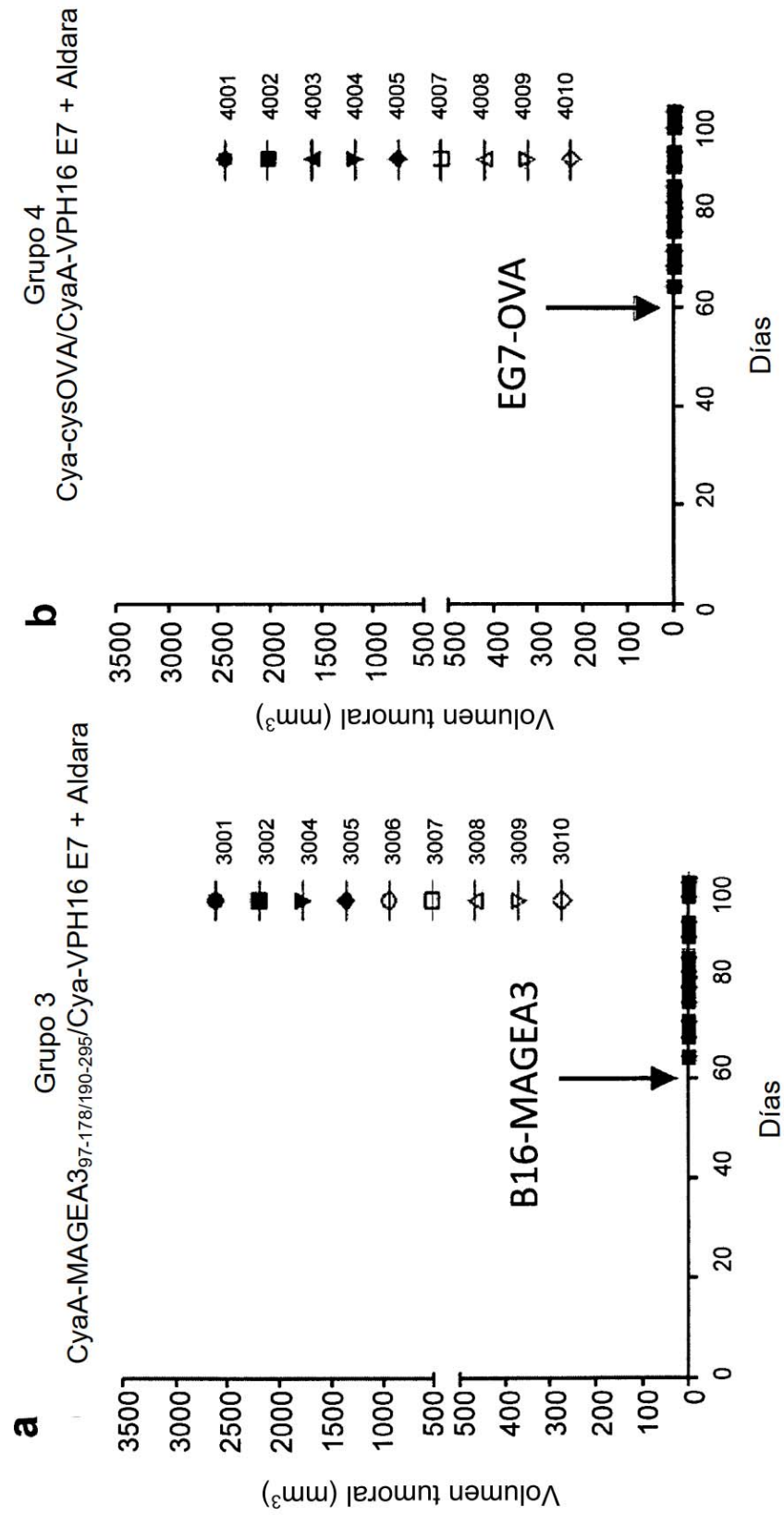


FIG. 10

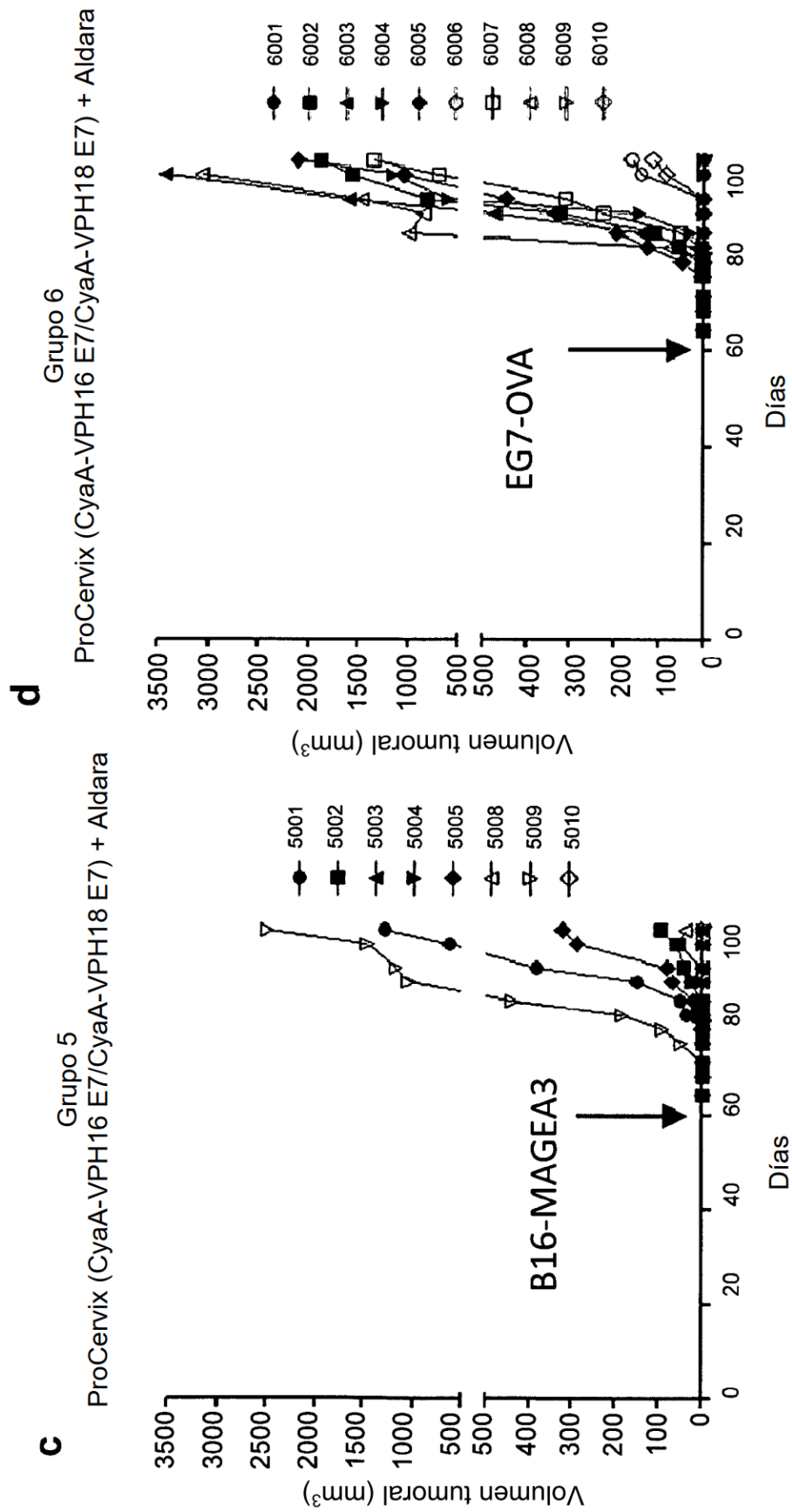


FIG.10