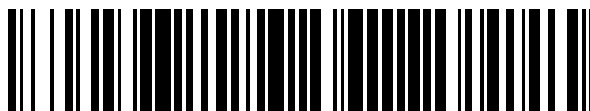


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 790 527**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/02** (2006.01)  
**A61K 39/10** (2006.01)  
**A61K 39/104** (2006.01)  
**A61K 39/12** (2006.01)  
**C07K 14/005** (2006.01)  
**C07K 14/21** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.05.2016 PCT/US2016/034858**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2016 WO16196383**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.05.2016 E 16804176 (2)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 3302543**

54 Título: **Composiciones de vacunas contra el síndrome reproductivo y respiratorio porcino y las enfermedades asociadas al circovirus porcino**

30 Prioridad:

**01.06.2015 US 201562169205 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.10.2020**

73 Titular/es:

**REBER GENETICS CO., LTD. (100.0%)  
3F No. 25-1 Sec. 4 Ren-ai Rd., Da-an District  
Taipei City, Taiwan 10685, TW**

72 Inventor/es:

**CHIEN, YU-HSIN;  
 TSAI, MENG-JU;  
 LAI, PAO-YEN;  
 CHOU, WEI-I y  
 CHANG, HSIU-KANG**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 790 527 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Composiciones de vacunas contra el síndrome reproductivo y respiratorio porcino y las enfermedades asociadas al circovirus porcino

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere en general a vacunas, y más específicamente a vacunas de subunidades.

Antecedentes de la invención

10 Los virus que infectan las células inmunes (tales como células T, células B, células dendríticas, monocitos o macrófagos) incluyen el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV), el circovirus porcino tipo II (PCV2) y el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Las células inmunes no pueden evocar respuestas de inmunización sino que transportan los virus. Los animales que han sido infectados por estos virus se pueden infectar fácilmente por otros patógenos. El virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV) produce grandes pérdidas en la cría de animales cada año. El PRRSV no solo puede infectar a los cerdos, sino también a los patos. En general, los animales infectados por el virus no tienen síntomas significativos, pero la inmunidad de los animales infectados se reduce. Este virus infecta macrófagos (en el alveolar y el bazo), microglia cerebral y monocitos, y puede existir en la sangre y los órganos de los animales infectados. Esto conduce a una disminución del aumento de peso y un aumento en la tasa de mortalidad debido a la infección secundaria.

15 La Patente de los Estados Unidos No. 7,595,054 describe un antígeno de fusión usado como una vacuna de subunidad, en la que una unidad estructural de antígeno seleccionado de una región de ORF1b o una región de ORF7 se fusiona entre un polipéptido de *exotoxina A de Pseudomonas* que carece del dominio citotóxico III, esto es, PE ( $\Delta$ III) y una secuencia de retención del retículo endoplásmico.

20 Una composición de la vacuna denominada "PRRSFREE™" por Reber Genetics Co. Ltd. comprende cuatro antígenos PRRS separados, que se designan como D, M, R y P, respectivamente. Estos cuatro antígenos PRRS se expresaron respectivamente por cuatro vectores separados usando el diseño descrito en la Patente de los Estados Unidos No. 7,595,054, y se encontraron eficaces para inducir respuestas inmunes humorales y mediadas por células en animales.

25 Los documentos EP 1882478 A1, US 2008/0008722 A1 y CN 101104641 B describen cada uno una vacuna de subunidades del virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV) PE-PQGAB-K3, que comprende dominios de unión y translocación de *exotoxina A de Pseudomonas* (PE), partes N-terminales de las proteínas estructurales ORF5 del PRRSV y ORF6, y un dominio terminal carboxilo que comprende KDEL-KDEL-KDEL (K3).

30 El documento US 2004/247617 A1 describe un antígeno de fusión que comprende una unidad estructural ligando capaz de unirse a un receptor en una célula diana, un dominio de translocación de PE, una unidad estructural antigénica y una unidad estructural carboxilo terminal que permite la retención del antígeno de fusión en la membrana del retículo endoplasmático (ER) de la célula diana.

35 El documento US 2014/0154285 describe proteínas de fusión para su uso como potenciadores inmunogénicos para inducir respuestas de células T específicas de antígeno.

El documento US 2008/0206271 A1 describe un antígeno de fusión que comprende una unidad estructural ligando capaz de unirse a un receptor en una célula diana, dominio II de translocación PE, una unidad estructural antigénica y una unidad estructural carboxilo terminal que comprende la secuencia de aminoácidos de KDEL.

El documento EP 2789627 A1 describe una vacuna de subunidades de circovirus porcino tipo 2.

40 Resumen de la invención

En un aspecto, la invención se refiere a una proteína de fusión del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV) que comprende:

- (a) un dominio de unión a células presentadoras de antígeno (APC) ubicado en el N-terminal de la proteína de fusión, en el que la unión a APC es un dominio la de unión a *exotoxina A de Pseudomonas* (PE);
- 45 (b) un péptido de translocación que tiene de 34-112 residuos de aminoácidos de longitud, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 2, 3 o 6, ubicada en el C-terminal del dominio de unión a APC;
- (c) un antígeno de fusión que comprende:
  - (i) un antígeno ORF7 del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV);
  - (ii) un antígeno ORF1b del PRRSV;

- (iii) un antígeno ORF6 del PRRSV; y
- (iv) un antígeno ORF5 del PRRSV;
- (d) una señal de exportación nuclear que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, ubicado en el C-terminal del antígeno de fusión o entre el péptido de translocación y el antígeno de fusión;
- 5 en la que el antígeno de fusión no comprende secuencias de proteínas ORF7, ORF6, ORF5 y ORF1b de longitud completa; y
- (e) una secuencia de retención del retículo endoplásmico, ubicada en el C-terminal del antígeno de fusión cuando la señal de exportación nuclear está ubicada entre el péptido de translocación y el antígeno de fusión, o ubicada en el C-terminal de la señal de exportación nuclear cuando la señal de exportación nuclear está ubicada en el C-terminal del antígeno de fusión.
- 10 En una realización de la invención, el antígeno ORF7 u ORF1b está ubicado en el N-terminal del antígeno ORF6, y el antígeno ORF5 está ubicado en el C-terminal del antígeno ORF6.
- En otra realización de la invención, el antígeno ORF6 está ubicado en el N-terminal del antígeno ORF5 sin un puente o un enlazante entre los antígenos ORF6 y ORF5.
- 15 En otra realización de la invención, el antígeno de fusión comprende dos repeticiones en tándem del antígeno ORF7.
- En otra realización de la invención, el antígeno ORF5 está ubicado en el terminal C del antígeno ORF6.
- En otra realización de la invención, el antígeno ORF6 comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV y el antígeno ORF5 comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF5 del PRRSV, y el antígeno de fusión no comprenden las secuencias de aminoácidos de la parte C-terminal del ORF6 y ORF5.
- 20 En otra realización de la invención, el antígeno ORF1b comprende la secuencia de aminoácidos de la parte C-terminal de ORF1b NSP 10 y la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal de ORF1b NSP 11, y el antígeno de fusión carece de las secuencias de aminoácidos de la parte N-terminal y C-terminal del ORF1b.
- En otra realización, la proteína de fusión comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 o 28.
- 25 En otra realización de la invención, la secuencia de retención del retículo endoplásmico comprende la secuencia de aminoácidos KDEL (SEQ ID NO: 15) sin una repetición en tándem de los aminoácidos KDEL.
- En otra realización de la invención, el dominio de unión a APC es un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o 32.
- 30 En otra realización de la invención, la señal de exportación nuclear y la secuencia de retención de ER forman un péptido de fusión que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
- En otro aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende:
- (i) la proteína de fusión PRRSV de la invención; y
- (ii) una proteína de fusión de circovirus porcino tipo 2 (PCV2), que comprende:
- 35 (a) un dominio de unión a la célula presentadora de antígeno (APC) o un dominio de unión al receptor CD91, ubicado en el N-terminal de la proteína de fusión, en el que el dominio de unión a APC o el dominio de unión al receptor CD91 se selecciona del grupo que consiste en dominio III de proteína-1 asociada a receptor (RAP1), proteína asociada a receptor de alfa-2-macroglobulina (A2M), HIV-Tat, proteínas de choque térmico y dominio la de unión a exotoxina A de Pseudomonas;
- 40 (b) un péptido de translocación que tiene de 34-112 residuos de aminoácidos de longitud, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 2, 3 o 6, ubicada en el C-terminal del dominio de unión a APC o el dominio de unión al receptor CD91; y
- (c) un antígeno ORF2 del PCV2;
- (d) una señal de exportación nuclear que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, ubicada entre el antígeno ORF2 del PCV2 y la secuencia de retención del retículo endoplásmico o entre el péptido de translocación y el antígeno ORF2 del PCV2; y
- 45 (e) una secuencia de retención del retículo endoplásmico, ubicada en el C-terminal de la proteína de fusión del PCV2 cuando la señal de exportación nuclear está ubicada entre el péptido de translocación y el antígeno ORF2 del

PCV2, o ubicada en el C-terminal de la señal de exportación nuclear cuando la señal de exportación nuclear está ubicada en el C-terminal del antígeno ORF2 del PCV2;

5 en la que el antígeno ORF2 del PCV2 comprende la secuencia de aminoácidos de la parte C-terminal de la proteína del ORF 2 del PCV2, y la proteína de fusión del PCV2 no comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal de la proteína del ORF 2 del PCV2.

En otra realización de la invención, el dominio de unión a APC o el dominio de unión a receptor CD91 está libre de la secuencia de aminoácidos del dominio I de unión a *exotoxina A de Pseudomonas* (PE).

En otra realización de la invención, el péptido de translocación tiene de 34-46 residuos de aminoácidos de longitud.

En otra realización de la invención, el péptido de translocación tiene de 34-61 residuos de aminoácidos de longitud.

10 Además, en otro aspecto, la invención se refiere a una proteína de fusión de la invención para su uso en la inducción de respuestas humorales y mediadas por células específicas de antígenos contra el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV) en un sujeto que lo necesite.

15 Aún en otro aspecto, la invención se refiere a una composición de la invención para su uso en la inducción de respuestas humorales y mediadas por células específicas de antígeno contra el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV) y el circovirus porcino tipo 2 (PCV2) en un sujeto que lo necesite.

El antígeno de fusión de la invención comprende neutralización y epítopos protectores en ORF7, ORF6, ORF5 y ORF1b sin comprender la secuencia proteica ORF7, ORF6, ORF5 y ORF1b de longitud completa.

El antígeno ORF7 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33, 22, o 23.

20 El antígeno ORF1b comprende la secuencia de aminoácidos de la parte C-terminal de ORF1b NSP 10 y la parte N-terminal de ORF1b NSP 11 y carece de las partes N-terminal y C-terminal de ORF1b. Es decir, el antígeno de fusión comprende la secuencia de aminoácidos de la parte C-terminal de ORF1b NSP 10 y la parte N-terminal de ORF1b NSP 11 y no comprende la secuencia de aminoácidos de las partes N-terminal y C-terminal de ORF1b.

25 El antígeno ORF6 comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV y el antígeno ORF5 comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF5 del PRRSV, y el antígeno de fusión no comprende las secuencias de aminoácidos de la parte C-terminal del ORF6 y ORF5. En otras palabras, el antígeno ORF6 se selecciona de la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV, y el antígeno ORF5 se selecciona de la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF5 del PRRSV.

En otra realización de la invención, la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV es SEQ ID NO: 34, y la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF5 del PRRSV es 35.

30 Además, en otra realización de la invención, la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV es SEQ ID NO: 36, y la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF5 del PRRSV es 37. El antígeno ORF1b comprende la secuencia de aminoácidos de la parte C-terminal de ORF1b NSP 10 y la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal de ORF1b NSP 11, y el antígeno de fusión carece de las secuencias de aminoácidos de la parte N-terminal y C-terminal de la ORF1b. En una realización de la invención, el antígeno ORF1b  
35 tiene menos de 200 residuos de aminoácidos de longitud y comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25. En otra realización de la invención, el antígeno ORF1b comprende una secuencia de aminoácidos a partir del residuo de aminoácidos 1046 al residuo de aminoácidos 1210 del ORF1b del PRRSV. En una realización de la invención, el aminoácido C-terminal de la SEQ ID NO: 13 es alanina.

40 Estos y otros aspectos serán evidentes a partir de la siguiente descripción de la realización preferida tomada junto con los siguientes dibujos. Los dibujos adjuntos ilustran una o más realizaciones de la invención y, junto con la descripción escrita, sirven para explicar los principios de la invención. Siempre que sea posible, se usan los mismos números de referencia en todos los dibujos para referirse a los mismos elementos o elementos similares de una realización.

Breve descripción de los dibujos

45 La figura 1A es un dibujo esquemático que muestra una exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* (PE) de longitud completa, y un fragmento parcial de PE.

Las figuras 1B-C muestran mapas vectoriales.

50 La figura 1D es un dibujo esquemático que muestra cuatro plásmidos separados que se usan para la preparación de una composición de la vacuna que se denomina PRRSFREE. La composición de la vacuna PRRSFEE comprende cuatro proteínas de fusión de PE individuales separadas. Cada proteína de fusión PE individual en la composición de la vacuna PRRSFREE comprende un fragmento PE ( $\Delta$ III) (PE<sub>407</sub>), una unidad estructural antigénica única (designada como M, P, R o D) y una secuencia de retención endoplásmica (K3). El término "D" o "DGD" representa

- un antígeno de la nucleoproteína PRRSV ORF7. El término "R" o "RSAB" representa un antígeno de fusión del ORF6 del PRRSV/proteína de membrana y ORF5/proteína de envoltura principal sin una secuencia puente/enlazante en el medio. El término "M" o "M12" representa un antígeno de PRRSV ORF1b, es un antígeno de fusión artificial de proteínas no estructurales de PRRSV NSP 10 y NSP 11. El término "P" o "PQAB" representa un antígeno de fusión del ORF6 del PRRSV/proteína de membrana y ORF5/proteína de envoltura principal sin una secuencia puente/enlazante en el medio. El término "PE ( $\Delta$ III)" representa un fragmento de PE sin el dominio citotóxico III. El término "PE<sub>407</sub>" representa un polipéptido de *exotoxina A de Pseudomonas* (PE) desde el aminoácido 1 hasta el aminoácido 407.
- 5 La figura 1E es un dibujo esquemático que muestra un plásmido que se usa para la preparación de una proteína de fusión de PE llamada PEDRMP-NESK o PRRSFREE 4-en-una. La proteína de fusión PE-DRMP-NESK comprende un fragmento PE( $\Delta$ III) (PE<sub>313</sub>), un polipéptido de fusión único que comprende cuatro unidades estructurales de antígeno (designado como DRMP), una señal de exportación nuclear (NES) y una secuencia de retención endoplásmica (K) .
- 10 La figura 1F es un dibujo esquemático que muestra un plásmido que codifica una proteína de fusión que comprende un fragmento PE( $\Delta$ III) (PE<sub>313</sub>), una unidad estructural de antígeno única (designada como PCV2), una señal de exportación nuclear (NES) y una secuencia de retención endoplásmica (K) .
- 15 La figura 2A es un gráfico que muestra respuestas inmunes mediadas por células (CMI) específicas de antígeno en ratones inmunizados con PBS, o la composición de la vacuna PRRSFREE 4-en-1 o PRRSFREE.
- 20 La figura 2B es un gráfico que muestra las respuestas de anticuerpos específicos de antígeno (IgG) para ratones inmunizados con PBS o PBS, o la composición de la vacuna PRRSFREE 4-en-1 o PRRSFREE.
- La figura 3A es un gráfico que muestra la respuesta CMI específica del antígeno PRRSFREE para ratones inmunizados con PBS o diferentes vacunas combinadas PRRS/PCV2.
- La figura 3B es un gráfico que muestra la respuesta CMI específica del antígeno ORF2 del PCV2 para ratones inmunizados con PBS o diferentes vacunas combinadas PRRS/ORF2 del PCV2.
- 25 La figura 4A es un gráfico que muestra la respuesta del anticuerpo específico de antígeno PRRSFREE (IgG) para ratones inmunizados con PBS o diferentes vacunas combinadas PRRS/PCV2.
- La figura 4B es un gráfico que muestra la respuesta del anticuerpo específico de antígeno (IgG) ORF2 del PCV2 para ratones inmunizados con PBS o diferentes vacunas combinadas PRRS/PCV2.
- 30 La figura 5 es un gráfico que muestra respuestas de CMI específicas de antígeno PRRSFREE en ratones inmunizados con (1) una proteína de fusión que comprende una fusión de dos antígenos (una fusión de los antígenos D y R en PE<sub>313</sub>-DR-NESK), o (2) una combinación de dos proteínas de fusión separadas, cada proteína de fusión comprende una fusión de dos antígenos (una fusión de D y R en PE<sub>313</sub>-DRMP-NESK, o una fusión de M y P en PE<sub>313</sub>-MP-NESK), o (3) una proteína de fusión que comprende una fusión de cuatro antígenos (una fusión de D, R, M y P en PE<sub>313</sub>-DRMP-NESK).
- 35 La figura 6 es un dibujo esquemático que muestra diversas proteínas de fusión usadas para inmunizar cerdos contra la infección por PRRSV.
- La figura 7 es un gráfico que muestra IFN- $\gamma$  secretado por PBMC de cerdos vacunados después de la estimulación con los respectivos antígenos PRRSV.
- Descripción detallada de la invención
- 40 La presente invención se describe más particularmente en los siguientes ejemplos que tienen la intención de ser solo ilustrativos. Diversas realizaciones de la invención se describen ahora en detalle.
- Definiciones
- 45 El término "una célula presentadora de antígeno (APC) o célula accesoria" se refiere a una célula que muestra antígenos extraños antígenos extraños en complejo con los principales complejos de histocompatibilidad (MHC) en sus superficies. Las células T pueden reconocer estos complejos usando sus receptores de células T (TCR). Estas células procesan los antígenos y los presentan a las células T. Los principales tipos de células presentadoras de antígeno profesionales son las células dendríticas (DC), los macrófagos, que también son CD4+ y, por lo tanto, también son susceptibles a la infección por el HIV; monocitos y ciertas células B.
- 50 El término "un dominio de unión a la célula presentadora de antígeno (APC)" se refiere a un dominio (que es un polipéptido) que se puede unir a una célula presentadora de antígeno (APC). El dominio de unión a APC puede ser un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a la secuencia

seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 1 y 8-11. Un dominio de unión a APC es un ligando que reconoce y se une a un receptor en APC.

El grupo de diferenciación 91 (CD91) es una proteína que forma un receptor en la membrana de las células y está implicada en la endocitosis mediada por el receptor.

- 5 El término "PE<sub>t</sub>" se refiere a un péptido de translocación (o un dominio de translocación) con 34-112 residuos de aminoácidos de longitud. PE<sub>t</sub> puede comprender la secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a SEQ ID NO: 2-4 y 6. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de PE<sub>t</sub> puede ser un fragmento de a.a. 280 - a.a. 313 (SEQ ID NO: 4), a.a. 268 - a.a. 313 (SEQ ID NO: 3), a.a. 253 - a.a. 313 (SEQ ID NO: 2), o a.a. 253 - a.a. 364 (SEQ ID NO: 6) de PE. Es decir, la secuencia de aminoácidos de PE<sub>t</sub> puede contener cualquier región del dominio II de PE (a.a. 253 a a.a. 364; SEQ ID NO: 6) siempre que comprenda a.a. 280-a.a. 313 (SEQ ID NO: 4) secuencia esencial (esto es, el fragmento esencial).

El PE<sub>407</sub> (SEQ ID NO. 7) se describe en la patente anterior (US 7,335,361 B2) como PE (ΔIII).

El "péptido de translocación" puede translocar un antígeno en el citoplasma de una célula diana.

- 15 El término "una secuencia de retención del retículo endoplásmico (ER)" se refiere a un péptido cuya función es ayudar a la translocación de un antígeno desde el citoplasma al ER y retiene el antígeno en la luz del ER. Una secuencia de retención ER comprende la secuencia de Lys Asp Glu Leu (KDEL; SEQ ID NO: 15) o RDEL. Una secuencia de retención de ER puede comprender la secuencia KDEL, RDEL, KDELKDELKDEL (K3; SEQ ID NO: 16), KKDLRDELKDEL (K3; SEQ ID NO: 17), KKDELRLDELKDEL (K3; SEQ ID NO: 18) o KKDELRVLELKDEL (K3; SEQ ID NO: 19).

- 20 Una señal de exportación nuclear (NES) se refiere a una secuencia de aminoácidos corta de 4 residuos hidrófobos en una proteína que se dirige a la exportación del núcleo celular al citoplasma a través del complejo de poros nucleares mediante transporte nuclear. La NES está reconocida y sujeta a exportaciones. El espaciado más común de los residuos hidrófobos es L<sub>x</sub>KL<sub>x</sub>L<sub>x</sub>L<sub>x</sub> (SEQ ID NO. 13), donde "L" es leucina, "K" es lisina y "x" es cualquier aminoácido de origen natural. Por ejemplo, una NES artificial puede comprender la secuencia Leu Gln Lys Leu Glu Leu Glu Ala (LQKKLEELELA; SEQ ID NO: 14).

- 30 El término "NESK" se refiere a un péptido de fusión de una NES y una señal de retención de ER (esto es, una NES fusionada a una señal de retención de ER). Es un péptido artificial que posee la función de una señal de exportación nuclear (NES) y una secuencia de retención ER. De este modo, puede exportar un antígeno desde el núcleo celular al citoplasma a través del complejo de poros nucleares, y ayudar a la translocación de un antígeno desde el citoplasma a ER y retener el antígeno en la luz de la ER. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de NESK puede ser LQKKLEELELAKDEL (SEQ ID NO: 12).

Las vacunas de subunidades son vacunas que usan solo una parte del virus que causa la enfermedad. Esta estrategia se usa con mayor frecuencia cuando una parte del virus es responsable de crear la enfermedad. La parte responsable de crear la enfermedad es una proteína, que llamamos antígeno.

- 35 Un antígeno puede ser una proteína, polipéptido o péptido patogénico que es responsable de una enfermedad causada por el patógeno, o es capaz de inducir una respuesta inmunológica en un huésped infectado por el patógeno. El antígeno puede ser un antígeno de fusión de una fusión de dos o más antígenos seleccionados de una o más proteínas patógenas. Por ejemplo, un antígeno de fusión de los fragmentos ORF6 y ORF5 del PRRSV, o una fusión de proteínas antigénicas de los patógenos de PRRSV y PCV2.

- 40 Un epítipo es una parte del antígeno. Un epítipo protector significa que cuando el epítipo se combina con un anticuerpo, ayuda en el funcionamiento del anticuerpo en lugar de ir contra él.

La presencia de epítopos neutralizantes o neutralizantes es la base estructural de las vacunas profilácticas. Los epítopos neutralizantes son críticos para la unión/entrada de células virales.

- 45 Como se usa en este documento, "un antígeno ORF7 del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV)" es un péptido que se selecciona de una parte de ORF7 del PRRSV y contiene epítopos protectores.

Como se usa en este documento, "un antígeno ORF1b del PRRSV" es un péptido que se selecciona de una parte de ORF1b del PRRSV y contiene epítopos protectores.

Como se usa en este documento, "un antígeno ORF6 del PRRSV" es un péptido que se selecciona de una parte del ORF6 del PRRSV y contiene epítopos protectores.

- 50 Como se usa en este documento, "un antígeno ORF5 del PRRSV" es un péptido que se selecciona de una parte del ORF5 del PRRSV y contiene epítopos protectores.

El término "PRRSFREE" se refiere a una composición de la vacuna que comprende las cuatro proteínas de fusión PE<sub>407</sub>-M-K3, PE<sub>407</sub>-P-K3, PE<sub>407</sub>-R-K3 y PE<sub>407</sub>-D-K3.

5 Los términos "M12" y "M" son intercambiables. El término "M12" como se usa en este documento se refiere a un antígeno de fusión de la fusión de PRRSV NSP 10 (secuencia de dominio C-terminal) y NSP 11 (secuencia de dominio N-terminal).

Los términos "PQAB" y "P" son intercambiables. El término "T" como se usa en este documento se refiere a un antígeno de fusión de la fusión de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV y la parte N-terminal de ORF5 sin una secuencia puente/enlazante entre las secuencias de ORF6 y ORF5.

10 Los términos "RSAB" y "R" son intercambiables. El término "R", como se usa en este documento, se refiere a un antígeno de fusión de la fusión de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV y la parte N-terminal de ORF5 sin una secuencia de puente/conector entre las secuencias de ORF6 y ORF5.

Los términos "DGD" y "D" son intercambiables. El término "D" como se usa en este documento se refiere a un antígeno que comprende dos repeticiones de la parte C-terminal del ORF7 del PRRSV.

15 El término "tratar" o "tratamiento" se refiere a la administración de una cantidad eficaz de la proteína de fusión a un sujeto que lo necesita, que tiene cáncer o infección, o un síntoma o predisposición a dicha enfermedad, con el fin de curar, aliviar, reducir, remediar, mejorar o prevenir la enfermedad, los síntomas o la predisposición a esta. Dicho tema puede ser identificado por un profesional de la salud en base a los resultados de cualquier método de diagnóstico apropiado.

20 El término "una cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto activo que se requiere para conferir un efecto terapéutico sobre el sujeto tratado. Las dosis eficaces variarán, como reconocen los expertos en el arte, dependiendo de la ruta de administración, el uso de excipientes y la posibilidad de uso conjunto con otro tratamiento terapéutico.

Ejemplos

Métodos

25 Síntesis de los antígenos de fusión DRMP y MDPR

30 Las secuencias de ADN que codifican los antígenos de fusión DRMP (SEQ ID NO: 52), MDPR (SEQ ID NO: 53) y el antígeno ORF2 del PCV2 (SEQ ID NO: 20) se sintetizaron respectivamente y se clonaron adicionalmente en los plásmidos pTAC-2- PE<sub>313</sub>-NESK o pTAC-2-RAPI-PEt<sub>268-313</sub>-K3. Todas las secuencias sintetizadas fueron optimizadas para el crecimiento de E. coli. Los respectivos cebadores directo e inverso se usaron en PCR para la amplificación de ADN DRMP o MDPR. El fragmento de ADN amplificado fue digerido por EcoRI y XhoI, luego fue ligado al vector indicado. La proteína de fusión PE<sub>313</sub>-PCV2-NESK se clonó de manera similar.

La tabla 1 muestra las secuencias de los cebadores directo e inverso usados para la clonación en plásmidos. Las letras en negrita indican el sitio de corte EcoRI; las letras en cursiva indican el sitio de corte Sall; las letras en cursiva y negrita indican el sitio de corte XhoI; las letras subrayadas indican la secuencia del antígeno.

35 Tabla 1

Plásmido	Cebador directo	Cebador inverso
Para clonar DRMP en pTAC-2-PE <sub>313</sub> -NESK	<b>gaattc</b> <i>g</i> <u>gaccaccactttacccc</u> <b>gagt</b> (SEQ ID NO: 42)	<b>ctcgag</b> <i>g</i> <u>gcccagtcgaattg</u> <b>tagccag</b> (SEQ ID NO: 43)
Para clonar MDPR en pTAC-2-PE <sub>313</sub> -NESK	<b>gaattc</b> <i>a</i> <u>aataacaaagaatgcacggtt</u> <b>gct</b> (SEQ ID NO: 44)	<b>ctcgag</b> <i>g</i> <u>gcccagtc</u> <b>caaagtggttagacag</b> (SEQ ID NO: 45)
Para clonar DRMP en pTAC-2-RAP1-PEt <sub>268-313</sub> -K3	<b>gaattc</b> <i>c</i> <u>caccactttacccc</u> <b>gagtgagcgt</b> (SEQ ID NO: 46)	<b>ctcgag</b> <i>g</i> <u>gcccagtcgaattg</u> <b>tagccag</b> (SEQ ID NO: 47)
Para clonar MDPR en pTAC-2-RAP1-PEt <sub>268-313</sub> -K3	<b>gaattc</b> <i>a</i> <u>aataacaaagaatgcacggtt</u> <b>gct</b> (SEQ ID NO: 48)	<b>ctcgag</b> <i>g</i> <u>gcccagtc</u> <b>caaagtggttagacag</b> (SEQ ID NO: 49)

Para clonar ORF2 del PCV2 en pTAC-2-PE <sub>313</sub> -NESK	<b>gaattcaatggcattttca</b> (SEQ ID NO: 50)	<b>ctcgaggggggttcaaggg</b> (SEQ ID NO: 51)
---	--	--

Ejemplo 1

Construcción de vectores de expresión

5 La figura 1A muestra que PE contiene 3 dominios (I, II y III). PE<sub>407</sub> es la región desde a.a. 1 hasta a.a. 407 de PE. PE<sub>107</sub> no contiene el dominio III citotóxico y, por lo tanto, contiene los dominios I y II. PE<sub>313</sub> es la región desde a.a. 1 hasta a.a. 313 de PE. Por lo tanto, PE<sub>313</sub> contiene solo el dominio I y una región N-terminal parcial del dominio II de PE.

10 Las figuras 1B-C muestran construcciones de vectores de expresión, cada uno de los cuales comprende un dominio de unión a células presentadoras de antígeno (APC), un péptido de translocación, un antígeno, con (panel inferior) o sin (panel superior) una señal de exportación nuclear (NES) ; y una secuencia de retención del retículo endoplásmico (ER) (panel superior, K3 o panel inferior, K), estando ubicada la secuencia de retención ER en el C-terminal de la proteína de fusión. Los plásmidos pTac-2-PE<sub>313</sub>-NESK, pTac-2-PE<sub>407</sub>-K3, pTac-2-RAP1-PE<sub>268-313</sub>-NESK y pTac-2-RAP1-PE<sub>268-313</sub>-K3 se generaron de la siguiente manera: Los fragmentos <sup>NdeI</sup>PE<sub>313</sub>-(EcoRI,XhoI)-NESK<sup>XhoI</sup>, <sup>NdeI</sup>PE<sub>407</sub>-(EcoRI,XhoI)-K3<sup>XhoI</sup>, <sup>NdeI</sup>RAP1-(EcoRI)-PE<sub>268-313</sub>-(EcoRI, XhoI)-NESK<sup>XhoI</sup> y <sup>NdeI</sup>RAP1-(EcoRI)-PE<sub>268-313</sub>-(EcoRI,XhoI)-K3<sup>XhoI</sup> fueron sintetizados por un método de PCR y luego ligados en un enlace posterior de pUC18 con el gen de resistencia a la kanamicina para obtener los respectivos plásmidos.

20 Un ADN diana que codifica un antígeno o un antígeno de fusión de un patógeno de interés puede insertarse luego en los plásmidos antes mencionados para generar un vector de expresión para la expresión de una proteína de fusión. Por ejemplo, se sintetizó un fragmento de ADN que codifica un antígeno de ORF2 de circovirus porcino tipo 2 (PCV2) (SEQ ID NO: 20) y se insertó en los plásmidos pTac-2-PE<sub>313</sub>-NESK para generar el vector de expresión PE<sub>313</sub>-PCV2-NESK (Figura 1F).

Se sintetizaron los siguientes fragmentos de ADN diana:

- (i) un ADN diana que codifica un antígeno que comprende dos repeticiones de la parte C-terminal del ORF7 del PRRSV. El antígeno se designa como "DGD" o "D".
- 25 (ii) un ADN diana que codifica un antígeno de fusión de la fusión de PRRSV NSP 10 (secuencia de dominio C-terminal) y NSP 11 (secuencia de dominio N-terminal). El antígeno se designa como "M12" o "M".
- (iii) un ADN diana que codifica un antígeno de fusión a partir de la fusión de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV y la parte N-terminal de ORF5 sin una secuencia puente/enlazante entre las secuencias ORF6 y ORF5. El antígeno se designa como "RSAB" o "R".
- 30 (iv) un ADN diana que codifica un antígeno de fusión a partir de la fusión de la parte N-terminal del ORF6 del PRRSV y la parte N-terminal de ORF5 sin una secuencia puente/enlazante entre las secuencias ORF6 y ORF5. El antígeno se designa como "PQAB" o "P".

Los fragmentos de ADN diana anteriores se insertaron en el plásmido mostrado en el panel superior de la figura 1B para generar proteínas de fusión PE<sub>407</sub>-M-K3, PE<sub>407</sub>-P-K3, PE<sub>407</sub>-R-K3 y PE<sub>407</sub>-D-K3, respectivamente (Figura 1D).

35 Se sintetizó un fragmento de ADN diana que codifica un antígeno de fusión que comprende los cuatro antígenos D, R, M y P mencionados anteriormente (tales como DRMP, MDPR, etc.) y se insertó en los plásmidos pTac-2-PE<sub>313</sub>-NESK para generar un vector de expresión que expresa la proteína de fusión PE-DRMP-NESK (Figura 1E), que se designa como (también "PRRSFREE 4-en-1").

Ejemplo 2

40 Expresión de proteínas

45 Las células *E. coli* BL21 que albergan plásmidos para la expresión de proteínas de fusión se cultivaron respectivamente en caldo Luria Bertani que contiene 25 ppm de kanamicina a 37 °C. Cuando el cultivo alcanza la fase logarítmica temprana (A<sub>600</sub> = 0.1 a 0.4), se agregó isopropil-1-tio-β-D-galactopiranosido (IPTG) con una concentración final de 0.5 a 2 mM para la inducción. Las células se recogieron después de la inducción después de 4 horas y se almacenaron inmediatamente a -70 °C. Las proteínas de fusión se purificaron mediante extracción con urea como se describió anteriormente (Liao et al., 1995. Appl. Microbiol. Biotechnol. 43: 498-507) y luego fueron replegados por el método de diálisis contra 50X. volumen de solución reguladora TNE (Tris 50 mM, NaCl 50 mM y EDTA 1mM) a 4 °C, durante la noche. Las proteínas replegadas se sometieron a análisis SDS-PAGE y análisis cuantitativos realizados usando el kit de ensayo de proteínas Bradford (Pierce). Los resultados indicaron que la



mayoría de las proteínas replegadas eran monómeros en una condición no reducida, lo que indica que las proteínas de fusión se replegaron fácilmente y no se agregaron.

Ejemplo 3

Ensayo de inmunogenicidad de vacunas subunidades de PRRSV

5 Los ratones se vacunaron con 200  $\mu$ l de vacuna de subunidades de PRRSV que contenía 30  $\mu$ g/inyección de PRRSFREE 4-en-1 o PRRSFREE y adyuvante ISA206 a través de inyección s.c. una vez por semana durante 2 semanas. El grupo de control (placebo) fue inyectado con PBS.

10 Se sacrificaron todos los ratones 14 días después de la última inmunización, y se recogieron los bazos. Los esplenocitos se aislaron y se cultivaron en una placa de 96 pocillos ( $10^5$  células/100  $\mu$ l/pocillo) con o sin la proteína estimulante del antígeno recombinante a 37 °C, durante 72 h. Dependiendo de la vacuna usada en la inmunización, la proteína de antígeno recombinante estimulante usada fue los antígenos PRRSFREE, el antígeno de fusión quimérico PRRSFRKE-4 en uno o el antígeno ORF2 del PCV2 para detectar la respuesta inmune mediada por células específica de antígeno. Se recogió el sobrenadante del cultivo celular y se determinó el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) en el sobrenadante mediante el par de anticuerpos de ratón IFN- $\gamma$  (Invitrogen).

15 Dependiendo de la vacuna usada para la inmunización, los antígenos PRRSFREE, o el antígeno de fusión 4 en uno PRRSFREE, o el antígeno ORF2 del PCV2 se recubrieron en placas ELISA para detectar la respuesta inmune humoral. Después del recubrimiento, las placas se lavaron y bloquearon antes de agregar suero de ratones diluido. Luego se lavaron las placas, se hibridaron con anticuerpo secundario conjugado con HRP seguido de la adición de sustrato TMB. Después de que se detuvo la reacción, el lector de ELISA detectó el resultado.

20 Ejemplo 4

Respuesta inmune mediada por células (CMI) y respuesta inmune humoral

25 La figura 2A muestra que la concentración de IFN- $\gamma$  en los grupos vacunados fue mayor que la del grupo control, lo que indica que se indujo una respuesta de CMI en las vacunas. Además, la concentración de IFN- $\gamma$  del grupo que recibió la vacuna 4-en-1 PRRSFREE fue dramáticamente más alta que la del grupo tratado con PRRSFREE. El resultado demuestra que la vacuna PRRSFREE 4-en-1, que estaba compuesta por un solo antígeno fusionado, puede inducir sorprendentemente una respuesta CMI más fuerte que las vacunas PRRSFREE compuestas por cuatro antígenos separados.

30 La figura 2B muestra que los grupos inmunizados con vacunas tenían títulos de anticuerpos específicos de antígeno más altos que el grupo control. Los ratones vacunados con la vacuna PRRSFREE 4-en-1 tenían un título de anticuerpos más alto que el grupo inmunizado con la vacuna PRRSFREE. El resultado muestra que PRRSFREE 4-en-1 puede inducir una respuesta inmune humoral más fuerte que la vacuna PRRSFREE.

35 Los datos en las figuras 2A-B indican que PRRSFREE 4-en-1, que contiene una proteína de fusión que comprende un solo antígeno de fusión con fusión de antígenos D, M, P y R, puede provocar una respuesta inmune celular y humoral más fuerte que la vacuna PRRSFREE, que contiene cuatro antígenos individuales separados (esto es, los cuatro antígenos M, M, P, R no están fusionados) con cada antígeno en una proteína de fusión respectiva.

Ejemplo 5

40 Vacunas combinadas con vacuna de subunidad ORF2 de circovirus porcino tipo 2 (PCV2). Los ratones se vacunaron con vacunas combinadas PBS, PRRSFREE 4-en-uno más PE-PCV2-NESK, o PRRSFREE más PE-PCV2-NESK de acuerdo con el programa de inmunización. como se describió anteriormente. La vacuna combinada PRRSFREE 4 en uno más PE-PCV2-NESK contiene proteínas de fusión PE-DRMP-NESK (Figura ID) y PE-PCV2-NESK (Figura IF). La vacuna combinada PRRSFREE más PE-PCV2-NESK contiene 5 proteínas de fusión separadas: (1) PE-DGD-K3, PE-M12-K3, PE-PQAB-K3, PE-RSAB-K3 (Figura ID), y PE-PCV2-NESK (Figura IF).

Ejemplo 6

Vacunas combinadas con la vacuna de subunidades ORF2 del PCV2

45 La figura 3A muestra antígeno específico de PRRSV (antígeno de fusión 4 en 1 PRRSFREE y antígenos PRRSFREE) y la figura 3B muestra respuestas de CMI específicas de PCV2-ORF2. Los datos indican que el grupo de ratones inmunizados con la combinación del antígeno de fusión PRRSFREE 4 en 1 y la vacuna de la subunidad del ORF2 del PCV2 mostró una respuesta CMI más fuerte que la del grupo de ratones inmunizados con la combinación de PRRSFREE (4 antígenos separados) y vacuna de subunidades del ORF2 del PCV2.

50 La figura 4A muestra respuestas de anticuerpos específicos del antígeno del PRRSV. Se usó un método ELISA para medir los títulos de anticuerpos específicos a antígenos. Para el grupo tratado con la combinación de PE-DRMP-NESK y PE-PCV2-NESK (esto es, dos proteínas de fusión), se usó el antígeno de fusión DRMP para medir el título

de anticuerpo específico de antígeno. Para el grupo tratado con la combinación de PRRSFREE y PE-PCV2-NESK (esto es, 5 proteínas de fusión), se usaron cuatro antígenos D, R, M y P para medir el título de anticuerpos específicos de antígeno. Los datos indican que el grupo de ratones inmunizados con la combinación de antígeno de fusión PRRSFREE 4-en-1 y la vacuna de la subunidad ORF2 del PCV2 mostró una respuesta humoral específica de antígeno de fusión PRRSFREE 4-en-1 más fuerte que la del grupo de ratones inmunizados con la combinación de PRRSFREE (4 antígenos separados) y la vacuna de la subunidad del ORF2 del PCV2 (Figura 4A).

La figura 4B muestra respuestas de anticuerpos específicos de antígeno PCV2-ORF2. Sorprendentemente, los ratones inmunizados con la combinación de PRRSFREE (4 antígenos separados) y la vacuna de la subunidad del ORF2 del PCV2 (PE-PCV2-NESK) tenían un título de anticuerpos específico de PCV2 más alto que el grupo inmunizado con la combinación del antígeno de fusión PRRSFREE 4-en-1 (PE-DRMP-NESK) y la vacuna de la subunidad del ORF2 del PCV2 (PE-PCV2-NESK). Los resultados indican que hubo una respuesta inmune humoral específica de antígeno específico de PRRSV y específica de PCV2 entre las dos vacunas combinadas de PRRSV/PCV2.

Está claro que ambos enfoques son eficaces para inducir CMI y respuestas inmunes humorales. La vacuna combinada PRRSV/PCV2 que comprende 2 proteínas de fusión (PE-DRMP-NESK y PE-PCV2-NESK) muestra una mejor eficacia en tres de las cuatro respuestas inmunes examinadas. Este estudio demuestra que la vacuna combinada PRRSV/PCV2 compuesta por el antígeno de fusión quimérico PRRSV y el antígeno ORF2 del PCV2 es una mejor opción que la compuesta por 5 antígenos individuales. Sin embargo, ambos enfoques son útiles para inducir respuestas inmunes en un animal.

#### Ejemplo 7

Fusión de dos antígenos v. Fusión de 4 antígenos

Se inyectaron tres grupos de ratones hembra C57BL/6 de 6 semanas de edad (3 ratones por grupo) por vía subcutánea con (1) 15 µg de proteína PE-DR-NESK, (2) una combinación de proteínas 15 µg de PE-DR-NESK y 15 µg PE-MP-NESK, o (3) 30 µg de PE-DRMP-NESK, en 200 µl de ISA206 al 50% a intervalos semanales tres veces. Los ratones se sacrificaron 1 semana después de la última inmunización y se recogieron los esplenocitos. Los esplenocitos se estimularon con 4 antígenos PRRSV (M12, DgD, PQAB y RSAB, 2.5 µg/ml de cada uno) durante 72 horas, y se detectaron IFN-γ en los sobrenadantes libres de células de cada grupo usando el kit ELISA. La figura 5 muestra que los ratones inmunizados con PE-DRMP-NESK mostraron la mayor respuesta de CMI entre tres grupos.

#### Ejemplo 8

Inmunidad celular en cerdos

A los cerdos SPF de cinco semanas de edad (2-4 cerdos por grupo) se les inyectó por vía intramuscular una de las siguientes vacunas: (1) PRRSFREE, (2) PE-DRMP-NESK, (3) PE-MDPR-NESK, (4) RAP1-PE<sub>268-313</sub>-DRMP-K3, (5) RAP1-PE<sub>268-313</sub>-MDPR-K3 en 2 ml de ISA206 al 50% o (6) PBS como placebo, dos veces a intervalos semanales. La figura 6 muestra diseños de estas vacunas. El antígeno en cada inyección fue de 300 µg en 2 ml de ISA206 al 50%. Se recogieron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de cerdos vacunados en la semana 3 después de la última inmunización. Dependiendo de la vacuna usada en la inmunización, los PBMC se estimularon con antígenos PRRSFREE (M12, DgD, PQAB y RSAB, 2.5 µg/ml de cada uno), PE-DRMP-NESK, PE-MDPR-NESK, RAP1-PE<sub>268-313</sub>-DRMP-K3, o RAP1-PE<sub>268-313</sub>-MDPR-K3 durante 72 horas, luego se detectaron IFN-γ en los sobrenadantes libres de células de cada grupo usando el kit ELISA. La figura 7 muestra IFN-γ secretado por PBMC de cerdos vacunados después de la estimulación. Se observó que las vacunas que comprenden antígenos de fusión podrían inducir una mayor secreción de IFN-γ que el grupo placebo.

#### Ejemplo 9

Estudios de viremia en cerdos

A los cerdos SPF de cinco semanas de edad (2-4 cerdos por grupo) se les inyectó por vía intramuscular una de las siguientes vacunas: (1) PRRSFREE, (2) PE-DRMP-NESK, (3) PE-MDPR-NESK, (4) RAP1-PE<sub>268-313</sub>-DRMP-K3, (5) RAP1-PE<sub>268-313</sub>-MDPR-K3 en 2 ml de ISA206 al 50% o (6) PBS como placebo, dos veces a intervalos semanales. El antígeno en cada inyección fue de 300 µg en 2 ml de ISA206 al 50%. Los cerdos vacunados fueron desafiados intranasalmente con  $2 \times 10^5$  TCID50 de PRRSV a las tres semanas después de la última inmunización. Se recogieron muestras de sangre semanalmente. Los ARN virales se extrajeron de los sueros y se cuantificaron usando PCR en tiempo real SYBR® Green de una sola etapa para determinar los niveles de viremia. Los resultados experimentales indicaron que las vacunas que comprenden antígenos de fusión podrían reducir la carga del virus.

La tabla 2 muestra las SEQ ID NOs. de péptidos usados para fabricar diversas proteínas de fusión.

Tabla 2

ES 2 790 527 T3

Componente	SEQ ID NO:	Longitud
Dominio la mínimo de unión de exotoxina A de Pseudomonas (PE) (dominio de unión a APC, a.a.1-a.a.252 de PE)	1	252
PE253-313 (dominio de translocación)	2	61
PE268-313 (dominio de translocación)*	3	46
Núcleo PE <sub>t</sub> (núcleo de dominio de translocación PE; a.a. 280- a.a. 313 de PE)	4	34
PE <sub>313</sub> (a.a. 1- a.a. 313 de PE)	5	313
PE253-364 (dominio de translocación)	6	112
PE <sub>407</sub> (a.a. 1- a.a. 407 de PE)	7	407
RAP1 Mínimo (dominio III de RAP1)	8	104
A2M Mínimo	9	153
HIV-Tat Mínimo	10	24
HSPs Mínimo	11	641
NESK es LQKKLEEELELAKDEL **	12	15
Secuencia consenso NES es LXXKLXXLXLX, en la que "L" es leucina, "K" es lisina y "x" es cualquier aminoácido de origen natural.	13	11
NES es LQKKLEEELELA	14	11
KDEL (K)	15	4
KDELKDELKDEL (K3)	16	12
KKDLRDELKDEL (K3)	17	12
KKDELRDELKDEL (K3)	18	13
KKDELRVELKDEL (K3)	19	13
ORF2 del PCV2 (ORF2 circovirus porcino tipo 2 truncado; aa 42 -aa 233)	20	192
PE de longitud completa (Exotoxina A, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )	21	613
DGD (antígeno ORF7 con una repetición en tándem D)	22	220
D (antígeno ORF7 sin una repetición en tándem D) <b>RHHFTPSERQLCLSSIQTAFNQGAGTCILSDSGRISYTFEFSPLPTH</b> <b>HTVRLIRVTAPPSA</b>	23	60
R (RSAB)	24	62
M (M12)***	25	165
P (PQAB)****	26	58

PF <sub>313</sub> -DRMP-NFSK (o PE-DRMP-NESK)	27	841
PE <sub>313</sub> -MDPR-NESK (o PE-MPDR-NESK)	28	746
RAP1-PE <sub>263-313</sub> DRMP-K3	29	677
RAP1-PE <sub>268-313</sub> MDPR-K3	30	584
PE <sub>313</sub> -PCV2-NESK (o PE-PCV2-NESK)	31	525
PE 1-267 (dominio de enlace de PE)	32	267
D alternativo (antígeno ORF7, sin una repetición en tándem D) <b>HHFTPSE RQLCLSSIQ TAFNQGAGTCILSDSGRISYTV EFSLP THH TVRLIRVTAPPSA</b>	33	59
Parte N-terminal de ORF6 [de un aislado de PRRSV en Taiwán] GSSLDDFCYDSTAPQKVLLAFSITY	34	25
Parte N-terminal de ORF5 [de un aislado de PRRSV en Taiwán] ASNDSSSHLQLIYNLTLCELNGTDWLANKF DWA	35	33
Parte N-terminal de ORF6 MGSLDDFCNDSTAAQKLVLAFSITYTPI	36	28
Parte N-terminal de ORF5 FVAGGSSSTYQYIYNLTICELNGTDWLSNHFDWA	37	34
ORF5 del PRRSV, Cepa del PRRSV Tipo 1 (Europea)  <b><u>MRC SHKLGRFLTPHSCFWWLFL LCTGLSWSFVAGGSSSTYOYI</u></b>  <b><u>YNLTICELNGTDWLSNHFDWAVETFVL</u></b>  YPVATHILSLGFLTTS HFFDALGLGAVSTIGFVGGRYVLSSVYG ACAFAAFVCFVIRAVKNCMAFRYAHT RFTNFIVDDRGR IHRWKSPIVVEKLGKAEVGGDLVTIKHVLE G VKAQPLTRTSAEQWEA	38	200
ORF6 del PRRSV, Cepa del PRRSV Tipo 1 (Europea)  <b><u>MGSLDDFCNDSTAAOKLVLAFSITYTPI MIYALKVSRGRL LGL</u></b>  LHILIFLNCSFTFGYMTYVRFQSTNRV ALTLGAVVALLWGVYSFTESWK FVTSRCRLCCLGRRYILAPAH HVESAAAGLHSIPASGNRAYAVRKPGLT SVNGTLVPGLRSLVLGGKRAVKRGVVNLVKYGR	39	173

ORF5 del PRRSV, Cepa del PRRSV Tipo 2 (Norteamericana)	40	200
<p><b>MLGKCLTAGCCSRLFLWCTVPSCFVALVGASNSSSSYSOLLY</b></p> <p><b><u>NLTLCELNGTDWLANKFDWAVETVFIF</u></b></p> <p>PVLTHIVSYGALTTSHFLDTVGLITVSTAGFYHGRYVLSIIYATC</p> <p>ALAALICFVIRLAKNCMSWRYSCTR</p> <p>YTNFLLDTKGRIYRWRSPVIIKGGKVEVEGHLIDLKRVVLDGS</p> <p>AAIPVTKISAEQWGRP</p>		
ORF6 del PRRSV: Cepa del PRRSV Tipo 2 (Norteamericana)	41	174
<p><b><u>MGSSLDDFCHDSTAPOKVILAFSITYTPVMYALKVSRGRLLG</u></b></p> <p>LLHLLIFLNCAFTFGYMTFVHFQSTNR</p> <p>VALTMGAVVALLWGVYSAIETWRFITSRCLLGRKYILAPA</p> <p>HHVESAAGFHPIAASDNHAFVRRPGS</p> <p>TTVNGTLVPLKSLVLGGRKAVKQGVVNLVKYAK</p>		
<p>*: PE<sub>268-313</sub> es a.a. 268- a.a. 313 de longitud completa PE; PE<sub>313</sub> es a.a. 1- a.a. 313 PE de longitud completa; PE<sub>407</sub> es a.a. 1- a.a. 407 PE de longitud completa.</p> <p>** : Las letras en negrita representan la secuencia de aminoácidos de una señal de exportación nuclear artificial; las letras subrayadas representan la secuencia de aminoácidos de una señal de retención del retículo endoplásmico.</p> <p>***: M (M12) es un polipéptido de fusión preparado por fusión de PRRSV NSP 10 (secuencia de dominio C-terminal) y NSP 11 (secuencia de dominio N-terminal). Es decir, el polipéptido se deriva de la parte C-terminal NSB10 y la parte N-terminal NSB11 de las proteínas no estructurales ORF1b NSP 10.)</p> <p>****: P (PQAB) es un polipéptido preparado por fusión del ORF6 del PRRSV a.a. 2 - a.a. 26 y ORF5 aa 31- aa 63. Véase la Patente de los Estados Unidos No. 7465455. La secuencia en letras regulares deriva de la secuencia ORF6 del PRRSV/matriz proteica, y la secuencia en letras en negrita deriva de la secuencia PRRSV ORF 5. La proteína de envoltura principal (GP5) codificada por el ORF5 del PRRSV tiene un papel crítico en la inducción de anticuerpos neutralizantes de virus (VN) y la protección cruzada entre diferentes cepas del PRRSV. Dado que hay variaciones de secuencia entre diferentes cepas, las secuencias en este documento se describen con fines ilustrativos.</p>		

Listado de secuencias

<110> Reber Genetics Co., Ltd.

5 <120> COMPOSICIONES DE VACUNAS CONTRA EL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO Y ENFERMEDADES ASOCIADAS AL CIRCOVIRUS PORCINO

<130> 10025-00002

<150> 62169205

<151> 2015-06-01

ES 2 790 527 T3

<160> 53

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 252

5 <212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 1

```

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val
 1           5           10           15

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro
      20           25           30

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

Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu
 50           55           60

Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu
 65           70           75           80

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser
      85           90           95

Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn
      100          105          110

Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His
      115          120          125

Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys
      130          135          140

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

```

ES 2 790 527 T3

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

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser  
 180 185 190

Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr  
 195 200 205

Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile  
 210 215 220

Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys  
 225 230 235 240

Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu  
 245 250

<210> 2

<211> 61

<212> PRT

5 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 2

Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro  
 1 5 10 15

Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu  
 20 25 30

Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala  
 35 40 45

Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg  
 50 55 60

<210> 3

<211> 46

10 <212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 3





ES 2 790 527 T3

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val  
 1 5 10 15

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro  
 20 25 30

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

Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu  
 50 55 60

Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu  
 65 70 75 80

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser  
 85 90 95

Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn  
 100 105 110

Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His  
 115 120 125

Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys  
 130 135 140

ES 2 790 527 T3

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

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

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser  
 180 185 190

Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr  
 195 200 205

Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile  
 210 215 220

Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys  
 225 230 235 240

Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser Leu  
 245 250 255

Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe  
 260 265 270

Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly  
 275 280 285

Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser  
 290 295 300

Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg  
 305 310

<210> 6

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 6

Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro  
 1 5 10 15

Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu  
 20 25 30

Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala  
 35 40 45

ES 2 790 527 T3

Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu  
50 55 60

Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln  
65 70 75 80

Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu  
85 90 95

Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn  
100 105 110

<210> 7

<211> 407

<212> PRT

5 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 7

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val  
1 5 10 15

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro  
20 25 30

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

Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu  
50 55 60

Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu  
65 70 75 80

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser  
85 90 95

Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn  
100 105 110

Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His  
115 120 125

Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys  
130 135 140

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

ES 2 790 527 T3

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

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser  
 180 185 190

Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr  
 195 200 205

Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile  
 210 215 220

Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys  
 225 230 235 240

Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser Leu  
 245 250 255

Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe  
 260 265 270

Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly  
 275 280 285

Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser  
 290 295 300

Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly  
 305 310 315 320

Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala  
 325 330 335

Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg  
 340 345 350

Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val  
 355 360 365

Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp  
 370 375 380

Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe  
 385 390 395 400

Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val

405

ES 2 790 527 T3

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

```
Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln
 1              5              10              15

Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu
 20              25              30

Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln
 35              40              45

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

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

Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu
 85              90              95

Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala Arg
 100
```

5

<210> 9

<211> 153

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> A2M Mínimo

<400> 9

ES 2 790 527 T3

Val Tyr Leu Gln Thr Ser Leu Lys Tyr Asn Ile Leu Pro Glu Lys Glu  
 1 5 10 15

Glu Phe Pro Phe Ala Leu Gly Val Gln Thr Leu Pro Gln Thr Cys Asp  
 20 25 30

Glu Pro Lys Ala His Thr Ser Phe Gln Ile Ser Leu Ser Val Ser Tyr  
 35 40 45

Thr Gly Ser Arg Ser Ala Ser Asn Met Ala Ile Val Asp Val Lys Met  
 50 55 60

Val Ser Gly Phe Ile Pro Leu Lys Pro Thr Val Lys Met Leu Glu Arg  
 65 70 75 80

Ser Asn His Val Ser Arg Thr Glu Val Ser Ser Asn His Val Leu Ile  
 85 90 95

Tyr Leu Asp Lys Val Ser Asn Gln Thr Leu Ser Leu Phe Phe Thr Val  
 100 105 110

Leu Gln Asp Val Pro Val Arg Asp Leu Lys Pro Ala Ile Val Lys Val  
 115 120 125

Tyr Asp Tyr Tyr Glu Thr Asp Glu Phe Ala Ile Ala Glu Tyr Asn Ala  
 130 135 140

Pro Cys Ser Lys Asp Leu Gly Asn Ala  
 145 150

<210> 10

<211> 24

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> HIV-Tat Mínimo

<400> 10

Arg Gly Asp Pro Thr Gly Gln Glu Glu Ser Lys Glu Lys Val Glu Lys  
 1 5 10 15

Glu Thr Val Val Asp Pro Val Thr  
 20

10 <210> 11

<211> 641

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 790 527 T3

<220>

<223> HSPs Mínimo

<400> 11

Met Ala Lys Ala Ala Ala Ile Gly Ile Asp Leu Gly Thr Thr Tyr Ser  
1 5 10 15

Cys Val Gly Val Phe Gln His Gly Lys Val Glu Ile Ile Ala Asn Asp  
20 25 30

Gln Gly Asn Arg Thr Thr Pro Ser Tyr Val Ala Phe Thr Asp Thr Glu  
35 40 45

ES 2 790 527 T3

Arg Leu Ile Gly Asp Ala Ala Lys Asn Gln Val Ala Leu Asn Pro Gln  
50 55 60

Asn Thr Val Phe Asp Ala Lys Arg Leu Ile Gly Arg Lys Phe Gly Asp  
65 70 75 80

Pro Val Val Gln Ser Asp Met Lys His Trp Pro Phe Gln Val Ile Asn  
85 90 95

Asp Gly Asp Lys Pro Lys Val Gln Val Ser Tyr Lys Gly Glu Thr Lys  
100 105 110

Ala Phe Tyr Pro Glu Glu Ile Ser Ser Met Val Leu Thr Lys Met Lys  
115 120 125

Glu Ile Ala Glu Ala Tyr Leu Gly Tyr Pro Val Thr Asn Ala Val Ile  
130 135 140

Thr Val Pro Ala Tyr Phe Asn Asp Ser Gln Arg Gln Ala Thr Lys Asp  
145 150 155 160

Ala Gly Val Ile Ala Gly Leu Asn Val Leu Arg Ile Ile Asn Glu Pro  
165 170 175

Thr Ala Ala Ala Ile Ala Tyr Gly Leu Asp Arg Thr Gly Lys Gly Glu  
180 185 190

Arg Asn Val Leu Ile Phe Asp Leu Gly Gly Gly Thr Phe Asp Val Ser  
195 200 205

Ile Leu Thr Ile Asp Asp Gly Ile Phe Glu Val Lys Ala Thr Ala Gly  
210 215 220

Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp Asn Arg Leu Val Asn His  
225 230 235 240

Phe Val Glu Glu Phe Lys Arg Lys His Lys Lys Asp Ile Ser Gln Asn  
245 250 255

Lys Arg Ala Val Arg Arg Leu Arg Thr Ala Cys Glu Arg Ala Lys Arg  
260 265 270

Thr Leu Ser Ser Ser Thr Gln Ala Ser Leu Glu Ile Asp Ser Leu Phe  
275 280 285

Glu Gly Ile Asp Phe Tyr Thr Ser Ile Thr Arg Ala Arg Phe Glu Glu



ES 2 790 527 T3

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

ES 2 790 527 T3

Tyr Ala Phe Asn Met Lys Ser Ala Val Glu Asp Glu Gly Leu Lys Gly  
545 550 555 560

Lys Ile Ser Glu Ala Asp Lys Lys Lys Val Leu Asp Lys Cys Gln Glu  
565 570 575

Val Ile Ser Trp Leu Asp Ala Asn Thr Leu Ala Glu Lys Asp Glu Phe  
580 585 590

Glu His Lys Arg Lys Glu Leu Glu Gln Val Cys Asn Pro Ile Ile Ser  
595 600 605

Gly Leu Tyr Gln Gly Ala Gly Gly Pro Gly Pro Gly Gly Phe Gly Ala  
610 615 620

Gln Gly Pro Lys Gly Gly Ser Gly Ser Gly Pro Thr Ile Glu Glu Val  
625 630 635 640

Asp

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> NESK

<400> 12

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

10 <210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Secuencia de consenso NES

<220>

<221> característica misc.

<222> (2)..(3)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

20 <220>

<221> característica misc.

<222> (6)..(7)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> característica misc.

5 <222> (9) .. (9)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>

<221> característica misc.

<222> (11)..(11)

10 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 13

**Leu Xaa Xaa Lys Leu Xaa Xaa Leu Xaa Leu Xaa**  
**1 5 10**

<210> 14

<211> 11

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> El terminal C' de NES es Ala

<400> 14

**Leu Gln Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Ala**  
**1 5 10**

20

<210> 15

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Secuencia de retención ER

<400> 15

**Lys Asp Glu Leu**  
**1**

<210> 16

30 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de retención ER

ES 2 790 527 T3

<400> 16

Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
1 5 10

<210> 17

<211> 12

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de retención ER

<400> 17

Lys Lys Asp Leu Arg Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
1 5 10

10

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Secuencia de retención ER

<400> 18

Lys Lys Asp Glu Leu Arg Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
1 5 10

<210> 19

20 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de retención ER

25 <400> 19

Lys Lys Asp Glu Leu Arg Val Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
1 5 10

<210> 20

<211> 192

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> ORF2 del PCV2 truncado

ES 2 790 527 T3

<400> 20

Asn Gly Ile Phe Asn Thr Arg Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Ile  
 1 5 10 15

Lys Arg Thr Thr Val Lys Thr Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg  
 20 25 30

Phe Asn Ile Asn Asp Phe Leu Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Arg  
 35 40 45

Ser Val Pro Phe Glu Tyr Tyr Ser Ile Ser Lys Val Lys Val Glu Phe  
 50 55 60

Trp Pro Cys Ser Pro Ile Thr Gln Gly Asp Ser Gly Val Gly Ser Ser  
 65 70 75 80

Ala Val Ile Leu Asp Asp Asn Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr  
 85 90 95

Tyr Asp Pro Tyr Val Asn Tyr Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro  
 100 105 110

Phe Ser Tyr His Ser Arg Tyr Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser  
 115 120 125

Gly Gly Gly Ala Ala Ala Pro Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu  
 130 135 140

Arg Leu Gln Thr Ala Gly Asn Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala  
 145 150 155 160

Phe Glu Asn Ser Ile Tyr Asp Gln Glu Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met  
 165 170 175

Tyr Val Gln Phe Arg Glu Phe Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro  
 180 185 190

<210> 21

<211> 613

5 <212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 21



ES 2 790 527 T3

Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His  
 115 120 125

Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys  
 130 135 140

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

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

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser  
 180 185 190

Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr  
 195 200 205

Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile  
 210 215 220

Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys  
 225 230 235 240

Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser Leu  
 245 250 255

Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe  
 260 265 270

Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly  
 275 280 285

Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser  
 290 295 300

Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly  
 305 310 315 320

Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala  
 325 330 335

Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg  
 340 345 350

Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Ala Asp Val Val

ES 2 790 527 T3

355		360		365											
Ser	Leu	Thr	Cys	Pro	Val	Ala	Ala	Gly	Glu	Cys	Ala	Gly	Pro	Ala	Asp
370						375					380				
Ser	Gly	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Arg	Asn	Tyr	Pro	Thr	Gly	Ala	Glu	Phe
385					390					395					400
Leu	Gly	Asp	Gly	Gly	Asp	Val	Ser	Phe	Ser	Thr	Arg	Gly	Thr	Gln	Asn
			405						410					415	
Trp	Thr	Val	Glu	Arg	Leu	Leu	Gln	Ala	His	Arg	Gln	Leu	Glu	Glu	Arg
			420					425					430		
Gly	Tyr	Val	Phe	Val	Gly	Tyr	His	Gly	Thr	Phe	Leu	Glu	Ala	Ala	Gln
		435					440					445			
Ser	Ile	Val	Phe	Gly	Gly	Val	Arg	Ala	Arg	Ser	Gln	Asp	Leu	Asp	Ala
450						455					460				
Ile	Trp	Arg	Gly	Phe	Tyr	Ile	Ala	Gly	Asp	Pro	Ala	Leu	Ala	Tyr	Gly
465					470					475					480
Tyr	Ala	Gln	Asp	Gln	Glu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	Arg	Ile	Arg	Asn	Gly
				485					490					495	
Ala	Leu	Leu	Arg	Val	Tyr	Val	Pro	Arg	Ser	Ser	Leu	Pro	Gly	Phe	Tyr
			500					505					510		
Arg	Thr	Ser	Leu	Thr	Leu	Ala	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Glu	Val	Glu
		515					520					525			
Arg	Leu	Ile	Gly	His	Pro	Leu	Pro	Leu	Arg	Leu	Asp	Ala	Ile	Thr	Gly
530						535					540				
Pro	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Arg	Leu	Glu	Thr	Ile	Leu	Gly	Trp	Pro	Leu
545					550					555					560
Ala	Glu	Arg	Thr	Val	Val	Ile	Pro	Ser	Ala	Ile	Pro	Thr	Asp	Pro	Arg
				565					570					575	
Asn	Val	Gly	Gly	Asp	Leu	Asp	Pro	Ser	Ser	Ile	Pro	Asp	Lys	Glu	Gln
			580					585					590		
Ala	Ile	Ser	Ala	Leu	Pro	Asp	Tyr	Ala	Ser	Gln	Pro	Gly	Lys	Pro	Pro
		595					600					605			
							Arg	Glu	Asp	Leu	Lys				
							610								



ES 2 790 527 T3

<211> 220

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> DGD (fragmento parcial ORF7 con una repetición en tándem D)

<400> 22

```

Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile
1           5           10           15

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser
          20           25           30

Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr
          35           40           45

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

Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu
65           70           75           80

Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala
          85           90           95

Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu
          100          105          110

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

Ala Gly Glu Cys Ala Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu
          130          135          140

Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val
          145          150          155          160

Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile
          165          170          175

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser
          180          185          190

Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr
          195          200          205

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala
          210          215          220

```

ES 2 790 527 T3

<210> 23

<211> 60

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> D (fragmento parcial ORF7 sin repetición en tándem D)

<400> 23

```

Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile
1           5           10           15

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser
          20           25           30

Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr
          35           40           45

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala
          50           55           60
    
```

<210> 24

10 <211> 62

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> R (RSAB)

15 <400> 24

```

Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys
1           5           10           15

Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Phe Val Ala Gly
          20           25           30

Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys Glu
          35           40           45

Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Asn His Phe Asp Trp Ala
          50           55           60
    
```

<210> 25

<211> 165

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 790 527 T3

<223> antígeno M (M12) derivado de PRRSV ORF1b

<400> 25

```

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

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

Ala Asp Leu Glu Gly Ser Ser Ser Pro Leu Pro Lys Val Ala His Asn
          35          40          45

Leu Gly Phe Tyr Phe Ser Pro Asp Leu Thr Gln Phe Ala Lys Leu Pro
50          55          60

Ile Glu Leu Ala Pro His Trp Pro Val Val Ser Thr Gln Asn Asn Glu
65          70          75          80

Lys Trp Pro Asp Arg Leu Val Ala Ser Leu Arg Pro Leu Asp Lys Tyr
          85          90          95

Ser Arg Ala Cys Ile Gly Ala Gly Tyr Met Val Gly Pro Ser Val Phe
          100          105          110

Leu Gly Thr Pro Gly Val Val Ser Tyr Tyr Leu Thr Lys Phe Val Lys
          115          120          125

Gly Glu Ala Gln Val Leu Pro Glu Thr Val Phe Ser Thr Gly Arg Ile
          130          135          140

Glu Val Asp Cys Arg Glu Tyr Leu Asp Asp Arg Glu Arg Glu Val Ala
145          150          155          160

Ala Ser Leu Pro His
          165

```

<210> 26

5 <211> 58

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> antígeno PQGAB (P)

10 <400> 26

```

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

```

ES 2 790 527 T3

Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Ala Ser Asn Asp Ser Ser Ser  
 20 25 30

His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr  
 35 40 45

Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala  
 50 55

<210> 27

<211> 841

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> PE313-DRMP-NESK

<400> 27

Met Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys  
 1 5 10 15

Val Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp  
 20 25 30

Pro Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met  
 35 40 45

Val Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala  
 50 55 60

Leu Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val  
 65 70 75 80

Glu Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly  
 85 90 95

Ser Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser  
 100 105 110

Asn Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser  
 115 120 125

His Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala  
 130 135 140

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

ES 2 790 527 T3

Glu Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val  
 165 170 175  
 Met Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala  
 180 185 190  
 Ser Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn  
 195 200 205  
 Tyr Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys  
 210 215 220  
 Ile Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile  
 225 230 235 240  
 Lys Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser  
 245 250 255  
 Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr  
 260 265 270  
 Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys  
 275 280 285  
 Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu  
 290 295 300  
 Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Glu Phe Val Asp His His  
 305 310 315 320  
 Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile Gln Thr Ala  
 325 330 335  
 Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser Gly Arg Ile  
 340 345 350  
 Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr Val Arg Leu  
 355 360 365  
 Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala Leu Asp Gln Val Ile Arg Asn  
 370 375 380  
 Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg  
 385 390 395 400  
 Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu  
 405 410 415

ES 2 790 527 T3

Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala  
 420 425 430

Ala Asn Ala Asp Val Val Ser Leu Thr Cys Pro Val Ala Ala Gly Glu  
 435 440 445

Cys Ala Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr  
 450 455 460

Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val Arg His His  
 465 470 475 480

Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile Gln Thr Ala  
 485 490 495

Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser Gly Arg Ile  
 500 505 510

Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr Val Arg Leu  
 515 520 525

Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe  
 530 535 540

Cys Asn Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile  
 545 550 555 560

Thr Tyr Thr Pro Ile Phe Val Ala Gly Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln  
 565 570 575

Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu  
 580 585 590

Ser Asn His Phe Asp Trp Ala Leu Asp Asn Asn Lys Glu Cys Thr Val  
 595 600 605

Ala Gln Ala Leu Gly Asn Gly Asp Lys Phe Arg Ala Thr Asp Lys Arg  
 610 615 620

Val Val Asp Ser Leu Arg Ala Ile Cys Ala Asp Leu Glu Gly Ser Ser  
 625 630 635 640

Ser Pro Leu Pro Lys Val Ala His Asn Leu Gly Phe Tyr Phe Ser Pro  
 645 650 655

Asp Leu Thr Gln Phe Ala Lys Leu Pro Ile Glu Leu Ala Pro His Trp  
 660 665 670

ES 2 790 527 T3

Pro Val Val Ser Thr Gln Asn Asn Glu Lys Trp Pro Asp Arg Leu Val  
 675 680 685

Ala Ser Leu Arg Pro Leu Asp Lys Tyr Ser Arg Ala Cys Ile Gly Ala  
 690 695 700

Gly Tyr Met Val Gly Pro Ser Val Phe Leu Gly Thr Pro Gly Val Val  
 705 710 715 720

Ser Tyr Tyr Leu Thr Lys Phe Val Lys Gly Glu Ala Gln Val Leu Pro  
 725 730 735

Glu Thr Val Phe Ser Thr Gly Arg Ile Glu Val Asp Cys Arg Glu Tyr  
 740 745 750

Leu Asp Asp Arg Glu Arg Glu Val Ala Ala Ser Leu Pro His Gly Ser  
 755 760 765

Ser Leu Asp Asp Phe Cys Tyr Asp Ser Thr Ala Pro Gln Lys Val Leu  
 770 775 780

Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Ala Ser Asn Asp Ser Ser Ser His Leu  
 785 790 795 800

Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp  
 805 810 815

Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala Leu Glu Leu Gln Lys Lys Leu Glu  
 820 825 830

Glu Leu Glu Leu Ala Lys Asp Glu Leu  
 835 840

<210> 28

<211> 746

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> PE313-MDPR-NESK

<400> 28

Met Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys  
 1 5 10 15

Val Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp  
 20 25 30

ES 2 790 527 T3

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



ES 2 790 527 T3

Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu  
 290 295 300

Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Glu Phe Asn Asn Lys Glu  
 305 310 315 320

Cys Thr Val Ala Gln Ala Leu Gly Asn Gly Asp Lys Phe Arg Ala Thr  
 325 330 335

Asp Lys Arg Val Val Asp Ser Leu Arg Ala Ile Cys Ala Asp Leu Glu  
 340 345 350

Gly Ser Ser Ser Pro Leu Pro Lys Val Ala His Asn Leu Gly Phe Tyr  
 355 360 365

Phe Ser Pro Asp Leu Thr Gln Phe Ala Lys Leu Pro Ile Glu Leu Ala  
 370 375 380

Pro His Trp Pro Val Val Ser Thr Gln Asn Asn Glu Lys Trp Pro Asp  
 385 390 395 400

Arg Leu Val Ala Ser Leu Arg Pro Leu Asp Lys Tyr Ser Arg Ala Cys  
 405 410 415

Ile Gly Ala Gly Tyr Met Val Gly Pro Ser Val Phe Leu Gly Thr Pro  
 420 425 430

Gly Val Val Ser Tyr Tyr Leu Thr Lys Phe Val Lys Gly Glu Ala Gln  
 435 440 445

Val Leu Pro Glu Thr Val Phe Ser Thr Gly Arg Ile Glu Val Asp Cys  
 450 455 460

Arg Glu Tyr Leu Asp Asp Arg Glu Arg Glu Val Ala Ala Ser Leu Pro  
 465 470 475 480

His Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser  
 485 490 495

Ile Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp  
 500 505 510

Ser Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His  
 515 520 525

Thr Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala Arg His His

ES 2 790 527 T3

530						535										540
Phe	Thr	Pro	Ser	Glu	Arg	Gln	Leu	Cys	Leu	Ser	Ser	Ile	Gln	Thr	Ala	
545					550					555					560	
Phe	Asn	Gln	Gly	Ala	Gly	Thr	Cys	Ile	Leu	Ser	Asp	Ser	Gly	Arg	Ile	
				565					570					575		
Ser	Tyr	Thr	Val	Glu	Phe	Ser	Leu	Pro	Thr	His	His	Thr	Val	Arg	Leu	
			580					585					590			
Ile	Arg	Val	Thr	Ala	Pro	Pro	Ser	Ala	Leu	Glu	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	
		595					600					605				
Leu	Asp	Asp	Phe	Cys	Tyr	Asp	Ser	Thr	Ala	Pro	Gln	Lys	Val	Leu	Leu	
610						615					620					
Ala	Phe	Ser	Ile	Thr	Tyr	Ala	Ser	Asn	Asp	Ser	Ser	Ser	His	Leu	Gln	
625					630					635					640	
Leu	Ile	Tyr	Asn	Leu	Thr	Leu	Cys	Glu	Leu	Asn	Gly	Thr	Asp	Trp	Leu	
				645					650					655		
Ala	Asn	Lys	Phe	Asp	Trp	Ala	His	Met	Val	Asp	Met	Gly	Ser	Leu	Asp	
			660					665					670			
Asp	Phe	Cys	Asn	Asp	Ser	Thr	Ala	Ala	Gln	Lys	Leu	Val	Leu	Ala	Phe	
		675					680					685				
Ser	Ile	Thr	Tyr	Thr	Pro	Ile	Phe	Val	Ala	Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	Thr	
690						695					700					
Tyr	Gln	Tyr	Ile	Tyr	Asn	Leu	Thr	Ile	Cys	Glu	Leu	Asn	Gly	Thr	Asp	
705					710					715					720	
Trp	Leu	Ser	Asn	His	Phe	Asp	Trp	Ala	Leu	Glu	Leu	Gln	Lys	Lys	Leu	
				725					730					735		
Glu	Glu	Leu	Glu	Leu	Ala	Lys	Asp	Glu	Leu							
			740					745								

<210> 29

<211> 677

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> RAP1-PE268-313-DRMP-K3

<400> 29

ES 2 790 527 T3

Met Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala  
1 5 10 15

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

Leu Lys His Phe Glu Ala Lys Ile Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys  
35 40 45

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

Asp Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser Arg Glu Lys His Ala Leu Leu Glu  
65 70 75 80

Gly Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp  
85 90 95

Leu Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala Arg Glu Phe His Leu Pro Leu Glu  
100 105 110

Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln  
115 120 125

Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg  
130 135 140

Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Glu Phe His His Phe  
145 150 155 160

Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile Gln Thr Ala Phe  
165 170 175

Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser Gly Arg Ile Ser  
180 185 190

Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr Val Arg Leu Ile  
195 200 205

Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala Leu Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala  
210 215 220

Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu  
225 230 235 240

Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser

ES 2 790 527 T3

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

ES 2 790 527 T3

Leu Thr Gln Phe Ala Lys Leu Pro Ile Glu Leu Ala Pro His Trp Pro  
 500 505 510

Val Val Ser Thr Gln Asn Asn Glu Lys Trp Pro Asp Arg Leu Val Ala  
 515 520 525

Ser Leu Arg Pro Leu Asp Lys Tyr Ser Arg Ala Cys Ile Gly Ala Gly  
 530 535 540

Tyr Met Val Gly Pro Ser Val Phe Leu Gly Thr Pro Gly Val Val Ser  
 545 550 555 560

Tyr Tyr Leu Thr Lys Phe Val Lys Gly Glu Ala Gln Val Leu Pro Glu  
 565 570 575

Thr Val Phe Ser Thr Gly Arg Ile Glu Val Asp Cys Arg Glu Tyr Leu  
 580 585 590

Asp Asp Arg Glu Arg Glu Val Ala Ala Ser Leu Pro His Gly Ser Ser  
 595 600 605

Leu Asp Asp Phe Cys Tyr Asp Ser Thr Ala Pro Gln Lys Val Leu Leu  
 610 615 620

Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Ala Ser Asn Asp Ser Ser Ser His Leu Gln  
 625 630 635 640

Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu  
 645 650 655

Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala Leu Glu Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu  
 660 665 670

Leu Lys Asp Glu Leu  
 675

<210> 30

<211> 584

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> RAP1-PE268-313-MDPR-K3

<400> 30

Met Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala  
 1 5 10 15

Gln Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu

ES 2 790 527 T3

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

ES 2 790 527 T3

Pro Gly Val Val Ser Tyr Tyr Leu Thr Lys Phe Val Lys Gly Glu Ala  
 275 280 285

Gln Val Leu Pro Glu Thr Val Phe Ser Thr Gly Arg Ile Glu Val Asp  
 290 295 300

Cys Arg Glu Tyr Leu Asp Asp Arg Glu Arg Glu Val Ala Ala Ser Leu  
 305 310 315 320

Pro His Arg His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser  
 325 330 335

Ser Ile Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser  
 340 345 350

Asp Ser Gly Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His  
 355 360 365

His Thr Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala Arg His  
 370 375 380

His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile Gln Thr  
 385 390 395 400

Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser Gly Arg  
 405 410 415

Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr Val Arg  
 420 425 430

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

Ser Leu Asp Asp Phe Cys Tyr Asp Ser Thr Ala Pro Gln Lys Val Leu  
 450 455 460

Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Ala Ser Asn Asp Ser Ser Ser His Leu  
 465 470 475 480

Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp  
 485 490 495

Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala His Met Val Asp Met Gly Ser Leu  
 500 505 510

Asp Asp Phe Cys Asn Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys Leu Val Leu Ala  
 515 520 525

ES 2 790 527 T3

Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Phe Val Ala Gly Gly Ser Ser Ser  
 530 535 540

Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr  
 545 550 555 560

Asp Trp Leu Ser Asn His Phe Asp Trp Ala Leu Glu Lys Asp Glu Leu  
 565 570 575

Lys Asp Glu Leu Lys Asp Glu Leu  
 580

<210> 31

<211> 525

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> PE313-PCV2-NESK

<400> 31

Met Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys  
 1 5 10 15

Val Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp  
 20 25 30

Pro Ala Ile Ala Asp Thr Asn Gly Gln Gly Val Leu His Tyr Ser Met  
 35 40 45

Val Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala  
 50 55 60

Leu Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val  
 65 70 75 80

Glu Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly  
 85 90 95

Ser Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser  
 100 105 110

Asn Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser  
 115 120 125

His Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala  
 130 135 140



ES 2 790 527 T3

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

Glu Met Gln Pro Thr Leu Ala Ile Ser His Ala Gly Val Ser Val Val  
 165 170 175

Met Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala  
 180 185 190

Ser Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn  
 195 200 205

Tyr Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys  
 210 215 220

Ile Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile  
 225 230 235 240

Lys Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser  
 245 250 255

Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr  
 260 265 270

Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys  
 275 280 285

Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu  
 290 295 300

Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Glu Phe Asn Gly Ile Phe  
 305 310 315 320

Asn Thr Arg Leu Ser Arg Thr Phe Gly Tyr Thr Ile Lys Arg Thr Thr  
 325 330 335

Val Lys Thr Pro Ser Trp Ala Val Asp Met Met Arg Phe Asn Ile Asn  
 340 345 350

Asp Phe Leu Pro Pro Gly Gly Gly Ser Asn Pro Arg Ser Val Pro Phe  
 355 360 365

Glu Tyr Tyr Ser Ile Ser Lys Val Lys Val Glu Phe Trp Pro Cys Ser  
 370 375 380

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

ES 2 790 527 T3

Asp Asp Asn Phe Val Thr Lys Ala Thr Ala Leu Thr Tyr Asp Pro Tyr  
 405 410 415

Val Asn Tyr Ser Ser Arg His Thr Ile Thr Gln Pro Phe Ser Tyr His  
 420 425 430

Ser Arg Tyr Phe Thr Pro Lys Pro Val Leu Asp Ser Gly Gly Gly Ala  
 435 440 445

Ala Ala Pro Asn Asn Lys Arg Asn Gln Leu Trp Leu Arg Leu Gln Thr  
 450 455 460

Ala Gly Asn Val Asp His Val Gly Leu Gly Thr Ala Phe Glu Asn Ser  
 465 470 480

Ile Tyr Asp Gln Glu Tyr Asn Ile Arg Val Thr Met Tyr Val Gln Phe  
 485 490 495

Arg Glu Phe Asn Leu Lys Asp Pro Pro Leu Asn Pro Leu Glu Leu Gln  
 500 505 510

Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Ala Lys Asp Glu Leu  
 515 520 525

<210> 32

<211> 267

<212> PRT

5 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 32

Ala Glu Glu Ala Phe Asp Leu Trp Asn Glu Cys Ala Lys Ala Cys Val  
 1 5 10 15

Leu Asp Leu Lys Asp Gly Val Arg Ser Ser Arg Met Ser Val Asp Pro  
 20 25 30

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

Leu Glu Gly Gly Asn Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ile Asp Asn Ala Leu  
 50 55 60

Ser Ile Thr Ser Asp Gly Leu Thr Ile Arg Leu Glu Gly Gly Val Glu  
 65 70 75 80

Pro Asn Lys Pro Val Arg Tyr Ser Tyr Thr Arg Gln Ala Arg Gly Ser  
 85 90 95

ES 2 790 527 T3

Trp Ser Leu Asn Trp Leu Val Pro Ile Gly His Glu Lys Pro Ser Asn  
 100 105 110

Ile Lys Val Phe Ile His Glu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Leu Ser His  
 115 120 125

Met Ser Pro Ile Tyr Thr Ile Glu Met Gly Asp Glu Leu Leu Ala Lys  
 130 135 140

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

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

Ala Gln Thr Gln Pro Arg Arg Glu Lys Arg Trp Ser Glu Trp Ala Ser  
 180 185 190

Gly Lys Val Leu Cys Leu Leu Asp Pro Leu Asp Gly Val Tyr Asn Tyr  
 195 200 205

Leu Ala Gln Gln Arg Cys Asn Leu Asp Asp Thr Trp Glu Gly Lys Ile  
 210 215 220

Tyr Arg Val Leu Ala Gly Asn Pro Ala Lys His Asp Leu Asp Ile Lys  
 225 230 235 240

Pro Thr Val Ile Ser His Arg Leu His Phe Pro Glu Gly Gly Ser Leu  
 245 250 255

Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu  
 260 265

<210> 33

<211> 59

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> D alternativo (antígeno ORF7, sin una repetición en tándem D)

<400> 33

His His Phe Thr Pro Ser Glu Arg Gln Leu Cys Leu Ser Ser Ile Gln  
 1 5 10 15

Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Cys Ile Leu Ser Asp Ser Gly  
 20 25 30

ES 2 790 527 T3

Arg Ile Ser Tyr Thr Val Glu Phe Ser Leu Pro Thr His His Thr Val  
35 40 45

Arg Leu Ile Arg Val Thr Ala Pro Pro Ser Ala  
50 55

<210> 34

<211> 25

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Parte N-terminal de ORF6 [de un aislado de PRRSV en Taiwán]

<400> 34

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

Val Leu Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr  
20 25

10 <210> 35

<211> 33

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Parte N-terminal de ORF5 [de un aislado de PRRSV en Taiwán]

<400> 35

Ala Ser Asn Asp Ser Ser Ser His Leu Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr  
1 5 10 15

Leu Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp  
20 25 30

Ala

<210> 36

<211> 28

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Parte N-terminal de ORF6

<400> 36

ES 2 790 527 T3

Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys  
1 5 10 15

Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile

20

25

<210> 37

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Parte N-terminal de ORF5

<400> 37

Phe Val Ala Gly Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu  
1 5 10 15

Thr Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ser Asn His Phe Asp  
20 25 30

Trp Ala

10 <210> 38

<211> 200

<212> PRT

<213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<400> 38

ES 2 790 527 T3

Met Arg Cys Ser His Lys Leu Gly Arg Phe Leu Thr Pro His Ser Cys  
 1 5 10 15

Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Val  
 20 25 30

Ala Gly Gly Ser Ser Ser Thr Tyr Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr Ile  
 35 40 45

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

Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Leu Ser Leu  
 65 70 75 80

Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Phe Asp Ala Leu Gly Leu Gly Ala  
 85 90 95

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

Tyr Gly Ala Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg Ala  
 115 120 125

Val Lys Asn Cys Met Ala Phe Arg Tyr Ala His Thr Arg Phe Thr Asn  
 130 135 140

Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Ile His Arg Trp Lys Ser Pro Ile  
 145 150 155 160

Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Gly Gly Asp Leu Val Thr  
 165 170 175

Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr Arg  
 180 185 190

Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala  
 195 200

<210> 39

<211> 173

<212> PRT

5 <213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<400> 39

ES 2 790 527 T3

Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Ser Thr Ala Ala Gln Lys  
 1 5 10 15

Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala  
 20 25 30

Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile  
 35 40 45

Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val Arg Phe  
 50 55 60

Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu  
 65 70 75 80

Leu Trp Gly Val Tyr Ser Phe Thr Glu Ser Trp Lys Phe Val Thr Ser  
 85 90 95

Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala  
 100 105 110

His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Pro Ala Ser Gly  
 115 120 125

Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly  
 130 135 140

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

Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg  
 165 170

<210> 40

<211> 200

<212> PRT

5 <213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<400> 40

ES 2 790 527 T3

Met Leu Gly Lys Cys Leu Thr Ala Gly Cys Cys Ser Arg Leu Leu Phe  
 1 5 10 15

Leu Trp Cys Thr Val Pro Ser Cys Phe Val Ala Leu Val Gly Ala Ser  
 20 25 30

Asn Ser Ser Ser Ser Tyr Ser Gln Leu Ile Tyr Asn Leu Thr Leu Cys  
 35 40 45

Glu Leu Asn Gly Thr Asp Trp Leu Ala Asn Lys Phe Asp Trp Ala Val  
 50 55 60

Glu Thr Phe Val Ile Phe Pro Val Leu Thr His Ile Val Ser Tyr Gly  
 65 70 75 80

Ala Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Thr Val Gly Leu Ile Thr Val  
 85 90 95

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

Ala Thr Cys Ala Leu Ala Ala Leu Ile Cys Phe Val Ile Arg Leu Ala  
 115 120 125

Lys Asn Cys Met Ser Trp Arg Tyr Ser Cys Thr Arg Tyr Thr Asn Phe  
 130 135 140

Leu Leu Asp Thr Lys Gly Arg Ile Tyr Arg Trp Arg Ser Pro Val Ile  
 145 150 155 160

Ile Glu Lys Gly Gly Lys Val Glu Val Glu Gly His Leu Ile Asp Leu  
 165 170 175

Lys Arg Val Val Leu Asp Gly Ser Ala Ala Thr Pro Val Thr Lys Ile  
 180 185 190

Ser Ala Glu Gln Trp Gly Arg Pro  
 195 200

<210> 41

<211> 174

<212> PRT

5 <213> Virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino

<400> 41



ES 2 790 527 T3

Met Gly Ser Ser Leu Asp Asp Phe Cys His Asp Ser Thr Ala Pro Gln  
 1 5 10 15

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

Ala Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Leu Leu  
 35 40 45

Ile Phe Leu Asn Cys Ala Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Phe Val His  
 50 55 60

Phe Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Met Gly Ala Val Val Ala  
 65 70 75 80

Leu Leu Trp Gly Val Tyr Ser Ala Ile Glu Thr Trp Arg Phe Ile Thr  
 85 90 95

Ser Arg Cys Arg Leu Cys Leu Leu Gly Arg Lys Tyr Ile Leu Ala Pro  
 100 105 110

Ala His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Phe His Pro Ile Ala Ala Ser  
 115 120 125

Asp Asn His Ala Phe Val Val Arg Arg Pro Gly Ser Thr Thr Val Asn  
 130 135 140

Gly Thr Leu Val Pro Gly Leu Lys Ser Leu Val Leu Gly Gly Arg Lys  
 145 150 155 160

Ala Val Lys Gln Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Ala Lys  
 165 170

<210> 42

<211> 30

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador directo

<400> 42

gaattcgtcg accaccactt taccgagat 30

10 <210> 43

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador inverso  
 <400> 43  
 ctcgagagcc cagtcgaatt tgtagccag 30  
 <210> 44  
 5 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador directo  
 10 <400> 44  
 gaattcaata acaaagaatg cacggtgct 30  
 <210> 45  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 15 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador inverso  
 <400> 45  
 ctcgagagcc cagtcaaagt ggtagacag 30  
 20 <210> 46  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> Cebador directo  
 <400> 46  
 gaattccacc acttaccac gagtgagcgt 30  
 <210> 47  
 <211> 30  
 30 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador inverso  
 <400> 47  
 35 ctcgagagcc cagtcgaatt tgtagccag 30  
 <210> 48

<211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 5 <223> Cebador directo  
 <400> 48  
 gaattcaata acaaagaatg cacggtgct 30  
 <210> 49  
 <211> 30  
 10 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador inverso  
 <400> 49  
 15 ctcgagagcc cagtcaaagt ggtagacag 30  
 <210> 50  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Cebador directo  
 <400> 50  
 gaattcaatg gcatttca 19  
 <210> 51  
 25 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador inverso  
 30 <400> 51  
 ctcgaggggg ttcaaggg 18  
 <210> 52  
 <211> 1518  
 <212> ADN  
 35 <213> Secuencia artificial  
 <220>

ES 2 790 527 T3

<223> Secuencia codificante DRMP

<400> 52

```

caccacttta ccccgagtga gcgtcaattg tgtttgtcgt caatccagac tgcctttaat      60
caaggcgctg gtacttgcac cctgtcagat tctgggcgta tcagttacac tgtggagttt      120

agtttgctta cgcatacatac tgtgcgcctg atccgcgcta cagcaccacc gtcagcactc      180
gaccagggtga tccgcaacgc cctggccagc cccggcagcg gggcgacact gggcgaagcg      240
atccgcgagc agccggagca ggcccgtctg gccctgacct tggccgccgc cgagagcgag      300
cgcttcgtcc ggcagggcac cggcaacgac gaggccggcg cggccaacgc cgacgtggtg      360
agcctgacct gcccggtcgc cgccggtgaa tgcgcgggcc cggcggacag cggcgacgcc      420
ctgctggagc gcaactatcc cactggcgcg gagttcctcg gcgacggcgg cgacgtccgt      480
caccacttta ccccgagtga gcgtcaattg tgtttgtcgt caatccagac tgcctttaat      540
caaggcgctg gtacttgcac cctgtcagat tctgggcgta tcagttacac tgtggagttt      600
agtttgctta cgcatacatac tgtgcgcctg atccgcgcta cagcaccacc gtcagcaatg      660
ggtagcctgg acgacttttg taacgacagc accgctgctc agaaactggt tctggctttt      720
agcatcacct acaccccaat ctttgttgcg ggtggtagca gcagcaccta ccagtacatc      780
tacaacctga ccatctgtga actgaacggt accgactggc tgagcaacca ctttgactgg      840
gctctcgaca ataacaaaga atgcacggtt gctcaggctc tgggcaacgg ggataaattt      900
cgtgccacag acaagcgtgt tgtagattct ctccgcgcca tttgtgctga tctggaaggg      960
tcgagctctc cgtcccgaa ggtcgcacac aacttgggtt tttatttttc acctgacttg     1020
acacagtttg ccaaactccc aatagaactt gcaccacact ggccggtggt gtcaaccag      1080
aacaatgaaa agtggccgga tcgtctggtt gccagccttc gccctctcga caaatacagc     1140
cgcgctgca tcggtgccgg ctatatggtg gccctctcgg tgtttctggg cactccaggg     1200
gtcgtgtcat actatctcac aaagtttgtt aagggcgagg ctcaagtgct tccggaaacg     1260
gtcttcagta ccggccgaat tgaggtagac tgccgtgaat atcttgatga tcgtgagcga     1320
gaagttgctg cgtccctccc acacggtagc agcctggacg acttctgcta cgacagcacc     1380
gctccgcaga aagttctgct ggctttcagc atcacctacg cttccaacga cagcagcagc     1440
cacctgcaac tgatctacaa cctgacctg tgcgaaactga acggtaccga ctggctggct     1500
aacaattcgc actgggct                                     1518

```

5 <210> 53

<211> 1239

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 790 527 T3

<223> Secuencia codificante MDPR

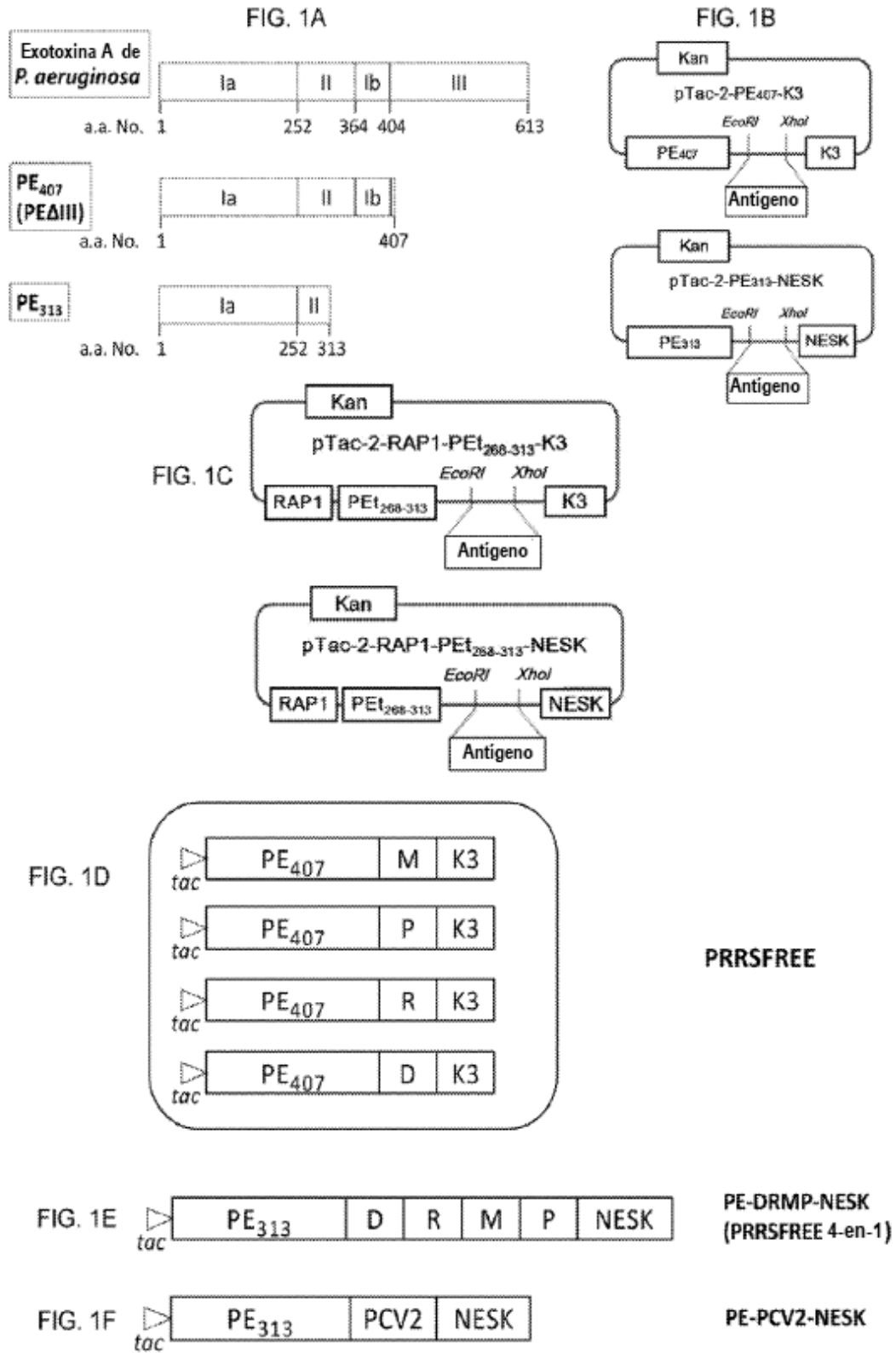
<400> 53

aataacaaaag aatgcacggt tgctcaggct ctgggcaacg gggataaatt tcgtgccaca	60
gacaagcgtg ttgtagatc tctccgcgcc atttgtgctg atctggaagg gtcgagctct	120
ccgctcccga aggtcgcaca caacttgggt ttttattttt cacctgactt gacacagttt	180
gccaaactcc caatagaact tgcaccacac tggccggtgg tgtcaacca gaacaatgaa	240
aagtggccgg atcgtctggt tgccagcctt cgcctctcg acaaatacag ccgcgcgtgc	300
atcgggtccg gctatatggt gggccttcg gtgtttctgg gcactccagg ggtcgtgtca	360
tactatctca caaagtttgt taaggcgag gctcaagtgc ttccggaac ggtcttcagt	420
accggccgaa ttgaggtaga ctgccgtgaa tatcttgatg atcgtgagcg agaagttgct	480
gogtccctcc cacaccgtca ccactttacc ccgagtgagc gtcaattgtg tttgtcgtca	540
atccagactg cctttaatca aggcgctggt acttgcatcc tgtcagattc tgggcgtatc	600
agttacactg tggagtttag tttgcctacg catcatactg tgcgcctgat ccgcgttaca	660
gcaccaccgt cagcacgtca ccactttacc ccgagtgagc gtcaattgtg tttgtcgtca	720
atccagactg cctttaatca aggcgctggt acttgcatcc tgtcagattc tgggcgtatc	780
agttacactg tggagtttag tttgcctacg catcatactg tgcgcctgat ccgcgttaca	840
gcaccaccgt cagcactcga gggatccggt tcctccctgg acgacttctg ctacgactcc	900
accgctccc agaaagttct gctggcttcc tccatcaact acgcttcaa cgactcctcc	960
tcccacctgc aactgatcta caacctgacc ctgtgcgaac tgaacggtac cgactggctg	1020
gctaacaaat togactgggc tcatatggtc gacatgggtt ctctcgacga cttttgtaac	1080
gactctaccg ctgctcagaa actggttctg gctttttcta tcacctacac cccaatcttt	1140
gttgctggtg gttcttcttc taacctaccg tacatctaca acctcaccat ctgtgaactc	1200
aacggtaccg actggctgtc taaccacttt gactgggct	1239

**REIVINDICACIONES**

1. Una proteína de fusión que comprende:
    - (a) un dominio de unión a células presentadoras de antígeno (APC) ubicado en el N-terminal de la proteína de fusión, en la que el dominio de unión a APC es el dominio de unión a exotoxina A de Pseudomonas (PE);
  - 5 (b) un péptido de translocación que tiene de 34-112 residuos de aminoácidos de longitud, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 2, 3 o 6, ubicado en el C-terminal del dominio de unión a APC;
  - (c) un antígeno de fusión que comprende:
    - (i) un antígeno ORF<sub>7</sub> del virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV);
    - (ii) un antígeno ORF1b del PRRSV;
  - 10 (iii) un antígeno ORF6 del PRRSV; y
  - (iv) un antígeno ORF5 del PRRSV;
  - (d) una señal de exportación nuclear que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, ubicada en el C-terminal del antígeno de fusión o entre el péptido de translocación y el antígeno de fusión; y
  - 15 (e) una secuencia de retención del retículo endoplásmico, ubicada en el C-terminal del antígeno de fusión cuando la señal de exportación nuclear está ubicada entre el péptido de translocación y el antígeno de fusión, o ubicada en el C-terminal de la señal de exportación nuclear cuando la señal de exportación nuclear está ubicada en el C-terminal del antígeno de fusión;
- en la que el antígeno de fusión no comprende secuencias de proteínas de ORF<sub>7</sub>, ORF<sub>6</sub>, ORF<sub>5</sub> y ORF1b de longitud completa.
- 20 2. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que el antígeno ORF<sub>7</sub> u ORF1b está ubicada en el N-terminal del antígeno ORF<sub>6</sub>, y el antígeno ORF<sub>5</sub> está ubicado en el C-terminal del antígeno ORF<sub>6</sub>.
  3. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que el antígeno de fusión comprende dos repeticiones en tándem del antígeno ORF<sub>7</sub>.
  4. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que el antígeno ORF<sub>5</sub> está ubicado en el C-terminal del antígeno ORF<sub>6</sub>.
  - 25 5. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que el antígeno ORF<sub>6</sub> comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF<sub>6</sub> del PRRSV y el antígeno ORF<sub>5</sub> comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF<sub>5</sub> del PRRSV, y el antígeno de fusión no comprenden las secuencias de aminoácidos de la parte C-terminal de ORF<sub>6</sub> y ORF<sub>5</sub>.
  - 30 6. La proteína de fusión de la reivindicación 5, en la que el antígeno ORF1b comprende la secuencia de aminoácidos de la parte C-terminal de ORF1b NSP 10 y la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal del ORF1b NSP 11, y el antígeno de fusión carece de las secuencias de aminoácidos de la parte N-terminal y C-terminal del ORF1b.
  7. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que la proteína de fusión comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 o 28.
  - 35 8. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que el péptido de translocación tiene de 34-61 residuos de aminoácidos de longitud.
  9. La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que la secuencia de retención del retículo endoplásmico comprende la secuencia de aminoácidos KDEL (SEQ ID NO: 15) sin una repetición en tándem de los aminoácidos KDEL.
  - 40 10. La proteína de fusión de la reivindicación 9, en la que la señal de exportación nuclear y la secuencia de retención ER forman un péptido de fusión que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.
  11. Una composición que comprende:
    - (i) la proteína de fusión de la reivindicación 1; y
    - (ii) una proteína de fusión de circovirus porcino tipo 2 (PCV2), que comprende:
      - 45 (a) un dominio de unión a la célula presentadora de antígeno (APC) o un dominio de unión al receptor CD91, ubicado en el N-terminal de la proteína de fusión, en el que el dominio de unión a APC o el dominio de unión al

- receptor CD91 se selecciona del grupo que consiste en dominio III de proteína-1 asociada al receptor (RAP1), proteína asociada a receptor de alfa-2-macroglobulina (A2M), HIV-Tat, proteínas de choque térmico y dominio la de unión a exotoxina A de Pseudomonas;
- 5 (b) un péptido de translocación que tiene una longitud de 34-112 residuos de aminoácidos, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 2, 3 o 6, ubicada en el C-terminal del dominio de unión a APC o el dominio de unión al receptor CD91; y
- (c) un antígeno ORF2 del PCV2;
- 10 (d) una señal de exportación nuclear que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, ubicada entre el antígeno ORF2 del PCV2 y la secuencia de retención del retículo endoplásmico o entre el péptido de translocación y el antígeno ORF2 del PCV2; y
- (e) una secuencia de retención del retículo endoplásmico, ubicada en el C-terminal de la proteína de fusión del PCV2 cuando la señal de exportación nuclear está ubicada entre el péptido de translocación y el antígeno ORF2 del PCV2, o ubicada en el C-terminal de la señal de exportación nuclear cuando la señal de exportación nuclear está ubicada en el C-terminal del antígeno ORF2 del PCV2;
- 15 en la que el antígeno ORF2 del PCV2 comprende la secuencia de aminoácidos de la parte C-terminal de la proteína del ORF 2 del PCV2, y la proteína de fusión del PCV2 no comprende la secuencia de aminoácidos de la parte N-terminal de la proteína del ORF 2 del PCV2.
12. La composición de la reivindicación 11, en la que la proteína de fusión de circovirus porcino tipo 2 (PCV2) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.
- 20 13. Una proteína de fusión según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que el antígeno de fusión comprende:
- (i) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22, 23 o 33;
- (ii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24;
- (iii) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; y
- 25 (iv) la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.
14. Una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína de fusión como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para su uso en la inducción de respuestas humorales y mediadas por células específicas de antígeno contra el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV) en un sujeto en necesidad de los mismos.
- 30 15. Una composición según la reivindicación 11 o 12 para su uso en la inducción de respuestas humorales y mediadas por células específicas de antígeno contra PRRSV y PCV2 en un sujeto que lo necesite.





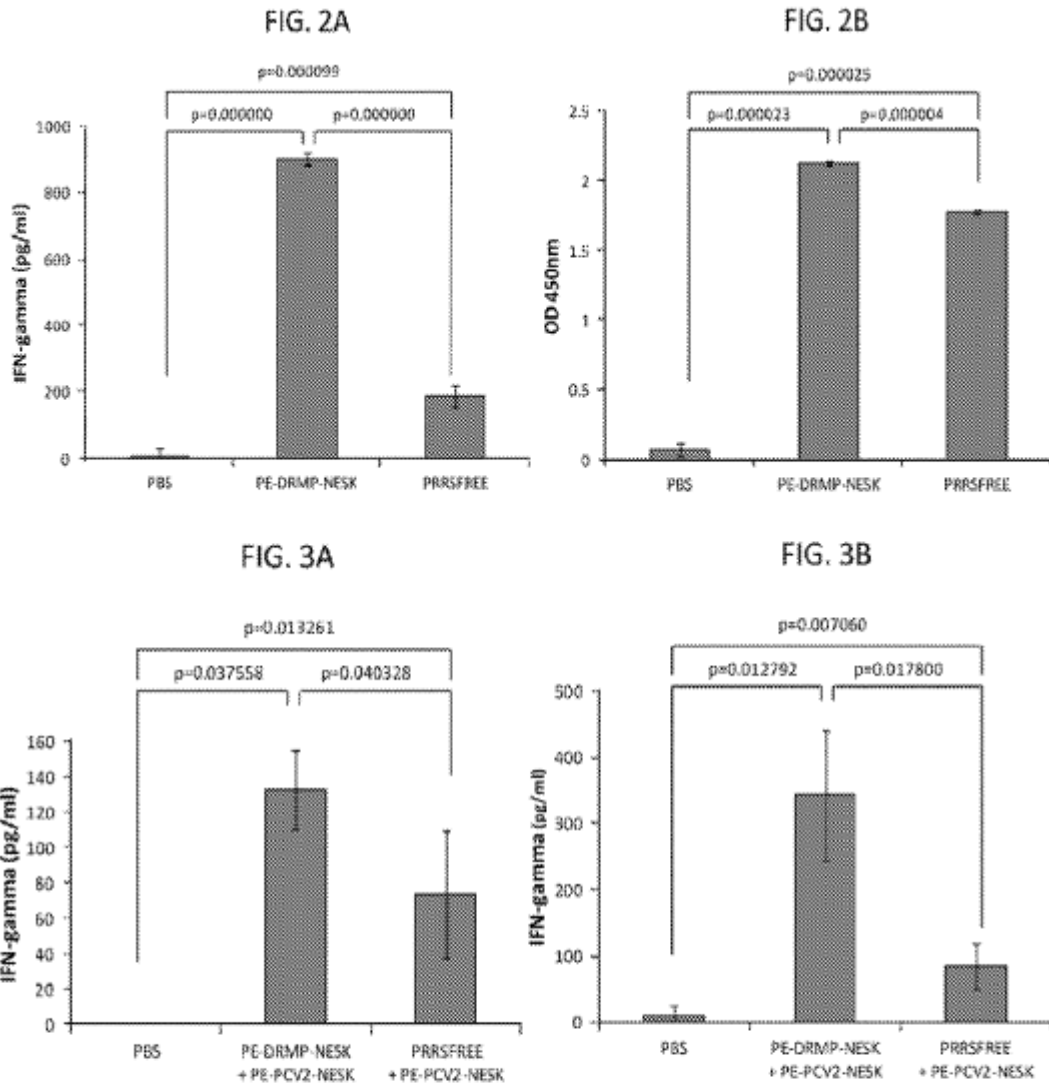


FIG. 6

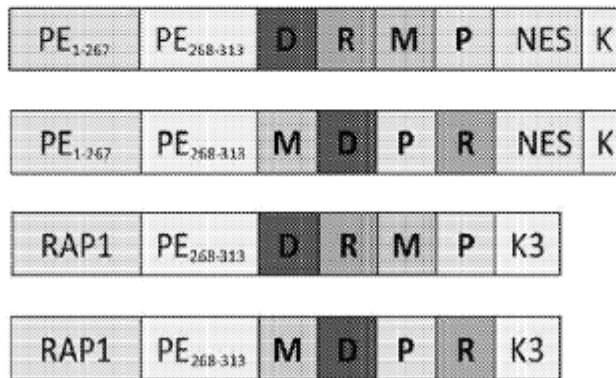


FIG. 4A

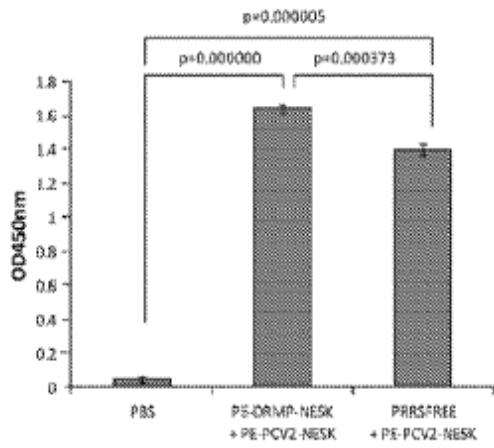


FIG. 4B

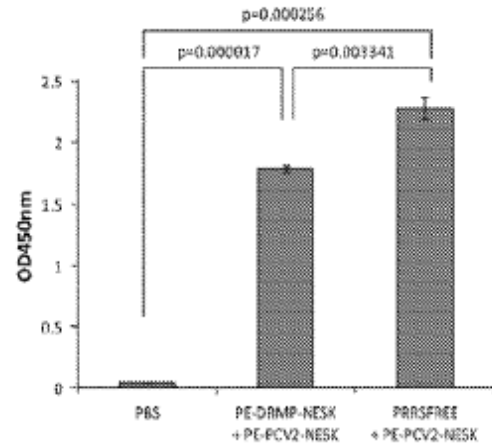


FIG. 5

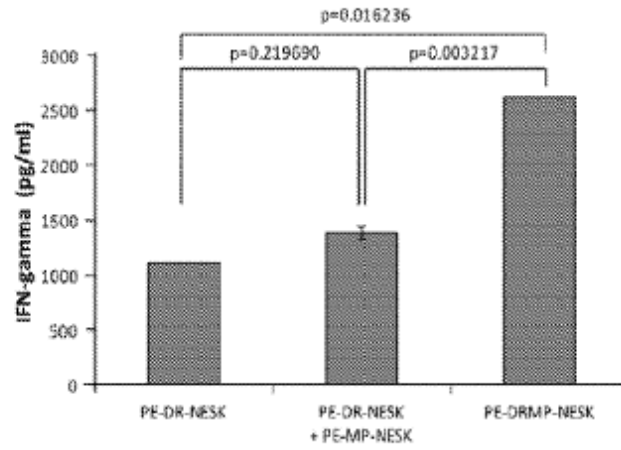


FIG. 7

