

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 817 925**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**A61K 48/00** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**C12N 15/09** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2013 PCT/JP2013/073045**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.03.2014 WO14034735**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2013 E 13832772 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2020 EP 2891497**

54 Título: **Vacuna de ADN que contiene un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2**

30 Prioridad:

**31.08.2012 JP 2012191717**

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

**08.04.2021**

73 Titular/es:

**OSAKA UNIVERSITY (50.0%)**

**1-1 Yamadaoka, Suita-shi**

**Osaka 565-0871, JP y**

**ANGES MG, INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**NAKAGAMI, HIRONORI;**

**KYUTOKU, MARIKO;**

**MORISHITA, RYUICHI y**

**TOMIOKA, HIDEKI**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 817 925 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**

Vacuna de ADN que contiene un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2

**Campo Técnico**

La presente invención se refiere a una vacuna de ADN eficaz para el tratamiento o la profilaxis del cáncer.

**5 Antecedentes de la Técnica**

Para que un tumor crezca, es necesario aumentar la cantidad de vasos sanguíneos que transportan nutrientes y oxígeno al tumor en función del crecimiento del tumor. Se considera que las células tumorales inducen la angiogénesis de los vasos sanguíneos del tumor secretando ellos mismos factores de crecimiento vascular que estimulan el crecimiento de las células endoteliales vasculares en los vasos sanguíneos vecinos. Por lo tanto, se han realizado intentos para tratar o prevenir tumores inhibiendo la función de factores de crecimiento vascular y suprimiendo la angiogénesis tumoral. Como uno de los métodos de este tipo ha atraído la atención la terapia con vacunas que fija como objetivo factores relacionados con la angiogénesis tumoral. En la terapia con vacunas, el cáncer se trata o previene administrando un factor relacionado con la angiogénesis tumoral, un epítipo contenido en el factor o un vector de expresión que los codifica a pacientes con cáncer o dianas con riesgo de desarrollar un cáncer para inducir un anticuerpo contra el factor relacionado con la angiogénesis tumoral en el cuerpo de los pacientes, neutralizando con ello la función del factor y suprimiendo la angiogénesis tumoral. Como factor relacionado con la angiogénesis tumoral se conocen diversos factores, tales como VEGF, angiopoyetina, FGF, PDGF, y similares.

Por ejemplo, el documento de patente 1 describe un método de inhibir la proliferación de células endoteliales vasculares en el microentorno de un tumor, previniendo la angiogénesis e inhibiendo el crecimiento y la metástasis del tumor, al administrar una vacuna de ADN que codifica el receptor-1 de VEGF, el receptor-2 de VEGF o Flk-1.

El documento de patente 2 describe la supresión de enfermedades relacionadas con la angiogénesis, particularmente el desarrollo y la metástasis del cáncer, utilizando vacunas de VEGF heterólogas.

Sin embargo, se ha establecido generalmente la tolerancia inmunitaria a factores tales como el VEGF y similares, ya que estos factores son los componentes propios del paciente. Por lo tanto, incluso cuando estos factores o péptidos parciales de los mismos se administran directamente a pacientes, es difícil inducir eficazmente anticuerpos contra estos factores en el cuerpo de los pacientes. Por lo tanto, es necesaria alguna idea técnica para reconocer estos auto-antígenos en el sistema inmunológico del paciente, induciendo con ello la producción de los anticuerpos contra ellos.

La proteína del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B (HBc) constituye partículas del núcleo esféricas mediante el auto-ensamblaje. Las partículas del núcleo tienen una inmunogenicidad muy alta. Cuando se utiliza un polipéptido de fusión, obtenido mediante inserción de un epítipo deseado en un sitio particular de la proteína del antígeno del HBc o conectando un epítipo deseado al extremo de la proteína del antígeno del HBc, el epítipo se presenta en la superficie de las partículas formadas por auto-ensamblaje. Utilizando el polipéptido de fusión, el epítipo insertado es reconocido fácilmente por el sistema inmunológico y la producción de los anticuerpos que reconocen el epítipo puede inducirse de manera eficiente. Por lo tanto, utilizando la proteína del antígeno del HBc como una plataforma de la vacuna, se han realizado intentos para inducir la producción del anticuerpo, incluso a pesar de ser difícil de que un antígeno sea reconocido por el sistema inmunológico (documento no patente 1 y documento no patente 2).

El documento de patente 3 describe partículas compuestas por una proteína del antígeno del HBc quimérico que contiene una secuencia de aminoácidos exógena que tiene un epítipo, en donde la secuencia de aminoácidos exógena está insertada entre los restos de aminoácidos 80-81 del antígeno del HBc. El documento de patente 4 describe una vacuna contra el cáncer, que comprende la proteína del antígeno del HBc unida de forma no covalente a un plásmido que porta un VEGF mutado.

Sin embargo, la eficacia de las vacunas contra el factor relacionado con la angiogénesis tumoral no es lo suficientemente satisfactoria.

[Lista de Documentos]

[documentos de patente]

documento de patente 1: JP-A-2005-519092

50 documento de patente 2: Publicación de patente china N° 1406629

documento de patente 3: JP-B-3228737

documento de patente 4: WO 2003/086450

[documentos no patente]

documento no patente 1: D. C. Whitacre et al., Expert Rev.Vaccines, vol. 8, nº 11, págs. 1565-1573, 2009

documento no patente 2: B. E. Clarke et al., Nature, vol. 330, págs. 381-384, 1987

### Sumario de la invención

#### 5 Problemas a resolver por la invención

Tal como se describe en el documento de patente 1, cuando el receptor de VEGF se utiliza como un antígeno de vacuna, dado que la diana a ser atacada por la vacuna es una célula endotelial vascular o una parte de las células cancerosas que expresan el receptor de VEGF, se exhibe un efecto antitumoral al suprimir la angiogénesis en el tumor potenciando la inmunidad citotóxica. Sin embargo, dado que el receptor de VEGF es expresado no solo en células endoteliales neovasculares del tejido tumoral, sino también en células endoteliales vasculares normales, cuando se utiliza el receptor de VEGF como un antígeno de vacuna, se puede ejercer una influencia adversa sobre la función normal de los vasos sanguíneos.

Por consiguiente, la presente invención pretende proporcionar una vacuna superior para el tratamiento o la profilaxis del cáncer, que fija como objetivo un factor relacionado con la angiogénesis tumoral y tiene un riesgo reducido de una influencia adversa sobre la función normal de los vasos sanguíneos.

#### Medios para Resolver los Problemas

Los autores de la presente invención han realizado intensos estudios y han encontrado que la administración de un vector de expresión del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico, obtenido al insertar un epítipo específico de factores humorales, tales como VEGF o angiopoyetina-2, entre los restos de aminoácidos 80 y 81 del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B, induce predominantemente inmunidad humoral a los factores humorales y permite el tratamiento o la profilaxis del cáncer al suprimir eficazmente la angiogénesis tumoral, al tiempo que evita una influencia adversa sobre la función normal de los vasos sanguíneos debido a la inmunidad mediada por células. Basados en estos hallazgos, realizaron más estudios y completaron la presente invención.

Es decir, la presente invención se refiere a lo siguiente.

[1] Un vector de expresión que codifica un polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico con una inserción para uso en el tratamiento o la profilaxis del cáncer, en donde la inserción es una secuencia de aminoácidos de hasta 80 aminoácidos de longitud que comprende un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2, en donde la secuencia de aminoácidos que comprende el epítipo específico está insertada entre los restos de aminoácidos 80 y 81 del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B, en donde el epítipo específico de VEGF consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 32 o 33, o una secuencia parcial de la misma que tiene 13 o más aminoácidos que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 31, y en donde el epítipo específico de angiopoyetina-2 consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3.

[2] El vector de expresión para uso de acuerdo con [1], en donde el cáncer es un cáncer sólido.

[3] El vector de expresión para uso de acuerdo con [1] o [2], en donde el tumor sólido es de cualquier tipo seleccionado del grupo que consiste en cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de útero y cáncer de próstata.

[4] El vector de expresión para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3], en donde la inserción es una secuencia de aminoácidos que comprende el epítipo específico de VEGF definido en [1].

[5] El vector de expresión para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3], en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1 o 2.

[6] El vector de expresión para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3], en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3.

[7] El vector de expresión para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] - [6], en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende, además, uno o más epítopos específicos.

[8] El vector de expresión para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] - [7], en donde el vector de expresión se administra varias veces.

[9] El vector de expresión para uso de acuerdo con [8], en donde el vector de expresión se administra 2, 3 o 4 veces.

[10] El vector de expresión para uso de acuerdo con [9], en donde el vector de expresión se administra 3 veces.

[11] El vector de expresión para uso de acuerdo con uno cualquiera de [1] - [10], en donde el vector de expresión se administra 3 veces a intervalos de medio año.

5 [12] Un vector de expresión para uso de acuerdo con [1], en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende SEQ ID NO: 1 o 2, y el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de útero o cáncer de próstata.

[13] Un vector de expresión para uso de acuerdo con [1], en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende SEQ ID NO: 3, y el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de útero o cáncer de próstata.

10 [14] El vector de expresión para uso de acuerdo con [12] o [13], en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende uno o más epítomos específicos.

#### Efecto de la invención

15 La presente invención proporciona una vacuna superior para el tratamiento o la profilaxis del cáncer, que fija como objetivo un factor relacionado con la angiogénesis tumoral y tiene un riesgo reducido de una influencia adversa sobre la función normal de los vasos sanguíneos.

Dado que la vacuna de la presente invención induce predominantemente inmunidad humoral contra factores humorales tales como VEGF y angiopoyetina-2, en lugar de la inmunidad mediada por células, se puede reducir el riesgo de una influencia adversa de la inmunidad mediada por células sobre la función normal de los vasos sanguíneos.

20 Además, dado que el VEGF y la angiopoyetina-2 son proteínas secretadas, la inflamación del tejido no se desarrolla fácilmente, ya que un anticuerpo inducido por la vacunación se une principalmente a las proteínas secretadas en la sangre.

#### Breve Descripción de los Dibujos

25 La Fig. 1 muestra el efecto de la vacunación sobre el crecimiento de tejidos tumorales. El eje vertical muestra el volumen de tejidos tumorales y el eje horizontal muestra los días después de la inyección del tumor.

La Fig. 2 muestra el efecto de la vacunación sobre la tasa de supervivencia de ratones a los que se inyectó tumor. El eje vertical muestra la tasa de supervivencia y el eje horizontal muestra el número de días después de la inyección del tumor.

30 La Fig. 3 muestra restos de estructura en la interfaz VEGF-bevacizumab. Rojo: resto en la superficie de unión con bevacizumab. Amarillo: restos de Rojo de especial importancia. Azul: restos en la superficie de unión con VEGFR-1. Verde: restos en la superficie de unión con VEGFR-2. Cada uno de los restos está representado por códigos de una sola letra.

35 La Fig. 4 muestra la evolución en el tiempo de la vacunación con ADN. La vacunación se llevó a cabo inicialmente utilizando ratones de 6 semanas de edad (0w), y vacunaciones posteriores se administraron 2, 4 y 8 semanas después de la primera vacunación.

La Fig. 5 muestra títulos de anticuerpos anti-VEGF a las 16 semanas. Se cuantificaron títulos de IgG totales para VEGF en sueros de ratones (dilución de 100) inmunizados con HBc-mVEGF (7 a.a.), HBc-mVEGF (13 a.a.), HBc-mVEGF (17 a.a.) o HBc, respectivamente. Los datos se muestran como media  $\pm$  EMT.

40 La Fig. 6 muestra la construcción de ADN plasmídico de la vacuna. (a) Mapas de plásmidos de pcDNA3.1-HBc (vector de control) y pcDNA3.1-HBc-mVEGF (13 a.a.) (vector de vacunación). HBc indica la secuencia completa de HBc, HBc-N indica el extremo N de HBc (1-80 a.a.) y HBc-C indica el extremo C de HBc (81-183 a.a.). mVEGF 13 a.a. indica el antígeno para la proteína VEGF de ratón. (b) Información detallada en relación con el diseño del plásmido de la vacuna de VEGF. Los trece aminoácidos (IMRIKPHQSQHIGE) (SEQ ID NO: 1), que sirvieron como un antígeno para VEGF y los enlazadores (enlazadores dipeptídicos I-T N-terminales y tripéptido GAT C-terminal), se diseñaron condensados en marco a VEGF para permitir la flexibilidad en la conformación del epítomo de VEGF cuando la superficie se expone a la partícula de HBc. El VEGF de 13 a.a. y los enlazadores están representados por códigos de una sola letra.

45 La Fig. 7 muestra títulos de anticuerpos anti-VEGF a las 8 semanas. Títulos de IgG totales para VEGF se incrementaron solo en sueros de ratones (dilución de 100) del grupo HBc-mVEGF (13 a.a.) (panel izquierdo). La distribución de subtipos de IgG (IgG1, IgG2a e IgG2b) se evaluó también utilizando anticuerpos IgG específicos de los subtipos en sueros de ratones (dilución de 100) del grupo HBc-mVEGF (13 a.a.) (panel derecho). Los datos eran media  $\pm$  EMT. \*p < 0,05 frente al control (HBc y solución salina).

La Fig. 8 muestra la unión específica de suero inmunizado a VEGF. El suero inmunizado utilizado como anticuerpo primario en la transferencia Western se unió no solo al mVEGF (13 a.a.) conjugado con BSA, sino también al VEGF de ratón recombinante (rmVEGF). Las muestras de carga eran las siguientes. Pista 1: VEGF-A de ratón recombinante. Pista 2: mVEGF (13 a.a.) conjugado con BSA. Pista 3: péptido de angiopoyetina-2 humana conjugado con BSA como proteína negativa. Se utilizó VG-1, anticuerpo disponible comercialmente contra VEGF, como anticuerpo positivo.

La Fig. 9 muestra el análisis de la transferencia Western de lisados celulares de HUVECs estimulados con mVEGF a razón de 5 ng/mL durante 10 min en presencia de suero inmunizado o de control para p-ERK y ERK total.

La Fig. 10 muestra efectos de suero inmunizado sobre la formación de tubos de HUVECs inducida por VEGF. Placas revestidas con matrigel se sembraron con HUVECs a una densidad de  $1 \times 10^5$  células/pocillo y se incubaron en presencia de suero de control o suero inmunizado. Después de 7 horas, se fotografió y cuantificó la red capilar. Se muestran tubos endoteliales representativos. Aumento: 50X.

Los datos se muestran como medias  $\pm$  EMT por triplicado.

### Descripción de Realizaciones

La presente invención proporciona un vector de expresión que codifica un polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico con una inserción para uso en el tratamiento o la profilaxis del cáncer, en donde la inserción es una secuencia de aminoácidos de hasta 80 aminoácidos de longitud que comprende un epítipo específico de VEGF o angiopoyetina-2, en donde la secuencia de aminoácidos que comprende el epítipo específico está insertada entre los restos de aminoácidos 80 y 81 del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B, en donde el epítipo específico de VEGF consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 32 o 33, o una secuencia parcial de la misma que tiene 13 o más aminoácidos que contienen la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 31, y en donde el epítipo específico de angiopoyetina-2 consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3. El vector de expresión es un agente terapéutico o profiláctico para el cáncer.

Cuando se administra un vector de expresión que codifica un polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico insertado con una secuencia de aminoácidos que contiene un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2, se induce una respuesta inmune (preferiblemente una respuesta inmune humoral tal como la producción de anticuerpos y similares) contra el epítipo específico de VEGF y/o el epítipo específico de angiopoyetina-2 en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico, y se neutraliza la actividad de VEGF y/o de angiopoyetina-2 con el anticuerpo, con lo cual se puede suprimir la angiogénesis alrededor de los tejidos cancerosos y se puede inhibir el crecimiento del tejido canceroso. Por consiguiente, el cáncer a ser el objetivo del agente terapéutico o profiláctico de la presente invención es preferiblemente un tumor sólido. Ejemplos de cánceres sólidos incluyen, pero no se limitan a cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de útero, cáncer de próstata y similares.

Aunque el cáncer a ser el objetivo del agente terapéutico o profiláctico de la presente invención no está limitado, es preferiblemente un cáncer que expresa VEGF y/o angiopoyetina-2. La presencia o ausencia de expresión de VEGF y/o angiopoyetina-2 en el cáncer se puede confirmar mediante métodos inmunológicos (tinción inmunohistoquímica, transferencia Western, etc.) utilizando un anticuerpo específico contra VEGF y/o un anticuerpo específico contra angiopoyetina-2.

Aunque en la presente invención se pretende el uso de VEGF y angiopoyetina-2 derivados de un mamífero del objetivo de aplicación del agente terapéutico o profiláctico de la presente invención, no se limita al mismo. El objetivo de aplicación del agente terapéutico o profiláctico de la presente invención es un mamífero. Ejemplos de mamíferos incluyen roedores, tales como ratones, ratas, hámsteres, cobayas y similares, lagomorfos, tales como conejos y similares, ungulados, tales como cerdos, ganado bovino, cabras, caballos, ovejas y similares, carnívoros, tales como perros, gatos y similares, primates, tales como seres humanos, monos, Macaca mulatta, Macaca fascicularis, títies, orangutanes, chimpancés y similares, y similares. El mamífero es preferiblemente un roedor (ratón, etc.) o un primate (ser humano, etc.). Por lo tanto, por ejemplo, cuando se aplica el agente terapéutico o profiláctico de la presente invención a seres humanos, se pretende el uso de VEGF y angiopoyetina-2 derivados de los seres humanos, pero no se limita a los mismos. También, el agente terapéutico o profiláctico de la presente invención se aplica a ratones, se pretende el uso de VEGF y angiopoyetina-2 derivados de ratón, pero no se limita a los mismos.

En la presente memoria descriptiva, para un factor X particular (polipéptido o polinucleótido), "factor X derivado del organismo Y" o "factor X del organismo Y" significa que la secuencia de aminoácidos o secuencia de ácido nucleico tiene la misma o sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos o secuencia de ácido nucleico que la secuencia de aminoácidos o secuencia de ácido nucleico del factor X expresada de forma natural en el organismo Y. "Sustancialmente igual" significa que la secuencia de aminoácidos o secuencia de ácido nucleico de interés no tiene menos de 70% (preferiblemente no menos de 80%, más preferiblemente no menos de 90%, aún más

preferiblemente no menos de 95%, lo más preferiblemente no menos de 99%) de identidad con la secuencia de aminoácidos o secuencia de ácido nucleico del factor X expresada de forma natural en el organismo Y, y se mantiene la función del factor X.

- 5 El VEGF y la angiopoyetina-2 son factores angiogénicos conocidos, y también se conocen sus secuencias de aminoácidos y secuencias de ADNc. El VEGF contiene 7 subtipos, incluyendo A, B, C, D, E, PLGF-1 y PLGF-2. Secuencias de aminoácidos representativas incluyen las siguientes y similares.

Tabla 1

	Ser humano		Ratón	
VEGF-A	P15692	(SEQ ID NO: 13)	Q00731	(SEQ ID NO: 19)
VEGF-B	P49765	(SEQ ID NO: 14)	P49766	(SEQ ID NO: 20)
VEGF-C	P49767	(SEQ ID NO: 15)	P97953	(SEQ ID NO: 21)
VEGF-D	O43915	(SEQ ID NO: 16)	P97946	(SEQ ID NO: 22)
VEGF-E	Q9NRA1	(SEQ ID NO: 17)	Q8C119	(SEQ ID NO: 23)
PLGF-1	P49763	(SEQ ID NO: 18)	P49764	(SEQ ID NO: 24)

Secuencias de aminoácidos representativas de angiopoyetina-2 son las siguientes.

10

Tabla 2

	Ser humano		Ratón	
Angiopoyetina-2	O15123	(SEQ ID NO: 25)	O35608	(SEQ ID NO: 26)

En la presente memoria descriptiva, "epítipo" se refiere a un elemento básico o unidad mínima de reconocimiento para cada uno de los anticuerpos o receptores de células T, que es un dominio, región o estructura molecular particular al que se une el anticuerpo o receptor de células T antes mencionado.

- 15 Un epítipo de VEGF y un epítipo de angiopoyetina-2 a utilizar en la presente invención son específicos para dichos VEGF y angiopoyetina-2. El ser "específico" significa que los productos génicos (excluyendo las regiones variables de la inmunoglobulina y el receptor de células T) distintos del VEGF y la angiopoyetina-2 que se expresan de forma natural en un mamífero del que se deriva el VEGF y la angiopoyetina-2, no contienen dicho epítipo.

- 20 El epítipo específico de VEGF en el vector de expresión de la invención consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 32 o 33, o una secuencia parcial de la misma que tiene 13 o más aminoácidos que contienen la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 31, y el epítipo específico de angiopoyetina-2 en el vector de expresión de la presente invención consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3.

- 25 Cuando la secuencia de aminoácidos es demasiado corta, se puede perder la antigenicidad del epítipo. Cuando la secuencia de aminoácidos es demasiado larga, el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico no forma fácilmente partículas del núcleo debido al auto-ensamblaje, como resultado de lo cual se puede no producir un anticuerpo que reconozca específicamente el epítipo, y no se puede obtener un tratamiento superior o efecto de mejora del cáncer.

Ejemplos específicos de epítipos preferibles de VEGF y angiopoyetina-2 incluyen los siguientes.

- 30 (VEGF)

(i) IMRIKPHQSQHIG (SEQ ID NO: 1)

(ii) IMRIKPHQGQHIG (SEQ ID NO: 2)

El epítipo de angiopoyetina-2) en el vector de expresión de la invención es el siguiente.

(angiopoyetina-2)

- 35 (iii) PQRQNTNKFNGIKWYY (SEQ ID NO: 3)

Un ejemplo de otro epítipo de angiopoyetina-2 es el siguiente.

(iv) YYPQRQNTNKE (SEQ ID NO: 4)

En un aspecto adicional, ejemplos específicos preferibles de VEGF incluyen los siguientes

(v) MRIKPHQ (SEQ ID NO: 31)

5 (vi) MQIMRIKPHQSQHIGEM (SEQ ID NO: 32)

(vii) MQIMRIKPHQGQHIGEM (SEQ ID NO: 33)

(viii) un epítipo que consiste en una secuencia parcial de la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 32, que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1 o 31

10 (ix) un epítipo que consiste en una secuencia parcial de la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 33, que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 2 o 31

Las SEQ ID NO: 1, 31 y 32 son secuencias de aminoácidos parciales de VEGF-A de ratón. Las SEQ ID NO: 2, 31 y 34 son secuencias de aminoácidos parciales de VEGF-A humano. Las SEQ ID NO: 3 y 4 son secuencias de aminoácidos parciales de la angiopoyetina-2 humana.

15 En los (viii) y (ix) arriba mencionados, la longitud de la secuencia parcial es de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 aminoácidos.

El polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B utilizado en la presente invención es

(1) un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 6, o

20 (2) un polipéptido que contiene una secuencia de aminoácidos que no tiene menos de 90% (preferiblemente no menos de 95%, más preferiblemente no menos de 97%, aún más preferiblemente no menos de 99%) de identidad con la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 6 y que tiene actividad para formar partículas del núcleo por auto-ensamblaje.

25 Auto-ensamblaje se refiere a un fenómeno en el que moléculas disueltas en una solución se asocian para formar un conjunto. Partícula del núcleo se refiere a una estructura rígida que tiene una constitución repetitiva específica. En la presente memoria descriptiva, la partícula del núcleo puede ser un producto de etapas de síntesis o un producto de etapas biológicas.

30 Como polipéptido de la realización de (2), se puede mencionar un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 7 descrita en el documento WO2003/031466. También es preferible como el polipéptido de la realización de (2) un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 7, excepto que se han eliminado uno o más restos cisteína de las posiciones 48, 61, 107 y 185 o han sido sustituidas por otros restos de aminoácidos (p. ej., resto serina). Como reconocerán los expertos ordinarios en la técnica, en un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos diferente a la de SEQ ID NO: 7, restos cisteína en posiciones similares también se pueden eliminar o sustituir con otros restos de aminoácidos, y polipéptidos obtenidos por deleciones y sustituciones de este tipo también quedan abarcados en el polipéptido de la realización de (2).

35 El polipéptido de la realización de (2) abarca también un polipéptido variante, en el que el resto isoleucina en la posición correspondiente a la posición 97 de SEQ ID NO: 7 está sustituido con un resto leucina o un resto fenilalanina (Yuan et al., J. Virol. vol. 73, páginas 10122 - 10128 (1999)). Además, las secuencias de aminoácidos de muchas variantes de HBcAg y varios tipos de variantes de precursores del antígeno del núcleo de la hepatitis B, se han descrito en los informes de GenBank AAF121240, AF121239, X85297, X02496, X85305, X85303, AF151735, X85259, X85286, X85260, X85317, X85298, AF043593, M20706, X85295, X80925, X85284, X85275, X72702, 40 X85291, X65258, X85302, M32138, X85293, X85315, U95551, X85256, X85316, X85296, AB033559, X59795, X8529, X85307, X65257, X85311, X85301, X85314, X85287, X85272, X65319, AB010289, X85285, AB010289, AF121242, M90520, P03153, AF110999 y M95589, y polipéptidos que contienen secuencias de aminoácidos de estas variantes quedan también abarcados en el polipéptido de la realización de (2). Las variantes arriba mencionadas tienen secuencias de aminoácidos diferentes en muchas posiciones, incluyendo restos de 45 aminoácidos presentes en las posiciones 12, 13, 21, 22, 24, 29, 32, 33, 35, 38, 40, 42, 44, 45, 49, 51, 57, 58, 59, 64, 66, 67, 69, 74, 77, 80, 81, 87, 92, 93, 97, 98, 100, 103, 105, 106, 109, 113, 116, 121, 126, 130, 133, 135, 141, 147, 149, 157, 176, 178, 182 y 183 en SEQ ID NO:7.

50 Además, también quedan abarcados en el polipéptido de la realización de (2) polipéptidos que contienen las secuencias de aminoácidos de las variantes de HBcAg descritas en los documentos WO 01/98333, WO 01/77158 y WO 02/14478.

En la presente memoria descriptiva, a no ser que se indique particularmente, las posiciones de los restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B se

especifican con la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 6 como patrón. Cuando un polipéptido no contiene la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 6, la secuencia de aminoácidos del polipéptido se alinea con la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 6, y se adopta la posición del resto de aminoácido correspondiente.

- 5 El polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B utilizado en la presente invención es preferiblemente un polipéptido que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada por SEQ ID NO: 6.

En el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico a utilizar en la presente invención, una secuencia de aminoácidos que comprende un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se Inserta entre los restos 80 y 81 del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B. Es decir, el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico a utilizar en la presente invención contiene los siguientes elementos (a) - (c):

- (a) restos polipeptídicos parciales del extremo N del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B (que consiste en la secuencia de aminoácidos parcial continua del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B desde el extremo N al resto de aminoácido 80),
- 15 (b) una secuencia de aminoácidos que consiste en un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2, y
- (c) restos polipeptídicos parciales del extremo C del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B (que consiste en la secuencia parcial continua de aminoácidos del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B desde el resto de aminoácido 81 al extremo C) en el orden de (a), (b), (c) desde el lado del
- 20 extremo N.

El polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico a utilizar en la presente invención que tiene la constitución arriba mencionada forma partículas del núcleo debido al auto-ensamblaje, y un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 está presente en el exterior de las partículas.

- La secuencia de aminoácidos insertada entre el elemento constituyente (a) y el elemento constituyente (c) puede contener, además del elemento constituyente (b) (secuencia de aminoácidos que consiste en un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2), uno o más (preferiblemente 1 - 3, más preferiblemente 1) epítipos específicos. El epítipo específico adicional puede insertarse en cualquier posición entre el elemento constituyente (a) y el elemento constituyente (b) o el elemento constituyente (b) y el elemento constituyente (c). La longitud de la secuencia de aminoácidos del epítipo específico adicional es generalmente de 5 - 30 aminoácidos, preferiblemente de 6 - 25 aminoácidos, más preferiblemente de 10 - 18 aminoácidos, más preferiblemente, además, de 11 - 16 aminoácidos.
- 25
- 30

- Cuando se inserta una pluralidad de epítipos específicos entre el elemento constituyente (a) y el elemento constituyente (c), los epítipos específicos pueden enlazarse directamente mediante un enlace covalente o enlazarse mediante una secuencia espaciadora. La secuencia espaciadora significa una secuencia de aminoácidos que contiene uno o más restos de aminoácidos a insertar entre dos elementos constituyentes adyacentes contenidos en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico. Los epítipos específicos se enlazan preferiblemente a través de una secuencia espaciadora, de modo que una pluralidad de epítipos específicos se pueda presentar de manera estable al tiempo que se mantiene su estructura. La longitud de la secuencia espaciadora no está limitada, siempre que el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico forme partículas del núcleo mediante auto-ensamblaje y todos los epítipos específicos insertados se presenten fuera de las partículas, y es generalmente de 1 - 10 aminoácidos, preferiblemente de 1 - 5 aminoácidos, más preferiblemente de 1 - 3 aminoácidos, lo más preferiblemente de 2 o 3 aminoácidos.
- 35
- 40

- Un epítipo específico en el lado más N-terminal entre el elemento constituyente (a) y el elemento constituyente (c), y el elemento constituyente (a) puede conectarse directamente mediante un enlace covalente o mediante una secuencia espaciadora. El elemento (a) y el epítipo espaciador en el lado más N-terminal están conectados preferiblemente a través de una secuencia espaciadora, de modo que un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se presentarán de modo estable en el exterior de las partículas formadas por auto-ensamblaje de polipéptidos del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico, al tiempo que se mantiene su estructura. Aunque la longitud de la secuencia espaciadora no está limitada, siempre que el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico forme partículas del núcleo por auto-ensamblaje y un epítipo específico de VEGF y un epítipo específico de angiopoyetina-2 se presente en el exterior de las partículas, es generalmente de 1 - 10 aminoácidos, preferiblemente de 1 - 5 aminoácidos, más preferiblemente de 1 - 3 aminoácidos, lo más preferiblemente de 2 o 3 aminoácidos. Tampoco el tipo de secuencia espaciadora está limitado, siempre que el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico forme partículas del núcleo por auto-ensamblaje, y un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se presente en el exterior de las partículas. Ejemplos de una secuencia espaciadora preferible incluyen, pero no se limitan a IT, GAT, CGG y similares.
- 45
- 50
- 55

Un epítipo específico en el lado más N-terminal entre el elemento constituyente (a) y el elemento constituyente (c), y

el elemento constituyente (c) puede conectarse directamente mediante un enlace covalente o a través de una secuencia espaciadora. El elemento (b) y el elemento (c) están conectados preferiblemente a través de una secuencia espaciadora, de modo que un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se presentarán de modo estable en el exterior de las partículas formadas por auto-ensamblaje de polipéptidos del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico, al tiempo que se mantiene su estructura. Aunque la longitud de la secuencia espaciadora no está limitada, siempre que el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico forme partículas del núcleo debido al auto-ensamblaje y un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se presente fuera de las partículas, es generalmente de 1 - 10 aminoácidos, preferiblemente de 1 - 5 aminoácidos, más preferiblemente de 1 - 3 aminoácidos, lo más preferiblemente de 2 o 3 aminoácidos. Tampoco el tipo de secuencia espaciadora está limitado, siempre que el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico forme partículas del núcleo por auto-ensamblaje, y un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se presente en el exterior de las partículas. Ejemplos de secuencias espaciadoras preferibles incluyen, pero no se limitan a IT, GAT, CGG y similares.

La longitud de la secuencia de aminoácidos insertada entre el elemento constituyente (a) y el elemento constituyente (c) no está particularmente limitada, siempre que el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico forme partículas del núcleo por auto-ensamblaje, y un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se presente en el exterior de las partículas, y se puede tratar o prevenir el cáncer, y es de hasta 80 aminoácidos. Cuando la secuencia de aminoácidos insertada es demasiado corta, se puede perder la antigenicidad como un epítipo. Cuando la secuencia de aminoácidos insertada es demasiado larga, se dificulta la formación de partículas del núcleo por parte del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico por auto-ensamblaje y, como resultado, no se produce un anticuerpo que reconozca específicamente el epítipo insertado, y puede no obtenerse un tratamiento eficaz o un efecto de mejora del cáncer.

El vector de expresión utilizado en la presente invención es un vector recombinante que incorpora un polinucleótido que codifica el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico. Cuando el vector de expresión se administra a un mamífero objetivo, el vector de expresión se incorpora de manera intracelular al mamífero objetivo y la célula expresa el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico. Ejemplos del vector de expresión insertado con el polinucleótido que codifica el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico es un plásmido, virus, fago, cósmido y otros vectores utilizados convencionalmente en la técnica. Ejemplos de vectores plasmídicos incluyen, pero no se limitan a pCAGGS (Gene 108: 193 - 199 (1991)), pCR-X8 (Vaccine 24: 4942 - 4950 (2006)), pcDNA3.1 (nombre comercial, Invitrogen), pZeoSV (nombre comercial, Invitrogen), pBK-CMV (nombre comercial, Stratagene) y similares. El vector viral es un virus de ADN o virus de ARN. Ejemplos de vectores virales incluyen, pero no se limitan a retrovirus detoxificados, adenovirus, virus adeno-asociados, virus herpes, virus vaccinia, poxvirus, poliovirus, virus Sindbis, virus hemaglutinante de Japón (HVJ), SV40, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y similares. Además, también se puede utilizar la envoltura del virus hemaglutinante de Japón (HVJ-E) y similares.

En el vector de expresión antes mencionado, el polinucleótido (preferiblemente ADN) que codifica el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico está conectado operativamente a un promotor capaz de exhibir una actividad promotora en las células de un mamífero (preferiblemente ser humano) que será el sujeto de administración.

El promotor a utilizar no está particularmente limitado, siempre que pueda funcionar en la célula de un mamífero (preferiblemente ser humano), que será el sujeto de administración. Ejemplos del promotor incluyen promotor pol I, promotor pol II, promotor pol III y similares. Específicamente, se utilizan promotores de virus, tales como promotor inicial derivado de SV40, citomegalovirus LTR y similares, promotores de genes de proteínas constitutivas de mamíferos, tales como promotor de genes de  $\beta$ -actina y similares, promotores de ARN, tales como el promotor de ARNt y similares, y similares.

El vector de expresión arriba mencionado contiene preferiblemente una señal de terminación de la transcripción, es decir, una región de terminador, aguas abajo del polinucleótido que codifica el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico. Además, puede contener un gen marcador de selección para la selección de una célula transformada (un gen que confiere resistencia a medicamentos, tales como tetraciclina, ampicilina, kanamicina y similares, un gen que complementa una mutación auxotrófica, etc.).

En una realización, el vector de expresión arriba mencionado puede incluir una secuencia inmuno-estimuladora (ISS) (a la que también se alude como CpG) para potenciar el efecto inmunológico. La secuencia inmuno-estimuladora es un ADN que contiene un motivo CpG bacteriano no metilado y se sabe que actúa como un ligando de un receptor particular (receptor tipo Toll 9) (véase Biochim. Biophys. Acta 1489, 107-116 (1999) y Curr. Opin. Microbiol. 6, 472-477 (2003)). Ejemplos preferibles de la secuencia inmuno-estimuladora incluyen los siguientes.

CpG-B1018 22 pb

5'-tga ctg tga acg ttc gag atg a-3' (SEQ ID NO: 8)

CpG-A D19 20 pb (tipo D)

5'-ggg gca tcg atg cag ggg gg-3' (SEQ ID NO: 9)

CpG-CC274 21 pb

5'-tcg tcg aac gtt cga gat gat-3' (SEQ ID NO: 10)

CpG-CC695 25 pb

5 5'-tcg aac gtt cga acg ttc gaa cgt t-3' (SEQ ID NO: 11)

Alternativamente, se pueden conectar y utilizar 2, 3 o 4 de estos ISS. Ejemplos preferibles de la secuencia ISS conectada incluyen los siguientes.

5'-ggg gca tcg atg cag ggg gg tga ctg tga acg ttc gag atg a tcg  
 10 tcg aac gtt cgagat gat tcg aac gtt cga acg ttc gaa cgt t-3'  
 (SEQ ID NO: 12)

Los expertos ordinarios en la técnica pueden construir el vector de expresión antes mencionado de acuerdo con técnicas de ingeniería genética bien conocidas, descritas, por ejemplo, en "edit. Sambrook et al., Molecular Cloning A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y." y "edit. Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (1987) John Wiley & Sons", y similares.

15 El vector de expresión de la presente invención se puede proporcionar como una composición farmacéutica que contiene, además de una cantidad terapéuticamente eficaz del vector de expresión arriba mencionado, cualquier soporte, por ejemplo, un soporte farmacéuticamente aceptable.

Ejemplos del soporte farmacéuticamente aceptable incluyen, aunque no se limitan a excipientes, tales como sacarosa, almidón, manitol, sorbita, lactosa, glucosa, celulosa, talco, fosfato cálcico, carbonato cálcico y similares, aglutinantes, tales como celulosa, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, gelatina, goma arábica, polietilenglicol, sacarosa, almidón y similares, desintegrantes, tales como almidón, carboximetilcelulosa, hidroxipropil-almidón, almidón glicolato sódico, hidrógeno-carbonato sódico, fosfato de calcio y similares, lubricantes, tales como estearato de magnesio, Aerosil, talco, lauril sulfato de sodio y similares, compuestos aromáticos, tales como ácido cítrico, mentol, sal de amonio de glicirricina, glicina, polvo de naranja y similares, conservantes, tales como benzoato de sodio, bisulfito de sodio, metilparabeno, propilparabeno y similares, estabilizadores, tales como ácido cítrico, citrato sódico, ácido acético y similares, agentes de suspensión, tales como metilcelulosa, polivinilpirrolidona, estearato de aluminio y similares, agentes dispersantes, tales como tensioactivos y similares, diluyentes, tales como agua, solución salina y similares, ceras base, tales como manteca de cacao, polietilenglicol, queroseno blanco, y similares, y similares.

30 La composición farmacéutica puede contener, además, un adyuvante para potenciar su efecto. Ejemplos del adyuvante incluyen hidróxido de aluminio, adyuvante completo de Freund, adyuvante incompleto de Freund, adyuvante de pertussis, poli(I:C), CpG-ADN y similares.

Para fomentar la introducción intracelular de un vector de expresión en las células, la composición farmacéutica puede contener, además, un reactivo para la introducción de ácidos nucleicos. Como reactivo para la introducción de ácidos nucleicos se pueden utilizar lípidos catiónicos, tales como lipofectina (nombre comercial, Invitrogen), lipofectamina (nombre comercial, Invitrogen), transfectam (nombre comercial, Promega), DOTAP (nombre comercial, Roche Applied Science), dioctadecilamidoglicil espermina (DOGS), L-dioleoil fosfatidil-etanolamina (DOPE), bromuro de dimetildioctadecil-amonio (DDAB), bromuro de N,N-di-n-hexadecil-N,N-dihidroxietilamonio (DHDEAB), bromuro de N-n-hexadecil-N,N-dihidroxietilamonio (HDEAB), polibreno, poli(etiliminina) (PEI) y similares. Además, un vector de expresión puede incluirse en cualquier liposoma conocido constituido por una bicapa lipídica, tal como un liposoma electrostático. Un liposoma de este tipo puede condensarse con un virus tal como el virus hemaglutinante de Japón (HVJ) inactivado. El liposoma HVJ tiene una actividad de fusión muy alta con una membrana celular en comparación con los liposomas en general. Cuando se utiliza un retrovirus como un vector de expresión, se puede utilizar retronectina, fibronectina, polibreno y similares como reactivos de transfección.

45 Si bien el contenido del vector de expresión arriba mencionado en la composición farmacéutica no está particularmente limitado, y se selecciona apropiadamente dentro de un amplio intervalo, generalmente es de aproximadamente 0,00001 a 100% en peso de la composición farmacéutica completa.

Introducir el vector de expresión arriba mencionado en un tejido (o célula) de un mamífero objetivo de aplicación induce la expresión in vivo del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico arriba mencionado, induce la producción de un anticuerpo contra el epítipo de VEGF y/o el epítipo de angiopoyetina-2 contenido en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico y suprime la angiogénesis alrededor de los tejidos cancerosos e inhibe el crecimiento de tejidos cancerosos mediante la neutralización de la actividad del VEGF y/o la angiopoyetina-2 por parte del anticuerpo inducido. Se conocen diversos métodos para introducir ácidos nucleicos tal como un vector de expresión y similares en el cuerpo (T. Friedman, Science 244:

1275-1281 (1989)), y se puede adoptar cualquier método de introducción, siempre que pueda inducir la expresión in vivo del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico arriba mencionado, inducir la producción de un anticuerpo contra el epítipo de VEGF y/o el epítipo de angiopoyetina-2 contenido en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico, y tratar o prevenir el cáncer.

5 Ejemplos del método para introducir un vector de expresión en un tejido (o una célula) de mamífero in vivo incluyen, pero no se limitan al método de liposomas internos, método de liposomas electrostáticos, método de liposomas HVJ, método de liposomas HVJ-AVE, transferencia de genes mediada por receptores, método de pistola de partículas, método de ADN desnudo, método de introducción de polímero de carga eléctrica positiva, método de electroporación, y similares.

10 Alternativamente, se pueden aislar células tales como células de la sangre, células de la médula ósea y similares del mamífero objetivo de aplicación, y el vector de expresión arriba mencionado se puede introducir en las células ex vivo, después de lo cual las células obtenidas que contienen el vector de expresión arriba mencionado se pueden devolver al mamífero objetivo de aplicación.

15 Ejemplos del método para introducir un vector de expresión en una célula de mamífero ex vivo incluyen, pero no se limitan a un método de lipofección, un método de co-precipitación de fosfato cálcico, un método de DEAE-dextrano, un método de introducción directa de ADN utilizando un microcapilar de vidrio, un método de electroporación, y similares.

20 El vector de expresión de la presente invención puede administrarse por cualquier método, siempre que en el mamífero objetivo de administración el agente que induce la expresión in vivo del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico arriba mencionado induzca la producción de un anticuerpo contra el epítipo específico de VEGF y/o el epítipo específico de angiopoyetina-2 contenido en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico y trate o prevenga el cáncer. Preferiblemente, el vector de expresión de la presente invención se administra por vía parenteral en una cantidad suficiente para inducir la producción de un anticuerpo contra el epítipo específico de VEGF y/o el epítipo específico de angiopoyetina-2 contenido en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico y trate o prevenga el cáncer. Por ejemplo, inyección por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica, tejido intra-adiposo, tejido de la glándula intramamaria o vía intramuscular; método de bombardeo de partículas inducido por gas (mediante pistola de electrones y similares); un método en forma de colunario y similares a través de la vía de la mucosa y similares se citan como ejemplos de los métodos de administración. En una realización, el vector de expresión de la presente invención se inyecta por vía subcutánea o intramuscular.

30 En una realización, el vector de expresión de la presente invención se administra por vía subcutánea mediante una jeringa sin aguja. La jeringa sin aguja es preferiblemente una jeringa de presión. Ejemplos de la jeringa sin aguja incluyen, pero no se limitan a ShimaJET (nombre comercial, SHIMADZU CORPORATION), Twinjector EZII (nombre comercial, Japan chemical research), Syrijet (nombre comercial, Keystone), ZENEO (nombre comercial, Crossject), y similares. En este caso, el vector de expresión de la presente invención se puede proporcionar como una preparación de inyección que contiene el vector de expresión arriba mencionado y una jeringa sin aguja, en donde el vector de expresión está encerrado en la jeringa sin aguja.

40 En una realización, el vector de expresión de la presente invención se administra por vía subcutánea, intradérmica o intramuscular con una pistola de genes. En este caso, el vector de expresión arriba mencionado se puede aplicar sobre las partículas de soporte tales como partículas de oro coloidal y similares a introducir en el cuerpo y utilizadas para la administración. Se conoce una técnica para revestir partículas de soporte con polinucleótidos (véase, por ejemplo, el documento WO 93/17706). Finalmente, el vector de expresión se puede preparar en una solución acuosa tal como solución salina fisiológica, y similares, adecuada para la administración al cuerpo.

45 Para inducir una buena respuesta inmune, el vector de expresión de la presente invención se administra preferiblemente múltiples veces a intervalos dados. Si bien la frecuencia se puede determinar apropiadamente vigilando el nivel de respuestas inmunes, generalmente es de 2 - 10 veces, preferiblemente de 2 - 6 veces, más preferiblemente de 2, 3 o 4 veces, lo más preferiblemente de 3 veces.

La frecuencia de administración es generalmente de 1 vez a la semana - 1 vez al año, preferiblemente una vez cada 1 - 6 meses.

50 En una realización, el vector de expresión de la presente invención se administra a un mamífero objetivo a intervalos de 3 veces a 6 meses.

Mientras que la dosis del vector de expresión de la presente invención depende de la inmunogenicidad del epítipo de VEGF y/o del epítipo de angiopoyetina-2 contenido en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico codificado por el vector de expresión en un mamífero sujeto de administración, los expertos ordinarios en la técnica pueden determinar la dosis necesaria para una buena respuesta inmune al administrar una cantidad dada de un vector de expresión a un mamífero sujeto de administración, midiendo el título de anticuerpos específico contra el epítipo mediante un método de detección tal como ELISA y similares, y observar la respuesta inmune. Los expertos ordinarios en la técnica apreciarán que la inmunogenicidad del vector de expresión de la

presente invención depende de la fuerza de la secuencia reguladora, tal como el promotor utilizado para el vector de expresión como un ingrediente activo. Además, los expertos ordinarios en la técnica pueden también controlar con facilidad la dosis del vector de expresión de la presente invención en función del tipo de vector de expresión a utilizar.

- 5 Cuando se administra un vector de expresión que codifica un polipéptido de antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico insertado con una secuencia de aminoácidos que contiene un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2, se induce una respuesta inmune (preferiblemente una respuesta inmune humoral tal como la producción de anticuerpos y similares) al epítipo específico de VEGF y/o al epítipo específico de angiopoyetina-2 en el polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico expresado, y se neutraliza la actividad del VEGF y/o de angiopoyetina-2 con el anticuerpo, con lo cual se puede suprimir la angiogénesis alrededor de los tejidos cancerosos e inhibir el crecimiento de tejido canceroso. Por consiguiente, el sujeto de administración del vector de expresión de la presente invención incluye pacientes con cáncer, aquellos que tienen un historial clínico de cáncer y pacientes no cancerosos que tienen el riesgo de desarrollar cáncer, y similares. El cáncer se trata administrando a pacientes con cáncer un vector de expresión que codifica un polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico en el que se ha insertado una secuencia de aminoácidos que contiene un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2, suprimiendo con ello la angiogénesis alrededor de los tejidos cancerosos de los pacientes con cáncer e inhibiendo el crecimiento de tejidos cancerosos. Además, la metástasis se puede suprimir al suprimir la angiogénesis alrededor de la lesión micrometastásica en los pacientes con cáncer. La recurrencia del cáncer se puede suprimir administrando un vector de expresión que codifica un polipéptido de antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico insertado con una secuencia de aminoácidos que contiene un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 se administra a aquellos que tienen un historial clínico de cáncer, suprimiendo con ello la angiogénesis alrededor de la lesión micrometastásica que posiblemente se encuentre latente en el cuerpo de aquellos que tienen un historial clínico de cáncer e inhibiendo el crecimiento de los tejidos cancerosos. Además, se puede prevenir la aparición de cáncer en pacientes sin cáncer que tienen un riesgo de desarrollar cáncer mediante la administración de un vector de expresión que codifica un polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico insertado con una secuencia de aminoácidos que contiene un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2 en los pacientes no cancerosos.

La presente invención se describirá con mayor detalle en lo que sigue con referencia a Ejemplos.

### 30 **Ejemplos**

#### Ejemplo 1

Preparación de la construcción que expresa HBC-mVEGF (13 aa) y HBC-hAng2 (16 aa)

- El plásmido pPLc3 (Número de acceso LMBP 2470) se adquirió de BCCM/LMBP Plasmid Collection. Los fragmentos de ADN que codifican HBC modificado, en donde una secuencia de aminoácido parcial (SEQ ID NO: 1) de VEGF de ratón o una secuencia de aminoácido parcial (SEQ ID NO: 3) de angiopoyetina-2 humana está insertada entre los restos de aminoácidos 80 y 81 de HBC, se obtuvieron mediante PCR y ligamiento. Este fragmento de ADN se clonó mediante TA en el kit de expresión de TA pcDNA 3.1/V5-His TOPO (Invitrogen) para dar el vector HBC-AngII ISS(-). De manera similar, la PCR se realizó utilizando un molde (plásmido pPLc3) y un conjunto de cebador (HBCF y HBCR) para preparar un fragmento de ADN que codifica un polipéptido de longitud completa de HBC, y este fragmento de ADN se clonó mediante TA en el vector pcDNA 3.1/V5-His TOPO para dar el vector de expresión HBC-mVEGF y el vector de expresión HBC-hAng2. Las secuencias de aminoácidos de HBC-mVEGF y HBC-hAng2 preparados se muestran en SEQ ID NO: 28 y 30, respectivamente, y las secuencias de nucleótidos que codifican las secuencias de aminoácido se muestran en SEQ ID NO: 27 y 29, respectivamente. Las siguientes regiones corresponden a las secuencias insertadas.

- 45 Nucleótidos N<sup>o</sup>s 244 – 297 de SEQ ID NO: 27 (de estos, los nucleótidos N<sup>o</sup>s 250 – 288 codifican SEQ ID NO: 1)  
Aminoácidos N<sup>o</sup>s 81 – 88 de SEQ ID NO: 28 (de estos, los aminoácidos N<sup>o</sup>s 83 – 85 corresponden a SEQ ID NO: 1)

Nucleótidos N<sup>o</sup>s 244 – 306 de SEQ ID NO: 29 (de estos, los nucleótidos N<sup>o</sup>s 250 – 297 codifican SEQ ID NO: 3)

Aminoácidos N<sup>o</sup>s 81 – 101 de SEQ ID NO: 30 (de estos, los aminoácidos N<sup>o</sup>s 83 – 98 corresponden a SEQ ID NO: 3)

#### Ejemplo 2

- 50 Cada uno de los vectores de expresión (HBC, HBC-mVEGF, HBC-hAng2) preparados en el Ejemplo 1 se introdujeron en ratones BALB/c (hembras, de 6 semanas de edad) mediante un electroporador. Después de la inmunización durante 3 veces a intervalos de 2 semanas (0, 2, 4 semanas) y de un lapso de 4 semanas, se administró una inmunización adicional (8 semanas). Células Colon26 (CT-26) en la fase de crecimiento bajo cultivo en RPMI (FBS al 10 %, pc/mc) se recuperaron mediante tripsina y se suspendieron en PBS para dar una suspensión celular con una concentración de  $1 \times 10^7$  células/mL en PBS. Una semana después de la inmunización adicional final (9 semanas), se rasuró el lomo del ratón inmunizado y la suspensión celular (100 mL,  $1 \times 10^6$  células/ratón) se inyectó por vía subcutánea (Día 0). El diámetro del tumor se midió con un calibrador vernier (volumen del tumor = diámetro

largo x diámetro corto x diámetro corto / 2).

En los ratones inmunizados con HBc-mVEGF y HBc-hAng2, se suprimió el crecimiento del tumor (Fig. 1) y aumentó la tasa de supervivencia después del trasplante del tumor (Fig. 2) en comparación con el vector control negativo.

### Ejemplo 3

#### 5 (Resultados)

##### Producción de una vacuna de ADN para VEGF

Para confirmar si este sistema de vacuna de ADN inducía lo suficientemente la producción de anticuerpos anti-VEGF, ratones BALB/c hembras fueron inmunizados con pcDNA3.1-HBc-mVEGF (1 a.a.) [HBc-mVEGF (7 a.a.)], pcDNA3.1-HBc [HBc] o solución salina, respectivamente, mediante administración intramuscular utilizando un electroporador, tres veces cada dos semanas y un refuerzo adicional después de la tercera inmunización (Figs. 3 y 4). Como resultado, se observó un título algo mayor de anticuerpo anti-VEGF en el grupo de HBc-mVEGF (7 a.a.) en comparación con el grupo control (HBc y solución salina) (Fig. 5). Debido a que esta secuencia de 7 a.a. podría no ser suficiente para que el epítipo de células B indujera el anticuerpo anti-VEGF, la secuencia larga también se diseñó como un antígeno candidato que cubría la superficie de unión con bevacizumab, VEGFR-1 o VEGFR-2. 6 o 10 aminoácidos se añadieron a la secuencia del núcleo, creando con ello la secuencia de 13 aminoácidos diana (IMRIKPHQSQHIG; 13 a. a.) (SEQ ID NO: 1) y la secuencia de 17 aminoácidos (MQIMRIKPHQSQHIGEM; 17 a. a.) (SEQ ID NO: 32), respectivamente (Fig. 3). Después se construyeron de manera similar y se vacunó a ratones con pcDNA3.1-mVEGF (13 a.a.) [HBc-mVEGF (13 a.a.)] y pcDNA3.1-mVEGF (17 a.a.) [HBc-mVEGF (17 a.a.)]. Tal como se muestra en la Fig. 5, ambos antígenos indujeron con éxito la producción de anticuerpo anti-VEGF. Se observó un título relativamente elevado de anti-VEGF en el grupo HBc-mVEGF (13 a.a.) en comparación con los grupos de 17 a.a. y 7 a.a. (Fig. 5). Por lo tanto, se decidió que 13 a.a. (IMRIKPHQSQHIG) fuese el antígeno de la vacuna de ADN de VEGF utilizando el sistema HBc (Fig. 6a y b). La funcionalidad del vector de expresión de HBc-mVEGF (13 a. a.) se confirmó en células COS-7 transfectadas. Cada una de las construcciones expresaba ARNm en la longitud esperada y proteína de la masa molecular esperada.

Se confirmó el título de anticuerpos anti-VEGF a la octava semana, cuatro semanas después de la tercera inmunización (Fig. 1d) y se observó un título elevado en el grupo de HBc-mVEGF (13 a.a.) (Fig. 7a y 8). En el análisis de subtipos de IgG, esta inmunización podría conducir a respuestas inmunes sesgadas por Th1 con producción predominante de IgG2a e IgG2b (Fig. 7b). Los autores de la presente invención confirmaron, además, si el suero producido mediante inmunización con HBc-mVEGF (13 a.a.) reconocería la proteína VEGF-A de ratón recombinante en el análisis de la transferencia western. La unión específica de suero inmunizado con proteína de VEGF recombinante se confirmó utilizando el anticuerpo comercial contra VEGF, VG-1 (Fig. 8).

##### Actividad de neutralización de anticuerpo anti-VEGF producido mediante vacunación de ADN de VEGF

Para examinar la actividad neutralizante de suero procedente de ratones vacunados, los autores de la invención purificaron IgG de ratón de suero utilizando la columna de proteína G tal como se describe en la sección de método. El tratamiento de suero inmunizado, pero no de suero control, atenuó de manera significativa la fosforilación de ERK1/2 inducida por VEGF-A en HUVECs (Fig. 9). En la formación en tubo de HUVECs en matrigel, en presencia de EBM-2 con FBS al 0,4 % y complemento al 0,4 %, la adición de suero inmunizado atenuó también de manera significativa la formación en tubo de HUVECs, en comparación con la adición de suero control (Fig. 10).

### Método

#### 40 Medición de anticuerpo anti-mVEGF en suero

Ocho o dieciséis semanas después de la primera inmunización, se recogió suero de los ratones inmunizados de todos los grupos. Los niveles de suero de anticuerpos anti-VEGF en estos ratones se midieron mediante ELISA. Brevemente, placas ELISA se revistieron con 5 µg/mL de BSA conjugado con péptido de VEGF de 13 a.a. en tampón carbonato durante la noche a 4°C. Diluciones en serie (1:100 a 1:312500) de muestras de suero procedentes de los ratones inmunizados se añadieron a los pocillos y se añadió IgG de ratón conjugada con HRP (IgG entera, GE Healthcare, Reino Unido, cada uno de los subtipos; Abcam, Reino Unido). Después de cuatro lavados con PBST, se añadió 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB, Sigma Aldrich, EE.UU.). La producción del producto de reacción azul se detuvo añadiendo 0,5 mol/L de ácido sulfúrico, y el producto final resultante (amarillo) se leyó a 450 nm.

#### 50 Purificación de IgG

Suero de ratón se purificó utilizando la columna de proteína G de acuerdo con las instrucciones del fabricante (kit MabTrap; GE Healthcare, Reino Unido). Brevemente, muestras de suero se ajustaron a la composición del tampón de unión (fosfato sódico 20 mM, pH 7,0). En la columna de proteína G se separó por lavado el conservante de etanol con agua destilada y se equilibró con tampón de unión. Se aplicó el suero diluido y la columna se lavó con tampón de unión hasta que no aparecía material en el efluente. Después de ello, la fracción de IgG se eluyó mediante tampón de

elución (glicina-HCl 0,1 M, pH 2,7) y se concentró mediante filtro centrífugo (Amicon Ultra; Millipore, EE.UU.).

Ensayo de formación en tubo

5 El ensayo de formación en tubo utilizando Matrigel (Becton-Dickinson, EE.UU.) se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, se utilizó Matrigel para revestir los pocillos de placas de 24 pocillos (0,25 mL por pocillo) y se dejó polimerizar a 37°C durante 1 hora. Después de la polimerización, se añadieron a cada uno de los pocillos HUVECs (100.000 células) suspendidas en 0,2 ml de EBM-2 (que contiene 20% de kit EGM-2, FBS al 0,4% y 20% de complemento) con suero control o suero inmunizado. Después de 6 horas, los pocillos se fotografiaron a un aumento de 50 veces en cinco campos aleatorios (Olympus) y el número de sus redes tubulares se contó utilizando ImageJ.

10 Análisis de transferencia Western

Brevemente, para cada uno de los tres experimentos independientes, proteína total (10 µg) se aisló después del tratamiento indicado utilizando tampón de lisis RIPA adquirido de Millipore (Bedford, MA), con coctel inhibidor de proteasa (Roche, Mannheim, Alemania), 10 mmol/L de NaF y 1 mol/L de Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>; y se fraccionó por tamaño mediante SDS-PAGE y se transfirió a Immobilon-P adquirido de Millipore. La proteína emborronada se detectó con anticuerpos contra pERK y ERK (tecnología de señalización de células); seguido de los anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa de rábano picante (HRP) apropiados, y se detectaron mediante ECL (Amersham, Arlington Heights, IL). La señal quimioluminiscente se detectó con una cámara FujiFilm LAS-1000 y se analizó con el software Multi Gauge 3.2V. Las bandas se cuantificaron con el software ImageJ.

**Aplicabilidad industrial**

20 La presente invención proporciona una vacuna superior para el tratamiento o la profilaxis del cáncer, que fija como objetivo un factor relacionado con la angiogénesis del tumor y muestra un riesgo reducido de una influencia adversa sobre la función normal de los vasos sanguíneos.

**Listado de secuencias**

- 25 <110> Osaka University  
AnGes MG Inc.
- <120> Vacuna de ADN que comprende un epítipo específico de VEGF y/o un epítipo específico de angiopoyetina-2
- 30 <130> 092079
- <150> JP2012-191717
- 35 <151> 31-08-2012
- <160> 33
- <170> PatenIn versión 3.4
- 40 <210> 1  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Mus musculus
- 45 <400> 1  
Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Ser Gln His Ile Gly  
1 5 10
- <210> 2  
<211> 13  
50 <212> PRT  
<213> Homo sapiens
- <400> 2  
Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly  
1 5 10
- 55 <210> 3  
<211> 16

ES 2 817 925 T3

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 3

5 Pro Gln Arg Gln Asn Thr Asn Lys Phe Asn Gly Ile Lys Trp Tyr Tyr  
1 5 10 15

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 4

Tyr Tyr Pro Gln Arg Gln Asn Thr Asn Lys Glu  
1 5 10

15 <210> 5

<211> 556

<212> ADN

<213> virus de la hepatitis B

20 <220>

<221> CDS

<222> (2)...(553)

<400> 5

c atg gat atc gat cct tat aaa gaa ttc gga gct act gtg gag tta ctc 49  
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu  
 1 5 10 15

tcg ttt ctc ccg agt gac ttc ttt cct tca gta cga gat ctt ctg gat 97  
 Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp  
 20 25 30

acc gcc agc gcg ctg tat cgg gaa gcc ttg gag tct cct gag cac tgc 145  
 Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys  
 35 40 45

agc cct cac cat act gcc ctc agg caa gca att ctt tgc tgg ggg gag 193  
 Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
 50 55 60

ctc atg act ctg gcc acg tgg gtg ggt gtt aac ttg gaa gat cca gct 241  
 Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Val Asn Leu Glu Asp Pro Ala  
 65 70 75 80

agc agg gac ctg gta gtc agt tat gtc aac act aat atg ggt tta aag 289  
 Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys  
 85 90 95

ttc agg caa ctc ttg tgg ttt cac att agc tgc ctc act ttc ggc cga 337  
 Phe Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg  
 100 105 110

gaa aca gtt cta gaa tat ttg gtg tct ttc gga gtg tgg atc cgc act 385  
 Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr  
 115 120 125

cct cca gct tat agg cct ccg aat gcc cct atc ctg tcg aca ctc ccg 433  
 Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro  
 130 135 140

gag act act gtt gtt aga cgt cga ggc agg tca cct aga aga aga act 481  
 Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr  
 145 150 155 160

cct tcg cct cgc agg cga agg tct caa tcg ccg cgg cgc cga aga tct 529  
 Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser  
 165 170 175

caa tct cgg gaa tct caa tgt tag tga 556  
 Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys  
 180

- <210> 6
- <211> 183
- <212> PRT
- <213> virus de la hepatitis B
- <400> 6

ES 2 817 925 T3

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu  
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp  
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys  
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Val Asn Leu Glu Asp Pro Ala  
65 70 75 80

Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys  
85 90 95

Phe Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg  
100 105 110

Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr  
115 120 125

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro  
130 135 140

Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr  
145 150 155 160

Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Ser  
165 170 175

Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys  
180

- <210> 7
- 5 <211> 185
- <212> PRT
- <213> virus de la hepatitis B
- <400> 7

ES 2 817 925 T3

Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu  
 1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp  
 20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys  
 35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
 50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Asn Asn Leu Glu Asp Pro Ala  
 65 70 75 80

Ser Arg Asp Leu Val Val Asn Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys  
 85 90 95

Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg  
 100 105 110

Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr  
 115 120 125

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro  
 130 135 140

Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg  
 145 150 155 160

Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg  
 165 170 175

Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys  
 180 185

5 <210> 8  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> CpG-B 1018

<400> 8  
 tgactgtgaa cgttcgagat ga

ES 2 817 925 T3

	<210> 9		
	<211> 20		
	<212> ADN		
5	<213> Artificial		
	<220>		
	<223> CpG-A D19		
10	<400> 9		
	<b>ggtgcatcga tgcagggggg</b>		<b>20</b>
	<210> 10		
	<211> 21		
15	<212> ADN		
	<213> Artificial		
	<220>		
	<223> CpG-C C274		
20	<400> 10		
	<b>tcgtcgaacg ttcgagatga t</b>		<b>21</b>
	<210> 11		
25	<211> 25		
	<212> ADN		
	<213> Artificial		
	<220>		
30	<223> CpG-C C695		
	<400> 11		
	<b>tcgaacgttc gaacgttcga acgtt</b>		<b>25</b>
35	<210> 12		
	<211> 88		
	<212> ADN		
	<213> Artificial		
40	<220>		
	<223> ISS		
	<400> 12		
	<b>ggtgcatcga tgcagggggg tgactgtgaa cgttcgagat gatcgtcga cgttcgagat</b>		<b>60</b>
	<b>gattcgaacg ttcgaacgtt cgaacgtt</b>		<b>88</b>
45	<210> 13		
	<211> 232		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
50	<400> 13		

ES 2 817 925 T3

Met Asn Phe Leu Leu Ser Trp Val His Trp Ser Leu Ala Leu Leu Leu  
 1 5 10 15

Tyr Leu His His Ala Lys Trp Ser Gln Ala Ala Pro Met Ala Glu Gly  
 20 25 30

Gly Gly Gln Asn His His Glu Val Val Lys Phe Met Asp Val Tyr Gln  
 35 40 45

Arg Ser Tyr Cys His Pro Ile Glu Thr Leu Val Asp Ile Phe Gln Glu  
 50 55 60

Tyr Pro Asp Glu Ile Glu Tyr Ile Phe Lys Pro Ser Cys Val Pro Leu  
 65 70 75 80

Met Arg Cys Gly Gly Cys Cys Asn Asp Glu Gly Leu Glu Cys Val Pro  
 85 90 95

Thr Glu Glu Ser Asn Ile Thr Met Gln Ile Met Arg Ile Lys Pro His  
 100 105 110

Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser Phe Leu Gln His Asn Lys Cys  
 115 120 125

Glu Cys Arg Pro Lys Lys Asp Arg Ala Arg Gln Glu Lys Lys Ser Val  
 130 135 140

Arg Gly Lys Gly Lys Gly Gln Lys Arg Lys Arg Lys Lys Ser Arg Tyr  
 145 150 155 160

Lys Ser Trp Ser Val Tyr Val Gly Ala Arg Cys Cys Leu Met Pro Trp  
 165 170 175

Ser Leu Pro Gly Pro His Pro Cys Gly Pro Cys Ser Glu Arg Arg Lys  
 180 185 190

His Leu Phe Val Gln Asp Pro Gln Thr Cys Lys Cys Ser Cys Lys Asn  
 195 200 205

Thr Asp Ser Arg Cys Lys Ala Arg Gln Leu Glu Leu Asn Glu Arg Thr  
 210 215 220

Cys Arg Cys Asp Lys Pro Arg Arg  
 225 230

ES 2 817 925 T3

<211> 207  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <400> 14

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

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

Arg Lys Val Val Ser Trp Ile Asp Val Tyr Thr Arg Ala Thr Cys Gln  
 35 40 45

Pro Arg Glu Val Val Val Pro Leu Thr Val Glu Leu Met Gly Thr Val  
 50 55 60

Ala Lys Gln Leu Val Pro Ser Cys Val Thr Val Gln Arg Cys Gly Gly  
 65 70 75 80

Cys Cys Pro Asp Asp Gly Leu Glu Cys Val Pro Thr Gly Gln His Gln  
 85 90 95

Val Arg Met Gln Ile Leu Met Ile Arg Tyr Pro Ser Ser Gln Leu Gly  
 100 105 110

Glu Met Ser Leu Glu Glu His Ser Gln Cys Glu Cys Arg Pro Lys Lys  
 115 120 125

Lys Asp Ser Ala Val Lys Pro Asp Arg Ala Ala Thr Pro His His Arg  
 130 135 140

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

Ser Pro Ala Asp Ile Thr His Pro Thr Pro Ala Pro Gly Pro Ser Ala  
 165 170 175

His Ala Ala Pro Ser Thr Thr Ser Ala Leu Thr Pro Gly Pro Ala Ala  
 180 185 190

Ala Ala Ala Asp Ala Ala Ala Ser Ser Val Ala Lys Gly Gly Ala  
 195 200 205

ES 2 817 925 T3

<210> 15  
 <211> 419  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 15  
**Met** His Leu Leu Gly Phe Phe Ser Val Ala Cys Ser Leu Leu Ala Ala  
 1 5 10 15  
  
 Ala Leu Leu Pro Gly Pro Arg Glu Ala Pro Ala Ala Ala Ala Ala Phe  
 20 25 30  
  
 Glu Ser Gly Leu Asp Leu Ser Asp Ala Glu Pro Asp Ala Gly Glu Ala  
 35 40 45  
  
 Thr Ala Tyr Ala Ser Lys Asp Leu Glu Glu Gln Leu Arg Ser Val Ser  
 50 55 60  
  
 Ser Val Asp Glu Leu Met Thr Val Leu Tyr Pro Glu Tyr Trp Lys Met  
 65 70 75 80  
  
 Tyr Lys Cys Gln Leu Arg Lys Gly Gly Trp Gln His Asn Arg Glu Gln  
 85 90 95

ES 2 817 925 T3

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

His Tyr Asn Thr Glu Ile Leu Lys Ser Ile Asp Asn Glu Trp Arg Lys  
 115 120 125

Thr Gln Cys Met Pro Arg Glu Val Cys Ile Asp Val Gly Lys Glu Phe  
 130 135 140

Gly Val Ala Thr Asn Thr Phe Phe Lys Pro Pro Cys Val Ser Val Tyr  
 145 150 155 160

Arg Cys Gly Gly Cys Cys Asn Ser Glu Gly Leu Gln Cys Met Asn Thr  
 165 170 175

Ser Thr Ser Tyr Leu Ser Lys Thr Leu Phe Glu Ile Thr Val Pro Leu  
 180 185 190

Ser Gln Gly Pro Lys Pro Val Thr Ile Ser Phe Ala Asn His Thr Ser  
 195 200 205

Cys Arg Cys Met Ser Lys Leu Asp Val Tyr Arg Gln Val His Ser Ile  
 210 215 220

Ile Arg Arg Ser Leu Pro Ala Thr Leu Pro Gln Cys Gln Ala Ala Asn  
 225 230 235 240

Lys Thr Cys Pro Thr Asn Tyr Met Trp Asn Asn His Ile Cys Arg Cys  
 245 250 255

Leu Ala Gln Glu Asp Phe Met Phe Ser Ser Asp Ala Gly Asp Asp Ser  
 260 265 270

Thr Asp Gly Phe His Asp Ile Cys Gly Pro Asn Lys Glu Leu Asp Glu  
 275 280 285

Glu Thr Cys Gln Cys Val Cys Arg Ala Gly Leu Arg Pro Ala Ser Cys  
 290 295 300

Gly Pro His Lys Glu Leu Asp Arg Asn Ser Cys Gln Cys Val Cys Lys  
 305 310 315 320

ES 2 817 925 T3

Asn Lys Leu Phe Pro Ser Gln Cys Gly Ala Asn Arg Glu Phe Asp Glu  
 325 330 335

Asn Thr Cys Gln Cys Val Cys Lys Arg Thr Cys Pro Arg Asn Gln Pro  
 340 345 350

Leu Asn Pro Gly Lys Cys Ala Cys Glu Cys Thr Glu Ser Pro Gln Lys  
 355 360 365

Cys Leu Leu Lys Gly Lys Lys Phe His His Gln Thr Cys Ser Cys Tyr  
 370 375 380

Arg Arg Pro Cys Thr Asn Arg Gln Lys Ala Cys Glu Pro Gly Phe Ser  
 385 390 395 400

Tyr Ser Glu Glu Val Cys Arg Cys Val Pro Ser Tyr Trp Lys Arg Pro  
 405 410 415

Gln Met Ser

<210> 16  
 <211> 354  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 16  
 Met Tyr Arg Glu Trp Val Val Val Asn Val Phe Met Met Leu Tyr Val  
 1 5 10 15

Gln Leu Val Gln Gly Ser Ser Asn Glu His Gly Pro Val Lys Arg Ser  
 20 25 30

Ser Gln Ser Thr Leu Glu Arg Ser Glu Gln Gln Ile Arg Ala Ala Ser  
 35 40 45

Ser Leu Glu Glu Leu Leu Arg Ile Thr His Ser Glu Asp Trp Lys Leu  
 50 55 60

Trp Arg Cys Arg Leu Arg Leu Lys Ser Phe Thr Ser Met Asp Ser Arg  
 65 70 75 80

10

ES 2 817 925 T3

Ser Ala Ser His Arg Ser Thr Arg Phe Ala Ala Thr Phe Tyr Asp Ile  
85 90 95

Glu Thr Leu Lys Val Ile Asp Glu Glu Trp Gln Arg Thr Gln Cys Ser  
100 105 110

Pro Arg Glu Thr Cys Val Glu Val Ala Ser Glu Leu Gly Lys Ser Thr  
115 120 125

Asn Thr Phe Phe Lys Pro Pro Cys Val Asn Val Phe Arg Cys Gly Gly  
130 135 140

Cys Cys Asn Glu Glu Ser Leu Ile Cys Met Asn Thr Ser Thr Ser Tyr  
145 150 155 160

Ile Ser Lys Gln Leu Phe Glu Ile Ser Val Pro Leu Thr Ser Val Pro  
165 170 175

Glu Leu Val Pro Val Lys Val Ala Asn His Thr Gly Cys Lys Cys Leu  
180 185 190

Pro Thr Ala Pro Arg His Pro Tyr Ser Ile Ile Arg Arg Ser Ile Gln  
195 200 205

Ile Pro Glu Glu Asp Arg Cys Ser His Ser Lys Lys Leu Cys Pro Ile  
210 215 220

Asp Met Leu Trp Asp Ser Asn Lys Cys Lys Cys Val Leu Gln Glu Glu  
225 230 235 240

Asn Pro Leu Ala Gly Thr Glu Asp His Ser His Leu Gln Glu Pro Ala  
245 250 255

Leu Cys Gly Pro His Met Met Phe Asp Glu Asp Arg Cys Glu Cys Val  
260 265 270

Cys Lys Thr Pro Cys Pro Lys Asp Leu Ile Gln His Pro Lys Asn Cys  
275 280 285

Ser Cys Phe Glu Cys Lys Glu Ser Leu Glu Thr Cys Cys Gln Lys His  
290 295 300

ES 2 817 925 T3

Lys Leu Phe His Pro Asp Thr Cys Ser Cys Glu Asp Arg Cys Pro Phe  
 305 310 315 320

His Thr Arg Pro Cys Ala Ser Gly Lys Thr Ala Cys Ala Lys His Cys  
 325 330 335

Arg Phe Pro Lys Glu Lys Arg Ala Ala Gln Gly Pro His Ser Arg Lys  
 340 345 350

Asn Pro

<210> 17  
 <211> 345  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 17  
 Met Ser Leu Phe Gly Leu Leu Leu Leu Thr Ser Ala Leu Ala Gly Gln  
 1 5 10 15

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

Ser Ser Asn Lys Glu Gln Asn Gly Val Gln Asp Pro Gln His Glu Arg  
 35 40 45

Ile Ile Thr Val Ser Thr Asn Gly Ser Ile His Ser Pro Arg Phe Pro  
 50 55 60

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

Glu Glu Asn Val Trp Ile Gln Leu Thr Phe Asp Glu Arg Phe Gly Leu  
 85 90 95

Glu Asp Pro Glu Asp Asp Ile Cys Lys Tyr Asp Phe Val Glu Val Glu  
 100 105 110

Glu Pro Ser Asp Gly Thr Ile Leu Gly Arg Trp Cys Gly Ser Gly Thr  
 115 120 125

10

ES 2 817 925 T3

Val Pro Gly Lys Gln Ile Ser Lys Gly Asn Gln Ile Arg Ile Arg Phe  
 130 135 140

Val Ser Asp Glu Tyr Phe Pro Ser Glu Pro Gly Phe Cys Ile His Tyr  
 145 150 155 160

Asn Ile Val Met Pro Gln Phe Thr Glu Ala Val Ser Pro Ser Val Leu  
 165 170 175

Pro Pro Ser Ala Leu Pro Leu Asp Leu Leu Asn Asn Ala Ile Thr Ala  
 180 185 190

Phe Ser Thr Leu Glu Asp Leu Ile Arg Tyr Leu Glu Pro Glu Arg Trp  
 195 200 205

Gln Leu Asp Leu Glu Asp Leu Tyr Arg Pro Thr Trp Gln Leu Leu Gly  
 210 215 220

Lys Ala Phe Val Phe Gly Arg Lys Ser Arg Val Val Asp Leu Asn Leu  
 225 230 235 240

Leu Thr Glu Glu Val Arg Leu Tyr Ser Cys Thr Pro Arg Asn Phe Ser  
 245 250 255

Val Ser Ile Arg Glu Glu Leu Lys Arg Thr Asp Thr Ile Phe Trp Pro  
 260 265 270

Gly Cys Leu Leu Val Lys Arg Cys Gly Gly Asn Cys Ala Cys Cys Leu  
 275 280 285

His Asn Cys Asn Glu Cys Gln Cys Val Pro Ser Lys Val Thr Lys Lys  
 290 295 300

Tyr His Glu Val Leu Gln Leu Arg Pro Lys Thr Gly Val Arg Gly Leu  
 305 310 315 320

His Lys Ser Leu Thr Asp Val Ala Leu Glu His His Glu Glu Cys Asp  
 325 330 335

Cys Val Cys Arg Gly Ser Thr Gly Gly  
 340 345

ES 2 817 925 T3

<211> 221  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <400> 18  
 Met Pro Val Met Arg Leu Phe Pro Cys Phe Leu Gln Leu Leu Ala Gly  
 1 5 10 15  
 Leu Ala Leu Pro Ala Val Pro Pro Gln Gln Trp Ala Leu Ser Ala Gly  
 20 25 30  
 Asn Gly Ser Ser Glu Val Glu Val Val Pro Phe Gln Glu Val Trp Gly  
 35 40 45  
 Arg Ser Tyr Cys Arg Ala Leu Glu Arg Leu Val Asp Val Val Ser Glu  
 50 55 60  
 Tyr Pro Ser Glu Val Glu His Met Phe Ser Pro Ser Cys Val Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Leu Arg Cys Thr Gly Cys Cys Gly Asp Glu Asn Leu His Cys Val Pro  
 85 90 95  
 Val Glu Thr Ala Asn Val Thr Met Gln Leu Leu Lys Ile Arg Ser Gly  
 100 105 110  
 Asp Arg Pro Ser Tyr Val Glu Leu Thr Phe Ser Gln His Val Arg Cys  
 115 120 125  
 Glu Cys Arg His Ser Pro Gly Arg Gln Ser Pro Asp Met Pro Gly Asp  
 130 135 140  
 Phe Arg Ala Asp Ala Pro Ser Phe Leu Pro Pro Arg Arg Ser Leu Pro  
 145 150 155 160  
 Met Leu Phe Arg Met Glu Trp Gly Cys Ala Leu Thr Gly Ser Gln Ser  
 165 170 175  
 Ala Val Trp Pro Ser Ser Pro Val Pro Glu Glu Ile Pro Arg Met His  
 180 185 190  
 Pro Gly Arg Asn Gly Lys Lys Gln Gln Arg Lys Pro Leu Arg Glu Lys

ES 2 817 925 T3

195

200

205

Met Lys Pro Glu Arg Cys Gly Asp Ala Val Pro Arg Arg  
 210 215 220

<210> 19  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5

<400> 19

Met Asn Phe Leu Leu Ser Trp Val His Trp Thr Leu Ala Leu Leu Leu  
 1 5 10 15

Tyr Leu His His Ala Lys Trp Ser Gln Ala Ala Pro Thr Thr Glu Gly  
 20 25 30

Glu Gln Lys Ser His Glu Val Ile Lys Phe Met Asp Val Tyr Gln Arg  
 35 40 45

Ser Tyr Cys Arg Pro Ile Glu Thr Leu Val Asp Ile Phe Gln Glu Tyr  
 50 55 60

Pro Asp Glu Ile Glu Tyr Ile Phe Lys Pro Ser Cys Val Pro Leu Met  
 65 70 75 80

Arg Cys Ala Gly Cys Cys Asn Asp Glu Ala Leu Glu Cys Val Pro Thr  
 85 90 95

Ser Glu Ser Asn Ile Thr Met Gln Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln  
 100 105 110

Ser Gln His Ile Gly Glu Met Ser Phe Leu Gln His Ser Arg Cys Glu  
 115 120 125

Cys Arg Pro Lys Lys Asp Arg Thr Lys Pro Glu Lys Lys Ser Val Arg  
 130 135 140

Gly Lys Gly Lys Gly Gln Lys Arg Lys Arg Lys Lys Ser Arg Phe Lys  
 145 150 155 160

Ser Trp Ser Val His Cys Glu Pro Cys Ser Glu Arg Arg Lys His Leu  
 165 170 175

ES 2 817 925 T3

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

Ser Arg Cys Lys Ala Arg Gln Leu Glu Leu Asn Glu Arg Thr Cys Arg  
 195 200 205

Cys Asp Lys Pro Arg Arg  
 210

<210> 20  
 <211> 207  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5

<400> 20  
 Met Ser Pro Leu Leu Arg Arg Leu Leu Leu Val Ala Leu Leu Gln Leu  
 1 5 10 15

Ala Arg Thr Gln Ala Pro Val Ser Gln Phe Asp Gly Pro Ser His Gln  
 20 25 30

Lys Lys Val Val Pro Trp Ile Asp Val Tyr Ala Arg Ala Thr Cys Gln  
 35 40 45

Pro Arg Glu Val Val Val Pro Leu Ser Met Glu Leu Met Gly Asn Val  
 50 55 60

Val Lys Gln Leu Val Pro Ser Cys Val Thr Val Gln Arg Cys Gly Gly  
 65 70 75 80

Cys Cys Pro Asp Asp Gly Leu Glu Cys Val Pro Thr Gly Gln His Gln  
 85 90 95

Val Arg Met Gln Ile Leu Met Ile Gln Tyr Pro Ser Ser Gln Leu Gly  
 100 105 110

Glu Met Ser Leu Glu Glu His Ser Gln Cys Glu Cys Arg Pro Lys Lys  
 115 120 125

Lys Glu Ser Ala Val Lys Pro Asp Arg Val Ala Ile Pro His His Arg  
 130 135 140

10

ES 2 817 925 T3

Pro Gln Pro Arg Ser Val Pro Gly Trp Asp Ser Thr Pro Gly Ala Ser  
 145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Ile Ile His Pro Thr Pro Ala Pro Gly Ser Ser Ala  
 165 170 175

Arg Leu Ala Pro Ser Ala Val Asn Ala Leu Thr Pro Gly Pro Ala Ala  
 180 185 190

Ala Ala Ala Asp Ala Ala Ala Ser Ser Ile Ala Lys Gly Gly Ala  
 195 200 205

<210> 21  
 <211> 415  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5

<400> 21  
 Met His Leu Leu Cys Phe Leu Ser Leu Ala Cys Ser Leu Leu Ala Ala  
 1 5 10 15

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

Glu Ser Gly Leu Gly Phe Ser Glu Ala Glu Pro Asp Gly Gly Glu Val  
 35 40 45

Lys Ala Phe Glu Gly Lys Asp Leu Glu Glu Gln Leu Arg Ser Val Ser  
 50 55 60

Ser Val Asp Glu Leu Met Ser Val Leu Tyr Pro Asp Tyr Trp Lys Met  
 65 70 75 80

Tyr Lys Cys Gln Leu Arg Lys Gly Gly Trp Gln Gln Pro Thr Leu Asn  
 85 90 95

Thr Arg Thr Gly Asp Ser Val Lys Phe Ala Ala Ala His Tyr Asn Thr  
 100 105 110

Glu Ile Leu Lys Ser Ile Asp Asn Glu Trp Arg Lys Thr Gln Cys Met  
 115 120 125

10

ES 2 817 925 T3

Pro Arg Glu Val Cys Ile Asp Val Gly Lys Glu Phe Gly Ala Ala Thr  
 130 135 140

Asn Thr Phe Phe Lys Pro Pro Cys Val Ser Val Tyr Arg Cys Gly Gly  
 145 150 155 160

Cys Cys Asn Ser Glu Gly Leu Gln Cys Met Asn Thr Ser Thr Gly Tyr  
 165 170 175

Leu Ser Lys Thr Leu Phe Glu Ile Thr Val Pro Leu Ser Gln Gly Pro  
 180 185 190

Lys Pro Val Thr Ile Ser Phe Ala Asn His Thr Ser Cys Arg Cys Met  
 195 200 205

Ser Lys Leu Asp Val Tyr Arg Gln Val His Ser Ile Ile Arg Arg Ser  
 210 215 220

Leu Pro Ala Thr Leu Pro Gln Cys Gln Ala Ala Asn Lys Thr Cys Pro  
 225 230 235 240

Thr Asn Tyr Val Trp Asn Asn Tyr Met Cys Arg Cys Leu Ala Gln Gln  
 245 250 255

Asp Phe Ile Phe Tyr Ser Asn Val Glu Asp Asp Ser Thr Asn Gly Phe  
 260 265 270

His Asp Val Cys Gly Pro Asn Lys Glu Leu Asp Glu Asp Thr Cys Gln  
 275 280 285

Cys Val Cys Lys Gly Gly Leu Arg Pro Ser Ser Cys Gly Pro His Lys  
 290 295 300

Glu Leu Asp Arg Asp Ser Cys Gln Cys Val Cys Lys Asn Lys Leu Phe  
 305 310 315 320

Pro Asn Ser Cys Gly Ala Asn Arg Glu Phe Asp Glu Asn Thr Cys Gln  
 325 330 335

Cys Val Cys Lys Arg Thr Cys Pro Arg Asn Gln Pro Leu Asn Pro Gly  
 340 345 350

ES 2 817 925 T3

Lys Cys Ala Cys Glu Cys Thr Glu Asn Thr Gln Lys Cys Phe Leu Lys  
 355 360 365

Gly Lys Lys Phe His His Gln Thr Cys Ser Cys Tyr Arg Arg Pro Cys  
 370 375 380

Ala Asn Arg Leu Lys His Cys Asp Pro Gly Leu Ser Phe Ser Glu Glu  
 385 390 395 400

Val Cys Arg Cys Val Pro Ser Tyr Trp Lys Arg Pro His Leu Asn  
 405 410 415

<210> 22  
 <211> 358  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5

<400> 22  
 Met Tyr Gly Glu Trp Gly Met Gly Asn Ile Leu Met Met Phe His Val  
 1 5 10 15

Tyr Leu Val Gln Gly Phe Arg Ser Glu His Gly Pro Val Lys Asp Phe  
 20 25 30

Ser Phe Glu Arg Ser Ser Arg Ser Met Leu Glu Arg Ser Glu Gln Gln  
 35 40 45

Ile Arg Ala Ala Ser Ser Leu Glu Glu Leu Leu Gln Ile Ala His Ser  
 50 55 60

Glu Asp Trp Lys Leu Trp Arg Cys Arg Leu Lys Leu Lys Ser Leu Ala  
 65 70 75 80

Ser Met Asp Ser Arg Ser Ala Ser His Arg Ser Thr Arg Phe Ala Ala  
 85 90 95

Thr Phe Tyr Asp Thr Glu Thr Leu Lys Val Ile Asp Glu Glu Trp Gln  
 100 105 110

Arg Thr Gln Cys Ser Pro Arg Glu Thr Cys Val Glu Val Ala Ser Glu  
 115 120 125

Leu Gly Lys Thr Thr Asn Thr Phe Phe Lys Pro Pro Cys Val Asn Val



ES 2 817 925 T3

<210> 23  
 <211> 345  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5

<400> 23  
 Met Leu Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Thr Ser Ala Leu Ala Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Arg Thr Gly Thr Arg Ala Glu Ser Asn Leu Ser Ser Lys Leu Gln Leu  
 20 25 30  
 Ser Ser Asp Lys Glu Gln Asn Gly Val Gln Asp Pro Arg His Glu Arg  
 35 40 45  
 Val Val Thr Ile Ser Gly Asn Gly Ser Ile His Ser Pro Lys Phe Pro  
 50 55 60  
 His Thr Tyr Pro Arg Asn Met Val Leu Val Trp Arg Leu Val Ala Val  
 65 70 75 80  
 Asp Glu Asn Val Arg Ile Gln Leu Thr Phe Asp Glu Arg Phe Gly Leu  
 85 90 95  
 Glu Asp Pro Glu Asp Asp Ile Cys Lys Tyr Asp Phe Val Glu Val Glu  
 100 105 110  
 Glu Pro Ser Asp Gly Ser Val Leu Gly Arg Trp Cys Gly Ser Gly Thr  
 115 120 125  
 Val Pro Gly Lys Gln Thr Ser Lys Gly Asn His Ile Arg Ile Arg Phe  
 130 135 140  
 Val Ser Asp Glu Tyr Phe Pro Ser Glu Pro Gly Phe Cys Ile His Tyr  
 145 150 155 160  
 Ser Ile Ile Met Pro Gln Val Thr Glu Thr Thr Ser Pro Ser Val Leu  
 165 170 175  
 Pro Pro Ser Ser Leu Ser Leu Asp Leu Leu Asn Asn Ala Val Thr Ala  
 180 185 190

ES 2 817 925 T3

Phe Ser Thr Leu Glu Glu Leu Ile Arg Tyr Leu Glu Pro Asp Arg Trp  
 195 200 205

Gln Val Asp Leu Asp Ser Leu Tyr Lys Pro Thr Trp Gln Leu Leu Gly  
 210 215 220

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

Leu Lys Glu Glu Val Lys Leu Tyr Ser Cys Thr Pro Arg Asn Phe Ser  
 245 250 255

Val Ser Ile Arg Glu Glu Leu Lys Arg Thr Asp Thr Ile Phe Trp Pro  
 260 265 270

Gly Cys Leu Leu Val Lys Arg Cys Gly Gly Asn Cys Ala Cys Cys Leu  
 275 280 285

His Asn Cys Asn Glu Cys Gln Cys Val Pro Arg Lys Val Thr Lys Lys  
 290 295 300

Tyr His Glu Val Leu Gln Leu Arg Pro Lys Thr Gly Val Lys Gly Leu  
 305 310 315 320

His Lys Ser Leu Thr Asp Val Ala Leu Glu His His Glu Glu Cys Asp  
 325 330 335

Cys Val Cys Arg Gly Asn Ala Gly Gly  
 340 345

<210> 24  
 <211> 158  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 24  
 Met Leu Val Met Lys Leu Phe Thr Cys Phe Leu Gln Val Leu Ala Gly  
 1 5 10 15

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

10

ES 2 817 925 T3

Glu Val Glu Val Val Pro Phe Asn Glu Val Trp Gly Arg Ser Tyr Cys  
 35 40 45

Arg Pro Met Glu Lys Leu Val Tyr Ile Leu Asp Glu Tyr Pro Asp Glu  
 50 55 60

Val Ser His Ile Phe Ser Pro Ser Cys Val Leu Leu Ser Arg Cys Ser  
 65 70 75 80

Gly Cys Cys Gly Asp Glu Gly Leu His Cys Val Pro Ile Lys Thr Ala  
 85 90 95

Asn Ile Thr Met Gln Ile Leu Lys Ile Pro Pro Asn Arg Asp Pro His  
 100 105 110

Phe Tyr Val Glu Met Thr Phe Ser Gln Asp Val Leu Cys Glu Cys Arg  
 115 120 125

Pro Ile Leu Glu Thr Thr Lys Ala Glu Arg Arg Lys Thr Lys Gly Lys  
 130 135 140

Arg Lys Arg Ser Arg Asn Ser Gln Thr Glu Glu Pro His Pro  
 145 150 155

<210> 25  
 <211> 496  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 25  
 Met Trp Gln Ile Val Phe Phe Thr Leu Ser Cys Asp Leu Val Leu Ala  
 1 5 10 15

Ala Ala Tyr Asn Asn Phe Arg Lys Ser Met Asp Ser Ile Gly Lys Lys  
 20 25 30

Gln Tyr Gln Val Gln His Gly Ser Cys Ser Tyr Thr Phe Leu Leu Pro  
 35 40 45

Glu Met Asp Asn Cys Arg Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Val Ser Asn Ala  
 50 55 60

ES 2 817 925 T3

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

ES 2 817 925 T3

Lys Ser Gly His Thr Thr Asn Gly Ile Tyr Thr Leu Thr Phe Pro Asn  
 290 295 300

Ser Thr Glu Glu Ile Lys Ala Tyr Cys Asp Met Glu Ala Gly Gly Gly  
 305 310 315 320

Gly Trp Thr Ile Ile Gln Arg Arg Glu Asp Gly Ser Val Asp Phe Gln  
 325 330 335

Arg Thr Trp Lys Glu Tyr Lys Val Gly Phe Gly Asn Pro Ser Gly Glu  
 340 345 350

Tyr Trp Leu Gly Asn Glu Phe Val Ser Gln Leu Thr Asn Gln Gln Arg  
 355 360 365

Tyr Val Leu Lys Ile His Leu Lys Asp Trp Glu Gly Asn Glu Ala Tyr  
 370 375 380

Ser Leu Tyr Glu His Phe Tyr Leu Ser Ser Glu Glu Leu Asn Tyr Arg  
 385 390 395 400

Ile His Leu Lys Gly Leu Thr Gly Thr Ala Gly Lys Ile Ser Ser Ile  
 405 410 415

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

Cys Ile Cys Lys Cys Ser Gln Met Leu Thr Gly Gly Trp Trp Phe Asp  
 435 440 445

Ala Cys Gly Pro Ser Asn Leu Asn Gly Met Tyr Tyr Pro Gln Arg Gln  
 450 455 460

Asn Thr Asn Lys Phe Asn Gly Ile Lys Trp Tyr Tyr Trp Lys Gly Ser  
 465 470 475 480

Gly Tyr Ser Leu Lys Ala Thr Thr Met Met Ile Arg Pro Ala Asp Phe  
 485 490 495

- <210> 26
- <211> 496
- <212> PRT
- <213> Mus musculus

5

ES 2 817 925 T3

<400> 26  
 Met Trp Gln Ile Ile Phe Leu Thr Phe Gly Trp Asp Leu Val Leu Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Ala Tyr Ser Asn Phe Arg Lys Ser Val Asp Ser Thr Gly Arg Arg  
 20 25 30  
 Gln Tyr Gln Val Gln Asn Gly Pro Cys Ser Tyr Thr Phe Leu Leu Pro  
 35 40 45  
 Glu Thr Asp Ser Cys Arg Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Met Ser Asn Ala  
 50 55 60  
 Val Gln Arg Asp Ala Pro Leu Asp Tyr Asp Asp Ser Val Gln Arg Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Val Leu Glu Asn Ile Leu Glu Asn Asn Thr Gln Trp Leu Met Lys  
 85 90 95  
 Leu Glu Asn Tyr Ile Gln Asp Asn Met Lys Lys Glu Met Val Glu Ile  
 100 105 110  
 Gln Gln Asn Val Val Gln Asn Gln Thr Ala Val Met Ile Glu Ile Gly  
 115 120 125  
 Thr Ser Leu Leu Asn Gln Thr Ala Ala Gln Thr Arg Lys Leu Thr Asp  
 130 135 140  
 Val Glu Ala Gln Val Leu Asn Gln Thr Thr Arg Leu Glu Leu Gln Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Gln His Ser Ile Ser Thr Asn Lys Leu Glu Lys Gln Ile Leu Asp  
 165 170 175  
 Gln Thr Ser Glu Ile Asn Lys Leu Gln Asn Lys Asn Ser Phe Leu Glu  
 180 185 190  
 Gln Lys Val Leu Asp Met Glu Gly Lys His Ser Glu Gln Leu Gln Ser  
 195 200 205  
 Met Lys Glu Gln Lys Asp Glu Leu Gln Val Leu Val Ser Lys Gln Ser

ES 2 817 925 T3

210	215	220
Ser Val Ile Asp Glu Leu Glu Lys Lys Leu Val Thr Ala Thr Val Asn 225 230 235 240		
Asn Ser Leu Leu Gln Lys Gln Gln His Asp Leu Met Glu Thr Val Asn 245 250 255		
Ser Leu Leu Thr Met Met Ser Ser Pro Asn Ser Lys Ser Ser Val Ala 260 265 270		
Ile Arg Lys Glu Glu Gln Thr Thr Phe Arg Asp Cys Ala Glu Ile Phe 275 280 285		
Lys Ser Gly Leu Thr Thr Ser Gly Ile Tyr Thr Leu Thr Phe Pro Asn 290 295 300		
Ser Thr Glu Glu Ile Lys Ala Tyr Cys Asp Met Asp Val Gly Gly Gly 305 310 315 320		
Gly Trp Thr Val Ile Gln His Arg Glu Asp Gly Ser Val Asp Phe Gln 325 330 335		
Arg Thr Trp Lys Glu Tyr Lys Glu Gly Phe Gly Ser Pro Leu Gly Glu 340 345 350		
Tyr Trp Leu Gly Asn Glu Phe Val Ser Gln Leu Thr Gly Gln His Arg 355 360 365		
Tyr Val Leu Lys Ile Gln Leu Lys Asp Trp Glu Gly Asn Glu Ala His 370 375 380		
Ser Leu Tyr Asp His Phe Tyr Leu Ala Gly Glu Glu Ser Asn Tyr Arg 385 390 395 400		
Ile His Leu Thr Gly Leu Thr Gly Thr Ala Gly Lys Ile Ser Ser Ile 405 410 415		
Ser Gln Pro Gly Ser Asp Phe Ser Thr Lys Asp Ser Asp Asn Asp Lys 420 425 430		
Cys Ile Cys Lys Cys Ser Gln Met Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Asp		

ES 2 817 925 T3

435

440

445

Ala Cys Gly Pro Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Tyr Pro Gln Lys Gln  
450 455 460

Asn Thr Asn Lys Phe Asn Gly Ile Lys Trp Tyr Tyr Trp Lys Gly Ser  
465 470 475 480

Gly Tyr Ser Leu Lys Ala Thr Thr Met Met Ile Arg Pro Ala Asp Phe  
485 490 495

<210> 27  
<211> 618  
5 <212> ADN  
<213> Artificial

<220>  
10 <223> antígeno quimera de Hbc-mVEGF

<220>  
<221> CDS  
<222> (4)...(609)

15 <400> 27  
gcc atg gat atc gat cct tat aaa gaa ttc gga gct act gtg gag tta 48  
Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu  
1 5 10 15  
ctc tcg ttt ctc ccg agt gac ttc ttt cct tca gta cga gat ctt ctg 96  
Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu  
20 25 30  
gat acc gcc agc gcg ctg tat cgg gaa gcc ttg gag tct cct gag cac 144  
Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His  
35 40 45  
tgc agc cct cac cat act gcc ctc agg caa gca att ctt tgc tgg ggg 192  
Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly  
50 55 60  
gag ctc atg act ctg gcc acg tgg gtg ggt gtt aac ttg gaa gat cca 240  
Glu Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Val Asn Leu Glu Asp Pro  
65 70 75  
gct atc act atc atg cgg atc aaa cct cac caa agc cag cac ata gga 288  
Ala Ile Thr Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Ser Gln His Ile Gly  
80 85 90 95  
ggt gct act agc agg gac ctg gta gtc agt tat gtc aac act aat atg 336  
Gly Ala Thr Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met  
100 105 110

ES 2 817 925 T3

ggt tta aag ttc agg caa ctc ttg tgg ttt cac att agc tgc ctc act 384  
 Gly Leu Lys Phe Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr  
 115 120 125

ttc ggc cga gaa aca gtt cta gaa tat ttg gtg tct ttc gga gtg tgg 432  
 Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp  
 130 135 140

atc cgc act cct cca gct tat agg cct ccg aat gcc cct atc ctg tcg 480  
 Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser  
 145 150 155

aca ctc ccg gag act act gtt gtt aga cgt cga ggc agg tca cct aga 528  
 Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg  
 160 165 170 175

aga aga act cct tcg cct cgc agg cga agg tct caa tcg ccg cgg cgc 576  
 Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg  
 180 185 190

cga aga tct caa tct cgg gaa tct caa tgt tag tgagaggcc 618  
 Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys  
 195 200

<210> 28  
 <211> 201  
 5 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Construcción Sintética

10

<400> 28  
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu  
 1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp  
 20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys  
 35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
 50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Val Asn Leu Glu Asp Pro Ala  
 65 70 75 80

ES 2 817 925 T3

Ile Thr Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Ser Gln His Ile Gly Gly  
85 90 95

Ala Thr Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly  
100 105 110

Leu Lys Phe Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe  
115 120 125

Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile  
130 135 140

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

Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg  
165 170 175

Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg  
180 185 190

Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys  
195 200

<210> 29  
<211> 627  
5 <212> ADN  
<213> Artificial

<220>  
10 <223> antígeno quimera de Hbc-hAng2

<220>  
<221> CDS  
<222> (4)...(618)

15 <400> 29  
gcc atg gat atc gat cct tat aaa gaa ttc gga gct act gtg gag tta 48  
Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu  
1 5 10 15

ctc tcg ttt ctc ccg agt gac ttc ttt cct tca gta cga gat ctt ctg 96  
Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu  
20 25 30

gat acc gcc agc gcg ctg tat cgg gaa gcc ttg gag tct cct gag cac 144  
Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His

ES 2 817 925 T3

			35					40					45					
	tgc	agc	cct	cac	cat	act	gcc	ctc	agg	caa	gca	att	ctt	tgc	tgg	ggg		192
	Cys	Ser	Pro	His	His	Thr	Ala	Leu	Arg	Gln	Ala	Ile	Leu	Cys	Trp	Gly		
			50					55					60					
	gag	ctc	atg	act	ctg	gcc	acg	tgg	gtg	ggt	gtt	aac	ttg	gaa	gat	cca		240
	Glu	Leu	Met	Thr	Leu	Ala	Thr	Trp	Val	Gly	Val	Asn	Leu	Glu	Asp	Pro		
		65					70					75						
	gct	atc	act	cca	cag	agg	cag	aac	aca	aat	aag	ttc	aac	ggc	att	aaa		288
	Ala	Ile	Thr	Pro	Gln	Arg	Gln	Asn	Thr	Asn	Lys	Phe	Asn	Gly	Ile	Lys		
	80					85					90				95			
	tgg	tac	tac	ggt	gct	act	agc	agg	gac	ctg	gta	gtc	agt	tat	gtc	aac		336
	Trp	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Thr	Ser	Arg	Asp	Leu	Val	Val	Ser	Tyr	Val	Asn		
				100						105					110			
	act	aat	atg	ggt	tta	aag	ttc	agg	caa	ctc	ttg	tgg	ttt	cac	att	agc		384
	Thr	Asn	Met	Gly	Leu	Lys	Phe	Arg	Gln	Leu	Leu	Trp	Phe	His	Ile	Ser		
				115					120					125				
	tgc	ctc	act	ttc	ggc	cga	gaa	aca	gtt	cta	gaa	tat	ttg	gtg	tct	ttc		432
	Cys	Leu	Thr	Phe	Gly	Arg	Glu	Thr	Val	Leu	Glu	Tyr	Leu	Val	Ser	Phe		
			130					135					140					
	gga	gtg	tgg	atc	cgc	act	cct	cca	gct	tat	agg	cct	ccg	aat	gcc	cct		480
	Gly	Val	Trp	Ile	Arg	Thr	Pro	Pro	Ala	Tyr	Arg	Pro	Pro	Asn	Ala	Pro		
		145					150					155						
	atc	ctg	tcg	aca	ctc	ccg	gag	act	act	gtt	gtt	aga	cgt	cga	ggc	agg		528
	Ile	Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Glu	Thr	Thr	Val	Val	Arg	Arg	Arg	Gly	Arg		
	160					165				170					175			
	tca	cct	aga	aga	aga	act	cct	tcg	cct	cgc	agg	cga	agg	tct	caa	tcg		576
	Ser	Pro	Arg	Arg	Arg	Thr	Pro	Ser	Pro	Arg	Arg	Arg	Arg	Ser	Gln	Ser		
					180					185					190			
	ccg	cgg	cgc	cga	aga	tct	caa	tct	cgg	gaa	tct	caa	tgt	tag	tgagaggcc			627
	Pro	Arg	Arg	Arg	Arg	Ser	Gln	Ser	Arg	Glu	Ser	Gln	Cys					
				195				200										

<210> 30  
 <211> 204  
 5 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Construcción Sintética

10

<400> 30  
 Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu  
 1 5 10 15

ES 2 817 925 T3

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp  
 20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys  
 35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu  
 50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Val Asn Leu Glu Asp Pro Ala  
 65 70 75 80

Ile Thr Pro Gln Arg Gln Asn Thr Asn Lys Phe Asn Gly Ile Lys Trp  
 85 90 95

Tyr Tyr Gly Ala Thr Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr  
 100 105 110

Asn Met Gly Leu Lys Phe Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys  
 115 120 125

Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly  
 130 135 140

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile  
 145 150 155 160

Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser  
 165 170 175

Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro  
 180 185 190

Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys  
 195 200

- <210> 31
- <211> 7
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 31

Met Arg Ile Lys Pro His Gln  
1 5  
<210> 32  
<211> 17  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus  
<400> 32  
Met Gln Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Ser Gln His Ile Gly Glu  
1 5 10 15

Met  
10 <210> 33  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<400> 33  
Met Gln Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu  
1 5 10 15

Met  
15

**REIVINDICACIONES**

1. Un vector de expresión que codifica un polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B quimérico con una inserción para uso en el tratamiento o la profilaxis del cáncer, en donde la inserción es una secuencia de aminoácidos de hasta 80 aminoácidos de longitud que comprende un epítipo específico de VEGF o de angiopoyetina-2, en donde la secuencia de aminoácidos que comprende el epítipo específico está insertada entre los restos de aminoácidos 80 y 81 del polipéptido del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B, en donde el epítipo específico de VEGF consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 32 o 33, o una secuencia parcial de la misma que tiene 13 o más aminoácidos que contiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 31, y en donde el epítipo específico de angiopoyetina-2 consiste en la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3.
2. El vector de expresión para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el cáncer es un cáncer sólido.
3. El vector de expresión para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el tumor sólido es de cualquier tipo seleccionado del grupo que consiste en cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de útero y cáncer de próstata.
4. El vector de expresión para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la inserción es una secuencia de aminoácidos que comprende el epítipo específico de VEGF definido en la reivindicación 1.
5. El vector de expresión para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 1 o 2.
6. El vector de expresión para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 3.
7. El vector de expresión para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende, además, uno o más epítipos específicos.
8. El vector de expresión para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el vector de expresión se administra varias veces.
9. El vector de expresión para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el vector de expresión se administra 2, 3 o 4 veces.
10. El vector de expresión para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el vector de expresión se administra 3 veces.
11. El vector de expresión para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el vector de expresión se administra 3 veces a intervalos de medio año.
12. El vector de expresión para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende SEQ ID NO: 1 o 2, y el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de útero o cáncer de próstata.
13. El vector de expresión para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende SEQ ID NO: 3, y el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de útero o cáncer de próstata.
14. El vector de expresión para uso de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en donde la secuencia de aminoácidos de la inserción comprende uno o más epítipos específicos.

Fig. 1

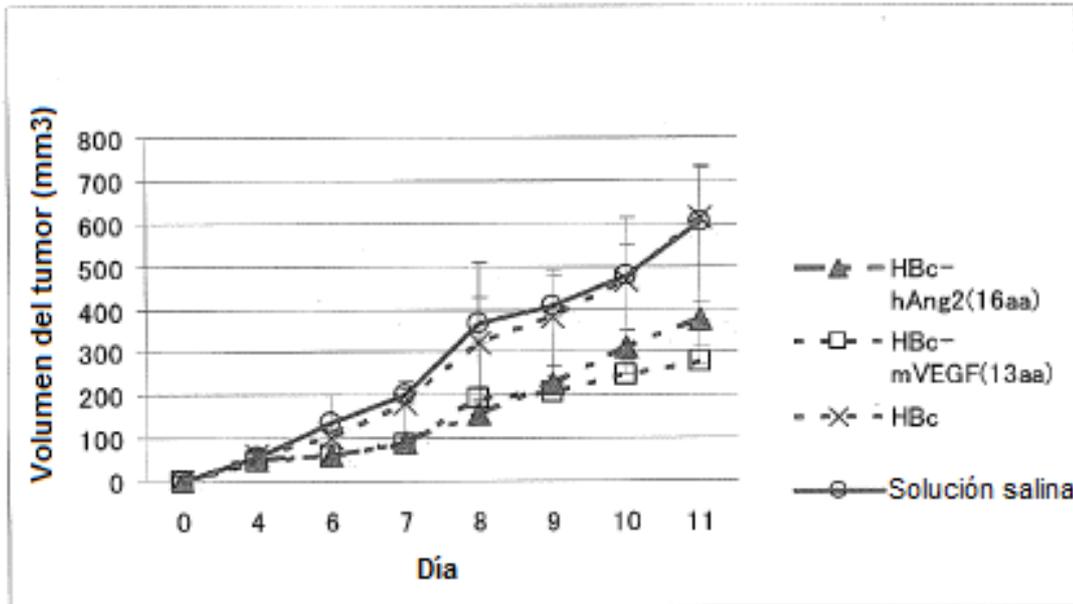


Fig. 2

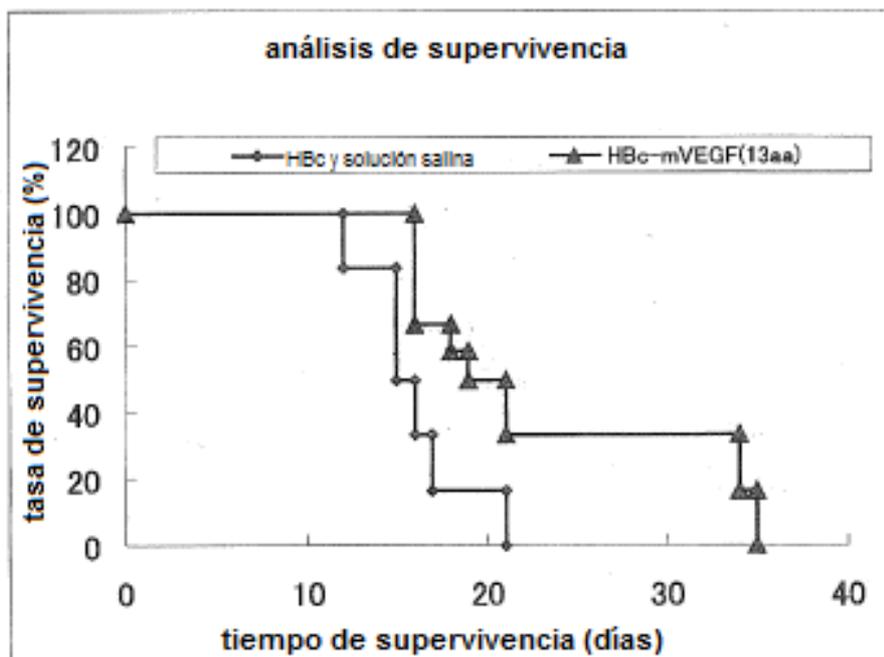


Fig. 3

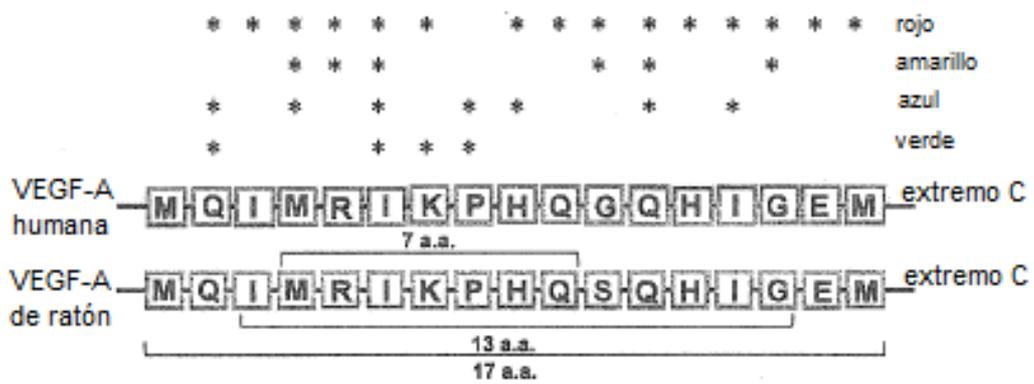


Fig. 4

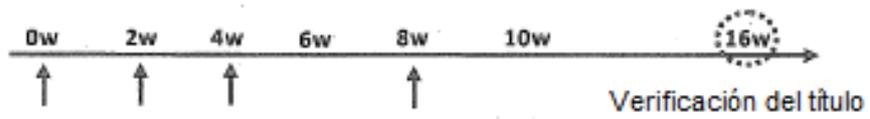


Fig. 5

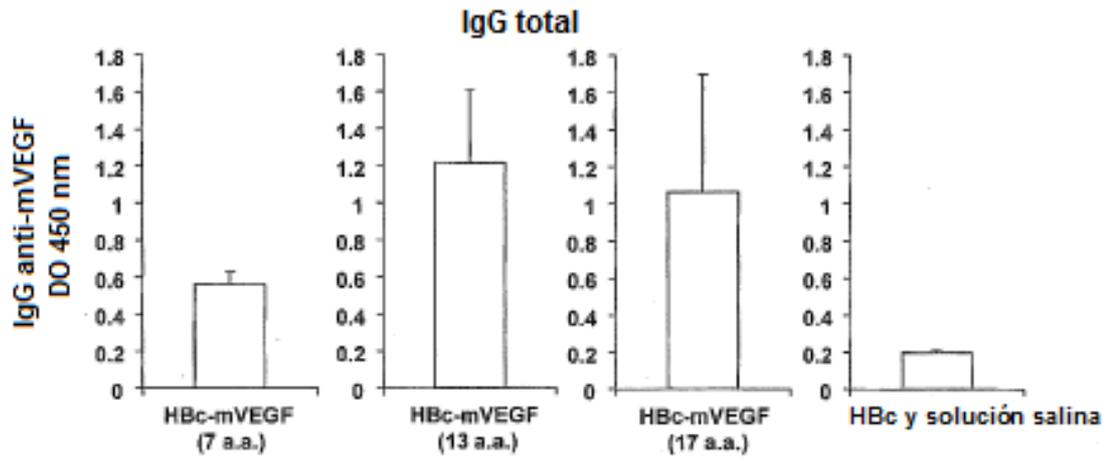


Fig. 6

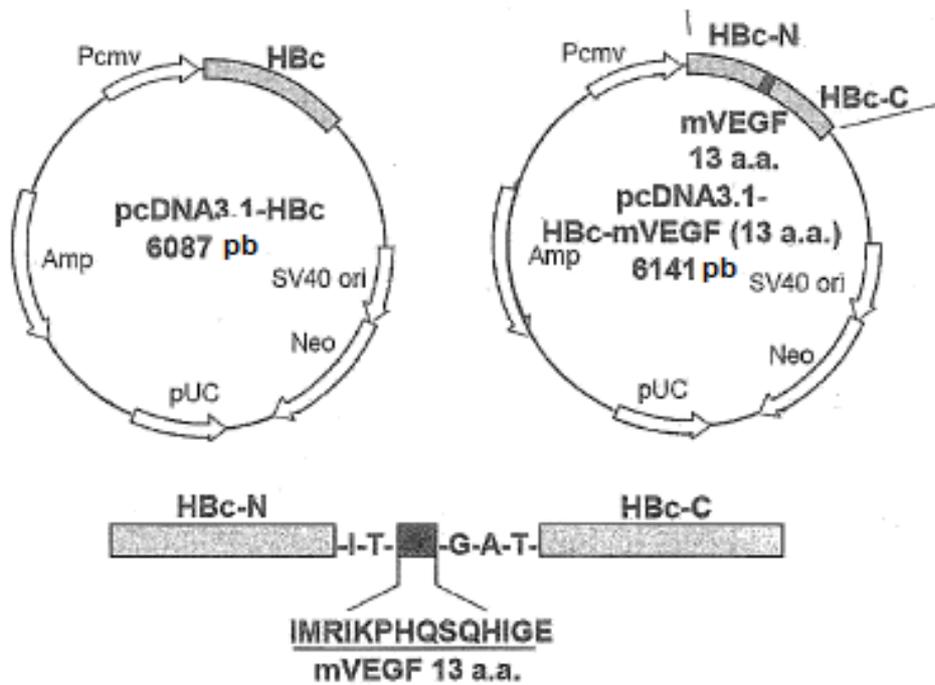


Fig. 7

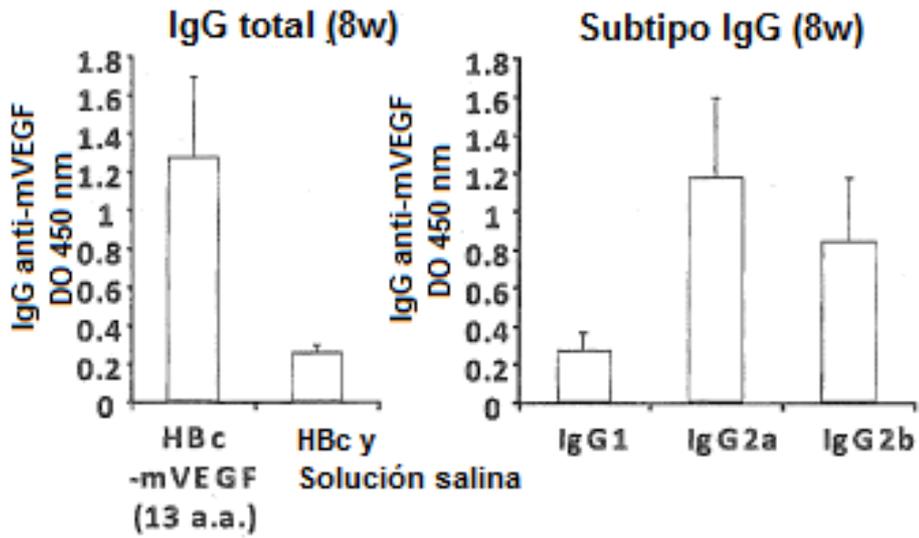


Fig. 8

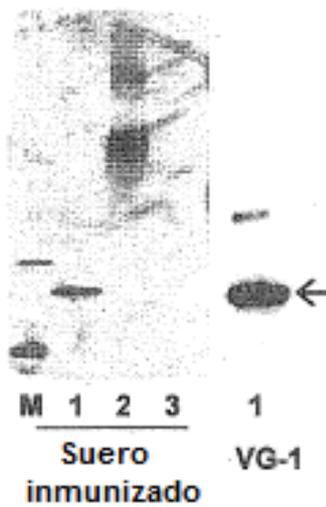


Fig. 9

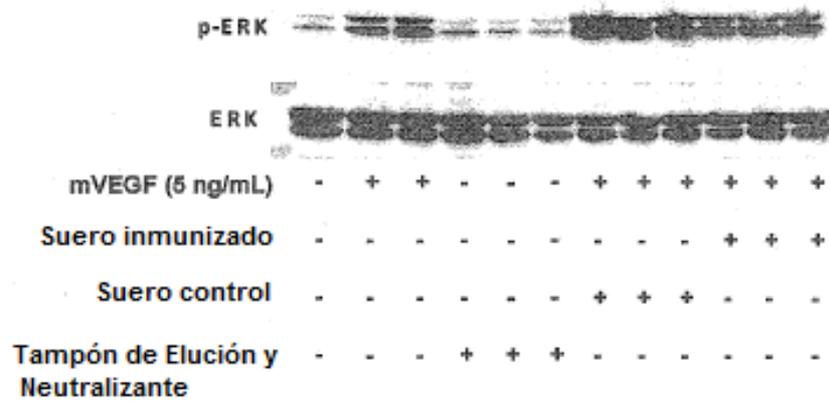


Fig. 10

