



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 341 501**

51 Int. Cl.:
A61K 39/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07835738 .1**

96 Fecha de presentación : **27.04.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2012822**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.01.2009**

54 Título: **Proteína hexon de adenovirus modificado y usos de la misma.**

30 Prioridad: **28.04.2006 US 796078 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.06.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.06.2010

73 Titular/es:
**The Trustees of the University of Pennsylvania
3160 Chestnut Street, Suite 200
Philadelphia, Pennsylvania 19104, US**

72 Inventor/es: **Roy, Soumitra y
Wilson, James, M.**

74 Agente: **Pablos Riba, Julio de**

ES 2 341 501 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

Proteína hexon de adenovirus modificado y usos de la misma.

5 Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a proteínas hexon de adenovirus modificados, útiles en regímenes inmunogénicos.

10 El adenovirus es un virus de ADN de doble cadena con un tamaño de genoma de aproximadamente 36 kilobases (kb), que ha sido utilizado ampliamente para aplicaciones de transferencia genética debido a su capacidad para conseguir una transferencia genética de alta eficiencia en una diversidad de tejidos objetivo, y a su gran capacidad transgén. Convencionalmente, los genes E1 de adenovirus se suprimen y se reemplazan por un casete transgén que consiste en el promotor de elección, la secuencia cADN del gen de interés, y una señal poli A, lo que da como resultado un virus recombinante de replicación defectuosa.

15 Los adenovirus tienen una morfología característica con un cápside icosaédrico que consiste en tres proteínas principales, hexon (II), penton base (III) y una fibra abultada (IV), junto con un número de otras proteínas menores, VI, VII, IX, IIIa, y IVa2 [W.C. Russell, J. Gen. Virol., 81:2573-2604 (Nov. 2000)]. El genoma del virus es un ADN lineal, de doble cadena, con una proteína terminal sujeta de forma covalente a los terminales 5', que tienen repeticiones 20 terminales invertidas (TRs). El ADN del virus está asociado íntimamente con la proteína VII altamente básica y con un pequeño péptido conocido como mu. Otra proteína, V, está empaquetada con este complejo de ADN-proteína, y proporciona un enlace estructural con el cápside a través de la proteína VI. El virus contiene también una proteína codificada de virus, la cual es necesaria para el procesamiento de algunas de las proteínas estructurales para producir virus infecciosos maduros.

25 Ya se ha descrito el uso de adenovirus para regímenes de vacuna y de suministro genético. Los adenovirus recombinantes han sido descritos para el suministro de moléculas a células huésped. Véase la Patente U.S. 6.083.716, la cual describe el genoma de dos adenovirus de chimpancé, C1 y C68 (Pan9). Véase también la Publicación de Patente Internacional núm. WO 02/33645, la cual describe vectores construidos a partir de los genomas de adenovirus de chimpancé SAd22/Pan5, Pan6, Pan7, así como también de adenovirus de simio SV1, SV25 y SV39; y la Publicación 30 de Patente Internacional núm. WO 04/16614, la cual describe vectores de adenovirus híbridos y vectores construidos a partir del adenovirus de simio SA18.

35 Se ha propuesto con anterioridad una diversidad de modificaciones en los adenovirus. Tales modificaciones incluyen inserciones en la proteína de fibra del antiviral [Curiel, D.T., Ann N.Y. Acad. Sci., 886-158-71 (1999)]; inserciones en la proteína penton de fijación de objetivo [Einfield, D.A. *et al.*; J. Virol. 73:0130-6 (1999)]; inserciones en la proteína IX de adenovirus a efectos de fijación de objetivo [[Dmitriev, I.P. *et al.*, (2002) J. Virol. 76:6893-9 (2002=]; y modificaciones de la hexon de adenovirus a efectos de fijación de objetivo [Vigne, E. *et al.*, J. Virol. 73:5156-61 (1999)]; Solicitud de Patente Publicada U.S. núm. US2003143209 de Latta, Martine, *et al.*], así como para la inserción 40 de un epítipo antigénico.

Más en particular, la inserción de péptidos extraños en la proteína hexon del serotipo 2 de adenovirus humano (HAdV-2), ha sido descrita por Crompton *et al.*, [(1994) J. Gen Virol. 75:133-9 (1994)]. Con referencia a la estructura del HAdV-2 informada por Roberts *et al.* [Roberts *et al.*, (1986), Science. 232:1148-51], los autores sustituyeron 17 45 aminoácidos de la hexon del HAdV-2 (281-297) por 17 péptidos de aminoácido que hospedaban un determinante de poliovirus. La región de la hexon en la que se realizó esta sustitución, va a ser mencionada ahora como el bucle DE1 entre los elementos laminares beta β_7 y β_8 [Rux JJ, *et al.*, (2003) J. Virol. 77:9553-66].

El trabajo de Crompton *et al.* (1994), fue reproducido por Vigne *et al.*, citado anteriormente, en el serotipo 5 de adenovirus humano (HAdV-5), el cual pertenece al mismo subgrupo serológico que el HAdV-2, y está relacionado 50 cercanamente con el mismo. Más en particular, Vigne *et al.*, insertó péptidos en la hexon del HAdV-5, en una posición idéntica a la utilizada por Crompton *et al.* (en base a un alineamiento de proteína de la hexon de HAdV-2 con la hexon de HAdV-5). Vigne *et al.*, sustituyó 14 residuos de hexon de HAdV-5 (269-281) por un péptido de poliovirus, así como un ligando de fijación de objetivo de la integrina.

55 Las regiones hipervariables de hexon de antiviral han sido descritas como regiones cuyas secuencias difieren considerablemente entre serotipos (Crawford-Miksza y Schnurr DP. El análisis de 15 proteínas hexon de adenovirus revela la localización y la estructura de siete regiones hipervariables que contienen residuos de serotipo específico, J. Virol. 1996, 70:1836-44; Rux *et al.*, 2003).

60 El documento WO 2005/026337 describe un vector adenoviral dotado de un tropismo para células Car, y utilizado para transferencia de gen. El vector comprende al menos un área estructural débilmente manchada de una proteína de cápside, y un péptido heterólogo dotado de una unidad (W/R) X₁X₂D. El vector se utiliza para el tratamiento de cánceres, enfermedades musculares y mucoviscidosis.

65 Lo que se necesitan son métodos alternativos de suministro de moléculas a las células huésped.

Sumario de la invención

Según un aspecto, la invención proporciona un adenovirus que tiene un cápside que comprende una proteína hexon de adenovirus modificado, comprendiendo dicha proteína hexon de adenovirus modificado una supresión en al menos una región hipervariable de una proteína hexon de adenovirus, elegida a partir de la región 1 hipervariable y/o la región 4 hipervariable, y una secuencia de aminoácido exógeno que comprende una secuencia de aminoácido inmunogénico en la citada región hipervariable, con la provisión de que dicha secuencia de aminoácido exógeno es distinta de la secuencia de adenovirus.

Según otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento de alteración de un vector de adenovirus, comprendiendo el procedimiento la etapa de proporcionar un adenovirus según se ha descrito en lo que antecede, comprendiendo la proteína hexon de adenovirus modificado de dicho adenovirus una secuencia de fijación de objetivo insertada en la supresión realizada en la región hipervariable.

La invención hace que resulte posible incrementar la respuesta inmune a una molécula inmunogénica suministrada por medio de un vector adenoviral mediante la provisión a un sujeto de un adenovirus que tiene un cápside con una proteína hexon de adenovirus modificado, según se ha descrito en lo que antecede, conteniendo además dicho adenovirus una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula inmune empaquetada en el cápside.

Todavía según otro aspecto, la invención proporciona una composición inmunogénica de auto-preparación que comprende un adenovirus que tiene un cápside que comprende una proteína hexon de adenovirus modificado, según se ha descrito anteriormente, en la que dicha secuencia de aminoácido exógeno es una primera secuencia de aminoácido; en la que dicho adenovirus comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica una segunda secuencia de aminoácido inmunogénico.

Otros aspectos y ventajas de la invención se pondrán más fácilmente de manifiesto a partir de la descripción detallada que sigue de la invención.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un mapa del plásmido pNEBAsc, que resulta de la subclonación del genoma de tipo 5 del adenovirus humano (HAdV-5) que alberga la región de codificación de hexon en el plásmido pNEB 193 (adquirido en New England Biolabs);

La Figura 2A es un mapa del plásmido (p) SRAd5eGFP, el cual es un clon molecular de un vector de HAdV-5 suprimido en E1 y E3, que contiene la hexon de adenovirus natural y el gen marcador de proteína fluorescente verde;

La Figura 2B es un mapa del pH5sCD4eGFP, el cual es un clon de molécula de plásmido que contiene el esqueleto de HAdV-5, y de la hexon mutada que contiene el epítipo CD4 de la proteína *spike* del coronavirus SARS;

La Figura 2C es un mapa del pH5sCD8eGFP, el cual es un clon de molécula de plásmido que contiene el genoma de HAdV-5 suprimido en E1 y E3, y de la hexon mutada que contiene el epítipo CD8 de la proteína *spike* del coronavirus SARS;

La Figura 2D es un mapa del pH5-2F5eGFP, el cual es un clon de molécula de plásmido que contiene el genoma de HAdV-5 suprimido en E1, E3, y de la hexon mutada que contiene la región de epítipo HIV 2F5;

La Figura 2E es un mapa del pH5-hexBspeEI, el cual es un clon de molécula de plásmido que contiene el genoma de HAdV-5 suprimido en E1, E3, y de la hexon mutada que no contiene ningún inserto;

La Figura 3 es un alineamiento de la porción de la proteína hexon de adenovirus que contiene las regiones hipervariables (HVR) 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 para el adenovirus SAdV-23 de simio (bajo la antigua nomenclatura, Pan6 o C6); SAdV-22 (bajo la antigua nomenclatura, C68). Se ha mostrado la localización del HVR para estas secuencias, con la numeración relativa a cada una de las secuencias representadas. Para el SAdV-23, el fragmento es el aminoácido 131 a 495 de ID DE SEQ Núm. 3; para el SAdV-22, el fragmento es el aminoácido 131 a 486 de ID DE SEQ Núm. 4; para el SAd24, el fragmento es el aminoácido 131 a 485 de ID DE SEQ Núm. 5; para el SAd25, el fragmento es el aminoácido 131 a 486 de ID DE SEQ Núm. 6; para el hAd5, el fragmento es el aminoácido 131 a 509 de ID DE SEQ Núm. 2.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona una proteína hexon de adenovirus modificado. Tal proteína hexon de adenovirus modificado posee una supresión parcial o completa en al menos una región hipervariable elegida entre HVR1 y HVR4. La proteína hexon de adenovirus modificado puede tener una o más molécula(s) exógena(s) elegida(s) de forma independiente, insertada(s) en la misma. En una realización, se inserta una molécula exógena en el sitio de las supresiones de al menos la región 1 hipervariable o la región 4 hipervariable, con la provisión de que la molécula exógena no se deriva de un adenovirus. Alternativamente, una proteína hexon de adenovirus modificado puede carecer de inserto en la región de una supresión específica.

Se puede utilizar una proteína hexon de adenovirus modificado para generar un cápside de adenovirus y/o una partícula de adenovirus infeccioso. De ese modo, un cápside adenoviral modificado, según se utiliza en la presente descripción, se refiere a un cápside de adenovirus que contiene una proteína hexon de adenovirus modificado según se ha descrito en la presente memoria.

En una realización, un cápside de adenovirus modificado de la invención, puede estar vacío, es decir, carecer de un genoma viral y/o no contener ningún casete de expresión. Un cápside adenoviral modificado de ese tipo puede estar formulado en una composición para su suministro en forma de proteína. Alternativamente, tal cápside adenoviral modificado puede estar formulado en una composición para su suministro mediante un vector adecuado para expresión en una célula huésped.

En otra realización, un cápside adenoviral modificado se produce en forma de partícula adenoviral que tiene un cápside de adenovirus modificado que tiene empaquetado en el mismo una o más moléculas heterólogas para su suministro a una célula. Salvo que se especifique otra cosa, los vectores de adenovirus modificado según se utilizan en la presente descripción se refieren a tales partículas adenovirales.

La región 1 hipervariable (HVR1) y la región 4 hipervariable (HVR4), han sido identificadas en los adenovirus del subgrupo C humano. La estructura de estas regiones no está definida, puesto que son estructuras de las otras regiones hipervariables del genoma del subgrupo C de adenovirus, es decir, HVR2, HVR3, HVR5 y HVR7. La proteína hexon del serotipo 2 de adenovirus humano se reproduce en ID DE SEQ Núm. por motivos de conveniencia. La proteína hexon del serotipo 5 de adenovirus humano se reproduce en ID DE SEQ Núm. 2 por razones de conveniencia.

Sin deseos de sujeción a ninguna teoría, los inventores creen que las proteínas hexon de adenovirus modificado de la invención son ventajosas debido a que estas regiones HVR de la hexon varían significativamente de longitud y secuencia entre adenovirus diferentes, proporcionando con ello una construcción flexible que tiene tolerancia para la inserción de una diversidad de moléculas de longitudes diferentes. De ese modo, la invención proporciona una construcción altamente flexible que permite la inserción de una diversidad de moléculas heterólogas útiles para la fijación de objetivo y para el incremento de respuestas inmunes.

El término “funcional” se refiere a un producto (es decir, una proteína o un péptido) que realiza su función natural, aunque no necesariamente al mismo nivel que el producto natural. El término “funcional” puede referirse también a un gen que codifica un producto, y a partir del cual puede ser expresado un producto deseado. Una “supresión funcional” se refiere a una supresión que destruye la capacidad del producto para llevar a cabo su función natural.

Según se utiliza aquí, las supresiones que aquí se describen para la HVR pueden incluir la eliminación de todas, o de una parte de, las secuencias de aminoácido que forman la HVR en la proteína hexon. Por ejemplo, para una HVR de 45 aminoácidos (por ejemplo, las HVR1 de Ad2 o de Ad5), se puede realizar una supresión de 1 a 45 aminoácidos, por ejemplo se puede hacer de 1 a 5, al menos 10, al menos 25, al menos 30, al menos 35, o más aminoácidos. En una realización, se retiene al menos un aminoácido del terminal-N y al menos un aminoácido del terminal-C de la región hipervariable natural.

Según se utiliza a través de esta descripción y de las reivindicaciones, los términos “comprender” y “contener”, y sus variantes incluyendo “comprende”, “contiene” y “conteniendo”, entre otras variantes, son inclusivos de otros componentes, elementos, integrantes, etapas y similares. El término “consiste en” o “consistente en”, son exclusivos de otros componentes, elementos, integrantes, etapas y similares.

En una realización, un adenovirus modificado posee un cápside que contiene una supresión de HVR1 y/o HVR4. En otra realización, un adenovirus modificado posee un cápside que contiene una modificación en una o en ambas regiones citadas, y también en otra HVR seleccionada, por ejemplo HVR2, HVR3, HVR5, HVR6 o HVR7.

La región 1 hipervariable está situada dentro de los residuos 139 a 167, o de los residuos 147 a 162, de la proteína hexon en HAdV-5 [ID DE SEQ Núm. 2] y HAdV-2 [ID DE SEQ Núm. 1], en base a la numeración de residuo del HAdV-2 [ID DE SEQ Núm. 1, R. J. Roberts *et al.* Una secuencia de consenso para el genoma de adenovirus-2, p. 1-51, en W. Doerfler (ed.), ADN de adenovirus. Martinus Nijhoff Publishing, Boston]. La región 4 hipervariable está situada dentro de los residuos 222 a 271 de la proteína hexon de HAdV-2, en base al mismo esquema de numeración. Véase, por ejemplo, la Figura 3 en cuanto a un ejemplo de alineamiento que proporciona las posiciones de HVR de otros adenovirus en relación con su propia numeración. La preparación de tales alineamientos es bien conocida en el estado de la técnica.

Dada esta información, un experto en la materia puede determinar fácilmente las regiones hipervariables correspondientes que utilizan alineamientos de las secuencias hexon de diferentes secuencias de adenovirus, incluyendo las de serotipos diferentes dentro de los adenovirus del subgrupo C humano, o las de serotipos fuera de los adenovirus del subgrupo C humano. Véase, por ejemplo, Crawford-Miksza y Schnurr, citados anteriormente, y Rux JJ. *et al.*, (2003), citado anteriormente, respecto a un alineamiento ilustrativo de las secuencias de varios adenovirus y la posición de las regiones hipervariables de los mismos. Otras secuencias adecuadas de adenovirus pueden ser seleccionadas fácilmente a partir de otras secuencias humanas y no humanas, que han sido descritas.

Según se describe aquí, los alineamientos se llevan a cabo utilizando uno cualquiera de una diversidad de Programas de Alineamiento de Secuencia Múltiple disponibles públicamente o comercialmente, tales como el "Clustal W", accesible a través de Servidores Web por Internet. Alternativamente, se pueden utilizar también las utilidades del Vector NTI. Existe también un número de algoritmos conocidos en el estado de la técnica que pueden ser utilizados para medir la identidad de secuencia de nucleótido, incluyendo los contenidos en los programas descritos anteriormente. En otro ejemplo, las secuencias de polinucleótido pueden ser comparadas utilizando Fasta, un programa en GCG Versión 6.1. Fasta proporciona alineamientos y porcentajes de identidad de secuencia de las regiones de mejor solapamiento entre las secuencias de interrogación y búsqueda. Por ejemplo, el porcentaje de identidad entre secuencias de ácido nucleico puede ser determinado utilizando Fasta con sus parámetros por defecto (un tamaño de palabra de 6 y un factor NOPAM para la matriz de puntuación según se prevé en GCG Versión 6.1. Programas similares se encuentran disponibles para realizar alineamientos de aminoácidos. En general, estos programas se utilizan en entornos por defecto, aunque un experto en la materia puede alterar estos entornos según sea necesario. Alternativamente, un experto en la materia puede utilizar otro algoritmo o programa de ordenador que proporcione al menos el nivel de identidad o alineamiento como el proporcionado por los algoritmos y programas referenciados.

Adenovirus adecuados se encuentran disponibles en American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, US (ATCC), una variedad de fuentes académicas y comerciales, o las regiones deseadas pueden ser sintetizadas utilizando técnicas conocidas con referencia a secuencias publicadas en la literatura disponible a partir de bases de datos (por ejemplo, GenBank, etc.). Ejemplos de adenovirus adecuados incluyen, sin limitación, serotipos 2 de adenovirus humano [secuencia publicada por R.J. Roberts *et al.* Una secuencia de consenso para el genoma de adenovirus-2, p. 1-51, en W. Doerfler (ed.) ADN de adenovirus. Martinus Nijhoff Publishing Boston, tipo 3, tipo 4 [secuencias para genoma de HAdV-4 descrito por S. Jacobs *et al.*, J. Gen. Virol. 85 (2004), 3361-3366, descrito en GenBank/EMBL/DBJ, número de acceso AY487947], tipo 5 [secuencia publicada por R. Kinlock *et al.*, 1984. Hexon de adenovirus: comparación de secuencia de los serotipos 2 y 5 del subgrupo C. J. Biol. Chem. 259: 6431-6436], AV1 y AV6 [P. Print-Akerblom y T. Adrian, 1993, J. Virol. 144:117-121], 7, 12 [secuencia publicada por J. Sprengel *et al.* J. Virol. 68:379-389 (1994)], 40 [secuencia publicada por C.I. Toogood *et al.* J. Gen Virol. 70:3203-3214 (1989)] e incluyendo además cualquiera de los tipos humanos identificados en la actualidad [véase, por ejemplo, Horwitz, "Adenoviridae y Su Replicación", en VIROLOGY, 2ª ed., pp. 1679-1721 (1990)], los cuales pueden ser cultivados en la célula deseada. De forma similar, se pueden emplear adenovirus que se sabe que infectan a los primates no humanos (por ejemplo, chimpancés, rhesus, macacos y otras especies de simios) u otros mamíferos no humanos y que crecen en la célula deseada, en las construcciones de vector de esta invención. Tales serotipos incluyen, sin limitación, adenovirus de chimpancés SAd22/Pan5 [VR-591], SAd23/Pan6 [VR-592], SAd24/Pan7 [VR-593], y SAd25/C88 [Pan9, acceso de GenBank núm. AF394196] y Patente U.S. núm. 6.083.716]; y adenovirus de simio incluyendo, sin limitación, el SV1 [VR-195]; SV25 [SV-201]; SV35; SV15; SV-34; SV-36; SV-37; y adenovirus de babuino [VR-275], entre otros. Las secuencias de SAd22/Pan5 (también denominadas C5), SAd23/Pan6 (también denominada C6), SAd24/Pan7 (también denominada C7), SV1, SV25 y SV39, han sido ya descritas [WO 03/046124, publicada el 5 de Junio de 2003, también publicada como US-2005-0069866-A1, 31 de Marzo de 2005].

Véase, también, la Publicación de Patente Internacional núm. WO 04/16614, la cual describe vectores híbridos de adenovirus y vectores contruidos a partir de adenovirus SA18 de simio. Las secuencias de las proteínas hexon de SAd22/Pan5 [SEQ Núm. 4], SAd23/Pan6 [ID DE SEQ Núm. 3], SAd24/pan7 [ID DE SEQ Núm. 5], SV1 [ID DE SEQ Núm. 10], SV25 [ID DE SEQ Núm. 7], SV39 [ID DE SEQ Núm. 8] y SA18 [ID DE SEQ Núm. 9], se reproducen en la presente memoria. Sin embargo, un experto en la materia comprenderá que se pueden seleccionar fácilmente regiones comparables derivadas de otras cepas de adenovirus, y ser utilizadas en la presente invención en lugar de (o en combinación con) estos serotipos.

Utilizando estas técnicas, se pueden identificar también regiones hipervariables en otras secuencias de adenovirus que sean análogas a la HVR1 y/o la HVR4, en el subgrupo C de adenovirus. Las hexon de adenovirus modificados de la invención contienen, adicionalmente a estas modificaciones, otras modificaciones en una o más de las otras regiones hipervariables (HVR).

En una realización, se realiza una supresión funcional en una HVR seleccionada, y no se inserta ninguna molécula en la misma. Esto puede ser deseable por una diversidad de razones, como por ejemplo, albergar un inserto grande en otra HVR, o en cualquier sitio de un cápside. Tal proteína hexon de adenovirus de funcionalidad suprimida, puede ser utilizada para producir una partícula adenoviral, así como para otros usos.

En otra realización, la proteína hexon de adenovirus modificado contiene una molécula exógena insertada en la supresión de la región HVR. Tal molécula exógena puede ser útil para alterar el objetivo de la proteína hexon de adenovirus modificado (o un cápside que contenga a la misma en forma de partícula viral o que esté vacío), para alterar la inmunogenicidad del cápside de adenovirus modificado, y/o para inducir una respuesta inmune a la secuencia de aminoácido exógeno o una molécula reactiva inmunológicamente cruzada.

En una realización, la molécula exógena insertada en la proteína hexon de adenovirus es una secuencia de aminoácido exógeno de al menos dos, al menos cuatro, al menos ocho, al menos diez, al menos quince, al menos veinte, al menos veinticinco, o más residuos de aminoácido de longitud, o más larga, cuya secuencia completa no se encuentra en una posición funcionalmente equivalente en la secuencia de aminoácido del adenovirus de tipo silvestre, o más en particular, en la proteína de componente viral de tipo silvestre que ha de ser diseñada. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácido exógeno puede ser también no-natural en el sentido de que no se produce en la naturaleza,

es decir, un polipéptido que se ha diseñado o se ha preparado de forma sintética o artificial. Se comprenderá que, en el contexto de una molécula de ácido nucleico que codifica la proteína hexon, la molécula exógena puede estar en forma de secuencia de ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácido deseada.

5 En una realización, la molécula exógena es una secuencia de aminoácido útil para fijación de objetivo. Según se utiliza aquí, una “secuencia de fijación de objetivo” es una secuencia de aminoácido específico que actúa como una señal para dirigir el adenovirus modificado. De ese modo, en una realización, un cápside de adenovirus puede ser modificado para enlazar una célula objetivo deseada con la que no enlaza el virus natural (de tipo silvestre) de la que deriva, o puede ser modificado para que tenga un enlace más restringido específicamente que el virus de tipo
10 silvestre. En otras palabras, para que enlace solamente con un subconjunto o tipo seleccionado o particular de célula objetivo entre una población más amplia de tipos de célula objetivo con los que enlaza el virus de tipo silvestre. En otra alternativa, el adenovirus conserva alguna capacidad para enlazar con su objetivo original, y se proporciona un objetivo adicional mediante la secuencia de aminoácido exógeno. El tropismo del virus se ve así alterado. Ahí, mediante “tropismo alterado” se indica que el virus modificado muestra una especificidad de enlace de célula objetivo
15 que está alterada, o es diferente de la del virus de tipo silvestre del que deriva.

Ejemplos de moléculas exógenas útiles pueden incluir, por ejemplo, aminoácidos cargados positivamente (por ejemplo, residuos de lisina o residuos de caseína), citoquinas tales como interferones o interleuquinas; linfoquinas; receptores de membrana tales como los receptores reconocidos por organismos patógenos (virus, bacterias o parásitos),
20 con preferencia por el virus HIV (virus de inmunodeficiencia humana); factores de coagulación tales como el factor VIII y el factor IX; distrofinas; insulina; proteínas que participan directa o indirectamente en canales iónicos celulares, tales como la proteína CFTR (receptor de conductancia transmembrana de fibrosis quística); ARNs anti-sentido, o proteínas capaces de inhibir la actividad de una proteína producida por un gen patógeno que está presente en el genoma de un organismo patógeno, o proteínas (o genes que codifican a las mismas) capaces de inhibir la actividad de un gen
25 celular cuya expresión está desregulada, por ejemplo un oncogén; una proteína que inhibe la actividad de una enzima, tal como la α 1-antitripsina o un inhibidor de proteasa viral, por ejemplo; variantes de proteína patogénicas que han sido mutadas con el fin de que impartan su función biológica, tal como, por ejemplo, variantes trans-dominantes de la proteína tat del virus HIV que sean capaces de competir con la proteína natural para enlazar con la secuencia objetivo, impidiendo con ello la activación del HIV; epítopes antigénicos con el fin de incrementar la inmunidad de la célula huésped; proteínas complejas de las clases I y II de gran histocompatibilidad; así como las proteínas que son induc-
30 toras de estos genes; anticuerpos; genes que codifican inmunotoxinas; toxinas; factores de crecimiento u hormonas de crecimiento; receptores celulares y sus ligandos; supresores de tumores; proteínas involucradas en enfermedades cardiovasculares incluyendo, aunque sin limitación, los oncogenes; factores de crecimiento que incluyen, aunque sin limitación, el factor de crecimiento de fibroblasto (FGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), y el factor de crecimiento del nervio (NGF); e-nos, genes supresores de tumores que incluyen, aunque sin limitación, el
35 gen Rb (retinoblastoma); lipoproteína lipasa; superóxido dismutasa (SOD); catalasa; oxígeno y eliminadores de radicales libres; apolipoproteínas; y pai-1 (inhibidor-1 de activador de plasminógeno); enzimas celulares o las producidas por organismos patogénicos; genes suicidas; hormonas, receptores de células T (epítopes, epítopes de anticuerpos, affibodies y ligandos identificados a partir de varias librerías de proteínas.

40 En una realización, un ligando para un receptor de superficie de célula es la molécula exógena. Ejemplos de ligandos adecuados incluyen, por ejemplo, los anticuerpos, o fragmentos o derivados de anticuerpos, anticuerpos de cadena simple (ScFv), anticuerpos de dominio simple, y unidades de reconocimiento mínimo de anticuerpos tales como regiones de determinación complementaria (CDRs) o fragmentos Fv. Tal secuencia de aminoácido puede ser
45 obtenida en, o derivada del sitio de enlace antígeno o de una (o más) región(es) de enlace o reconocimiento de un anticuerpo, y de tal modo que un anticuerpo puede ser natural o sintético.

En otra realización, una proteína viral es la molécula exógena. Por ejemplo, la enzima HSV-1 TK tiene mayor afinidad en comparación con la enzima TK celular respecto a ciertos análogos de nucleótido (tal como aciclovir o
50 ganciclovir).

Todavía en otra realización, la molécula exógena es un inmunógeno. Las moléculas inmunogénicas pueden incluir las que inducen una respuesta celular inmune, una respuesta de anticuerpo, o ambas. Las moléculas de vacuna incluyen las que inducen una respuesta inmune que es protectora frente a una infección adicional con el patógeno y/o protectora
55 frente a los síntomas de la enfermedad u otra condición. Un antígeno se refiere a una molécula que es capaz de inducir una respuesta inmune humoral (anticuerpo).

Típicamente, las moléculas inmunogénicas incluyen una respuesta inmune específica a un virus específico, un organismo (por ejemplo, bacterias, hongos, levaduras), u otra fuente (por ejemplo, un tumor) o a una fuente o un
60 organismo reactivo cruzado. Sin embargo, en determinadas realizaciones, puede ser deseable utilizar moléculas inmunogénicas que induzcan una respuesta inmunomodulatoria no específica, por ejemplo, aumentando la respuesta inmune. Por ejemplo, una molécula de ese tipo podría ser utilizada como principio en un régimen de vacuna, o como adyuvante, dependiendo de si se suministra antes de, o junto con, una molécula contra la que se desea una respuesta
65 inmune.

Los inmunógenos adecuados incluyen, por ejemplo, un epítipo de célula T (por ejemplo, el epítipo CD4 o CD8), un epítipo de anticuerpo, o un péptido, un polipéptido, una enzima, u otro fragmento derivado de bacterias, hongos, levaduras y/o virus. Las fuentes adecuadas de inmunógenos incluyen, *inter alia*, los productos de los transgenes inmu-

nogénicos descritos en la presente memoria. Todavía, otros inmunógenos resultarán evidentes para los expertos en la materia.

De ese modo, según un aspecto, la invención proporciona una proteína hexon de adenovirus modificado, que ha sido modificada para que contenga una o más moléculas exógenas. Cuando se utiliza más de una molécula exógena, las moléculas pueden ser iguales. En otra realización, las moléculas exógenas pueden ser diferentes. Por ejemplo, una proteína hexon de adenovirus modificado puede contener una molécula exógena en una región que modifica el objetivo natural y una molécula exógena en otra región que modifica los epítopes de neutralización natural y/o induce una respuesta inmune. En otro ejemplo, una proteína hexon de adenovirus modificado puede contener más de un tipo de inmunógeno exógeno. Muchas otras combinaciones de moléculas exógenas adecuadas, que pueden ser elegidas de forma independiente, resultarán evidentes para un experto en la materia. Según resultará fácilmente evidente para un experto en la materia, algunas moléculas pueden funcionar como moléculas de fijación de objetivo y como inmunógenos.

Las técnicas para la preparación de tales moléculas exógenas (por ejemplo, secuencias de aminoácido) y para introducir las en los virus o componentes virales, son bien conocidas en el estado de la técnica y han sido ampliamente descritas en la literatura. Así, por ejemplo, técnicas de biología molecular o de ingeniería genética se encuentran fácilmente disponibles, para preparar o construir secuencias genéticas susceptibles de ser expresadas como un virus, o un componente viral, modificado de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico o una secuencia de nucleótido que codifica una proteína de un componente viral, puede ser modificada con el fin de introducir una secuencia de nucleótido que codifique la secuencia exógena de aminoácido, por ejemplo con el fin de codificar una proteína de fusión que comprenda toda, o parte de, la proteína adenoviral y la secuencia exógena de aminoácido.

Puede ser conveniente, o necesario, que cualquier motivo o característica adicional o externa sea incorporada en el virus por medio de una secuencia “enlazadora”. Tales técnicas de construcción para la incorporación de ADN o de secuencias de aminoácido, por medio de la fijación a una secuencia enlazadora, son bien conocidas en el estado de la técnica, y están dentro de la experiencia rutinaria de un ingeniero genético/ proteínico.

En otra realización, la invención utiliza el cápside de adenovirus modificado que contiene la molécula exógena para la producción de una partícula de adenovirus infeccioso, la cual puede contener un casete de expresión portador de una molécula deseada. De forma adecuada, la molécula portada por el casete de expresión codifica un producto útil para inducir una respuesta inmune al producto o a una reacción cruzada a la molécula en el mismo.

En un ejemplo, esta realización permite que el cápside de adenovirus modificado funcione como adyuvante para la molécula suministrada por el casete de expresión. En otro ejemplo, esta realización permite que el cápside de adenovirus modificado funcione como construcción auto-preparadora para la molécula suministrada por el casete de expresión.

40 *Vectores Adenovirales Modificados*

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende un cápside adenoviral modificado.

Según se utiliza aquí, un cápside adenoviral modificado se refiere a un cápside de adenovirus que contiene una proteína hexon de adenovirus modificada según se ha descrito en lo que antecede. Adicionalmente, un cápside de adenovirus modificado puede contener otras modificaciones. Esas otras modificaciones pueden incluir otras modificaciones en la proteína hexon, u otras proteínas de cápside, por ejemplo, la proteína de fibra o la penton. Por ejemplo, una hexon de adenovirus modificado puede contener proteínas hexon alteradas según se describe en la Patente U.S. núm. 5.922.315. En este procedimiento, al menos una región de bucle de la hexon de adenovirus se cambia por al menos una región de bucle de otro serotipo de adenovirus. Aún más, se han descrito otras modificaciones adecuadas [Solicitud de Patente Publicada U.S. núm. 20040171807, publicada el 2 de Septiembre de 2004]. Alternativamente, o adicionalmente, el cápside modificado puede estar asociado a otra molécula, por ejemplo un lípido, una proteína de fusión.

En un aspecto, las composiciones de la invención incluyen vectores adenovirales modificados. Salvo en caso de que se especifique alguna otra cosa, un vector adenoviral modificado, según se utiliza aquí, se refiere a una partícula adenoviral que tiene un cápside de adenovirus modificado y que tiene empaquetado en el cápside un casete de expresión que suministra una o más moléculas heterólogas a una célula. Los componentes de adenovirus utilizados en un vector adenoviral pueden ser obtenidos o derivados a partir de una diversidad de adenovirus diferentes, tales como los que han sido descritos en la presente memoria, y los que están al alcance de un experto en la materia. Puesto que el genoma adenoviral contiene configuraciones de lectura abiertas en ambas cadenas, en muchos casos se hace referencia en la presente memoria a los extremos 5' y 3' de las diversas regiones para evitar confusión entre las configuraciones específicas de lectura abiertas y las regiones de gen. De ese modo, cuando se hace referencia en la presente memoria al extremo “izquierdo” y “derecho” del genoma adenoviral, esta referencia es a los extremos del genoma adenoviral de aproximadamente 36 kb cuando se representa en forma esquemática como en el estado de la técnica convencional [véase, por ejemplo, Horwitz, “Adenoviridae y Su Replicación”, en VIROLOGY, 2ª ed., pp. 1679-1721 (1990)]. De ese modo, según se utiliza aquí, el “extremo terminal izquierdo” del genoma adenoviral se refiere a la porción del genoma adenoviral que, cuando el genoma está representado esquemáticamente en forma lineal, está situada en el extremo

terminal izquierdo del esquema. Típicamente, el extremo izquierdo se refiere a la porción del genoma que empieza en la unidad de mapa 0 y que se extiende a la derecha para incluir al menos las repeticiones terminales invertidas (iTRs) 5', y que excluye las regiones internas del genoma que codifican los genes estructurales. Según se utiliza aquí, el "extremo terminal derecho" del genoma adenoviral se refiere a una porción del genoma adenoviral que, cuando el genoma está representado esquemáticamente en forma lineal, está situada en el extremo terminal derecho del esquema. Típicamente, el extremo derecho del genoma adenoviral se refiere a una porción del genoma que termina en la unidad de mapa 36, y que se extiende hacia la izquierda para incluir al menos las iTRs 3', y que excluye las regiones internas del genoma que codifican los genes estructurales.

Mediante "minigén" se indica la combinación de un gen heterólogo seleccionado y los otros elementos reguladores necesarios para impulsar traducción, transcripción y/o expresión del producto genético en una célula huésped.

Típicamente, un vector adenoviral está diseñado de tal modo que el minigén está situado en una molécula de ácido nucleico que contiene otras secuencias adenovirales en la región, naturales respecto a un gen adenoviral seleccionado. El minigén puede ser insertado en una región de gen existente, para interrumpir la función de esa región, si se desea. Alternativamente, el minigén puede ser insertado en el sitio de un gen adenoviral parcial o totalmente suprimido. Por ejemplo, el minigén puede estar localizado en un sitio tal como el sitio de una supresión funcional E1 o de una supresión funcional E3, entre otros que pueden ser seleccionados. El término "suprimido funcionalmente" o "supresión funcional" significa que una cantidad suficiente de la región de gen ha sido eliminada o dañada de otra manera, por ejemplo mediante mutación o modificación, de modo que la región de gen ya no es capaz de producir productos funcionales de expresión de gen. Si se desea, se puede eliminar la región de gen completa. Otros sitios adecuados para la interrupción o supresión de gen, son los que se discuten en cualquier otra parte de la solicitud.

Por ejemplo, para un vector de producción útil para la generación de un virus recombinante, el vector puede contener el minigén ya sea el extremo 5' del genoma adenoviral o ya sea el extremo 3' del genoma adenoviral, o en ambos extremos 5' y 3' del genoma adenoviral. El extremo 5' del genoma adenoviral contiene los elementos cis 5' necesarios para el empaquetado y la replicación, es decir, las secuencias de repetición terminal invertida (iTR) 5' (que funcionan como origen de la replicación) y los dominios incrementadores de empaquetamiento natural 5' (que contienen las secuencias necesarias para el empaquetamiento de los genomas lineales Ad y elementos incrementadores para el promotor E1). El extremo 3' del genoma adenoviral incluye los elementos cis 3' (incluyendo las iTRs), necesarios para el empaquetamiento y el encapsulamiento. De manera adecuada, un adenovirus recombinante contiene ambos elementos cis adenovirales 5' y 3', y el minigén está situado entre las secuencias adenovirales 5' y 3'. Cualquier vector adenoviral de la invención pueden contener también secuencias adenovirales adicionales.

Las secuencias virales, virus auxiliares, si se necesitan, y las partículas virales recombinantes, y otros componentes y secuencias de vector empleados en la construcción de los vectores aquí descritos, se obtienen según se ha descrito en lo que antecede. Las secuencias de ADN de las secuencias de adenovirus se emplean para construir vectores y líneas celulares útiles en la preparación de tales vectores.

Las modificaciones de las secuencias de ácido nucleico que forman los vectores de esta invención, incluyendo supresiones, inserciones y con frecuencia mutaciones de secuencia, pueden ser generadas con la utilización de técnicas biológicas moleculares estándar que están dentro del alcance de la invención.

Los procedimientos empleados para la selección del transgén, la clonación y la construcción del "minigén" y su inserción en el vector viral, están dentro del estado de la técnica proporcionado por las enseñanzas que aquí se dan.

1. El Transgén

El transgén es una secuencia de ácido nucleico, heteróloga respecto a las secuencias de vector que flanquean el transgén, que codifica un polipéptido, una proteína, u otro producto de interés. La secuencia de codificación de ácido nucleico está enlazada operativamente a componentes reguladores de una manera que permite la transcripción, la traducción y/o la expresión del transgén en una célula huésped. La composición de la secuencia de transgén incluye una secuencia informadora que tras la expresión, produce una señal detectable. Tales secuencias informadoras incluyen, sin limitación, secuencias de ADN que codifican la β -lactamasa, la β -galactosidasa (LacZ), la fosfatasa alcalina, la timidina quinasa, la proteína fluorescente verde (GFP), la cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), la luciferasa, las proteínas enlazadas a membranas incluyendo, por ejemplo, las CD2, CD4, CD8, la proteína influenza hemaglutinina, y otras bien conocidas en el estado de la técnica, respecto a las que existen o pueden ser producidos anticuerpos de alta afinidad mediante medios convencionales, y proteínas de fusión que comprenden una proteína enlazada a membrana fundida apropiadamente con un dominio de distintivo antígeno procedente de, entre otros, hemaglutinina o Myc. Estas secuencias de codificación, cuando están asociadas a elementos reguladores que inducen su expresión, proporcionan señales detectables con medios convencionales, incluyendo fluorescencia enzimática, radiográfica, colorimétrica, u otros ensayos espectrográficos, ensayos de clasificación celular de activación fluorescente, y ensayos inmunológicos, incluyendo el ensayo inmunoabsorbente enlazado por enzima (ELISA), el radioinmunoensayo (RIA), y la inmunohistoquímica. Por ejemplo, cuando la secuencia marcadora es el gen LacZ, la presencia del vector portador de la señal se detecta mediante ensayos respecto a la actividad de la beta-galactosidasa.

Cuando el transgén es GFP o luciferasa, el vector portador de la señal puede ser medido visualmente mediante producción de color o luz en un luminómetro. Sin embargo, deseablemente, el transgén es una secuencia no-marcadora

que codifica un producto que es útil en biología y medicina, tal como una proteína, un péptido, ARN, una enzima, o ARN catalítico. Las moléculas de ARN deseables incluyen tARN, dsARN, ARN ribosómico, ARN catalítico, y ARN antisentido. Un ejemplo de una secuencia de ARN útil es una secuencia que extingue la expresión de una secuencia de ácido nucleico orientada en el animal tratado.

El transgén puede ser utilizado a efectos de tratamiento, como terapia o vacuna del cáncer, para la inducción de una respuesta inmune, y/o a los efectos de vacuna profiláctica. Según se utiliza aquí, la inducción de una respuesta inmune se refiere a la capacidad de una molécula (por ejemplo, un producto genético) para inducir una célula T y/o una respuesta humoral inmune a la molécula. La invención incluye además múltiples transgenes. En determinadas situaciones, se puede utilizar un transgén diferente para codificar cada sub-unidad de una proteína, o para codificar diferentes péptidos o proteínas. Esto resulta deseable cuando el tamaño del ADN que codifica la sub-unidad de proteína es grande, por ejemplo para una inmunoglobulina, el factor de crecimiento derivado de plaqueta, o una proteína distrofina. Con el fin de que la célula produzca la proteína multi sub-unidad, una célula se infecta con el virus recombinante que contiene cada una de las diferentes sub-unidades. Alternativamente, diferentes sub-unidades de una proteína pueden ser codificadas mediante el mismo transgén. En este caso, un solo transgén incluye el ADN que codifica cada una de las sub-unidades, con el ADN para cada sub-unidad separado por un sitio de entrada de ribosoma interno (IRES). Esto es deseable cuando el tamaño del ADN que codifica cada una de las sub-unidades es pequeño, por ejemplo, el tamaño total del ADN que codifica las sub-unidades y el IRES es menor de cinco kilobases. Como alternativa a un IRES, el ADN puede ser separado mediante secuencias que codifican un péptido 2A, el cual se auto-divide en un evento post-traslacional. Véase, por ejemplo, M.L. Donnelly *et al.*, J. Gen. Virol., 78(Pt 1): 13-21 (Enero de 1997); Furier, S., *et al.*, Gene Ther., 8(11):864-873 (Junio de 2001); Klump, H., *et al.*, Gene Ther., 8(10):811-817 (Mayo de 2001). Este péptido 2A es significativamente más pequeño que un IRES, lo que hace que sea muy adecuado para su uso cuando el espacio es un factor limitativo. Sin embargo, el transgén puede codificar cualquier producto biológicamente activo u otro producto, por ejemplo, un producto deseable para su estudio.

Los transgenes adecuados pueden ser fácilmente seleccionados por un experto en la materia. La selección del transgén no se considera que sea una limitación de esta invención.

2. Elementos Reguladores

Adicionalmente a los elementos principales identificados en lo que antecede para el minigén, el vector incluye también los elementos de control convencionales necesarios, los cuales están enlazados operativamente al transgén de una manera que permite su transcripción, traducción y/o expresión en una célula transfectada con el vector plásmido o infectada con el virus producido por la invención. Según se utiliza en la presente memoria, las secuencias "enlazadas operativamente" incluyen ambas secuencias de control de expresión que son contiguas con el gen de interés, y secuencias de control de expresión que actúan en *trans* o a una distancia para controlar el gen de interés.

Las secuencias de control de expresión incluyen secuencias apropiadas de iniciación, terminación, promotoras e incrementadoras de transcripción; señales de procesamiento eficiente de ARN, tales como las señales de empalme y poliadenilación (poliA); secuencias que estabilizan el mRNA citoplásmico; secuencias que incrementan la eficiencia de traducción (es decir, la secuencia de consenso de Kozak); secuencias que aumentan la estabilidad de la proteína; y cuando se desea, secuencias que aumentan la secreción del producto codificado. Un gran número de secuencias de control de expresión, incluyendo los promotores que sean naturales, constituyentes, regulables y/o específicos del tejido, son conocidos en el estado de la técnica y pueden ser utilizados.

Ejemplos de promotores conocidos incluyen, sin limitación, el promotor del virus LTR de sarcoma retroviral de Rous (RSV) (opcionalmente con el incrementador RSV), el promotor de citomegalovirus (CMV) (opcionalmente con el incrementador CMV) [véase, por ejemplo, Boshart *et al.*, Cell, 41:521-530 (1985)], el promotor SV40, el promotor de reductasa de dihidrofolato, el promotor de β -actina, el promotor de fosfoglicerolquinasa (PGK), y el promotor de EF1 α [Invitrogen].

Los promotores regulables permiten el control de expresión de gen y pueden ser inducidos, activados, enmascarados o "interrumpidos" mediante compuestos suministrados de forma exógena, factores medioambientales tales como la temperatura, o por la presencia de un estado fisiológico específico, por ejemplo, una fase aguda, un estado de diferenciación particular de la célula, o en células de replicación solamente. Los promotores regulables y los sistemas regulables se encuentran disponibles a partir de una diversidad de fuentes, incluyendo, sin limitación, Invitrogen, Clontech y Ariad. Se han descrito muchos otros sistemas y pueden ser fácilmente seleccionados por un experto en la materia. Por ejemplo, los promotores inducibles incluyen el promotor de metalotionina (MT) de oveja inducible por zinc y el promotor del virus de tumor mamario de ratón (MMTV) inducible por Dexametasona (Dex). Otros sistemas regulables incluyen el sistema promotor de polimerasa T7 [documento WO 98/10088]; el promotor de insecto de ecdisoma [No *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:3346-3351 (1996)]. El sistema enmascarable con tetraciclina [Gossen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992)], el sistema inducible por tetraciclina [Gossen *et al.*, Science, 266:1766-1769 (1995)], véase también Harvey *et al.*, Curr. Opin. Chem. Biol., 2:512-518 (1998)]. Otros sistemas incluyen el dímero FK506, VP16 o p65 que utiliza castradiol, difenol murislerona, el sistema inducible por RU486 [Wang *et al.*, Nat. Biotech., 15:239-243 (1993) y Wang *et al.*, Gen. Ther., 4:432-441 (1997)] y el sistema inducible por rapamicina [Magari *et al.*, J. Clin. Invest., 100:2865-2872 (1997)]. La efectividad de algunos promotores regulables se incrementa con el tiempo. En tales casos, se puede aumentar la eficacia de tales sistemas insertando múltiples enmascaradores en tándem, por ejemplo, TetR enlazado con un TetR mediante un IRES. Alternativamente, se

puede esperar al menos 3 días antes de apantallar la función deseada. Se puede aumentar la expresión de las proteínas deseadas mediante métodos conocidos para aumentar la eficacia de este sistema. Por ejemplo, utilizando el Elemento Regulador Post-transcripcional del Virus de Hepatitis de Woodchuck (WPRE).

En otra realización, se utilizará el promotor natural para el transgén. Se puede preferir el promotor natural cuando se desea que la expresión del transgén imite la expresión natural. El promotor natural puede ser utilizado cuando la expresión del transgén deba ser regulada temporalmente durante el desarrollo del tejido, o de una manera que sea específica del tejido, o en respuesta a estímulos transcripcionales específicos. En una realización adicional, se pueden utilizar también otros elementos de control de expresión natural, tales como elementos incrementadores, sitios de poliadenilación o secuencias de consenso de Kozak, para mimetizar la expresión natural.

Otra realización del transgén incluye un transgén enlazado operativamente a un promotor específico del tejido. Por ejemplo, si se desea expresión en el músculo esquelético, se deberá utilizar un promotor que sea activo en el músculo. Éstos incluyen los promotores procedentes de genes que codifican la acción- β esquelética, la cadena 2A ligera de miosina, cistofina, creatina quinasa muscular, así como los promotores musculares sintéticos con actividades mayores que los promotores que se producen de forma natural (véase Li *et al.*, Nat. Biotech. 17:241-245 (1999)). Ejemplos de promotores que son específicos del tejido son conocidos para el hígado (albúmina, Miyatake *et al.*, J. Virol., 71:5124-32 (1997); promotor nuclear del virus de la hepatitis B, Sandig *et al.*, Gene Ther., 3:1002-9 (1996); alfa-fetoproteína (AFP), Arbuthnot *et al.*, Hum. Gene Ther., 7:1503-14 (1996)), osteocalcina ósea (Stein *et al.*, Mol. Biol. Re., 24:185-96 (1997)); sialoproteína ósea (Chen *et al.*, J. Bone Miner. Res., 11:654-64 (1996)), linfocitos (CD2, Hansai *et al.*, J. Immunol., 161:1063-8 (1998); cadena pesada de inmunoglobulina; cadena receptora de células T), promotor neuronal tal como enolasa específica de la neurona (NSE) (Andersen *et al.*, Cell. Mol. Neurobiol. 13:503-15 (1993)), gen de cadena ligera de neurofilamento (Piccioli *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:5611-5 (1991)), y el gen vgf específico de neurona (Piccioli *et al.*, Neuron, 15:373-84 (1995)), entre otros.

Opcionalmente, los vectores portadores de transgenes que codifican productos terapéuticamente útiles o inmunogénicos, pueden incluir también marcadores seleccionables o los genes informadores pueden incluir secuencias que codifican la resistencia a la genitocina, higromicina o purimicina, entre otros. Tales genes informadores o marcadores seleccionables (localizados con preferencia fuera del genoma viral que ha de ser empaquetado en una partícula viral), pueden ser utilizados para señalar la presencia de los plásmidos en las células bacterianas, tales como la resistencia a la ampicilina. Otros componentes del vector pueden incluir un origen de replicación. La selección de estos y otros promotores y elementos de vector, son convencionales y se encuentran disponibles muchas secuencias [véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, y las referencias aquí mencionadas]. Estos vectores se generan utilizando las técnicas y secuencias que aquí se proporcionan, junto con técnicas conocidas por los expertos en la materia.

Tales técnicas incluyen técnicas de clonación convencionales de cADN tales como las descritas en los textos [Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY], utilizan secuencias de oligonucleótidos de solapamiento de los genomas de adenovirus, reacción de cadena de polimerasa, y cualquier procedimiento adecuado que proporcione la secuencia de nucleótido deseada.

Producción de la Partícula Adenoviral Modificada

Como mínimo, un vector adenoviral modificado que porta un casete de expresión, contiene los elementos cis de adenovirus necesarios para la replicación y encapsidación de virión, cuyos elementos cis flanquean el gen heterólogo (es decir, el vector que contiene las secuencias de repetición terminal invertida (TR) 5' de actuación cis de los adenovirus que funcionan como orígenes de replicación), los dominios de empaquetamiento/ incrementadores 5' naturales (que contienen secuencias necesarias para empaquetar genomas Ad lineales y elementos incrementadores para el promotor E1), la molécula heteróloga, y las secuencias ITR 5'. Véase, por ejemplo, las técnicas descritas para la preparación de un vector "minimal" humano en la Patente US 6.203.975, que pueden ser adaptadas fácilmente para el adenovirus de simio recombinante. Opcionalmente, los adenovirus modificados (por ejemplo, recombinantes) contienen más de las secuencias de adenovirus mínimas definidas en lo que antecede.

En una realización, los adenovirus son funcionalmente suprimidos en los genes E1 a E10, y opcionalmente soportan otras mutaciones, por ejemplo, mutaciones sensibles a la temperatura o supresiones en otros genes. En otras realizaciones, es deseable mantener una región E1a y/o E1b intacta en los adenovirus recombinantes. Tal región E1 intacta puede estar situada en su posición natural en el genoma de adenovirus, o situada en el sitio de una supresión en el genoma adenoviral natural (por ejemplo, en la región E3).

En la construcción de vectores de adenovirus útiles para el suministro de un gen a la célula humana (o de otro mamífero), se pueden emplear en los vectores una gama de secuencias de ácido nucleico de adenovirus. Por ejemplo, toda o una porción del gen E3 prematuramente retrasado del adenovirus, puede ser eliminada de la secuencia de adenovirus que forma parte del virus recombinante. La función de E3 se estima que es irrelevante para la función y la producción de la partícula de virus recombinante. Los vectores de adenovirus modificado pueden ser construidos también teniendo una supresión de al menos la región ORF6 del gen E4; y más deseablemente debido a la redundancia en la función de esta región, la región E4 completa. Todavía otro vector de esta invención contiene una supresión en el gen E2a prematuramente retrasado. Las supresiones pueden ser realizadas también en cualquiera de los últimos genes L1 a L5 del genoma de adenovirus. De forma similar, las supresiones en los genes IX e IVA₂ intermedios, pueden

ser útiles para algunos propósitos. Se pueden hacer otras supresiones en los otros genes de adenovirus estructurales o no estructurales. Las supresiones mencionadas en lo que antecede pueden ser utilizadas individualmente, es decir, una secuencia de adenovirus para su uso en la presente invención puede contener supresiones en una sola región simple. Alternativamente, las supresiones de genes completos o de porciones de los mismos, efectivas para destruir su actividad biológica, pueden ser utilizadas en cualquier combinación. Por ejemplo, en un ejemplo de vector, la secuencia de adenovirus puede tener supresiones de los genes E1 y del gen E4, o de los genes E1, E2a y E3, o de los genes E1 y E3, o de los genes E1, E2a y E4, con o sin supresión de E3, y así sucesivamente. Según se ha expuesto en lo que antecede, tales supresiones pueden ser utilizadas en combinación con otras mutaciones, tales como las mutaciones sensibles a la temperatura, para conseguir un resultado deseado.

Un vector adenoviral que carezca de cualesquiera secuencias adenovirales esenciales (por ejemplo, E1a, E1b, E2a, E2b, E4 ORF6, L1, L2, L3, L4 y L5), puede ser cultivado en presencia de productos genéticos adenovirales faltantes que se precisen para la infección y la propagación viral de una partícula adenoviral. Estas funciones auxiliares pueden ser proporcionadas mediante el cultivo del vector adenoviral en presencia de una o más construcciones auxiliares (por ejemplo, un plásmido o un virus) o una célula huésped de empaquetamiento. Véase, por ejemplo, las técnicas descritas para la preparación de un vector Ad humano "minimal en la Solicitud de Patente Internacional" WO 96/13597, publicada el 9 de Mayo de 1996.

Con independencia de si el adenovirus modificado contiene solamente las secuencias Ad minimales, o el genoma Ad completo con supresiones funcionales solamente en las regiones E1 y/o E3, en una realización, el virus modificado contiene un cápside derivado de un adenovirus humano o de simio. Alternativamente, en otras realizaciones, se pueden utilizar adenovirus seudotipados en los procedimientos de la invención. Tales adenovirus seudotipados utilizan proteínas de cápside de adenovirus en las que se ha empaquetado una molécula de ácido nucleico que porta secuencias de adenovirus de un adenovirus fuente diferente de la fuente del cápside de adenovirus original. Estos adenovirus pueden ser producidos utilizando métodos que son conocidos por los expertos en la materia.

1. *Virus Auxiliares*

Así, dependiendo del contenido de gen de adenovirus de los vectores virales empleados para portar el minigén, puede resultar necesario un fragmento de adenovirus auxiliar o de virus no-replicante para proporcionar suficientes secuencias de gen de adenovirus de simio necesarias para producir una partícula viral recombinante infecciosa que contenga el minigén. Los virus auxiliares útiles contienen secuencias de gen de adenovirus seleccionadas no presentes en la construcción del vector de adenovirus y/o no expresadas por la línea celular empaquetada en la que el vector es transfectado. En una realización, el virus auxiliar es defectuoso en cuanto a replicación y contiene una diversidad de genes de adenovirus adicionalmente a las secuencias descritas anteriormente. Tal virus auxiliar se utiliza deseablemente en combinación con una línea celular de expresión de E1.

Los virus auxiliares pueden estar también formados en los conjugados poli-cación descritos por Wu *et al.*, J. Biol. Chem., 264:16985-16987 (1989); K.J. Fischer y J.M. Wilson, Biochem. J., 299-49 (1 de Abril de 1994). El virus auxiliar puede contener opcionalmente un segundo minigén informador. Se conoce en el estado de la técnica una cantidad de tales genes informadores. La secuencia de un gen informador del virus auxiliar que sea diferente del transgén en el vector de adenovirus, permite que tanto el vector Ad como el virus auxiliar sean monitorizados de manera independiente. Este segundo informador se utiliza para permitir la separación entre el virus recombinante resultante y el virus auxiliar, tras la purificación.

2. *Líneas de Células de Complementación*

Para generar adenovirus (Ad) modificados suprimidos en cualquiera de los genes descritos en lo que antecede, la función de la región de gen suprimida, si es esencial para la replicación y la infectividad del virus, debe ser suministrada al virus recombinante mediante un virus o una línea celular auxiliar, es decir, una línea celular de complementación o empaquetamiento. En muchas circunstancias, se puede utilizar una línea celular que expresa el E1 humano para transcomplementar el vector Ad. Esto es particularmente ventajoso puesto que, debido a la diversidad entre las secuencias de Ad de la invención y las secuencias de AdE1 encontradas en las células de empaquetamiento actualmente disponibles, el uso de las células humanas reales que contienen E1 impide la generación de adenovirus competentes para la replicación durante el proceso de replicación y producción. Sin embargo, en determinadas circunstancias, puede ser deseable utilizar una línea celular que exprese los productos de gen E1 que pueden ser utilizados para la producción de un adenovirus suprimido en E1. Tales líneas celulares ya han sido descritas. Véase, por ejemplo, la Patente U.S. núm. 6.083.716.

Si se desea, se pueden utilizar las secuencias aquí proporcionadas para generar una célula o una línea celular de empaquetamiento que exprese, como mínimo, el gen E1 de adenovirus a partir de una fuente parental adecuada, o de una fuente de adenovirus transcomplementaria, bajo el control transcripcional de un promotor para la expresión de una línea celular padre seleccionada. Se pueden emplear a este efecto los promotores regulables o constituyentes. Ejemplos de tales promotores han sido descritos con detalle en otras partes de esta especificación. Se selecciona una célula padre para la generación de una línea celular novedosa que exprese algún gen AdSA22/Pan5, Pan6, Pan7, SV1, SV25 o SV39 deseado. Sin limitación, tal línea celular padre puede consistir en las células HeLa [ATCC Accession núm. CCL2], A549 [ATCC Accession núm. CCL 185], HEK 293, KB [CCL 17], Detroit [por ejemplo, Detroit 510, CCL 72], y WI-38 [CCL 75], entre otras. Estas líneas de células están todas disponibles en la American Type Culture

Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209. Otras líneas de células madre adecuadas pueden ser obtenidas a partir de otras fuentes.

Tales líneas de células de expresión de E1 son útiles para la generación de vectores suprimidos en E1 de adenovirus. Adicionalmente, o alternativamente, la invención proporciona líneas de células que expresan uno o más productos de gen adenovirales de simio, por ejemplo E1a, E1b, E2a y/o E4 ORF6 que pueden ser construidos utilizando esencialmente los mismos procedimientos para su utilización en la generación de vectores virales recombinantes de simio. Tales líneas de células pueden ser utilizadas para transcomplementar vectores de adenovirus suprimidos en los genes esenciales que codifican esos productos, o para proporcionar funciones auxiliares necesarias para el empaquetamiento de un virus dependiente auxiliar (por ejemplo, un adenovirus asociado). La preparación de una célula huésped de acuerdo con esta invención incluye técnicas como el ensamblaje de secuencias de ADN seleccionadas. Este ensamblaje puede ser realizado utilizando técnicas convencionales. Tales técnicas incluyen clonación genómica y de cADN, que son bien conocidas y han sido descritas por Sambrook *et al.*, citado anteriormente, el uso de secuencias oligonucleótidas de solapamiento de los genomas de adenovirus, combinadas con procedimientos sintéticos, de reacción de cadena de polimerasa, y cualesquiera otros procedimientos adecuados que proporcionen la secuencia de nucleótido deseada.

Todavía según otra alternativa, los productos genéticos adenovirales esenciales se proporcionan en *trans* mediante el vector adenoviral y/o el virus auxiliar. En ese caso, una célula huésped adecuada puede ser seleccionada a partir de cualquier organismo biológico, incluyendo las células procarióticas (por ejemplo, bacterianas), y las células eucarióticas, incluyendo células de insectos, células de levadura y células de mamíferos. Las células huésped particularmente deseables se eligen entre algunas especies de mamíferos que incluyen, aunque sin limitación, células tales como las células A549, WEHI, 3T3, 10T1/2, HEK293 o PERC8 (ambas expresan E1 adenoviral funcional) [Fallaux, F.J. *et al.* (1998), Hum Gene Ther., 9:1909-1917], Saos, C2C12, células L, HT1080, HepG2 y células de fibroblasto primario, hepatocito y mioblasto derivadas de mamíferos incluyendo los humanos, monos, ratones, ratas, conejos y hámsteres. La selección de las especies de mamíferos que proporcionan las células no es una limitación de esta invención, ni lo es el tipo de célula de mamífero, es decir, la célula de fibroblasto, hepatocito, tumoral, etc.

3. Ensamblaje de Partícula Viral y Transfección de una Línea de Células

En general, cuando se suministra el vector que comprende el minigén mediante transfección, el vector es suministrado en una cantidad de entre aproximadamente 5 μg y aproximadamente 100 μg de ADN, y con preferencia entre aproximadamente 10 y aproximadamente 50 μg de ADN en aproximadamente 1×10^4 células a aproximadamente 1×10^{13} células y con preferencia en aproximadamente 10^5 células. Sin embargo, las cantidades relativas de vector ADN en las células huésped puede ser ajustada teniendo en cuenta factores tales como el vector seleccionado, el procedimiento de suministro y las células huésped seleccionadas.

El vector puede ser cualquier vector conocido en el estado de la técnica o descrito en lo que antecede, incluyendo ADN desnudo, un plásmido, fago, transposon, cósmidos, episomas, virus, etc. La introducción del vector en la célula huésped puede ser conseguida con cualquier medio conocido en el estado de la técnica o según se ha revelado en lo que antecede, incluyendo la transfección y la infección. Uno o más de los genes adenovirales puede ser integrado de forma estable en el genoma de la célula huésped, expresado de forma estable como episomas, o expresado transitoriamente. Los productos génicos pueden ser todos expresados transitoriamente, sobre un episoma o integrados establemente, o algunos de los productos génicos pueden ser expresados establemente mientras otros son expresados transitoriamente. Además, los promotores para cada uno de los genes adenovirales pueden ser seleccionados de forma independiente a partir de un promotor constituyente, un promotor inducible o un promotor adenoviral natural. Los promotores pueden estar regulados por un estado fisiológico específico del organismo o célula (es decir, por el estado de diferenciación o en células de replicación o quiescentes), o por factores añadidos exógenamente, por ejemplo.

La introducción de las moléculas (como plásmidos o virus) en la célula huésped puede ser también llevada a cabo con la utilización de técnicas conocidas por los expertos en la materia según se ha discutido a través de la descripción. En una realización preferida, se utilizan técnicas de transfección estándar, por ejemplo transfección o electroporación de CaPO_4 .

El ensamblaje de secuencias de ADN seleccionadas del adenovirus (así como el transgén y otros elementos de vector) en diversos plásmidos intermedios, y el uso de los plásmidos y vectores para producir una partícula viral recombinante, se logran todos con la utilización de técnicas convencionales. Tales técnicas incluyen técnicas de clonación convencionales de cADN tales como las descritas en los textos (Sambrook *et al.*, citadas anteriormente), el uso de secuencias oligonucleótidas de solapamiento de los genomas de adenovirus, reacción de cadena de polimerasa, y cualquier método adecuado que proporcione la secuencia de nucleótido deseada. Se emplean técnicas estándar de transfección y co-transfección, por ejemplo técnicas de precipitación de CaPO_4 . Otros procedimientos convencionales empleados incluyen recombinación homóloga de los genomas virales, recubrimiento de virus en capa de agar, métodos de medición de generación de señal, y similares.

Por ejemplo, a continuación de la construcción y ensamblaje de vector viral deseado que contiene minigén, el vector es transfectado *in vitro* en presencia de un virus auxiliar en la línea de célula de empaquetamiento. La recombinación homóloga ocurre entre las secuencias auxiliar y de vector, lo que permite que las secuencias de transgén de adenovirus del vector sean replicadas y empaquetadas en cápsides de virión, dando como resultado partículas de vector viral

recombinante. El procedimiento actual para producir tales partículas de virus se basa en transfección. Sin embargo, la invención no se limita a tales procedimientos.

Los adenovirus modificados recombinantes resultantes son útiles en la transfección de un transgén seleccionado en una célula seleccionada.

Uso de los Vectores de Adenovirus Modificado

Los vectores de adenovirus modificado de la invención, son útiles para transferencia génica a un sujeto humano o veterinario (incluyendo los primates no humanos, los primates no simios, y otros mamíferos) *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*.

En una realización, los vectores de adenovirus modificado aquí descritos pueden ser utilizados como vectores de expresión para la producción de productos codificados por los genes heterólogos *in vitro*. Por ejemplo, una línea celular adecuada se infecta o transfecta con los adenovirus modificados y se cultiva de la manera convencional, permitiendo que los adenovirus modificados expresen el producto génico a partir del promotor. El producto génico puede entonces ser recuperado del medio de cultivo mediante procedimientos convencionales conocidos de aislamiento y recuperación de proteína a partir del cultivo.

En otra realización, otro vector adenoviral modificado de la invención proporciona un vehículo eficiente de transferencia de gen que puede suministrar un transgén seleccionado a una célula huésped seleccionada *in vivo* o *ex vivo*. Por ejemplo, los vectores adenovirales modificados de la invención pueden ser utilizados para el suministro de moléculas terapéuticas o inmunogénicas, según se describe a continuación. En una realización, un régimen terapéutico o de vacuna incluirá el suministro repetido de vectores adenovirales recombinantes. Tales regímenes incluyen típicamente el suministro de una serie de vectores virales en los que se alternan cápsides virales. Los cápsides virales pueden ser cambiados para cada administración posterior, o después de un número predeterminado de administraciones de un cápside de serotipo particular (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro o más). De ese modo, un régimen puede incluir el suministro de un Ad con un primer cápside, el suministro de un Ad con un segundo cápside, y el suministro con un tercer cápside. En otras realizaciones, se puede elegir un cápside que utilice solo los cápsides de Ad modificado de la invención, en combinación de unos con otros, o en combinación con otros serotipos de Ad, como resultará evidente para los expertos en la materia. Opcionalmente, tal régimen puede incluir la administración de Ad con cápsides de adenovirus de primate no humano, adenovirus humanos, o serotipos artificiales (por ejemplo, quiméricos) tal como se describe en la presente memoria. Cada fase del régimen puede incluir la administración de una serie de inyecciones (u otras vías de suministro) con un único cápside de serotipo de Ad, seguido de una serie con otro cápside de serotipo de Ad. Alternativamente, los vectores de Ad modificado de la invención, pueden ser utilizados en regímenes que incluyan otros sistemas de suministro mediado no adenoviral, incluyendo otros sistemas virales, sistemas de suministro no virales, proteínas, péptidos, y otras moléculas biológicamente activas.

Las secciones que siguen van a ser enfocadas sobre ejemplos de moléculas que pueden ser suministradas por medio del cápside adenoviral modificado (por ejemplo, en forma de proteína) o de vectores adenovirales modificados de la invención.

En una realización, los vectores de Ad modificado que aquí se han descrito, se administran a los humanos de acuerdo con los procedimientos publicados para terapia génica. Un vector viral de la invención que soporta el transgén seleccionado, puede ser administrado a un paciente, con preferencia suspendido en una solución biológicamente compatible o en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo adecuado incluye una solución salina estéril. Otras soluciones acuosas no acuosas de inyección estéril isotónica, y suspensiones estériles no acuosas, que se sabe que son portadores farmacéuticamente aceptables y bien conocidos por los expertos en la materia, podrán ser empleadas con este propósito.

Los vectores adenovirales modificados son administrados en cantidades suficientes para que proporcionen el efecto fisiológico deseado. Las rutas convencionales y farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque sin limitación, el suministro directo a la retina y otros procedimientos de suministro intraocular, el suministro directo al hígado, inhalación, vía intravenosa, intramuscular, intratraqueal, subcutánea, intradérmica, rectal, oral, intraocular, intracocular, y otras vías de administración parenteral. Las rutas de administración pueden ser combinadas si se desea, o ajustadas dependiendo del transgén o de la condición. La ruta de administración dependerá principalmente de la naturaleza de la condición que se va a tratar.

Las dosificaciones del vector viral dependerán principalmente de factores tales como la condición que se va a tratar, la edad, el peso y el estado de salud del paciente, y por lo tanto pueden variar entre pacientes. Por ejemplo, una dosificación veterinaria o para un adulto humano terapéuticamente eficaz del vector viral, está normalmente comprendida en la gama de entre aproximadamente 100 μ l y aproximadamente 100 ml de un portador que contenga concentraciones de entre aproximadamente 1×10^6 y aproximadamente 1×10^{15} partículas, aproximadamente 1×10^{11} y 1×10^{13} partículas, o aproximadamente 1×10^9 y aproximadamente 1×10^{12} partículas de virus. Las gamas de dosificación dependerán del tamaño del animal y de la vía de administración. Por ejemplo, una dosificación humana o veterinaria adecuada (para un animal de aproximadamente 80 kg), para inyección intramuscular, está comprendida en la gama de aproximadamente 1×10^9 y aproximadamente 5×10^{12} partículas por ml, para un único sitio. Opcionalmente, se pueden suministrar múltiples sitios de administración. En otro ejemplo, una dosificación humana o veterinaria adecuada puede estar comprendida en la gama de aproximadamente 1×10^{11} y aproximadamente 1×10^{15} partículas para una

formulación oral. Un experto en la materia podrá ajustar estas dosis, dependiendo de la vía de administración, y de la aplicación terapéutica o de vacuna para la que se emplee el vector recombinante. Los niveles de expresión del transgén, o para un inmunógeno, el nivel de anticuerpo circulante, puede ser monitorizado para determinar la frecuencia de administración de dosificación. Todavía otros métodos para la determinación de la periodicidad de la frecuencia de administración, resultarán fácilmente evidentes para los expertos en la materia.

1. Moléculas Terapéuticas

En un aspecto, las proteínas hexon de adenovirus modificado pueden contener insertos de uno o más transgenes terapéuticos, con el fin de facilitar la fijación de objetivo, y/o para su uso en un régimen terapéutico según se describe en la presente memoria. En otro aspecto, los vectores adenovirales modificados de la invención pueden llevar empaquetado(s) en los mismos uno o más transgenes terapéuticos.

Los productos terapéuticos útiles codificados por el transgén incluyen hormonas y factores de crecimiento y diferenciación que incluyen, aunque sin limitación, insulina, glucagon, hormona del crecimiento (GH), hormona paratiroide (PTH), factor de liberación de hormona del crecimiento (GRF), hormona de simulación de folículo (FSH), hormona de leutirización (LH), gonatropina corónica humana (hGC), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), angiopoyetinas, angiostatina, factor de simulación de colonia de granulocito (GCSF), eritropoyetina (EPO), factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), factor de crecimiento de fibroblasto básico (bFGF), factor de crecimiento de fibroblasto ácido (aFGF), factor de crecimiento epidérmico, factor α de crecimiento de transformación (TGF α), factor de crecimiento derivado de plaqueta (PDGF), factores I y II de crecimiento de insulina (IGF-I e IGF-II), uno cualquiera de la súper-familia de factores de crecimiento de transformación, incluyendo TGF, activinas, inhibinas, o cualquier otra de las proteínas BMPs 1-15 morfogénicas óseas (BMP), uno cualquiera del factor de diferenciación heregluina/neuroglina/neu (NDF) de la familia de los factores de crecimiento, factor de crecimiento nérveo (NGF), factor neurotrópico derivado del cerebro (BDNF), neurotrofinas NT3 y NT-4/5, factor neurotrópico ciliar (CNTF), factor neurotrópico derivado de la línea de la célula glial (GDNF), neurturina, agrina, una cualquiera de la familia de las semaforinas/colapsinas, netrin-1 y netrin-2, factor de crecimiento de hepatocito (HGF), efrinas, noggin, erizo sonic e hidroxilasa de tirosina.

Otros productos de transgén útiles incluyen proteínas que regulan el sistema inmune incluyendo, aunque sin limitación, citoquinas y linfoquinas tales como trombopoyetina (TPO), interleuquinas (IL) IL-1 a IL-25 (incluyendo, por ejemplo, IL-2, IL-4, IL-12 e IL-18), proteína quimio-atrayente de monocito, factor inhibitorio de leucemia, factor estimulante de colonia macrófaga de granulocito, ligando Fas, factores de necrosis tumoral e, interferonas, y factor de células madre, ligando flk-2/ffr3. Los productos génicos producidos por el sistema inmune son también útiles en la invención. Éstos incluyen, sin limitación, inmunoglobulinas IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, inmunoglobulinas quiméricas, anticuerpos humanizados, anticuerpos de cadena simple, receptores de células T, receptores de células T quiméricos, receptores de células T de cadena simple, moléculas MHC de clase I y de clase II, así como inmunoglobulinas y moléculas MHC de diseño. Los productos génicos útiles incluyen también proteínas reguladoras de complemento, tales como proteínas reguladoras de complemento, proteína de co-factor de membrana (MCP), factor de aceleración de decaimiento (DAF), CR1, CF2 y CD59. Todavía otros productos génicos útiles incluyen uno cualquiera de los receptores para hormonas, factores de crecimiento, citoquinas, linfoquinas, proteínas reguladoras y proteínas del sistema inmune. La invención abarca los receptores para la regulación del colesterol, incluyendo el receptor de lipoproteína de baja densidad (LDL), el receptor de lipoproteína de alta densidad (HDL), el receptor de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), proteínas útiles en la regulación de los lípidos, incluyendo por ejemplo la apolipoproteína (apo) A e isoformas (por ejemplo, ApoA), apoE y sus isoformas incluyendo E2, E3 y E4), SRB1, ABC1, y el receptor scavenger. La invención también abarca productos génicos tales como los miembros de la súper-familia del receptor de la hormona esteroide que incluye receptores glucocorticoides y receptores de estrógeno, receptores de la vitamina D y otros receptores nucleares. Adicionalmente, los productos génicos útiles incluyen factores de transcripción tales como jun, fos, mad, factor de respuesta al suero (SRF), AP-1, AP-2, myb, MyoD y miogenina, proteínas que contienen ETS-box, proteínas ligantes de TFE3, E2F, ATF1, ATF2, ATF3, ATF4, 2F5, NFAT, CREB, HNF-4, C/EBP, SP1, CCAAT-box, factor de regulación de interferona (RF-1), proteínas de tumor de Wilms, proteína de enlace de ETS, STAT, proteínas de enlace de GATA-box, por ejemplo GATA-3, y la familia en cabeza de flecha de proteínas de hélice alada.

Otros productos génicos útiles incluyen carbamoil sintetasa I, ornitina transcarbamilasa, argosuccinato sintetasa, argnosuccinato liasa, arginasa, fumarilacetato hidrolasa, fenilalanina hidroxilasa, alfa-1 antitripsina, glucosa-6-fosfatasa, porfobilinógeno desaminasa, cistationa beta-sintasa, quetoácido descarboxilasa de cadena ramificada, albúmina, isovaleril-coA deshidrogenasa, propionil CoA carboxilasa, metil malonil CoA mutasa, glutaril CoA deshidrogenasa, insulina, beta-glucosidasa, piruvato carboxilato, fosforilasa hepática, fosforilasa quinasa, glicina descarboxilasa, proteína H, proteína T, una secuencia reguladora de transmembrana de fibrosis cística (CFTR), y una secuencia de cADN de distrofina. Otros productos génicos útiles incluyen los que son útiles para el tratamiento de la hemofilia A (por ejemplo, el Factor VIII y sus variantes, incluyendo la cadena ligera y la cadena pesada del heterodímero, opcionalmente enlazado de forma operable por medio de una unión), y el Factor VIII de dominio B suprimido, véase las Patentes U.S. núms. 6.200.560 y 6.221.349], y útiles para el tratamiento de la hemofilia B (por ejemplo, el Factor IX).

Todavía otros productos génicos útiles incluyen los polipéptidos que se producen de forma no natural, tales como los polipéptidos quiméricos o híbridos que tienen una secuencia de amino ácido que se produce de forma no natural que contiene inserciones, supresiones o sustituciones de aminoácido. Por ejemplo, las inmunoglobulinas de diseño de cadena simple podrían ser útiles en determinados pacientes inmunocomprometidos. Otros tipos de secuencias génicas

que ocurren de forma no natural incluyen moléculas antisentido y ácidos nucleicos catalíticos, tales como ribosomas, que podrían ser utilizados para reducir la sobre-expresión de un objetivo.

La reducción y/o la modulación de expresión de un gen, son particularmente deseables para el tratamiento de condiciones hiperproliferativas caracterizadas por células hiperproliferantes, como son los cánceres y la psoriasis. Los polipéptidos objetivo incluyen los polipéptidos que se producen exclusivamente o a niveles más altos en células hiperproliferativas en comparación con las células normales. Los antígenos objetivo incluyen polipéptidos codificados por oncogenes tales como myb, myc, fyn, y el gen de translocación bcr/abl, ras, src, P53, neu, trk y EGRF. Adicionalmente a los productos de oncogenes como antígenos objetivo, los polipéptidos objetivo para tratamientos anti-cáncer y regímenes protectores incluyen regiones variables de anticuerpos realizadas mediante linfomas de célula B y regiones variables de receptores de célula T y linfomas de célula T que, en algunas realizaciones, se utilizan también como antígenos objetivo para la enfermedad autoinmune. Otros polipéptidos asociados a tumores pueden ser utilizados como polipéptidos objetivo tales como polipéptidos que se encuentran a niveles más altos en células tumorales incluyendo los polipéptidos reconocidos mediante el anticuerpo monoclonal 17-1A, y polipéptidos de enlace de folato.

Otros polipéptidos y proteínas terapéuticas adecuadas, incluyen los que pueden ser útiles para el tratamiento de individuos que sufren enfermedades y desórdenes autoinmunes, confiriendo una amplia respuesta protectora inmune frente a objetivos que están asociados a la autoinmunidad incluyendo los receptores celulares y las células que producen anticuerpos auto-dirigidos. Las enfermedades autoinmunes mediadas de célula T incluyen la artritis reumatoide (RA), esclerosis múltiples (MS), síndrome de Sjögren, sarcoidosis, diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM), tiroiditis autoinmune, artritis reactiva, espondilitis anquilosante, escleroderma, polimiositis, dermatomiositis, psoriasis, vasculitis, granulomatosis de Wegener, enfermedad de Crohn, y colitis ulcerante. Cada una de estas enfermedades se caracteriza por receptores de célula T (TCRs) que enlazan con antígenos endógenos y que inician la cascada inflamatoria asociada a enfermedades autoinmunes.

Los vectores adenovirales modificados de la invención son particularmente adecuados para regímenes terapéuticos en los que se desean múltiples suministros mediados adenovirales de transgenes, por ejemplo en regímenes que incluyen el re-suministro del mismo transgén o en regímenes de combinación que incluyen el suministro de otros transgenes. Tales regímenes pueden incluir la administración de un vector adenoviral modificado, seguido de re-administración con un vector del mismo adenovirus de serotipo. Los regímenes particularmente deseables incluyen la administración de un vector adenoviral modificado de la invención, en el que el serotipo del vector viral suministrado en la primera administración, difiere del serotipo del vector viral utilizado en una o más de las administraciones posteriores. Por ejemplo, un régimen terapéutico incluye la administración de un adenoviral modificado y repetir la administración con uno o más adenovirus modificados del mismo serotipo o de serotipos diferentes. En otro ejemplo, un régimen terapéutico incluye la administración de un vector adenoviral seguido una repetición de la administración con un vector de adenovirus modificado de la invención que difiere del serotipo del primer vector adenoviral suministrado, y opcionalmente una administración adicional con otro vector que es el mismo o, con preferencia, difiere del serotipo del vector de las fases de administración anteriores. Estos regímenes no están limitados al suministro de vectores adenovirales construidos utilizando los serotipos quiméricos de la invención. Por el contrario, estos regímenes pueden utilizar fácilmente vectores de otros serotipos adenovirales (modificados o no), que pueden ser artificiales, humanos o de primate no humano, o de otros orígenes de mamíferos, en combinación con uno o más de los vectores quiméricos de la invención. Ejemplos de tales serotipos se discuten en otras partes de este documento. Además, estos regímenes terapéuticos pueden incluir el suministro simultáneo o secuencial de vectores adenovirales modificados de la invención en combinación con vectores no adenovirales, y/o una diversidad de otros compuestos o moléculas terapéuticamente útiles. La presente invención no se limita a estos regímenes terapéuticos, de los que una diversidad resultarán fácilmente evidentes para los expertos en la materia.

2. Suministro de Transgenes Inmunogénicos

Según se ha descrito anteriormente, la proteína hexon de adenovirus modificado puede ser modificada en sí misma para que contenga un péptido o polipéptido seleccionados, o una proteína que induzca una respuesta inmune a un inmunógeno seleccionado. Tal proteína hexon de adenovirus modificado puede ser en sí misma utilizada para preparar un cápside de adenovirus que sea en sí mismo útil para fijar el objetivo, como adyuvante, y/o para inducir una respuesta inmune específica. En una realización adicional, tal cápside de adenovirus modificado se utiliza para la generación de una partícula viral, en la que se empaqueta un casete de expresión o un minigén adecuados.

De ese modo, en una realización, un vector adenoviral modificado de la invención contiene además empaquetado dentro del mismo, el cápside de adenovirus modificado, un transgén que codifica un péptido, polipéptido o proteína que induce una respuesta inmune a un inmunógeno seleccionado. Tales adenovirus modificados de esta invención pueden proporcionar un efecto de auto-inicio, un efecto adyuvante, y/o pueden ser altamente eficaces en la inducción de células T citolíticas y/o de anticuerpos en la(s) proteína(s) heteróloga(s) insertada(s) expresada(s) por el vector.

Los adenovirus de la invención pueden ser empleados también como composiciones inmunogénicas. Los adenovirus recombinantes pueden ser utilizados como vacunas profilácticas o terapéuticas frente a cualquier patógeno para el que el (los) antígeno(s) sea(n) crucial(es) para la inducción de una respuesta inmune, y susceptible(s) de limitar la extensión en la que el patógeno ha sido identificado y para el que se encuentra disponible cADN.

Tales composiciones de vacuna (u otras inmunogénicas) están formuladas en un vehículo de suministro adecuado, según se ha descrito en lo que antecede. En general, las dosis para las composiciones inmunogénicas están comprendidas en las gamas definidas anteriormente para las composiciones terapéuticas. Los niveles de inmunidad del gen seleccionado pueden ser monitorizados con el fin de determinar la necesidad, si la hay, de reforzadores. A continuación de una evaluación de títulos de anticuerpos en el suero, puede resultar deseable una inmunización opcional de refuerzo.

Opcionalmente, una composición de vacuna de la invención puede ser formulada de modo que contenga otros componentes, incluyendo, por ejemplo, adyuvantes, estabilizadores, ajustadores de pH, conservantes y similares. Tales componentes son bien conocidos por los expertos en la técnica de las vacunas. Ejemplos de adyuvantes adecuados incluyen, sin limitación, liposomas, alumbre, lípido A de monofosforil y cualquier factor biológicamente activo, tal como citoquina, una interleuquina, una quimioquina, un ligando, y óptimamente combinaciones de las mismas. Algunos de estos factores biológicamente activos pueden ser expresados *in vivo*, por ejemplo a través de un plásmido o de un vector viral. Por ejemplo, un adyuvante de ese tipo puede ser administrado con una vacuna de ADN inicial que codifica un antígeno para aumentar la respuesta inmune específica al antígeno en comparación con la respuesta inmune generada tras el inicio con una vacuna de ADN que codifica el antígeno solamente.

Los adenovirus son administrados en una “cantidad inmunogénica”, es decir, una cantidad de adenovirus que es efectiva en una ruta de administración para transfectar las células deseadas y proporcionar niveles suficientes de expresión del gen seleccionado para inducir una respuesta inmune. Cuando se proporciona inmunidad protectora, los adenovirus son considerados como que son composiciones de vacuna útiles para prevenir la infección y/o enfermedad recurrente.

Por ejemplo, los inmunógenos se pueden elegir a partir de una diversidad de familias virales. Ejemplos de familias virales deseables contra las que podría ser deseable una respuesta inmune, incluyen la familia de picomavirus, la cual incluye los géneros de rinovirus, los cuales son responsables de alrededor del 50% de los casos de resfriado común; los géneros enterovirus, los cuales incluyen los poliovirus, virus de coxsackie, ecovirus, y enterovirus humanos tal como el virus de la hepatitis A; y los géneros aftovirus, los cuales son responsables de las enfermedades de los pies y de la boca, principalmente en animales no humanos. Dentro de la familia de los picomavirus, los antígenos objetivo incluyen el VP1, VP2, VP3, VP4 y VPG. Otra familia viral incluye la familia de calcivirus, la cual abarca el grupo de virus Norwalk, los cuales son un importante agente causante de gastroenteritis epidémica. Todavía otra familia viral deseable para su uso en los antígenos objetivo para la inducción de respuestas inmunes en los humanos y en los animales no humanos, es la familia togavirus, la cual incluye el género alfavirus, el cual incluye los virus Sindole, los virus Ross-River, y los de la encefalitis Venezolana, Eastern & Western Equine, y rubivirus, incluyendo el virus Rubella. La familia flaviridae incluye los virus del dengue, la fiebre amarilla, la encefalitis Japonesa, la encefalitis de St. Louis, y de la encefalitis transmitida por virus de garrapatas. Otros antígenos objetivo pueden ser generados a partir de la hepatitis C o de la familia de coronavirus, la cual incluye un número de virus no humanos tales como el virus de la bronquitis infecciosa (aves de corral), virus gastroentérico de transmisión porcina (cerdos), virus de encefalomyelitis de hemaglutinatina porcina (cerdos), virus de la peritonitis infecciosa felina (gatos), coronavirus entérico de felinos (gatos), coronavirus canino (perros), y coronavirus respiratorios humanos, los cuales pueden causar el resfriado común y/o la hepatitis no-A, la B o C. Adicionalmente, los coronavirus humanos incluyen el agente causante putativo del síndrome respiratorio agudo repentino (SARS). Dentro de la familia de coronavirus, los antígenos objetivo incluyen el E1 (también llamado proteína M o matriz), el E2 (también llamado proteína S o de Spike), la glicoproteína (no presente en todos los coronavirus), el E3 (también llamado HE o hemaglutina-elterosa), o el N (nucleocápside). Todavía pueden ser objetivados otros antígenos frente a la familia de rhabdovirus, la cual incluye el género vesiculovirus (por ejemplo, el Virus Vesicular Stomatitis), y el género lissavirus (por ejemplo, rabias). Dentro de la familia de rhabdovirus, los antígenos adecuados pueden ser derivados de la proteína G o de la proteína N. La familia filoviridae, la cual incluye los virus de la fiebre hemorrágica tales como los virus Marburg y Ébola, pueden ser una fuente adecuada de antígenos. La familia de paramixovirus incluye el Virus Tipo 1 de parainfluenza, el Virus Tipo 3 de parainfluenza, el Virus Tipo 3 de parainfluenza bovina, el rubulavirus (virus de las paperas), el Virus Tipo 2 de parainfluenza, el Virus Tipo 4 de parainfluenza, el virus de la enfermedad de Newcastle (pollos), fiebre biliosa hematórica, morbilivirus, el cual incluye cisticercosis y moquillo canino, y neumovirus, el cual incluye el virus sincitial respiratorio. El virus de la influenza está clasificado dentro de la familia de los ortomixovirus, y es una fuente adecuada de antígeno (por ejemplo, la proteína HA, la proteína N1). La familia de bunyavirus incluye los géneros bunyavirus (encefalitis California, La Crosse), flebovirus (Fiebre del Valle del Rift), hantavirus (el puremala es el virus de la fiebre hemorrágica), nairovirus (enfermedad de la oveja de Nairobi), y varios bungavirus sin asignar. La familia de arenavirus proporciona una fuente de antígenos contra LCM y el de la fiebre de Lassa. La familia reovirus incluye los géneros reovirus, rotavirus (el cual causa la gastroenteritis aguda en los niños), orbivirus, y cultivirus (fiebre de la Garrapata de Colorado), Lebonbo (humanos), encefalosis equina, lengua azul. La familia de retrovirus incluye la sub-familia oncovirinal que abarca enfermedades humanas y veterinarias tales como el virus de la leucemia felina, HTLV I y HTLV II, lentivirinal (que incluye el virus de inmunodeficiencia humana (HIV), el virus de inmunodeficiencia de los simios (SIV), el virus de inmunodeficiencia felina (FIV), el virus de la anemia infecciosa equina, y espumavirinal). Entre los lentivirus, han sido descritos muchos antígenos adecuados y pueden ser fácilmente seleccionados.

Ejemplos de antígenos HIV y SIV adecuados incluyen, sin limitación, las proteínas gag, pol, Vif, Vpx, VPR, Env, Tat, Nef, y Rev, así como también diversos fragmentos de las mismas. Por ejemplo, los fragmentos adecuados de la proteína Env pueden incluir cualesquiera de sus subunidades tales como el gp120, gp160, gp41, o fragmentos más pequeños de las mismas, por ejemplo de al menos alrededor de 8 aminoácidos de longitud. De forma similar,

se pueden seleccionar los fragmentos de la proteína tat. [Véase la Patente U.S. núm. 5.891.994 y la Patente U.S. núm. 6.193.981]. Véase, también, las proteínas HIV y SIV descritas por D.H. Barouch *et al.*, J. Virol., 75(5):2462-2467 (Marzo de 2001), y R.R. Amara, *et al.*, Science, 292:69-74 (6 de Abril de 2001). En otro ejemplo, se pueden utilizar las proteínas inmunogénicas del HIV y/o del SIV o péptidos para formar proteínas de fusión u otras moléculas inmunogénicas. Véase, por ejemplo, las proteínas de fusión HIV-1 Tat y/o Nef y regímenes de inmunización que se describen en el documento WO 01/54719, publicado el 2 de Agosto de 2001, y el documento WO 99/16884, publicado el 3 de Abril de 1999. La invención no está limitada a las proteínas o péptidos inmunogénicos del HIV y/o SIV que aquí se describen. Además, se ha descrito una diversidad de modificaciones de esas proteínas o que podrían ser fácilmente realizadas por un experto en la materia. Véase, por ejemplo, la proteína gag modificada que se describe en la Patente U.S. 5.972.596. Además, cualesquiera inmunógenos deseados del HIV y/o SIV pueden ser suministrados solos o en combinación. Tales combinaciones pueden incluir expresión a partir de un vector único o a partir de múltiples vectores. Opcionalmente, otra combinación puede incluir el suministro de uno o más inmunógenos expresados, con el suministro de uno o más de los inmunógenos en forma de proteína. Tales combinaciones se discuten con mayor detalle en lo que sigue.

La familia de papovavirus incluye la familia de poliomavirus (virus BKU y JCU), y la subfamilia papilomavirus (asociada a cánceres o progresión maligna del papiloma). La familia de adenovirus incluye los virus (EX, AD7, ARD, O, B) que causan enfermedad respiratoria y/o enteritis. El parvovirus incluye la familia de parvovirus felino (enteritis felina), panleucopeniavirus felino, parvovirus canino, y parvovirus porcino. La familia de herpesvirus incluye la subfamilia alphaherpesvirinae, la cual abarca los géneros simplexvirus (HSV1, HSV2), varicelovirus (seudo-rabias, varicela soster), y la subfamilia betahepesvirinae, la cual incluye los géneros citomegalovirus (HCMV, muromegalovirus) y la subfamilia gammaherpesvirinae, la cual incluye los géneros linfocriptovirus, EBV (linfoma de Burkitts), rinotraqueitis infecciosa, virus de la enfermedad de Marek, y radovirus. La familia poxvirus incluye la subfamilia cordopoxvirinae, la cual abarca los géneros ortopoxvirus (Variola (Smallpox) y Vaccinia (Cowpox)), parapoxvirus, avipoxvirus, capripoxvirus, sulpoxvirus, y la subfamilia entornopoxvirinae. La familia hepadnavirus incluye el virus de la hepatitis B. Un virus sin clasificar que puede ser una fuente adecuada de antígenos, es el virus de la hepatitis delta. Todavía otras fuentes virales pueden incluir el virus de la enfermedad de la bolsa infecciosa de las aves, y el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino. La familia de alfavirus incluye el virus de la artritis equina y varios virus de encefalitis.

Los virus de la presente invención pueden portar también inmunógenos que sean útiles para inmunizar a un humano o un animal no humano frente a otros patógenos incluyendo las bacterias, hongos, microorganismos parásitos o parásitos multicelulares, que infectan a los vertebrados humanos y no humanos, o procedentes de una célula cancerígena o una célula tumoral. Ejemplos de patógenos bacterianos incluyen los cocos patógenos gram-positivos que incluyen los neumococos, estafilococos, y estreptococos. Los cocos patógenos gram-negativos incluyen los meningococos, gonococos. Los bacilos patógenos entéricos gram-negativos incluyen las enterobacterias; pseudomonas, acinetobacteria y equinella; melioidosis; salmonella; shigella; haemophilus; moraxella; *H. ducreyi* (que causa chancroide); brucella; *Francisella tularensis* (que causa tularemia); *streptobacillus molliformis* y *spirillum*; bacilos Gram-positivos que incluyen monocitógenos de listeria; *erysipelothrix rhusiopathiae*; *Corynebacterium diphtheria* (difteria); cólera; *B. anthracis* (ántrax); donovanosis (granuloma inguinal), y bartonellosis. Enfermedades causadas por bacterias anaeróbicas patógenas incluyendo el tétanos; el botulismo; otra clostridia; tuberculosis; lepra; y otras microbacterias. Enfermedades espiroquetales patógenas incluyendo la sífilis; trepanomatosas: frambesia, pinta y sífilis endémica; y leptospirosis. Otras infecciones causadas por bacterias patógenas superiores y hongos patógenos incluyendo la actinomicosis; neocardiosis; criptococosis; blastomicosis; histoplasmosis y coccidioidomicosis; candidiasis, aspergilosis, y mucomicosis; esporotricosis; paracoccidioidomicosis, petrieldiosis, torulopsosis, micetoma y cromomicosis; y dermatofitosis. Infecciones rickettsianas que incluyen la fiebre del Tifus, fiebre de las Montañas Rocosas, fiebre Q, y rickettsialpox. Ejemplos de micoplasma y de infecciones clamidiales incluyen: mycoplasma pneumoniae, *lymphogranuloma venereum*; psitacosis, e infecciones clamidiales perinatales. La eucariotes patógena abarca los protozoos y helmintos patógenos, y las infecciones producidas los mismos incluyen: amebiasis; malaria; leishmaniasis; tripanosomiasis; toxoplasmosis; *Pneumocystis carinii*; Trichans; *Toxoplasma gondii*; babeiosis; giardiasis; triquinosis; flariasis; esquistosomiasis; nematodos; trematodos o gusanos; e infecciones cestoides (tenias). Muchos de estos organismos y/o toxinas producidas han sido identificados por el Centro para el Control de Enfermedades [(CDC), Departamento de Salud y Servicios Humanos, USA], como agentes que tienen potencial para su uso en ataques biológicos. Por ejemplo, algunos de estos agentes biológicos incluyen *Bacillus anthracis* (ántrax), *Clostridium botulinum* y sus toxinas (botulismo), *Yersinia pestis* (plaga), variola major (smallpox), *Francisella tularensis* (tularemia), y fiebres hemorrágicas virales [filovirus (por ejemplo, Ébola, Marburg), y arenavirus [por ejemplo, Lassa, Machupol], todos los cuales son normalmente clasificados como agentes de Categoría A; *Coxiella burnetii* (fiebre Q); especies de Brucella (brucelosis); *Burkholderia mallei* (muermos), *Burkholderia pseudomallei* (meloidosis), *Ricinus communis* y su toxina (toxina de ricina), *Clostridium perfringens* y su toxina (toxina épsilon), especies de *Staphylococcus* y sus toxinas (enterotoxina B), *Chlamydia psittaci* (psitacosis), amenazas a la seguridad del agua (por ejemplo, *Vibrio cholerae*, *Cryptosporidium parvum*), fiebre del tifus (*Rickettsia powazeki*), y encefalitis viral (alfavirus, por ejemplo, encefalitis equina de Venezuela; encefalitis equina eastern; encefalitis equina western); todos los cuales son normalmente clasificados como agentes de Categoría B; y virus y hantavirus Nipán, los cuales son normalmente clasificados como agentes de Categoría C; otros organismos que estén clasificados del mismo modo o de forma diferente, pueden ser identificados y/o utilizados para un propósito de este tipo en el futuro. Se comprenderá fácilmente que los vectores virales y otras construcciones aquí descritas son útiles para suministrar antígenos de estos organismos, virus, sus toxinas u otros subproductos, los cuales podrán impedir y/o tratar la infección u otras reacciones adversas con estos agentes biológicos.

La administración de los vectores de la invención para suministrar inmunógenos frente a la región variable de las células T produce una respuesta inmune que incluye linfocitos citotóxicos (CTLs) para eliminar esas células T. En la artritis reumatoide (RA), varias regiones variables específicas de los receptores de célula T (TCRs) que están involucradas en la enfermedad, han sido caracterizadas. Estas TCRs incluyen la V-3, V-14, Va7 y Va-17. De ese modo, el suministro de una secuencia de ácido nucleico que codifica al menos uno de estos polipéptidos producirá una respuesta inmune que fijará como objetivo las células T involucradas en RA. En esclerosis múltiple (MS), varias regiones variables específicas de TCRs que están involucradas en la enfermedad han sido caracterizadas. Estas TCRs incluyen V-7 y Va-10. De ese modo, el suministro de una secuencia de ácido nucleico que codifica al menos uno de esos polipéptidos producirá una respuesta inmune que fijará como objetivo células T involucradas en MS. En escleroderma, varias regiones variables específicas de TCRs que están involucradas en la enfermedad, han sido caracterizadas. Estas TCRs incluyen V-6, V-8, V-14 y Va-16, Va-3C, Va-7, Va-114, Va-15, Va-16, Va-28 y Va-12. De ese modo, el suministro de un adenovirus quimérico que codifica al menos uno de esos polipéptidos, producirá una respuesta inmune que fijará como objetivo células T involucradas en escleroderma.

3. Métodos de Suministro

Los niveles terapéuticos, o niveles de inmunidad, del gen seleccionado pueden ser monitorizados para determinar la necesidad, si la hay, de reforzadores. A continuación de una evaluación de respuesta de la célula CDB+T, u opcionalmente, títulos de anticuerpo, en el suero, pueden desearse inmunizaciones de refuerzo opcionales. Opcionalmente, los vectores adenovirales de la invención pueden ser suministrados en una única administración o en varios regímenes de combinación, por ejemplo, en combinación con un régimen o curso de tratamiento que incluya otros ingredientes activos o con un régimen de refuerzo de inicio. Una diversidad de tales regímenes han sido descritos en el estado de la técnica y pueden ser seleccionados fácilmente. Por ejemplo, regímenes de refuerzo de inicio que incluyan la administración de un ADN (por ejemplo, un plásmido) en base a un vector para preparar el sistema inmune respecto a una segunda, o más, administración(es) de reforzador con un antígeno tradicional, tal como una proteína o un virus recombinante que sea portador de las secuencias que codifican a ese antígeno. Véase, por ejemplo, la Publicación de Patente Internacional núm. WO 00/11140, publicada el 2 de Marzo de 2000. Alternativamente, un régimen de inmunización puede incluir la administración de un vector adenoviral modificado de la invención para reforzar la respuesta inmune a un vector (ya sea viral o ya sea basado en ADN) portador de un antígeno, o una proteína. Todavía según otra alternativa, un régimen de inmunización incluye la administración de una proteína, seguido del reforzador con un vector que codifica el antígeno.

En una realización, la invención proporciona un procedimiento de iniciación y refuerzo de una respuesta inmune respecto a un antígeno seleccionado en un régimen que incluye el suministro de un vector adenoviral modificado de la invención. Un régimen de ese tipo puede incluir el suministro de un vector de ADN de plásmido, portador de un inmunógeno seleccionado y/o de expresión de multiproteínas a partir del vehículo de inicio y/o de refuerzo. Véase, por ejemplo, R.R. Amara, Science, 292:69-74 (6 de Abril de 2001), el cual describe un régimen multiproteína para la expresión de subunidades de proteína útiles para generar una respuesta inmune frente al HIV y al SIV. Por ejemplo, un refuerzo inicial puede suministrar la Gag, Pol, Vif, VPX y Vpr y Env, Tat, y Rev a partir de una transcripción simple o de múltiples transcripciones. Alternativamente, la SIV Gag, Pol y HIV-1 Env se suministran en una formación única. Todavía, otros regímenes están descritos en las Publicaciones de Patentes Internacionales núms. WO 99/16884 y WO 01/54719.

Sin embargo, los regímenes de refuerzo inicial no se limitan a la inmunización respecto a HIV o al suministro de estos antígenos. Por ejemplo, el refuerzo inicial puede incluir el suministro con un primer vector seguido de refuerzo con un segundo vector, o con una composición que contenga el propio antígeno en forma de proteína. En un ejemplo, el régimen de refuerzo inicial puede proporcionar una respuesta inmune protectora respecto al virus, bacteria u otro organismo del que se derive el antígeno. En otra realización deseada, el régimen de refuerzo inicial proporciona un efecto terapéutico que puede ser medido utilizando ensayos convencionales para la detección de la presencia de la condición para la que se está administrando la terapia.

La composición de inicio puede ser administrada en varios sitios del cuerpo de una manera dependiente de la dosis, la cual depende del antígeno respecto al que se está fijando como objetivo la respuesta inmune deseada. La invención no se limita a la cantidad o sitio de inyección(es) o al portador farmacéutico. Por el contrario, el régimen puede incluir una etapa de preparación inicial y/o de refuerzo, cada uno de los cuales puede incluir una simple dosis o una dosificación que sea administrada por horas, por días, por semanas o por meses, o por años. Como ejemplo, los mamíferos pueden recibir una o dos dosis que contengan entre aproximadamente 10 μg y aproximadamente 50 μg de plásmido en el portador. Una cantidad deseable de composición de ADN está comprendida en la gama de entre alrededor de 1 μg y alrededor de 10,000 μg de vector de ADN.

Las dosificaciones pueden variar desde alrededor de 1 μg hasta 1000 μg de ADN por kg de peso corporal del sujeto. La cantidad o el sitio de suministro se selecciona preferentemente en base a la identidad y a la condición del mamífero.

La unidad de dosificación del vector adecuada para el suministro del antígeno al mamífero, se describe en la presente memoria. El vector se prepara para su administración mediante suspensión o disolución en un portador farmacéutico o fisiológicamente aceptable, tal como una solución salina isotónica; solución de sales isotónicas u otras formulaciones que serán evidentes para los expertos en tal administración. El portador apropiado será evidente para los expertos en la materia y dependerá en gran medida de la vía de administración. Las composiciones de la

invención pueden ser administradas a un mamífero de acuerdo con las vías descritas en lo que antecede, en una formulación de liberación sostenida utilizando un polímero biocompatible biodegradable, o mediante suministro en el sitio utilizando micelas, geles y liposomas. Opcionalmente, la etapa de preparación inicial de esta invención incluye también la administración con la composición de inicio, de una cantidad adecuada de un adyuvante tal como el que se ha definido en la presente memoria.

Con preferencia, una composición reforzadora se administra entre alrededor de 2 y alrededor de 27 semanas después de la administración de la composición de inicio al sujeto mamífero. La administración de la composición de refuerzo se realiza utilizando una cantidad efectiva de composición de refuerzo que contenga, o que sea susceptible de suministrar, el mismo antígeno que el administrado mediante la vacuna de ADN de inicio. La composición de refuerzo puede estar compuesta por un vector viral recombinante derivado de la misma fuente viral (por ejemplo, la secuencia adenoviral de la invención) o a partir de otra fuente. Alternativamente, la “composición de refuerzo” puede ser una composición que contenga el mismo antígeno que el codificado en la vacuna de ADN de inicio, pero en forma de una proteína o péptido, cuya composición induce una respuesta inmune en el huésped. En otra realización, la composición de refuerzo contiene una secuencia de ADN que codifica el antígeno bajo el control de una secuencia reguladora que dirige su expresión en una célula de mamífero, por ejemplo, vectores tales como los vectores bacterianos o virales bien conocidos. Los requisitos principales de la composición de refuerzo consisten en que el antígeno de la composición sea el mismo antígeno que, o un antígeno de reacción cruzada con, el codificado por la composición de inicio.

En otra realización, los vectores adenovirales modificados de la invención son muy adecuados para su uso en una diversidad de otros regímenes de inmunización y terapéuticos. Tales regímenes pueden incluir el suministro de vectores adenovirales de la invención de forma simultánea o secuencial con vectores Ad de cápsides de serotipos diferentes, regímenes en los que los vectores adenovirales de la invención son suministrados de forma simultánea o secuencial con vectores no-Ad, y regímenes en los que los vectores adenovirales de la invención son suministrados de forma simultánea o secuencial con proteínas, péptidos, y/u otros compuestos terapéuticos o inmunogénicos biológicamente útiles. Tales usos resultarán fácilmente evidentes para un experto en la materia.

De ese modo, la presente invención proporciona composiciones inmunogénicas para su uso en una diversidad de regímenes de tratamiento y de vacuna que comprenden una proteína hexon de adenovirus modificado de la invención. En una realización, una hexon de adenovirus modificado puede ser suministrada a un sujeto en forma de cápside adenoviral modificado vacío (es decir, en un cápside de adenovirus que contenga la hexon de adenovirus modificado que no tenga empaquetado en la misma ningún minigén para su suministro a la célula objetivo). En otra realización, se puede utilizar un vector que exprese esta hexon en una célula objetivo. Todavía en otra realización, se suministra a un sujeto una partícula adenoviral modificada portadora de un minigén.

Una partícula adenoviral modificada de ese tipo puede contener en su cápside modificado, una secuencia de fijación de objetivo. Sin embargo, tal partícula adenoviral modificada puede constituir la base de una composición inmunogénica de auto-inicio. Tal composición de auto-inicio puede ser preparada cuando una secuencia de aminoácido exógena en el cápside adenoviral es un inmunógeno, y el cápside también tiene empaquetado en el mismo una secuencia de ácido nucleico que codifica a un inmunógeno. Según se ha descrito en la presente memoria, el inmunógeno de la proteína de cápside y el inmunógeno contenido dentro de la molécula empaquetada en el interior del cápside, pueden ser el mismo, pudiendo inducir una respuesta inmune al mismo virus u organismo. En otra realización, una partícula adenoviral de auto-inicio de la invención puede contener en su cápside un inmunógeno que induce una respuesta inmune no específica, y que tiene empaquetado en el mismo un segundo inmunógeno mencionado que induce una respuesta inmune específica o reactiva cruzada respecto a un tipo de célula, molécula u organismo seleccionado.

Ejemplos

Los ejemplos que siguen son ilustrativos, y no se pretende que sean limitativos de la invención respecto a las realizaciones ilustradas.

Los inventores han demostrado que se puede preparar un mutante de adenovirus viable que contenga una supresión de 25 aminoácidos (ALEINLEEEEDDDNEDEVDEQAEQQK, ID de SEQ núm. 11) de la hexon (región HVR1 según ha sido definida por Rux, *et al.*, (2003) citado anteriormente).

Los inventores demuestran además que un segmento de ADN exógeno que codifica una secuencia de péptido deseada (en este ejemplo, la secuencia de péptido -EQELLELDKWASLW, ID de SEQ núm. 12- correspondiente a la sección de la proteína envolvente del HIV que se ha informado que alberga un epítipo neutralizador de HIV), puede ser insertado en el lugar de la supresión.

Ejemplo 1

Mutagénesis de inserción de la hexon de HAdV-5

Las etapas de clonación emprendidas para mutar la secuencia de ADN de la hexon para que ésta codificara las secuencias de péptido extrañas, fueron como sigue.

ES 2 341 501 T3

El fragmento Ascl del genoma de HAdV-5 que alberga la región de codificación de hexon, se sub-clona en el plásmido pNEB193 (adquirido en New England Biolabs) para crear pNEBAsc (véase la Figura 1).

La mutagénesis de PCR (reacción de cadena de polimerasa) se lleva a cabo sobre la hexon para crear un nuevo sitio SpeI en el sitio de inserción. Los detalles de la mutagénesis de PCR para crear el sitio SpeI son como sigue.

El patrón de PCR para las reacciones 1 y 2, es pNEBAsc (el fragmento Ascl de Ad5 que contiene la región hexon clonada en el plásmido pNEB193). Los productos de las reacciones 1 y 2 fueron combinados de acuerdo a cómo se usaron como patrón para la reacción 3. La enzima PCR fue Tgo polimerasa. La repetición de ciclo para las tres reacciones fue como sigue; 94° - 30 segundos, 45° - 60 segundos, 72° - 60 segundos, 40 veces.

Para la Reacción 1, se utilizaron los iniciadores “Shex1” (GACCGCCGTTGTTGTAACCC, ID de SEQ núm. 13) y “tt rev” (GTTGTCATCGTCCACTAGTCCCTCTTCTTAGGTTTATTCAAG, ID de SEQ núm. 14) para amplificar un fragmento de 713 bp.

Para la Reacción 2, se utilizaron los iniciadores “rt fwd” (CGACTAGTGGACGATGACAACGAAGACGA, ID de SEQ núm. 15), y “rt rev” (ATGGTTTCATTGGGGTAGTC, ID de SEQ núm. 16) para amplificar un fragmento de 259 bp.

Para la reacción 3, los fragmentos resultantes de la Reacción 1 y la Reacción 2 fueron cosidos entre sí utilizando los iniciadores “Shex1” y “rt rev” dando como resultado un producto de 951 bp. El producto de 951 bp cosido fue cortado con BlnI; el fragmento resultante de 518 bp fue utilizado para sustituir el fragmento BlnI natural de pNEBAsc para producir pNEBAscSpe. Estos insertos GGACTAGTG [nt 1 - 9 de ID de SEQ núm. 15] (que codifican los aminoácidos GLV) contenían un sitio SpeI entre EEE y DDD (entre aa#149 y 150) en la secuencia de aminoácido de hexon].

Los fragmentos de ADN sintético que codifican las secuencias de péptido deseadas fueron insertados en el sitio SpeI. Los detalles del procedimiento fueron como sigue.

A continuación de fortalecer los oligómeros “CD4 top” (CTAGGCTGCTACGGCGTGAGCGCCACCAAGCTGGG, ID de SEQ núm. 18) y “CD4 bot” (CTAGCCCCAGCTTGTTGGCGCTCACGCCGTAGCAGC, ID de SEQ núm. 19) juntos, se insertó un epítipo CD4 de ratón Balb/c de la proteína spike del coronavirus SARS en el sitio SpeI de pNEBAscSpe para producir pNEBAscSpe-spikeCD4. Esto situó GLGCGVVSATKLGLV (ID de SEQ núm. 20) entre EEE y DDD (entre aa#149 y 150) de la hexon.

Para insertar un epítipo CD8 de ratón Bab/c desde la proteína spike del coronavirus SARS, los oligómeros “CD8 top” (CTAGGGACCAGCACCGCAACTACAAGTACCGCTACCTGCGCCACGGCAAGCTGCGCCCCG, ID de SEQ núm. 21) y “CD8 bot” (CTAGCCCCGGGCGCAGCTTGCCGTGGCGCAGGTAGCGGTACTTGTAGTTGTAGTTGCCGGTGCTGGTCC, ID de SEQ núm. 22) fueron fortalecidos conjuntamente e insertados en el sitio SpeI de pNEBAscSpe para producir pNEBAscSpe-spikeCD8. Esto sitúa la secuencia de aminoácido GLGTSTGN YNYKYRYLRHGKLRPGLV (ID de SEQ núm. 23) entre EEE y DDD (entre aa#149 y 150) de la hexon.

La hexon natural que contenía clon molecular de plásmido de un vector HAdV-5 suprimido en E1 y en E3 (pS-RAD5eGFP), fue situada de nuevo con las que contenían la hexon con secuencias extrañas insertadas, para crear nuevos clones moleculares del plásmido (pH5sCDA y pH5sCD8, respectivamente) que albergan la hexon mutada.

La mutagénesis de PCR (reacción de cadena de polimerasa) fue llevada a cabo sobre la hexon para crear un nuevo sitio de enzima de restricción BspEI en el sitio de inserción. Los detalles de la mutagénesis de PCR para crear el sitio BspEI fueron los que siguen.

El pNEBAsc (el fragmento Ascl de Ad5 que contiene la región hexon clonada en el plásmido pNEB 193) fue el patrón para las reacciones 1 y 2. Los productos de las reacciones 1 y 2 fueron combinados para su utilización como patrón para la reacción 3.

El kit de PCR Phusion™ de alta fidelidad, fue adquirido en NEB y utilizado de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La repetición cíclica para las tres reacciones fue: 98° - 5 segundos, 55° - 15 segundos, 72° - 60 segundos, 25 veces.

Para la Reacción 1, se utilizaron las preparaciones de inicio “Shex1” (GACCGCCGTTGTTGTAACCC, ID de SEQ núm. 24) y BspSOErev (CGTGAGTTCCGGAAGTAGCAGCTTCATCCCATTTCG, ID de SEQ núm. 25), que fueron utilizadas para amplificar un segmento de 678 bp. Para la reacción 2, los preparadores de inicio BspSOErev (TGCTACTTCCGGAAGTACAGTATTTGGGCAGGCG, ID de SEQ núm. 26) y Shex4 (GGAAGAAGGTGGCGTAAAGG, ID de SEQ núm. 27) fueron utilizados para amplificar un fragmento de 1379 bp.

Para la Reacción 3, los fragmentos resultantes de la Reacción 1 y de la Reacción 2, fueron cosidos entre sí utilizando los preparadores de inicio Shex1 y Shex4 y el producto de 2037 fue cortado con RsrII+AvrII; el fragmento resultante de 1908 bp fue ligado en el pNEBAsc/ RsrII+AvrII para producir pNEBAscBspEI. Esto suprime 75 bp que codifican ALEINLEEEEDDDNEDEVDEQAEQQK [ID de SEQ núm. 11] e inserta TCCGGA (nt 71-3 de ID de SEQ núm. 27 que codifica SG) que contienen un sitio BspEI en la secuencia de la hexon.

Fragmentos de ADN artificial que codifican las secuencias de péptido deseadas, fueron insertados en el sitio BspEI. Los detalles del procedimiento fueron como sigue. Para insertar la región de epítipo 2F5 de HIV en pNEBAscBspEI, los oligómeros "2F2 top" (CCGGCGAGCAGGAGCTGCTGGAGCTGGACAAGTGGGCCAGCCTGTGGT, ID de SEQ núm. 28) y "2F5 bot" (CCGGACCACAGGCTGGCCCACTTGTCCAGCAGCTCCTGCTCG, ID de SEQ núm. 17) fueron fortalecidos e insertados en el sitio BsoEI para producir el plásmido pNEBAsc 2F5. Esto sitúa la secuencia de aminoácido ALEINLEEEDDDNBDEVDEQAEQQK (ID de SEQ núm. 11) en el lugar de la supresión de 25 aminoácidos llevada a cabo con anterioridad.

El clon molecular del plásmido que contiene hexon natural de un vector HAdV-5 suprimido en E1 y E3 (pS-RAAd5eGFP), fue colocado de nuevo con los que contenían la hexon con una supresión o con secuencias extrañas insertadas, para crear nuevos clones moleculares del plásmido (pH5hexBspEI y pH5 2F5, respectivamente) que albergan la hexon mutada.

El vector HAdV-5 recombinante infeccioso fue generado con una hexon mutada, transfectando el nuevo clon molecular de plásmido que alberga la hexon mutada (linealizada con Pad) en células HEK 293.

Este nuevo vector HAdV-5 que contiene una proteína hexon modificada, puede ser utilizado en una diversidad de aplicaciones, según se ha descrito en la presente memoria.

Mientras la invención ha sido descrita con referencia a una realización particularmente preferida, se apreciará que se pueden introducir modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones anexas.

Referencias citadas en la descripción

La lista de referencias citadas por el solicitante se proporciona únicamente por conveniencia para el lector. Ésta no forma parte del documento de Patente Europea. Incluso aunque se ha puesto un gran cuidado en el listado de las referencias, no se excluyen los errores u omisiones y la EPO declina toda responsabilidad en ese sentido.

Documentos de patente citados en la descripción

- US 6083716 A
- WO 9613597 A
- WO 0233645 A
- US6200560 B
- WO 0416614 A
- US 6221349 B
- US 2003143209 A, Latta
- US 5891994 A
- WO 2005026337 A
- US 6193981 B
- WO 03046124 A
- WO 0154719 A
- US 20050069866 A1
- WO 9916884 A
- US 5922315 A
- US 5972596 A
- US 20040171807 A
- WO 0011140 A
- WO 9810088 A
- US 60796078 B
- US 6203975 B

Literatura que no es de patentes, citada en la descripción

- W.C. Russell, *J. Gen. Virol.*, Noviembre 2000, vol. 81, 2573-2604
- Curiel, D.T. *Ann N Y Acad. Sci.*, 1999, vol. 886, 158-71
- Einfeld, D.A. *et al.*, *J. Virol.*, 1999, vol. 73, 9130-6
- Dimitriev, I.P. *et al.*, *J. Virol.* 2002, vol. 76, 6893-9
- Vigne, *et al.*, *J. Virol.*, 1999, vol. 73, 5156-61
- Crompton *et al.*, *J. Gen Virol*, 1994, vol. 75, 133-9

ES 2 341 501 T3

- **Roberts et al.**, *Science*, 1986, vol. 232, 1148-51
- **Rux JJ et al.**, *J. Virol.*, 2003, vol. 77, 9553-66
- 5 - **Crowfors-Miksza; Schnurr DP.** El análisis de 15 proteínas hexon de adenovirus revela la posición y la estructura de siete regiones hipervariables que contienen residuos específicos del serotipo. *J. Virol.*, 1996, vol. 70, 1836-44
- Una secuencia de consenso para el genoma de adenovirus-2. R. J. **Roberts et al.** *AND de adenovirus*. Martinus Nijhoff Publishing, 1-51
- 10 - **S. Jacobs et al.**, *J. Gen Virol.*, 2004, vol. 85, 3361-3366
- Kinlock et al. Comparación hexon: secuencia de adenovirus de los serotipos 2 y 5 del subgrupo C. *J. Biol. Chem.*, 1984, vol. 259, 6431-6436
- 15 - **P. Pring-Akerblom; T. Adrian.** *Res. Virol.* 1993, vol. 144, 117-121
- **J. Sprengel et al.**, *J. Virol.*, 1994, vol. 68, 379-389
- 20 - **C I Toogood et al.**, *J. Gen Virol.*, 1989, vol. 70, 3203-3214
- Adenoviridae y Su Replicación. **Horwitz.** *VIROLOGY.* 1990, 1679-1721
- M.L. **Donnelly et al.** *J. Gen. Virol.*, Enero de 1997, vol. 78, 13-21
- 25 - **Furter, S. et al.** *Gene Ther.*, Junio de 2001, vol. 8 (11), 864-873
- **Klump H. et al.** *Gene Ther.*, Mayo de 2001, vol. 8 (10), 811-817
- 30 - **Boshart et al.** *Cell*, 1985, vol. 41, 521-530
- **No et al.** *Proc. Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, 3346-3351
- **Gossen et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, vol. 89, 5547-5551
- 35 - **Gossen et al.** *Science*, 1995, vol. 268, 1766-1769
- **Harvey et al.** *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1998, vol. 2, 512-518
- 40 - **Wang et al.** *Nat. Biotech.*, 1997, vol. 15, 239-243
- **Wang et al.** *Gene Ther.*, 1997, vol. 4, 432-441
- **Magari et al.** *J. Clin. Invest.*, 1997, vol. 100, 2865-2872
- 45 - **Li et al.** *Nat. Biotech.*, 1999, vol. 17, 241-245
- **Miyatake et al.** *J. Virol.*, 1997, vol. 71, 5124-32
- 50 - **Sanding et al.** *Gene Ther.*, 1996, vol. 3, 1002-9
- **Arbuthnot et al.** *Hum. Gene Ther.*, 1996, vol. 7, 1503-14
- **Stein et al.** *Mol. Biol. Rep.*, 1997, vol. 24, 185-96
- 55 - **Chen et al.** *J. Bone Miner. Res.*, 1996, vol. 11, 654-64
- **Hansal et al.** *J. Immunol.*, 1998, vol. 161, 1063-8
- 60 - **Adersen et al.** *Cell. Mol. Neurobiol.*, 1993, vol. 13, 503-15
- **Piccioli et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, vol. 88, 5611-5
- **Piccioli et al.** *Neuron*, 1995, vol. 15, 373-84
- 65 - **Sambrook et al.** *Clonación Molecular: Un Manual de Laboratorio.* Cold Spring Harbor Press
- **Wu et al.** *J. Biol. Chem.*, 1989, vol. 264, 16985-16987

ES 2 341 501 T3

- K. J. **Fischer**; J. M. **Wilson**. *Biochem. J.*, 01 de Abril de 1994, vol. 299, 49

- **Fallaux**, FJ *et al. Hum. Gene Ther.*, 1998, vol. 9, 1909-1917

5 - D.H. **Barouch** *et al. J. Virol.*, Marzo de 2001, vol. 75 (5), 2462-2467

- R.R. **Amara** *et al. Science*, 06 de Abril de 2001, vol. 292, 69-74

10 - R.R. **Amara**. *Science*, 06 de Abril de 2001, vol. 292, 69-74

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un adenovirus que tiene un cápside que comprende una proteína hexon de adenovirus modificado, comprendiendo dicha proteína hexon de adenovirus modificado una supresión en al menos una región hipervariable de una proteína hexon de adenovirus seleccionada a partir de la región 1 hipervariable y la región 4 hipervariable, y una secuencia exógena de aminoácido que comprende una secuencia de aminoácido inmunogénica insertada en la citada región 1 hipervariable y/o en la citada región 4 hipervariable, con la particularidad de que dicha secuencia exógena de aminoácido es distinta de una secuencia de adenovirus.
2. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha proteína hexon comprende más de una supresión y/o una supresión parcial.
3. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que la supresión comprende al menos 25 aminoácidos de la región hipervariable natural.
4. El adenovirus de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que se mantienen al menos un aminoácido del terminal N y al menos un aminoácido del terminal C de la región hipervariable natural.
5. El adenovirus de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que dicha proteína hexon de adenovirus modificado comprende más de una secuencia exógena de aminoácido insertada en la misma.
6. El adenovirus de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la secuencia exógena de aminoácido comprende entre 5 y 45 residuos de aminoácido de longitud, o alrededor de 25 aminoácidos de longitud.
7. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 5 ó 6, en el que la secuencia exógena de aminoácido comprende una secuencia de fijación de objetivo.
8. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la secuencia de fijación de objetivo se elige a partir del grupo consistente en un ligando para un receptor celular y un epítipo para un anticuerpo o un fragmento del mismo.
9. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la citada secuencia de fijación de objetivo se elige en el grupo consistente en un anticuerpo bi-específico, un Fab protuberante anti-fibra, y un anticuerpo anti-receptor.
10. El adenovirus de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicha secuencia de aminoácido inmunogénica se elige en el grupo consistente en un epítipo de célula T, un epítipo de anticuerpo, y un antígeno de una proteína del HIV.
11. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dicho epítipo de célula T es un epítipo de neutralización.
12. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la secuencia de aminoácido procede de una proteína del HIV elegida a partir de al menos una proteína tat o una proteína envolvente.
13. El adenovirus de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la secuencia exógena de aminoácido es EQE LLELDKWASLW, ID de SEQ núm. 12.
14. Un procedimiento de alteración de la especificidad de un vector de adenovirus, comprendiendo dicho procedimiento la etapa de proporcionar un adenovirus de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo la proteína hexon de adenovirus modificado de dicho adenovirus una secuencia de fijación de objetivo insertada en la supresión de la región hipervariable.
15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, en el que, una secuencia de aminoácido cargada positivamente, se inserta en el sitio de la supresión.
16. Uso de un adenovirus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en la preparación de un medicamento.
17. Una composición inmunogénica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.
18. Una composición inmunogénica de auto-inicio, que comprende:
un adenovirus que tiene un cápside que comprende una proteína hexon de adenovirus modificado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha secuencia exógena de adenovirus es una primera secuencia de aminoácido inmunógeno;

ES 2 341 501 T3

en el que dicho adenovirus comprende además una secuencia de ácido nucleico que codifica una segunda secuencia de aminoácido inmunogénica.

5 19. La composición inmunogénica de auto-inicio de acuerdo con la reivindicación 18, en la que dicha primera secuencia de aminoácido inmunogénica o antigénica, y dicha segunda secuencia de aminoácido inmunogénica o antigénica, son la misma.

10 20. La composición inmunogénica de auto-inicio de acuerdo con la reivindicación 18, en la que dicha primera secuencia de aminoácido inmunogénica o antigénica, y la citada segunda secuencia de aminoácido inmunogénica o antigénica, son diferentes e inducen una respuesta inmune respecto al mismo virus u organismo.

15 21. La composición inmunogénica de auto-inicio de acuerdo con la reivindicación 18, en la que dicha primera secuencia de aminoácido inmunogénica o antigénica, induce una respuesta inmune no-específica, y dicha segunda secuencia de aminoácido inmunogénica antigénica induce una respuesta inmune a un virus u organismo.

22. Uso de una composición inmunogénica de auto-inicio de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21, en la preparación de un medicamento.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

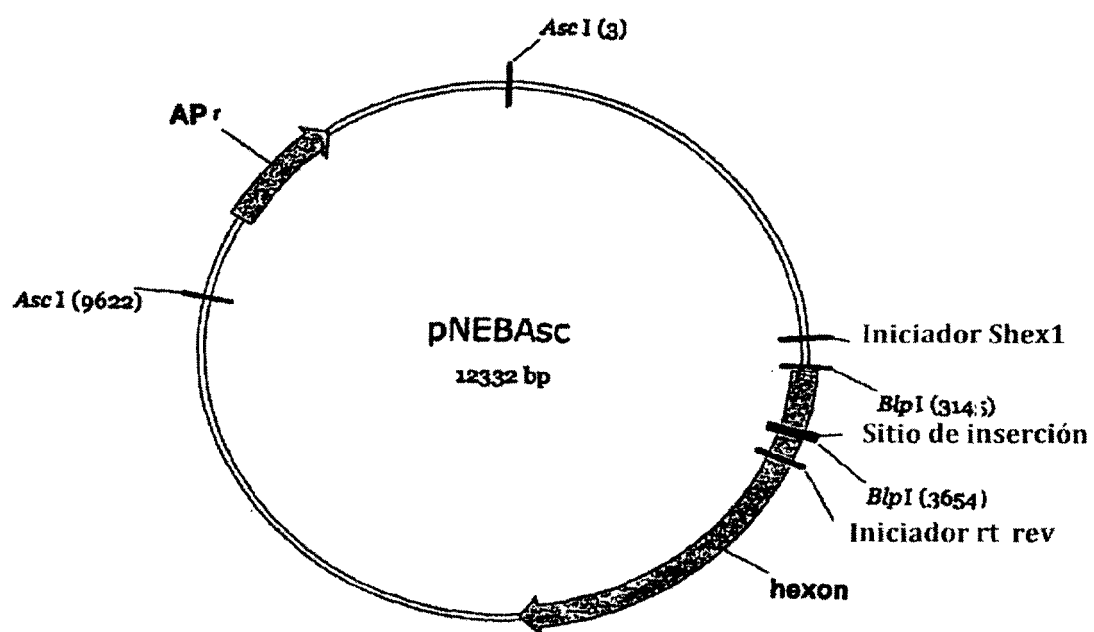


FIG. 1

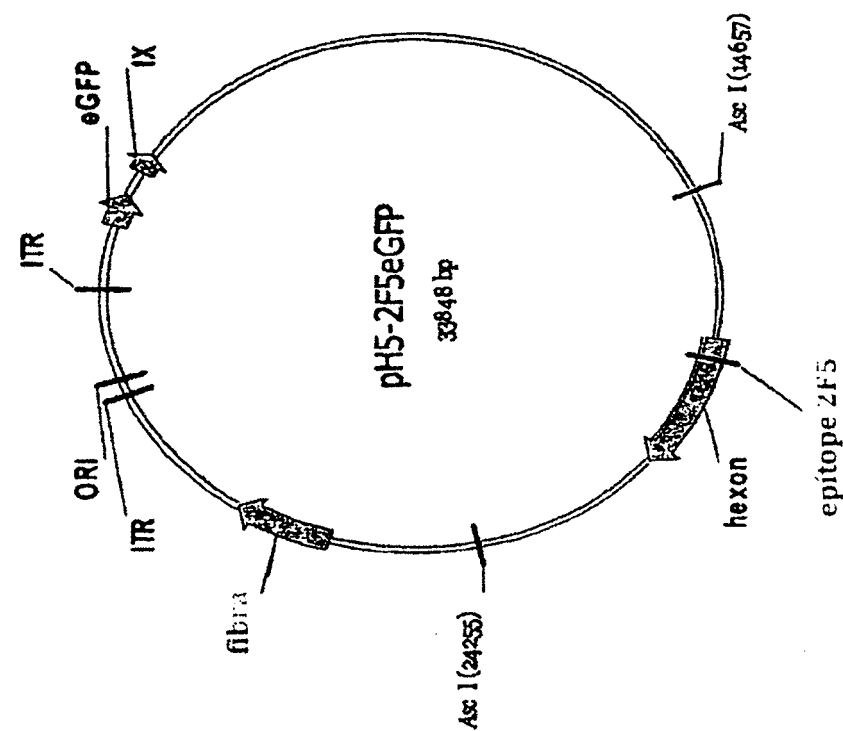


FIG 2D

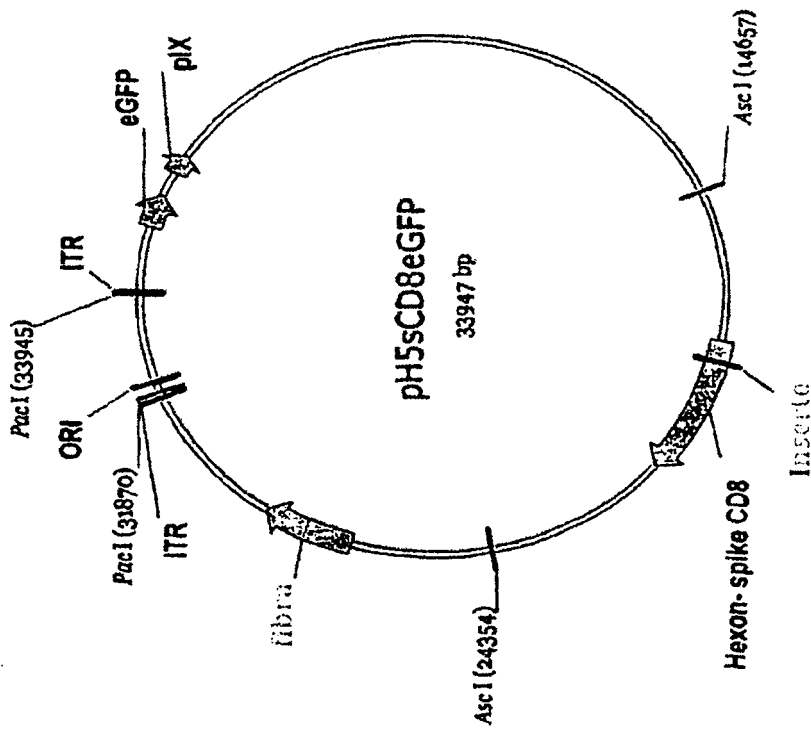
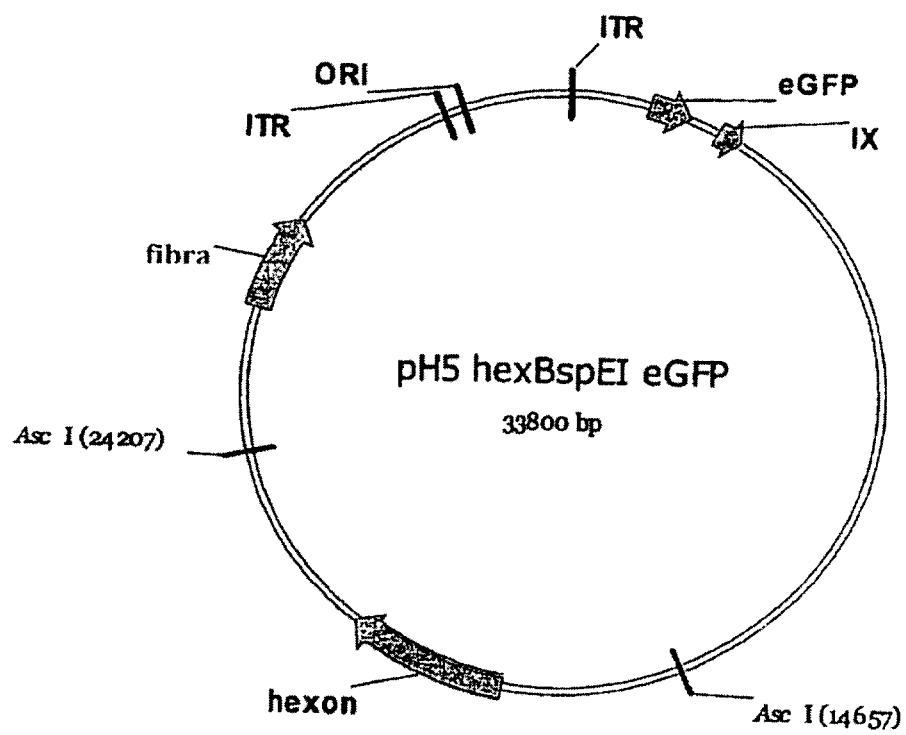


FIG 2C

FIG. 2E



SADV-23	(131)	KESQDQNMKNGG	-----TNSNYGVVACEN	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-22	(131)	STQNTTRADSDYG	-----TNTYTKANVQGIS	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-24	(131)	STQNTTKAC-DTD	-----TNTYTKANVQGIS	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-25	(131)	STQNTTRADGVA	-----TNTYTKANVQGIS	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
HADV-5	(131)	SPCEPDEATNAINLEEDDDNDEDECAKQKTHVCEPYSEIN	-----TNTYTKANVQGIS	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL

HVR 1

HVR 2

HVR 3

SADV-23	(237)	VSDGVTNTEEDIDJATPTGQTVNCOBIVKAD	-----LAPVLYLTVNDLE	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-22	(237)	TEKG--GTKEIDIDMAFDNRSAAG	-----LAPVLYLTVNDLE	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-24	(236)	TEKG--GTKEIDIDMAFDNRSAAG	-----LAPVLYLTVNDLE	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-25	(237)	TEKG--GTKEIDIDMAFDNRSAAG	-----LAPVLYLTVNDLE	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
HADV-5	(252)	KQON--GNLESQVTEQFSTETRAKAGNATKAD	-----LAPVLYLTVNDLE	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL

HVR 4

HVR 5

HVR 6

SADV-23	(367)	STVTEBQNDSDSDVRLKNGVVERKPNCTPDQSGTAAAGVAKQDQG	-----G-ADQTTTQDGT	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-22	(362)	STVTEBQNDSDSDVRLKNGVVERKPNCTPDQSGTAAAGVAKQDQG	-----G-ADQTTTQDGT	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-24	(361)	STVTEBQNDSDSDVRLKNGVVERKPNCTPDQSGTAAAGVAKQDQG	-----G-ADQTTTQDGT	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
SADV-25	(362)	STVTEBQNDSDSDVRLKNGVVERKPNCTPDQSGTAAAGVAKQDQG	-----G-ADQTTTQDGT	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL
HADV-5	(380)	STVTEBQNDSDSDVRLKNGVVERKPNCTPDQSGTAAAGVAKQDQG	-----G-ADQTTTQDGT	-----TNOGQISDVYANDKPIADCTQPIQVCHKQSTEN	-----FTCEAARDINTEGTAIRNKGQAKL

HVR 7

FIG. 3

ES 2 341 501 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Los Miembros de la Universidad de Pennsylvania
Roy, Soumitra
Wilson, James M.

<120> PROTEÍNA HEXON DE ADENOVIRUS MODIFICADO Y USOS DE LA MISMA

<130> UPN-R3807PCT

<150> US 60/796.078

<151> 28-04-2006

<160> 28

<170> Patentin versión 3.4

<210> 1

<211> 968

<212> PRT

<213> Adenovirus humano de tipo 2

<400> 1

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

ES 2 341 501 T3

	Pro	Ser	Tyr	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Ile	Gly	Glu	Ser	Gln	Trp	Asn	Glu
		210					215					220				
5	Ala	Asp	Ala	Asn	Ala	Ala	Gly	Gly	Arg	Val	Leu	Lys	Lys	Thr	Thr	Pro
	225					230					235					240
	Met	Lys	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Ala	Arg	Pro	Thr	Asn	Pro	Phe	Gly
10					245					250					255	
	Gly	Gln	Ser	Val	Leu	Val	pro	Asp	Glu	Lys	Gly	Val	pro	Leu	Pro	Lys
				260					265					270		
15	Val	Asp	Leu	Gln	Phe	Phe	Ser	Asn	Thr	Thr	Ser	leu	Asn	Asp	Arg	Gln
			275					280					285			
	Gly	Asn	Ala	Thr	Lys	Pro	Lys	Val	Val	leu	Tyr	Ser	Glu	Asp	Val	Asn
20		290					295					300				
	Met	Glu	Thr	pro	Asp	Thr	His	leu	Ser	Tyr	Lys	Pro	Gly	Lys	Gly	Asp
	305					310					315					320
25	Glu	Asn	Ser	Lys	Ala	Met	Leu	Gly	Gln	Gln	Ser	Met	Pro	Asn	Arg	Pro
					325					330					335	
	Asn	Tyr	Ile	Ala	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu	Met	Tyr	Tyr	Asn
30				340					345					350		
	Ser	Thr	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser	Gln	Leu	Asn
			355					360					365			
35	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu	Ser	Tyr	Glu	Leu
		370					375					380				
	Leu	Leu	Asp	Ser	Ile	Gly	Asp	Arg	Thr	Arg	Tyr	Phe	Ser	Met	Trp	Asn
40						390					395					400
	Gln	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val	Arg	Ile	Ile	Glu	Asn	His
					405					410					415	
45	Gly	Thr	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro	Leu	Gly	Gly	Ile
				420					425					430		
	Gly	Val	Thr	Asp	Thr	Tyr	Gln	Ala	Ile	Lys	Ala	Asn	Gly	Asn	Gly	Ser
			435					440					445			
50	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Thr	Thr	Trp	Thr	Lys	Asp	Glu	Thr	Phe	Ala	Thr
		450					455					460				
55	Arg	Asn	Glu	Ile	Gly	Val	Gly	Asn	Asn	Phe	Ala	Met	Glu	Ile	Asn	Leu
	465					470					475					480
	Asn	Ala	Asn	Leu	Trp	Arg	Asn	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asn	Ile	Ala	Leu	Tyr
					485					490					495	
60	Leu	Pro	Asp	Lys	Leu	Lys	Tyr	Asn	Pro	Thr	Asn	Val	Glu	Ile	Ser	Asp
				500					505					510		

65

ES 2 341 501 T3

	Asn	Pro	Asn	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Met	Asn	Lys	Arg	Val	Val	Ala	Pro	Gly
			515					520					525			
5	Leu	Val	Asp	Cys	Tyr	Ile	Asn	Leu	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Leu	Asp	Tyr
		530					535					540				
	Met	Asp	Asn	Val	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg
10	545					550					555					560
	Tyr	Arg	Ser	Met	Leu	leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe	His	Ile
					565					570					575	
15	Gln	Val	Pro	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Asn	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro
				580					585					590		
	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Val
20			595					600					605			
	Leu	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Val	Asp	Gly	Ala	Ser	Ile
		610					615					620				
25	Lys	Phe	Asp	Ser	Ile	Cys	Lys	Tyr	Ala	Thr	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His
	625					630					635					640
	Asn	Thr	Ala	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp
30					645					650					655	
	Gln	Ser	Phe	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ala	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro	Ile
				660					665					670		
35	Pro	Ala	Asn	Ala	Thr	Asn	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp
			675					680					685			
	Ala	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ala	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Thr	Lys	Glu	Thr
40							695					700				
	Pro	Ser	Leu	Gly	Ser	Gly	Tyr	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Tyr	Ser	Gly	Ser
	705					710					715					720
45	Ile	Pro	Tyr	Leu	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys
				725						730					735	
	Val	Ala	Ile	Thr	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg
				740					745					750		
50	Leu	Leu	Thr	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Ser	Val	Asp	Gly	Glu
			755					760					765			
	Gly	Tyr	Asn	Val	Ala	Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val
55							775					780				
	Gln	Met	Leu	Ala	Asn	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Ile	Pro
	785					790					795					800
60	Glu	Ser	Tyr	Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro
				805						810					815	

65

ES 2 341 501 T3

	Met	Ser	Arg	Gln	Val	Val	Asp	Asp	Thr	Lys	Tyr	Lys	Glu	Tyr	Gln	Gln
				820					825					830		
5	Val	Gly	Ile	Leu	His	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu
			835					840					845			
	Ala	Pro	Thr	Met	Arg	Glu	Gly	Gln	Ala	Tyr	Pro	Ala	Asn	Val	Pro	Tyr
		850					855					860				
10	Pro	leu	Ile	Gly	Lys	Thr	Ala	Val	Asp	Ser	Ile	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe
	865					870					875					880
15	Leu	Cys	Asp	Arg	Thr	Leu	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met
					885					890					895	
	Ser	Met	Gly	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Leu	Leu	Tyr	Ala	Asn
				900					905					910		
20	Ser	Ala	His	Ala	Leu	Asp	Met	Thr	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu
			915					920					925			
25	Pro	Thr	Leu	Leu	Tyr	Val	Leu	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val
		930					935					940				
	His	Gln	Pro	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Thr	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro
	945					950					955					960
30	Phe	Ser	Ala	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr								
					965											

35 <210> 2
 <211> 952
 <212> PRT
 <213> Tipo 5 de adenovirus humano
 40 <400> 2

	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Met	Pro	Gln	Trp	Ser	Tyr	Met	His	Ile	Ser
	1				5					10					15	
45	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala
				20					25					30		
50	Arg	Ala	Thr	Glu	Thr	Tyr	Phe	Ser	leu	Asn	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro
			35					40					45			
	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu
		50					55					60				
55	Thr	Leu	Arg	Phe	Ile	Pro	Val	Asp	Arg	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Tyr
	65					70					75					80

60

65

ES 2 341 501 T3

	Lys	Ala	Arg	Phe	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met
					85					90					95	
5	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Gly	Pro	Thr
				100					105					110		
	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ala	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly
10			115					120					125			
	Ala	Pro	Asn	Pro	Cys	Glu	Trp	Asp	Glu	Ala	Ala	Thr	Ala	Leu	Glu	Ile
		130					135					140				
15	Asn	Leu	Glu	Glu	Glu	Asp	Asp	Asp	Asn	Glu	Asp	Glu	Val	Asp	Glu	Gln
	145					150					155					160
	Ala	Glu	Gln	Gln	Lys	Thr	His	Val	Phe	Gly	Gln	Ala	Pro	Tyr	Ser	Gly
					165					170					175	
20	Ile	Asn	Ile	Thr	Lys	Glu	Gly	Ile	Gln	Ile	Gly	Val	Glu	Gly	Gln	Thr
				180					185					190		
	Pro	Lys	Tyr	Ala	Asp	Lys	Thr	Phe	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Ile	Gly	Glu
25			195					200					205			
	Ser	Gln	Trp	Tyr	Glu	Thr	Glu	Ile	Asn	His	Ala	Ala	Gly	Arg	Val	Leu
		210					215					220				
30	Lys	Lys	Thr	Thr	Pro	Met	Lys	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Ala	Lys	Pro
	225					230					235					240
	Thr	Asn	Glu	Asn	Gly	Gly	Gln	Gly	Ile	Leu	Val	Lys	Gln	Gln	Asn	Gly
35					245					250					255	
	Lys	Leu	Glu	Ser	Gln	Val	Glu	Met	Gln	Phe	Phe	Ser	Thr	Thr	Glu	Ala
				260					265					270		
40	Thr	Ala	Gly	Asn	Gly	Asp	Asn	Leu	Thr	Pro	Lys	Val	Val	Leu	Tyr	Ser
			275					280					285			
	Glu	Asp	Val	Asp	Ile	Glu	Thr	Pro	Asp	Thr	His	Ile	Ser	Tyr	Met	Pro
45		290					295					300				
	Thr	Ile	Lys	Glu	Gly	Asn	Ser	Arg	Glu	Leu	Met	Gly	Gln	Gln	Ser	Met
	305					310					315					320
50	Pro	Asn	Arg	Pro	Asn	Tyr	Ile	Ala	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu
					325					330					335	
	Met	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Thr	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala
55				340					345					350		
	Ser	Gln	Leu	Asn	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu
			355					360					365			

60

65

ES 2 341 501 T3

	Ser	Tyr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asp	Ser	Ile	Gly	Asp	Arg	Thr	Arg	Tyr	Phe
	370						375					380				
5	Ser	Met	Trp	Asn	Gln	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	pro	Asp	Val	Arg	Ile
	385					390					395					400
	Ile	Glu	Asn	His	Gly	Thr	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro
10					405					410					415	
	Leu	Gly	Gly	Val	Ile	Asn	Thr	Glu	Thr	Leu	Thr	Lys	Val	Lys	Pro	Lys
				420					425					430		
15	Thr	Gly	Gln	Glu	Asn	Gly	Trp	Glu	Lys	Asp	Ala	Thr	Glu	Phe	Ser	Asp
			435					440					445			
	Lys	Asn	Glu	Ile	Arg	Val	Gly	Asn	Asn	Phe	Ala	Met	Glu	Ile	Asn	Leu
20		450					455					460				
	Asn	Ala	Asn	Leu	Trp	Arg	Asn	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asn	Ile	Ala	Leu	Tyr
	465					470					475					480
25	Leu	Pro	Asp	Lys	Leu	Lys	Tyr	Ser	Pro	Ser	Asn	Val	Lys	Ile	Ser	Asp
					485					490					495	
	Asn	Pro	Asn	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Met	Asn	Lys	Arg	Val	Val	Ala	Pro	Gly
30				500					505					510		
	Leu	Val	Asp	Cys	Tyr	Ile	Asn	Leu	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Leu	Asp	Tyr
			515					520					525			
35	Met	Asp	Asn	Val	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg
	530						535					540				
	Tyr	Arg	Ser	Met	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe	His	Ile
40						550					555					560
	Gln	Val	Pro	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Asn	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro
					565					570						575
45	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Val
				580					585					590		
	Leu	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Val	Asp	Gly	Ala	Ser	Ile
			595					600					605			
50	Lys	Phe	Asp	Ser	Ile	Cys	Leu	Tyr	Ala	Thr	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His
	610						615					620				
55	Asn	Thr	Ala	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp
	625					630					635					640
	Gln	Ser	Phe	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ala	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro	Ile
					645					650					655	

ES 2 341 501 T3

	Pro	Ala	Asn	Ala	Thr	Asn	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp
				660					665					670		
5	Ala	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ala	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Thr	Lys	Glu	Thr
			675					680					685			
	Pro	Ser	Leu	Gly	Ser	Gly	Tyr	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Tyr	Ser	Gly	Ser
		690					695					700				
10	Ile	Pro	Tyr	Leu	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys
	705					710					715					720
	Val	Ala	Ile	Thr	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg
15					725					730					735	
	Leu	Leu	Thr	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Ser	Val	Asp	Gly	Glu
				740					745					750		
20	Gly	Tyr	Asn	Val	Ala	Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val
			755					760					765			
	Gln	Met	Leu	Ala	Asn	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Ile	Pro
25		770					775					780				
	Glu	Ser	Tyr	Lys	Asp	Arg	met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro
	785					790					795					800
30	Met	Ser	Arg	Gln	Val	Val	Asp	Asp	Thr	Lys	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Gln	Gln
					805					810					815	
	Val	Gly	Ile	Leu	His	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu
35				820					825					830		
	Ala	Pro	Thr	Met	Arg	Glu	Gly	Gln	Ala	Tyr	Pro	Ala	Asn	Phe	Pro	Tyr
			835					840					845			
40	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Thr	Ala	Val	Asp	Ser	Ile	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe
		850					855						860			
	Leu	Cys	Asp	Arg	Thr	Leu	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met
45		865				870					875					880
	Ser	Met	Gly	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Leu	Leu	Tyr	Ala	Asn
					885					890					895	
50	Ser	Ala	His	Ala	Leu	Asp	Met	Thr	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu
				900					905					910		
	Pro	Thr	Leu	Leu	Tyr	Val	Leu	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val
55			915					920					925			
	His	Arg	Pro	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Thr	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro
		930					935					940				
60	Phe	Ser	Ala	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr								
	945					950										

<210> 3

<211> 942

<212> PRT

<213> Adenovirus de simio

ES 2 341 501 T3

<400> 3

	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Leu	Pro	Gln	Trp	Ala	Tyr	Met	His	Ile	Ala	
	1				5					10					15		
5	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala	
				20					25					30			
10	Arg	Ala	Thr	Asp	Thr	Tyr	Phe	Ser	Leu	Gly	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro	
			35					40				45					
	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu	
		50					55					60					
15	Thr	Leu	Arg	Phe	Val	Pro	Val	Asp	Arg	Glu	Asp	Asn	Thr	Tyr	Ser	Tyr	
	65					70					75					80	
20	Lys	Val	Arg	Tyr	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met	
					85					90					95		
	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Gly	Pro	Ser	
				100					105					110			
25	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly	
			115					120					125				
30	Ala	Pro	Asn	Ser	Ser	Gln	Trp	Glu	Gln	Ala	Lys	Thr	Gly	Asn	Gly	Gly	
		130					135					140					
	Thr	Met	Glu	Thr	His	Thr	Tyr	Gly	Val	Ala	Pro	Met	Gly	Gly	Glu	Asn	
	145					150					155					160	
35	Ile	Thr	Lys	Asp	Gly	Leu	Gln	Ile	Gly	Thr	Asp	Val	Thr	Ala	Asn	Gln	
					165					170					175		
40	Asn	Lys	Pro	Ile	Tyr	Ala	Asp	Lys	Thr	Phe	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Val	
				180					185					190			
	Gly	Glu	Glu	Asn	Trp	Gln	Glu	Thr	Glu	Asn	Phe	Tyr	Gly	Gly	Arg	Ala	
			195					200					205				
45	Leu	Lys	Lys	Asp	Thr	Asn	Met	Lys	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Ala	Arg	
		210					215					220					
50	Pro	Thr	Asn	Glu	Lys	Gly	Gly	Gln	Ala	Lys	Leu	Lys	Val	Gly	Asp	Asp	
	225					230					235					240	

ES 2 341 501 T3

	Gly	Val	Pro	Thr	Lys 245	Glu	Phe	Asp	Ile	Asp 250	Leu	Ala	Phe	Phe	Asp 255	Thr
5	Pro	Gly	Gly	Thr 260	Val	Asn	Gly	Gln	Asp 265	Glu	Tyr	Lys	Ala	Asp 270	Ile	Val
	Met	Tyr	Thr 275	Glu	Asn	Thr	Tyr	Leu 280	Glu	Thr	Pro	Asp	Thr 285	His	Val	Val
10	Tyr	Lys 290	Pro	Gly	Lys	Asp	Asp 295	Ala	Ser	Ser	Glu	Ile 300	Asn	Leu	Val	Gln
15	Gln 305	Ser	Met	Pro	Asn	Arg 310	Pro	Asn	Tyr	Ile	Gly 315	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe 320
	Ile	Gly	Leu	Met	Tyr 325	Tyr	Asn	Ser	Thr	Gly 330	Asn	Met	Gly	Val	Leu 335	Ala
20	Gly	Gln	Ala	Ser 340	Gln	Leu	Asn	Ala	Val 345	Val	Asp	Leu	Gln	Asp 350	Arg	Asn
25	Thr	Glu	Leu 355	Ser	Tyr	Gln	Leu	Leu 360	Leu	Asp	Ser	Leu	Gly 365	Asp	Arg	Thr
	Arg	Tyr 370	Phe	Ser	Met	Trp	Asn 375	Gln	Ala	Val	Asp	Ser 380	Tyr	Asp	Pro	Asp
30	Val 385	Arg	Ile	Ile	Glu	Asn 390	His	Gly	Val	Glu	Asp 395	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr 400
35	Cys	Phe	Pro	Leu	Asp 405	Gly	Ser	Gly	Thr	Asn 410	Ala	Ala	Tyr	Gln	Gly 415	Val
	Lys	Val	Lys	Asp 420	Gly	Gln	Asp	Gly	Asp 425	Val	Glu	Ser	Glu	Trp 430	Glu	Asn
40	Asp	Asp	Thr 435	Val	Ala	Ala	Arg	Asn 440	Gln	Leu	Cys	Lys	Gly 445	Asn	Ile	Phe
45	Ala	Met 450	Glu	Ile	Asn	Leu	Gln 455	Ala	Asn	Leu	Trp	Arg 460	Ser	Phe	Leu	Tyr
	Ser 465	Asn	Val	Ala	Leu	Tyr 470	Leu	Pro	Asp	Ser	Tyr 475	Lys	Tyr	Thr	Pro	Thr 480
50	Asn	Val	Thr	Leu	Pro 485	Thr	Asn	Thr	Asn 490	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Met	Asn 495	Gly
55	Arg	Val	Thr	Pro 500	Pro	Ser	Leu	Val	Asp 505	Ala	Tyr	Leu	Asn	Ile 510	Gly	Ala
	Arg	Trp	Ser 515	Leu	Asp	Pro	Met	Asp 520	Asn	Val	Asn	Pro	Phe 525	Asn	His	His

ES 2 341 501 T3

	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr	Arg	Ser	Met	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg
	530						535					540				
5	Tyr	Val	Pro	Phe	His	Ile	Gln	Val	Pro	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys
	545					550					555					560
	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg
10					565					570					575	
	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Ile	Leu	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg
				580					585					590		
15	Thr	Asp	Gly	Ala	Ser	Ile	Ala	Phe	Thr	Ser	Ile	Asn	Leu	Tyr	Ala	Thr
			595					600					605			
	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His	Asn	Thr	Ala	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Met	Leu
20		610					615					620				
	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp	Gln	Ser	Phe	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ala
	625					630					635					640
25	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro	Ile	Pro	Ala	Asn	Ala	Thr	Asn	Val	Pro	Ile	Ser
					645					650					655	
	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp	Ala	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ser	Phe	Thr	Arg
30				660					665					670		
	Leu	Lys	Thr	Arg	Glu	Thr	Pro	Ser	Leu	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr
			675					680					685			
35	Phe	Val	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Pro	Tyr	Leu	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu
		690					695					700				
	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile	Thr	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser
	705					710					715					720
40	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Thr	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys
					725					730					735	
45	Arg	Thr	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn	Val	Ala	Gln	Cys	Asn	Met	Thr
				740					745					750		
	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val	Gln	Met	Leu	Ala	His	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr
			755					760					765			
50	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr	Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe
		770					775					780				
55	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg	Gln	Val	Val	Asp	Glu	Val	Asn
	785					790					795					800
	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Gln	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	Tyr	Gln	His	Asn	Asn	Ser
					805					810					815	
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr	Met	Arg	Gln	Gly	Gln	Pro	Tyr
				820					825					830		
5	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly	Lys	Ser	Ala	Val	Ala	Ser
			835					840					845			
	Val	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp	Arg	Val	Met	Trp	Arg	ile	Pro
10		850					855					860				
	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln
	865					870					875					880
15	Asp	Met	Leu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Ala	His	Ala	Leu	Asp	Met	Asn	Phe	Glu
					885					890					895	
	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu	Ser	Thr	Leu	Leu	Tyr	Val	Val	Phe	Glu	Val
20				900					905					910		
	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val	His	Gln	Pro	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Ala
			915					920					935			
25	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Glu	Ser	Ala	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr		
		930					935					940				

<210> 4

<211> 933

30 <212> PRT

<213> Adenovirus de simio

<400> 4

35	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Leu	Pro	Gln	Trp	Ala	Tyr	Met	His	Ile	Ala
	1				5					10					15	
40	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala
				20					25					30		
	Arg	Ala	Thr	Asp	Thr	Tyr	Phe	Ser	Leu	Gly	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro
			35					40					45			
45	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu
		50					55					60				
50	Thr	Leu	Arg	Phe	Val	Pro	Val	Asp	Arg	Glu	Asp	Asn	Thr	Tyr	Ser	Tyr
	65					70					75					80
	Lys	Val	Arg	Tyr	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met
					85					90					95	
55	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Gly	Pro	Ser
				100					105					110		

60

65

ES 2 341 501 T3

	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly
			115					120					125			
5	Ala	Pro	Asn	Thr	Cys	Gln	Trp	Thr	Tyr	Lys	Ala	Asp	Gly	Asp	Thr	Gly
		130					135					140				
	Thr	Glu	Lys	Thr	Tyr	Thr	Tyr	Gly	Asn	Ala	Pro	Val	Gln	Gly	Ile	Ser
10	145					150					155					160
	Ile	Thr	Lys	Asp	Gly	Ile	Gln	Leu	Gly	Thr	Asp	Thr	Asp	Asp	Gln	Pro
					165					170					175	
15	Ile	Tyr	Ala	Asp	Lys	Thr	Tyr	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Val	Gly	Asp	Ala
				180					185					190		
	Glu	Trp	His	Asp	Ile	Thr	Gly	Thr	Asp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Arg	Ala
20			195					200					205			
	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Lys	Met	Lys	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Phe	Ala	Lys
		210					215					220				
25	Pro	Thr	Asn	Lys	Glu	Gly	Gly	Gln	Ala	Asn	Val	Lys	Thr	Glu	Thr	Gly
	225					230					235					240
	Gly	Thr	Lys	Glu	Tyr	Asp	Ile	Asp	Met	Ala	Phe	Phe	Asp	Asn	Arg	Ser
					245					250					255	
30	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Leu	Ala	Pro	Glu	Ile	Val	Leu	Tyr	Thr	Glu	Asn
				260					265					270		
	Val	Asp	Leu	Glu	Thr	Pro	Asp	Thr	His	Ile	Val	Tyr	Lys	Ala	Gly	Thr
35			275					280					285			
	Asp	Asp	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	Asn	Leu	Gly	Gln	Gln	Ser	Met	Pro	Asn
		290					295					300				
40	Arg	Pro	Asn	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu	Met	Tyr
	305					310					315					320
	Tyr	Asn	Ser	Thr	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser	Gln
45					325					330					335	
	Leu	Asn	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu	Ser	Tyr
				340					345					350		
50	Gln	Leu	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Gly	Asp	Arg	Thr	Arg	Tyr	Phe	Ser	Met
			355					360					365			
	Trp	Asn	Gln	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val	Arg	Ile	Ile	Glu
55		370					375					380				
	Asn	His	Gly	Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro	Leu	Asp
						390					395					400
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Ala	Val	Gly	Arg	Thr	Asp	Thr	Tyr	Gln	Gly	Ile	Lys	Ala	Asn	Gly	Ala	
					405					410					415		
5	Asp	Gln	Thr	Thr	Trp	Thr	Lys	Asp	Asp	Thr	Val	Asn	Asp	Ala	Asn	Glu	
				420					425					430			
	Leu	Gly	Lys	Gly	Asn	Pro	Phe	Ala	Met	Glu	Ile	Asn	Ile	Gln	Ala	Asn	
10			435					440					445				
	Leu	Trp	Arg	Asn	Phe	Leu	Tyr	Ala	Asn	Val	Ala	Leu	Tyr	Leu	Pro	Asp	
		450					455					460					
15	Ser	Tyr	Lys	Tyr	Thr	Pro	Ala	Asn	Ile	Thr	Leu	Pro	Phr	Asn	Thr	Asn	
	465					470					475					480	
	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Met	Asn	Gly	Arg	Val	Val	Ala	Pro	Ser	Leu	Val	Asp	
20					485					490					495		
	Ala	Tyr	Ile	Asn	Ile	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Leu	Asp	Pro	Met	Asp	Asn	
				500					505					510			
25	Val	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr	Arg	Ser	
			515					520					525				
	Met	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe	His	Ile	Gln	Val	Pro	
30		530					535					540					
	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Gly	Ser	Tyr	
	545					550					555					560	
35	Thr	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Ile	Leu	Gln	Ser	
					565					570					575		
	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Thr	Asp	Gly	Ala	Ser	Ile	Ala	Pro	Thr	
				580					585					590			
40	Ser	Ile	Asn	Leu	Tyr	Ala	Thr	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His	Asn	Thr	Ala	
			595					600					605				
45	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp	Gln	Ser	Phe	
		610					615					620					
	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ala	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro	Ile	Pro	Ala	Asn	
	625					630					635					640	
50	Ala	Thr	Asn	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp	Ala	Ala	Phe	
					645					650					655		
55	Arg	Gly	Trp	Ser	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Thr	Arg	Glu	Thr	Pro	Ser	Leu	
				660					665					670			
	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Pro	Tyr	
			675					680					685				

60

65

ES 2 341 501 T3

	Leu	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile
	690						695					700				
5	Thr	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Thr
	705					710					715					720
	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn
					725					730					735	
10	Val	Ala	Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Ala	Trp	Phe	Leu	Val	Gln	Met	Leu
				740					745					750		
15	Ala	His	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr
			755					760					765			
	Leu	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg
	770						775					780				
20	Gln	Val	Val	Asp	Glu	Val	Asn	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Gln	Ala	Val	Thr	Leu
	785					790					795					800
	Ala	Tyr	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr
25					805					810					815	
	Met	Arg	Gln	Gly	Gln	Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile
				820					825					830		
30	Gly	Lys	Ser	Ala	Val	Ala	Ser	Val	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp
			835					840					845			
	Arg	Val	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly
35		850					855					860				
	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His
	865					870					875					880
40	Ala	Leu	Asp	Met	Asn	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu	Ser	Thr	Leu
					885					890					895	
	Leu	Tyr	Val	Val	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val	His	Gln	Pro
45				900					905					910		
	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala
			915					920					925			
50	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr											
	930															

<210> 5

>211> 932

55 <212> PRT

<213> Adenovirus de simio

60

65

ES 2 341 501 T3

<400> 5

5	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Leu	Pro	Gln	Trp	Ala	Tyr	Met	His	Ile	Ala
	1				5					10					15	
	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala
				20					25					30		
10	Arg	Ala	Thr	Asp	Thr	Tyr	Phe	Ser	Leu	Gly	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro
			35					40					45			
	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu
		50					55					60				
15	Thr	Leu	Arg	Phe	Val	Pro	Val	Asp	Arg	Glu	Asp	Asn	Thr	Tyr	Ser	Tyr
	65					70					75					80
	Lys	Val	Arg	Tyr	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met
20					85					90					95	
	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Gly	Pro	Ser
				100					105					110		
25	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly
			115					120					125			
	Ala	Pro	Asn	Thr	Cys	Gln	Trp	Thr	Tyr	Lys	Ala	Gly	Asp	Thr	Asp	Thr
30		130					135					140				
	Glu	Lys	Thr	Tyr	Thr	Tyr	Gly	Asn	Ala	Pro	Val	Gln	Gly	Ile	Ser	Ile
	145					150					155					160
35	Thr	Lys	Asp	Gly	Ile	Gln	Leu	Gly	Thr	Asp	Ser	Asp	Gly	Gln	Ala	Ile
					165					170					175	
	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Tyr	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Val	Gly	Asp	Ala	Glu
40				180					185					190		
	Trp	His	Asp	Ile	Thr	Gly	Thr	Asp	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Arg	Ala	Leu
			195					200					205			
45	Lys	Pro	Asp	Thr	Lys	Met	Lys	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Phe	Ala	Lys	Pro
		210					215					220				
	Thr	Asn	Lys	Glu	Gly	Gly	Gln	Ala	Asn	Val	Lys	Thr	Glu	Thr	Gly	Gly
50	225					230					235					240
	Thr	Lys	Glu	Tyr	Asp	Ile	Asp	Met	Ala	Phe	Phe	Asp	Asn	Arg	Ser	Ala
					245					250					255	
55	Ala	Ala	Ala	Gly	Leu	Ala	Pro	Glu	Ile	Val	Leu	Tyr	Thr	Glu	Asn	Val
				260					265					270		
	Asp	Leu	Glu	Thr	Pro	Asp	Thr	His	Ile	Val	Tyr	Lys	Ala	Gly	Thr	Asp
60			275					280					285			
65																

ES 2 341 501 T3

	Asp	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	Asn	Leu	Gly	Gln	Gln	Ser	Met	pro	Asn	Arg	
	290						295					300					
5	Pro	Asn	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu	Met	Tyr	Tyr	
	305					310					315					320	
	Asn	Ser	Thr	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser	Gln	Leu	
					325					330					335		
10	Asn	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gln	
				340					345					350			
15	Leu	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Gly	Asp	Arg	Thr	Arg	Tyr	Phe	Ser	Met	Trp	
			355					360					365				
	Asn	Gln	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val	Arg	Ile	Ile	Glu	Asn	
		370					375					380					
20	His	Gly	Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro	Leu	Asp	Ala	
	385					390					395					400	
25	Val	Gly	Arg	Thr	Asp	Thr	Tyr	Gln	Gly	Ile	Lys	Ala	Asn	Gly	Asp	Asn	
					405					410					415		
	Gln	Thr	Thr	Trp	Thr	Lys	Asp	Asp	Thr	Val	Asn	Asp	Ala	Asn	Glu	Leu	
				420					425					430			
30	Gly	Lys	Gly	Asn	Pro	Phe	Ala	Met	Glu	Ile	Asn	Ile	Gln	Ala	Asn	Leu	
			435					440					445				
35	Trp	Arg	Asn	Phe	Leu	Tyr	Ala	Asn	Val	Ala	Leu	Tyr	Leu	Pro	Asp	Ser	
		450					455					460					
	Tyr	Lys	Tyr	Thr	Pro	Ala	Asn	Ile	Thr	Leu	Pro	Thr	Asn	Thr	Asn	Thr	
	465					470					475					480	
40	Tyr	Asp	Tyr	Met	Asn	Gly	Arg	Val	Val	Ala	Pro	Ser	Leu	Val	Asp	Ala	
					485					490					495		
45	Tyr	Ile	Asn	Ile	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Leu	Asp	Pro	Met	Asp	Asn	Val	
				500					505					510			
	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr	Arg	Ser	Met	
			515					520					525				
50	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe	His	Ile	Gln	Val	Pro	Gln	
		530					535					540					
55	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Gly	Ser	Tyr	Thr	
	545					550					555					560	
	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Ile	Leu	Gln	Ser	Ser	
					565					570					575		

ES 2 341 501 T3

	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Thr	Asp	Gly	Ala	Ser	Ile	Ala	Phe	Thr	Ser
				580					585					590		
5	Ile	Asn	Leu	Tyr	Ala	Thr	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His	Asn	Thr	Ala	Ser
			595					600					605			
	Thr	Leu	Phe	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp	Gln	Ser	Phe	Asn
10		610					615					620				
	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ala	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro	Ile	Pro	Ala	Asn	Ala
	625					630					635					640
15	Thr	Asn	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp	Ala	Ala	Phe	Arg
					645					650					655	
	Gly	Trp	Ser	Phe	Phr	Arg	Leu	Lys	Thr	Arg	Glu	Thr	Pro	Ser	Leu	Gly
20				660					665					670		
	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Pro	Tyr	Leu
			675					680					685			
25	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile	Thr
		690					695					700				
	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Thr	Pro
	705					710					715					720
30	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn	Val
					725					730					735	
	Ala	Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val	Gln	Met	Leu	Ala
35				740					745					750		
	His	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr	Lys
			755					760					765			
40	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg	Gln
		770					775					780				
	Val	Val	Asp	Glu	Val	Asn	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Gln	Ala	Val	Thr	Leu	Ala
45		785				790					795					800
	Tyr	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr	Met
					805					810					815	
50	Arg	Gly	Gly	Gln	Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly
				820					825					830		
	Lys	Ser	Ala	Val	Ala	Ser	Val	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp	Arg
55			835					840					845			
	Val	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly	Ala
		850					855					860				
60																
65																

ES 2 341 501 T3

Leu Thr Asp Leu Gly Gln Asn Met Leu Tyr Ala Asn Ser Ala His Ala
 865 870 875 880
 5 Leu Asp Met Asn Phe Glu Val Asp Pro Met Asp Glu Ser Thr Leu Leu
 885 890 895
 Tyr Val Val Phe Glu Val Phe Asp Val Val Arg Val His Gln Pro His
 900 905 910
 10 Arg Gly Val Ile Glu Ala Val Tyr Leu Arg Thr Pro Phe Ser ala Gly
 915 920 925
 15 Asn Ala Thr Thr
 930
 <210> 6
 <211> 933
 20 <212> PRT
 <213> Adenovirus de simio
 <220>
 25 <221> MISC_CHARACTERÍSTICA
 <222> (826) (826)
 <223> puede ser cualquier aminoácido
 30 <220>
 <221> MISC_CHARACTERÍSTICA
 <222> (922) (922)
 35 <223> puede ser cualquier aminoácido
 <400> 6
 40 Met Ala Thr Pro Set Met Leu Pro Gln Trp Ala Tyr Met His Ile Ala
 1 5 10 15
 Gly Gln Asp Ala Ser Glu Tyr Leu Ser Pro Gly Leu Val Gln Phe Ala
 20 25 30
 45 Arg Ala Thr Asp Thr Tyr Phe Ser Leu Gly Asn Lys Phe Arg Asn Pro
 35 40 45
 50 Thr Val Ala Pro Thr His Asp Val Thr Thr Asp Arg Ser Gln Arg Leu
 50 55 60
 Thr Leu Arg Phe Val Pro Val Asp Arg Glu Asp Asn Thr Tyr Ser Tyr
 65 70 75 80
 55 Lys Val Arg Tyr Thr Leu Ala Val Gly Asp Asn Arg Val Leu Asp Met
 85 90 95
 60
 65

ES 2 341 501 T3

	Ala	Ser	Thr	Tyr 100	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly 105	Val	Leu	Asp	Arg	Gly 110	Pro	Ser
5	Phe	Lys	Pro 115	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala 120	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala 125	Pro	Lys	Gly
	Ala	Pro 130	Asn	Thr	Cys	Gln	Trp 135	Thr	Tyr	Lys	Ala	Asp 140	Gly	Glu	Thr	Ala
10	Thr 145	Glu	Lys	Thr	Tyr	Thr 150	Tyr	Gly	Asn	Ala	Pro 155	Val	Gln	Gly	Ile	Asn 160
15	Ile	Thr	Lys	Asp	Gly 165	Ile	Gln	Leu	Gly 170	Thr	Asp	Thr	Asp	Asp	Gln 175	Pro
	Ile	Tyr	Ala	Asp 180	Lys	Thr	Tyr	Gln	Pro 185	Glu	pro	Gln	Val	Gly 190	Asp	Ala
20	Glu	Trp	His 195	Asp	Ile	Thr	Gly	Thr 200	Asp	Glu	Lys	Tyr	Gly 205	Gly	Arg	Ala
25	Leu	Lys 210	Pro	Asp	Thr	Lys	Met 215	Lys	Pro	Cys	Tyr	Gly 220	Ser	Phe	Ala	Lys
	Pro 225	Thr	Asn	Lys	Glu	Gly 230	Gln	Gln	Ala	Asn	Val 235	Lys	Thr	Gly	Thr	Gly 240
30	Thr	Thr	Lys	Glu	Tyr 245	Asp	Ile	Asp	Met	Ala 250	Phe	Phe	Asp	Asn	Arg 255	Ser
35	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly 260	Leu	Ala	Pro	Glu 265	Ile	Val	Leu	Tyr	Thr 270	Glu	Asn
	Val	Asp	Leu 275	Glu	Thr	Pro	Asp	Thr 280	His	Ile	Val	Tyr	Lys 285	Ala	Gly	Thr
40	Asp 290	Asp	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile 295	Asn	Leu	Gly	Gln	Gln 300	Ala	Met	Pro	Asn
45	Arg 305	Pro	Asn	Tyr	Ile	Gly 310	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe 315	Ile	Gly	Leu	Met	Tyr 320
	Tyr	Asn	Ser	Thr	Gly 325	Asn	Met	Gly	Val	Leu 330	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser 335	Gln
50	Leu	Asn	Ala	Val 340	Val	Asp	Leu	Gln	Asp 345	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu 350	Ser	Tyr
55	Gln	Leu	Leu 355	Leu	Asp	Ser	Leu	Gly 360	Asp	Arg	Thr	Arg	Tyr 365	Phe	Ser	Met
	Trp 370	Asn	Gln	Ala	Val	Asp	Ser 375	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val 380	Arg	Ile	Ile	Glu
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Asn	his	Gly	Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro	Leu	Asp	
	385					390					395					400	
5	Ala	Val	Gly	Arg	Thr	Asp	Thr	Tyr	Gln	Gly	Ile	Lys	Ala	Asn	Gly	Thr	
					405					410					415		
	Asp	Gln	Thr	Thr	Trp	Thr	Lys	Asp	Asp	Ser	Val	Asn	Asp	Ala	Asn	Glu	
10				420					425					430			
	Ile	Gly	Lys	Gly	Asn	Pro	Phe	Ala	Met	Glu	Ile	Asn	Ile	Gln	Ala	Asn	
			435					440					445				
15	Leu	Trp	Arg	Asn	Phe	Leu	Tyr	Ala	Asn	Val	Ala	Leu	Tyr	Leu	Pro	Asp	
		450					455					460					
	Ser	Tyr	Lys	Tyr	Thr	Pro	Ala	Asn	Val	Thr	Leu	Pro	Thr	Asn	Thr	Asn	
20		465				470					475					480	
	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Met	Asn	Gly	Arg	Val	Val	Ala	Pro	Ser	Leu	Val	Asp	
					485					490					495		
25	Ser	Tyr	Ile	Asn	Ile	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Leu	Asp	Pro	Met	Asp	Asn	
				500					505					510			
	Val	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr	Arg	Ser	
30			515					520					525				
	Met	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe	His	Ile	Gln	Val	Pro	
		530				535						540					
35	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	pro	Gly	Ser	Tyr	
	545					550					555					560	
	Thr	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Ile	Leu	Gln	Ser	
					565					570					575		
40	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Thr	Asp	Gly	Ala	Ser	Ile	Ser	Phe	Thr	
				580					585					590			
	Ser	Ile	Asn	Leu	Tyr	Ala	Thr	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His	Asn	Thr	Ala	
45			595					600					605				
	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp	Gln	Ser	Phe	
		610				615						620					
50	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ala	Asn	Met	leu	Tyr	Pro	Ile	Pro	Ala	Asn	
	625					630					635					640	
	Ala	Thr	Asn	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp	Ala	Ala	Phe	
55					645					650					655		
	Arg	Gly	Trp	Ser	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Thr	Lys	Glu	Thr	Pro	Ser	Leu	
				660					665					670			

ES 2 341 501 T3

	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Pro	Tyr
			675					680					685			
5	Leu	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile
		690					695					700				
	Thr	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Thr
10	705					710					715					720
	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn
					725					730					735	
15	Val	Ala	Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val	Gln	Met	Leu
				740					745					750		
	Ala	his	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr
20			755					760					765			
	Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg
		770					775					780				
25	Gln	Val	Val	Asp	Glu	Val	Asn	Tyr	Lys	Asp	Tyr	Gln	Ala	Val	Thr	Leu
	785					790					795					800
	Ala	Tyr	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	leu	Ala	Pro	Thr
				805						810					815	
30	Met	Arg	Gln	Gly	Gln	Pro	Tyr	Pro	Ala	Xaa	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile
			820						825					830		
35	Gly	Lys	Ser	Ala	Val	Thr	Ser	Val	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp
			835					840					845			
	Arg	Val	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly
		850					855					860				
40	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His
	865					870					875					880
	Ala	Leu	Asp	Met	Asn	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu	Ser	Thr	Leu
45					885					890					895	
	Leu	Tyr	Val	Val	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val	His	Gln	Pro
				900					905					910		
50	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Ala	Val	Tyr	Xaa	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala
			915					920					925			
	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr											
55		930														
	<210> 7															
	<211> 921															
	<212> PRT															
60	<213> Adenovirus de simio															
65																

ES 2 341 501 T3

<400> 7

	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Met	Pro	Gln	Trp	Ser	Tyr	Met	His	Ile	Ala	
	1				5					10					15		
5	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala	
				20					25					30			
10	Arg	Ala	Thr	Asp	Thr	Tyr	Phe	Ser	Leu	Gly	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro	
			35					40					45				
	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu	
		50					55					60					
15	Thr	Leu	Arg	Phe	Val	Pro	Val	Asp	Arg	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Tyr	
	65					70					75					80	
20	Lys	Val	Arg	Tyr	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met	
					85					90					95		
	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Gly	Pro	Ser	
				100					105					110			
25	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly	
			115					120					125				
30	Ala	Pro	Asn	Pro	Ser	Glu	Trp	Thr	Asp	Thr	Ser	Asp	Asn	Lys	Leu	Lys	
		130					135					140					
	Ala	Tyr	Ala	Gln	Ala	Pro	Tyr	Gln	Ser	Gln	Gly	Leu	Thr	Lys	Asp	Gly	
	145					150					155					160	
35	Ile	Gln	Val	Gly	Leu	Val	Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Gln	Thr	Pro	Gln	Tyr	
					165					170					175		
40	Ala	Asn	Lys	Val	Tyr	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Ile	Gly	Glu	Asn	Gln	Tyr	
				180					185					190			
	Asn	Leu	Glu	Glu	Glu	Asp	Lys	Ala	Ala	Gly	Arg	Val	Leu	Lys	Lys	Asp	
			195				200						205				
45	Thr	Pro	Met	Phe	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Ala	Arg	Pro	Thr	Asn	Glu	
		210					215					220					
	Gln	Gly	Gly	Gln	Ala	Lys	Asn	Gln	Glu	Val	Asp	Leu	Gln	Phe	Phe	Ala	
	225					230					235					240	
50	Thr	Pro	Gly	Asp	Thr	Gln	Asn	Thr	Ala	Lys	Val	Val	Leu	Tyr	Ala	Glu	
					245					250					255		
55	Asn	Val	Asn	Leu	Glu	Thr	Pro	Asp	Thr	His	Leu	Val	Phe	Lys	Pro	Asp	
				260					265					270			

60

65

ES 2 341 501 T3

	Asp	Asp	Ser	Thr	Ser	Ser	Lys	Leu	Leu	Leu	Gly	Glu	Gln	Ala	Ala	Pro
			275					280					285			
5	Asn	Arg	Pro	Asn	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu	Met
		290					295					300				
	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Trh	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser
10	305					310					315					320
	Gln	Leu	Asn	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu	Ser
					325					330					335	
15	Tyr	Gln	Leu	Met	Leu	Asp	Ala	Leu	Gly	Asp	Arg	Ser	Arg	Tyr	Phe	Ser
				340					345					350		
	Met	Trp	Asn	Gln	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val	Arg	Ile	Ile
20			355					360					365			
	Glu	Asn	His	Gly	Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro	Leu
		370					375					380				
25	Gly	Gly	met	Val	Val	Thr	Asp	Asn	Tyr	Asn	Ser	Val	Thr	Pro	Gln	Asn
	385					390					395					400
	Gly	Gly	Ser	Gly	Asn	Thr	Trp	Gln	Ala	Asp	Asn	Thr	Thr	Phe	Ser	Gln
					405					410					415	
30	Arg	Gly	Ale	Gln	Ile	Gly	Ser	Gly	Asn	Met	Phe	Ala	Leu	Glu	Ile	Asn
				420					425					430		
35	Leu	Gln	Ala	Asn	Leu	Trp	Arg	Gly	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asn	Ile	Gly	Leu
			435					440					445			
	Tyr	Leu	Pro	Asp	Ser	Leu	Lys	Ile	Thr	Pro	Asp	Asn	Ile	Thr	Leu	Pro
		450					455					460				
40	Glu	Asn	Lys	Asn	Thr	Tyr	Gln	Tyr	Met	Asn	Gly	Arg	Val	Thr	Pro	Pro
	465					470					475					480
	Gly	Leu	Ile	Asp	Thr	Tyr	Val	Asn	Val	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Pro	Asp
45					485					490					495	
	Val	Met	Asp	Ser	Ile	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu
			500						505					510		
50	Arg	Tyr	Arg	Ser	Met	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe	His
			515					520					525			
	Ile	Gln	Val	Pro	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Asn	Leu	Leu	Leu	Leu
55		530					535					540				
	Pro	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met
	545					550					555					560
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Ile	Leu	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Val	Asp	Gly	Ala	Ser
					565					570					575	
5	Ile	Arg	Phe	Asp	Ser	Ile	Asn	Leu	Tyr	Ala	Asn	Phe	Phe	Pro	Met	Ala
				580					585					590		
	His	Asn	Thr	Ala	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn
10			595					600					605			
	Asp	Gln	Ser	Phe	Asn	Asp	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ala	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro
		610					615					620				
15	Ile	Pro	Ala	Asn	Ala	Thr	Ser	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn
	625					630					635					640
	Trp	Ala	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ser	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Thr	Lys	Glu
20				645						650					655	
	Thr	Pro	Ser	Leu	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Gly
				660					665					670		
25	Ser	Ile	Pro	Tyr	Leu	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys
			675					680					685			
	Lys	Val	Ser	Ile	Met	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp
30		690					695					700				
	Arg	Leu	Leu	Thr	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Ser	Val	Asp	Gly
	705					710					715					720
	Glu	Gly	Tyr	Asn	Val	Ala	Gln	Ser	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu
35				725						730					735	
	Ile	Gln	Met	Leu	Ser	His	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val
			740					745						750		
40	Pro	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln
			755					760					765			
	Pro	Met	Ser	Arg	Gln	Val	Val	Asp	Thr	Val	Thr	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Lys
45		770					775					780				
	Asp	Val	Lys	Leu	Pro	Tyr	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr
	785					790					795					800
50	Met	Gly	Pro	Thr	Met	Arg	Glu	Gly	Gln	Ala	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro
					805					810					815	
	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly	Glu	Thr	Ala	Val	Pro	Ser	Leu	Thr	Gln	Lys	Lys
55				820					825					830		
	Phe	Leu	Cys	Asp	Arg	Val	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe
			835					840					845			

60

65

ES 2 341 501 T3

	Met	Ser	Met	Gly	Ser	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala
	850						855					860				
5	Asn	Ser	Ala	His	Ala	Leu	Asp	Met	Thr	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp
	865					870					875					880
	Glu	Pro	Thr	Leu	Leu	Tyr	Val	Leu	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg
					885					890					895	
10	Ile	His	Gln	Pro	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr
				900					905					910		
15	Pro	Phe	Ser	Ala	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr							
			915					920								
	<210> 8															
	<211> 917															
20	<212> PRT															
	<213> Adenovirus de simio															
	<400> 8															
25	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Met	Pro	Gln	Trp	Ser	Tyr	Met	His	Ile	Ala
	1				5					10					15	
	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala
30				20					25					30		
	Arg	Ala	Thr	Glu	Thr	Tyr	Phe	Ser	Leu	Gly	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro
			35					40					45			
35	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu
		50					55					60				
	Thr	Ile	Arg	Phe	Val	Pro	Val	Asp	Lys	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Tyr
40	65					70					75					80
	Lys	Thr	Arg	Phe	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met
					85					90					95	
45	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Ile	Asp	Arg	Gly	Pro	Ser
				100					105					110		
	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly
50			115					120					125			
	Ala	Pro	Asn	Asn	Ser	Gln	Trp	Asn	Ala	Thr	Asp	Asn	Gly	Asn	Lys	Pro
		130					135					140				
55	Val	Cys	Phe	Ala	Gln	Ala	Ala	Phe	Ile	Gly	Gln	Ser	Ile	Thr	Lys	Asp
	145					150					155					160

60

65

ES 2 341 501 T3

	Gly	Val	Gln	Ile	Gln	Asn	Ser	Glu	Asn	Gln	Gln	Ala	Ala	Ala	Asp	Lys
					165					170					175	
5	Thr	Tyr	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Ile	Gly	Val	Ser	Thr	Trp	Asp	Thr	Asn
				180					185					190		
	Val	Thr	Ser	Asn	Ala	Ala	Gly	Arg	Val	Leu	Lys	Ala	Thr	Thr	Pro	Met
10			195					200					205			
	Leu	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Ala	Asn	Pro	Thr	Asn	Pro	Asn	Gly	Gly
		210					215					220				
15	Gln	Ala	Lys	Thr	Glu	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Asn	Phe	Phe	Thr	Thr	Thr
	225					230					235					240
	Ala	Ala	Ala	Asp	Asn	Asn	Pro	Lys	Val	Val	Leu	Tyr	Ser	Glu	Asp	Val
20					245					250					255	
	Asn	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Thr	His	Leu	Val	Tyr	Lys	Pro	Thr	Val	Gly
				260					265					270		
25	Glu	Asn	Val	Ile	Ala	Ala	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Gln	Gln	Ala	Cys	Pro
			275					280					285			
	Asn	Arg	Ala	Asn	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu	Met
		290					295					300				
30	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser
	305					310					315					320
	Gln	Leu	Asn	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu	Ser
35					325					330					335	
	Tyr	Gln	Leu	Met	Leu	Asp	Ala	Leu	Gly	Asp	Arg	Thr	Arg	Tyr	Phe	Ser
				340					345					350		
40	Met	Trp	Asn	Gln	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val	Arg	Ile	Ile
			355					360					365			
	Glu	Asn	His	Gly	Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro	Leu
45		370					375					380				
	Pro	Gly	Met	Gly	Ile	Phe	Asn	Ser	Tyr	Lys	Gly	Val	Lys	Pro	Gln	Asn
	385					390					395					400
50	Gly	Gly	Asn	Gly	Asn	Trp	Glu	Ala	Asn	Gly	Asp	Leu	Ser	Asn	Ala	Asn
					405					410					415	
	Glu	Ile	Ala	Leu	Gly	Asn	Ile	Phe	Ala	Met	Glu	Ile	Asn	Leu	His	Ala
55					420				425					430		
	Asn	Leu	Trp	Arg	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asn	Val	Ala	Leu	Tyr	Leu	Pro
			435					440					445			

60

65

ES 2 341 501 T3

	Asp	Ser	Tyr	Lys	Phe	Thr	Pro	Ala	Asn	Ile	Thr	Leu	Pro	Ala	Asn	Gln
	450						455					460				
5	Asn	Thr	Tyr	Gly	Tyr	Ile	Asn	Gly	Arg	Val	Thr	Ser	Pro	Thr	Leu	Val
	465					470					475					480
	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ile	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Pro	Asp	Pro	Met	Asp
10					485					490					495	
	Asn	Val	Asn	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr	Arg
				500					505					510		
15	Ser	Met	Leu	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Val	Val	Pro	Phe	His	Ile	Gln	Val
			515					520					525			
	Pro	Gln	Lys	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Asn	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Gly	Ser
20		530					535					540				
	Tyr	Thr	Tyr	Glu	Trp	Ser	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Ile	Leu	Gln
	545					550					555					560
	Ser	Thr	Leu	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Val	Asp	Gly	Ala	Ser	Val	Arg	Ile
25					565					570					575	
	Asp	Ser	Val	Asn	Leu	Tyr	Ala	Asn	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His	Asn	Thr
				580					585					590		
30	Ala	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp	Gly	Ser
			595					600					605			
	Phe	Asn	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ala	Ala	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro	Ile	Pro	Ala
35		610					615					620				
	Asn	Ala	Thr	Asn	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp	Ala	Ala
	625					630					635					640
40	Phe	Arg	Gly	Trp	Ser	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Ala	Lys	Glu	Thr	Pro	Ser
					645					650					655	
	Leu	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Gly	Thr	ile	Pro
45				660					665					670		
	Tyr	Leu	Asp	Gly	Ser	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Arg	Leu	Ser
			675					680					685			
50	Ile	Met	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu
		690					695					700				
	Thr	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Ile	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr
55						710					715					720
	Asn	Val	Ala	Gln	Ser	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Ile	Gln	Met
					725					730					735	
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Leu	Ser	His	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly
				740					745					750		
5	Tyr	Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser
			755					760					765			
	Arg	Gln	Val	Pro	Asp	Pro	Thr	Ala	Ala	Gly	Tyr	Gln	Ala	Val	Pro	Leu
10		770					775					780				
	Pro	Arg	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Met	Gly	Pro	Thr
	785					790					795					800
15	Met	Arg	Glu	Gly	Gln	Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile
					805					810					815	
	Gly	Ala	Thr	Ala	Val	Pro	Ala	Ile	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp
20				820					825					830		
	Arg	Val	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly
			835					840					845			
25	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His
	850						855					860				
	Ala	Leu	Asp	Met	Thr	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asn	Glu	Pro	Thr	Leu
30	865					870					875					880
	Leu	Tyr	Met	Leu	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Val	His	Gln	Pro
					885					890					895	
35	His	Arg	Gly	Ile	Ile	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala
				900					905					910		
	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr											
				915												
40																
	<210> 9															
	<211> 917															
	<212> PRT															
45	<213> Adenovirus de simio															
	<400> 9															
50	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Met	Pro	Gln	Trp	Ser	Tyr	Met	His	Ile	Ala
	1				5					10					15	
	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala
				20					25					30		
55	Arg	Ala	Thr	Asp	Thr	Tyr	Phe	Ser	Leu	Gly	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro
			35					40					45			
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu
	50						55					60				
5	Thr	Leu	Arg	Phe	Val	Pro	Val	Asp	Arg	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Tyr
	65					70					75					80
	Lys	Val	Arg	Phe	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met
10					85					90					95	
	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Gly	Pro	Ser
				100					105					110		
15	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly
			115					120					125			
	Ala	Pro	Asn	Pro	Ser	Glu	Trp	Lys	Gly	Ser	Asp	Asn	Lys	Ile	Ser	Val
20			130				135					140				
	Arg	Gly	Gln	Ala	Pro	Phe	Phe	Ser	Thr	Ser	Ile	Thr	Lys	Asp	Gly	Ile
	145					150					155					160
25	Gln	Val	Ala	Thr	Asp	Thr	Ser	Ser	Gly	Ala	Val	Tyr	Ala	Lys	Lys	Glu
					165					170					175	
	Tyr	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Val	Gly	Gln	Glu	Gln	Trp	Asn	Ser	Glu	Ala
				180					185					190		
30	Ser	Asp	Ser	Asp	Lys	Val	Ala	Gly	Arg	Ile	Leu	Lys	Asp	Thr	Thr	Pro
			195					200					205			
35	Met	Phe	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Ala	Lys	Pro	Thr	Asn	Glu	Gln	Gly
		210					215					220				
	Gly	Gln	Gly	Thr	Asn	Thr	Val	Asp	Leu	Gln	Phe	Phe	Ala	Ser	Ser	Ser
	225					230					235					240
40	Ala	Thr	Ser	Thr	Pro	Lys	Ala	Val	leu	Tyr	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Ile
					245					250					255	
45	Glu	Ala	Pro	Asp	Thr	His	Leu	Val	Tyr	Lys	Pro	Ala	Val	Thr	Thr	Thr
				260					265					270		
	Thr	Thr	Ser	Ser	Gln	Asp	Leu	Leu	Thr	Gln	Gln	Ala	Ala	Pro	Asn	Arg
			275					280					285			
50	Pro	Asn	Tyr	Ile	Gly	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu	Met	Tyr	Tyr
		290					295					300				
55	Asn	Ser	Thr	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser	Gln	Leu
	305					310					315					320
	Asn	Ala	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gln
					325					330					335	
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Leu	Met	Leu	Asp 340	Ala	Leu	Gly	Asp	Arg 345	Ser	Arg	Tyr	Phe	Ser 350	Met	Trp
5	Asn	Gln	Ala 355	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp 360	Pro	Asp	Val	Arg	Ile 365	Ile	Glu	Asn
	His	Gly 370	Val	Glu	Asp	Glu	Leu 375	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe 380	pro	Leu	Gly	Gly
10	Ser 385	Leu	Val	Thr	Glu	Thr 390	Tyr	Thr	Gly	Leu	Ser 395	pro	Gln	Asn	Gly	Ser 400
15	Asn	Thr	Trp	Thr	Thr 405	Asp	Ser	Thr	Thr	Tyr 410	Ala	Thr	Arg	Gly	Val 415	Glu
	Ile	Gly	Ser	Gly 420	Asn	Met	Phe	Ala	Met 425	Glu	ile	Asn	Leu	Ala 430	Ala	Asn
20	Leu	Trp	Arg 435	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser 440	Asn	Val	Ala	Leu	Tyr 445	Leu	Pro	Asp
25	Glu	Tyr 450	Lys	Leu	Thr	Pro	Asp 455	Asn	Ile	Thr	Leu	Pro 460	Asp	Asn	Lys	Asn
	Thr 465	Tyr	Asp	Tyr	Met	Asp 470	Gly	Arg	Val	Ala	Ala 475	Pro	Ser	Ser	Leu	Asp 480
30	Thr	Tyr	Val	Asn	Ile 485	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser 490	Pro	Asp	Pro	Met	Asp 495	Asn
35	Val	Asn	Pro	Phe 500	Asn	His	His	Arg	Asn 505	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr 510	Arg	Ser
	Met	Leu	Leu 515	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr 520	Val	Pro	Phe	His	Ile 525	Gln	Val	Pro
40	Gln	Lys 530	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys 535	Asn	Leu	Leu	Leu	Leu 540	Pro	Gly	Ser	Tyr
45	Thr 545	Tyr	Glu	Trp	Asn	Phe 550	Arg	Lys	Asp	Val	Asn 555	Met	Ile	Leu	Gln	Ser 560
	Ser	Leu	Gly	Asn	Asp 565	Leu	Arg	Val	Asp	Gly 570	Ala	Ser	Val	Arg	Phe 575	Asp
50	Ser	Ile	Asn	Leu 580	Tyr	Ala	Asn	Phe	Phe 585	Pro	Met	Ala	His	Asn 590	Thr	Ala
55	Ser	Thr	Leu 595	Glu	Ala	Met	Leu	Arg 600	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp 605	Gln	Ser	Phe
	Asn	Asp 610	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ala 615	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro 620	Ile	Pro	Ala	Asn
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Ala	Thr	Ser	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp	Ala	Ala	Phe
	625					630					635					640
5	Arg	Gly	Trp	Ser	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Thr	Lys	Glu	Thr	Pro	Ser	Leu
					645					650					655	
	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Pro	Tyr
10				660					665					670		
	Leu	Asp	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile
			675					680					685			
15	Met	Phe	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Thr
		690					695					700				
	Pro	Asn	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn
20		705				710					715					720
	Val	Ala	Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Ile	Gln	Met	Leu
					725					730					735	
25	Ser	His	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Pro	Tyr	Val	Pro	Glu	Gly	Tyr
				740					745					750		
	Lys	Asp	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg
			755					760					765			
30	Gln	Val	Val	Asp	Thr	Thr	Thr	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Lys	Asn	Val	Thr	Leu
		770					775					780				
35	Pro	Phe	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Met	Gly	Pro	Thr
		785				790					795					800
	Met	Arg	Glu	Gly	Gln	Ala	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile
					805					810					815	
40	Gly	Lys	Thr	Ala	Val	Pro	Ser	Leu	Thr	Gln	Lys	Lys	Phe	Leu	Cys	Asp
				820					825					830		
45	Arg	Thr	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly
			835					840					845			
	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His
		850					855					860				
50	Ala	Leu	Asp	Met	Thr	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Glu	Pro	Thr	Leu
		865				870					875					880
	Leu	Tyr	Val	Leu	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Ile	His	Gln	Pro
55					885					890					895	
	His	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala
				900					905					910		
60	Gly	Asn	Ala	Thr	Thr											
			915													

<210> 10

<211> 931

<212> PRT

<213> Adenovirus de simio

ES 2 341 501 T3

<400> 10

5	Met	Ala	Thr	Pro	Ser	Met	Met	Pro	Gln	Trp	Ser	Tyr	Met	His	Ile	Ala
	1				5					10					15	
	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Phe	Ala
				20					25					30		
10	Arg	Ala	Thr	Asp	Thr	Tyr	Phe	Ser	Leu	Gly	Asn	Lys	Phe	Arg	Asn	Pro
			35					40					45			
	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	His	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Arg	Ser	Gln	Arg	Leu
		50					55					60				
15	Thr	Leu	Arg	Phe	Val	Pro	Val	Asp	Arg	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Tyr
	65					70					75					80
20	Lys	Val	Arg	Tyr	Thr	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Asn	Arg	Val	Leu	Asp	Met
					85					90					95	
	Ala	Ser	Thr	Tyr	Phe	Asp	Ile	Arg	Gly	Val	Leu	Asp	Arg	Gly	Pro	Ser
				100					105					110		
25	Phe	Lys	Pro	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ala	Tyr	Asn	Ser	Leu	Ala	Pro	Lys	Gly
			115					120					125			
30	Ala	Pro	Asn	Pro	Ala	Glu	Trp	Thr	Asn	Ser	Asp	Ser	Lys	Val	Lys	Val
		130					135					140				
	Ala	Ala	Gln	Ala	Pro	Phe	Val	Ser	Ser	Tyr	Gly	Ala	Thr	Ala	Ile	Thr
	145					150					155					160
35	Lys	Glu	Gly	Ile	Gln	Val	Gly	Val	Thr	Leu	Thr	Asp	Ser	Gly	Ser	Thr
					165					170					175	
40	Pro	Gln	Tyr	Ala	Asp	Lys	Thr	Tyr	Gln	Pro	Glu	Pro	Gln	Ile	Gly	Glu
				180					185					190		
	Leu	Gln	Trp	Asn	Ser	Asp	Val	Gly	Thr	Asp	Asp	Lys	Ile	Ala	Gly	Arg
			195					200					205			
45	Val	Leu	Lys	Lys	Thr	Thr	Pro	Met	Phe	Pro	Cys	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Ala
		210					215					220				
50	Arg	Pro	Thr	Asn	Glu	Lys	Gly	Gly	Gln	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala	Ser	Gln
	225					230					235					240

55

60

65

ES 2 341 501 T3

	Asp	Val	Gln	Asn	Pro	Glu	Leu	Gln	Phe	Phe	Ala	Ser	Thr	Asn	Val	Ala	
					245					250					255		
5	Asn	Thr	Pro	Lys	Ala	Val	Leu	Thr	Ala	Glu	Asp	Val	Ser	Ile	Glu	Ala	
				260					265					270			
	Pro	Asp	Thr	His	Leu	Val	Phe	Lys	Pro	Thr	Val	Thr	Glu	Gly	Ile	Thr	
			275					280					285				
10	Ser	Ser	Glu	Ala	Leu	Leu	Thr	Gln	Gln	Ala	Ala	Pro	Asn	Arg	Pro	Asn	
		290					295					300					
15	Tyr	Ile	Ala	Phe	Arg	Asp	Asn	Phe	Ile	Gly	Leu	Met	Tyr	Tyr	Asn	Ser	
	305					310					315					320	
	Thr	Gly	Asn	Met	Gly	Val	Leu	Ala	Gly	Gln	Ala	Ser	Gln	Leu	Asn	Ala	
					325					330					335		
20	Val	Val	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gln	Leu	Met	
				340					345					350			
25	Leu	Asp	Ala	Leu	Gly	Asp	Arg	Ser	Arg	Tyr	Phe	Ser	Met	Trp	Asn	Gln	
			355					360					365				
	Ala	Val	Asp	Ser	Tyr	Asp	Pro	Asp	Val	Arg	Ile	Ile	Glu	Asn	His	Gly	
			370				375					380					
30	Val	Glu	Asp	Glu	Leu	Pro	Asn	Tyr	Cys	Phe	Pro	Leu	Gly	Gly	Met	Ala	
	385					390					395					400	
	Val	Thr	Asp	Thr	Tyr	Ser	Pro	Ile	Lys	Val	Asn	Gly	Gly	Gly	Asn	Gly	
35				405						410					415		
	Trp	Glu	Ala	Asn	Asn	Gly	Val	Phe	Thr	Glu	Arg	Gly	Val	Glu	Ile	Gly	
				420					425					430			
40	Ser	Gly	Asn	Met	Phe	Ala	Met	Glu	Ile	Asn	Leu	Gln	Ala	Asn	Leu	Trp	
			435					440					445				
	Arg	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Asn	Ile	Gly	Leu	Tyr	Leu	Pro	Asp	Ser	Leu	
45		450					455					460					
	Lys	Ile	Thr	Pro	Asp	Asn	Ile	Thr	Leu	Pro	Glu	Asn	Lys	Asn	Thr	Tyr	
	465					470					475					480	
50	Gln	Tyr	Met	Asn	Gly	Arg	Val	Thr	Pro	Pro	Gly	Leu	Val	Asp	Thr	Tyr	
				485						490					495		
	Val	Asn	Val	Gly	Ala	Arg	Trp	Ser	Pro	Asp	Val	Met	Asp	Ser	Ile	Asn	
55				500					505					510			
	Pro	Phe	Asn	His	His	Arg	Asn	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr	Arg	Ser	Met	Leu	
			515					520					525				
60																	
65																	

ES 2 341 501 T3

	Leu	Gly	Asn	Gly	Arg	Tyr	Val	Pro	Phe	His	Ile	Gln	Val	Pro	Gln	Lys
	530						535					540				
5	Phe	Phe	Ala	Ile	Lys	Asn	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr
	545					550					555					560
	Glu	Trp	Asn	Phe	Arg	Lys	Asp	Val	Asn	Met	Ile	Leu	Gln	Ser	Ser	leu
10					565					570					575	
	Gly	Asn	Asp	Leu	Arg	Val	Asp	Gly	Ala	Ser	Ile	Arg	Phe	Asp	Ser	Ile
				580					585					590		
15	Asn	Leu	Tyr	Ala	Asn	Phe	Phe	Pro	Met	Ala	His	Asn	Thr	Ala	Ser	Thr
			595					600					605			
	Leu	Glu	Ala	Met	Leu	Arg	Asn	Asp	Thr	Asn	Asp	Gln	Ser	Phe	Asn	Asp
20		610					615					620				
	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ala	Asn	Met	Leu	Tyr	Pro	Ile	Pro	Ala	Asn	Ala	Thr
	625					630					635					640
25	Ser	Val	Pro	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Asn	Trp	Ala	Ala	Phe	Arg	Gly
					645					650					655	
	Trp	Ser	Phe	Thr	Arg	Leu	Lys	Thr	Lys	Glu	Thr	Pro	Ser	Leu	Gly	Ser
				660					665					670		
30	Gly	Phe	Asp	Pro	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Pro	Tyr	Leu	Asp
			675					680					685			
35	Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile	Met	Phe
		690					695					700				
	Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Thr	Pro	Asn
	705					710					715					720
40	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Ser	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn	Val	Ala
					725					730					735	
	Gln	Ser	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Ile	Gln	Met	Leu	Ser	His
45				740					745					750		
	Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Val	Pro	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asp
			755					760					765			
50	Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg	Gln	Ile
		770					775					780				
	Val	Asp	Ser	Thr	Ala	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Gln	Asp	Val	Lys	Leu	Pro	Tyr
55		785				790					795					800
	Gln	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Met	Gly	Pro	Thr	Met	Arg
					805					810					815	
60																
65																

ES 2 341 501 T3

	Glu	Gly	Gln	Ala	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly	Ala
				820					825					830		
5	Thr	Ala	Val	Pro	Ser	Leu	Thr	Gln	Leu	Leu	Phe	Leu	Cys	Asp	Arg	Val
			835					840					845			
10	Met	Trp	Arg	Ile	Pro	Phe	Ser	Ser	Asn	Phe	Met	Ser	Met	Gly	Ser	Leu
		850					855					860				
	Thr	Asp	Leu	Gly	Gln	Asn	Met	Leu	Tyr	Ala	Asn	Ser	Ala	His	Ala	Leu
	865					870					875					880
15	Asp	Met	Thr	Phe	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Asp	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Tyr
					885					890					895	
20	Val	Leu	Phe	Glu	Val	Phe	Asp	Val	Val	Arg	Ile	His	Gln	Pro	His	Arg
				900					905					910		
	Gly	Val	Ile	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Arg	Thr	Pro	Phe	Ser	Ala	Gly	Asn
			915					920					925			
25	Ala	Thr	Thr													
		930														
	<210> 11															
	<211> 25															
30	<212> PRT															
	<213> Región hexon tipo 1 de adenovirus humano															
35	<400> 11															
	Ala	Leu	Glu	Ile	Asn	Leu	Glu	Glu	Glu	Asp	Asp	Asp	Asn	Glu	Asp	Glu
	1				5					10				15		
40	Val	Asp	Glu	Gln	Ala	Glu	Gln	Gln	Lys							
				20					25							
	<210> 12															
45	<211> 14															
	<212> PRT															
	<213> Virus de inmunodeficiencia humana															
50	<400> 12															
	Glu	Gln	Glu	Leu	Leu	Glu	Leu	Asp	Lys	Trp	Ala	Ser	Leu	Trp		
	1				5					10						
55	<210> 13															
	<211> 20															
	<212> ADN															
	<213> Artificial															
60	<220>															
	<223> iniciador 5hexl															
65	<400> 13															

gaccgccgtt gttgtaacc

ES 2 341 501 T3

	<210> 14	
	<211> 45	
	<212> ADN	
5	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> iniciador, it rev	
10	<400> 14	
	gtgtcatcg tccactagtc cctcttcttc taggtttatt tcaag	45
15	<210> 15	
	<211> 29	
	<212> ADN	
20	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> iniciador, rt delantero	
25	<400> 15	
	ggactagtgg acgatgacaa cgaagacga	29
30	<210> 16	
	<211> 20	
	<212> ADN	
35	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> iniciador, rt rev	
40	<400> 16	
	atggtttcat tgggtagtc	20
45	<210> 17	
	<211> 48	
	<212> ADN	
50	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> oligómero, 2F5 bot	
55	<400> 17	
	ccggaccaca ggctggccca cttgtccagc tccagcagct cctgctcg	48
60	<210> 18	
	<211> 36	
	<212> ADN	
65	<213> Artificial	

ES 2 341 501 T3

	<220>		
	<223> oligómero, CD4 top		
5	<400> 18		
	ctaggctgct acggcgtgag cgccaccaag ctgggg		36
10	<210> 19		
	<211> 36		
	<212> ADN		
	<213> Artificial		
15	<220>		
	<223> oligómero CD4 bot		
20	<400> 19		
	ctagccccag ctggtggcg ctcacgccgt agcagc		36
25	<210> 20		
	<211> 15		
	<212> PRT		
	<213> Adenovirus humano tipo 5		
30	<400> 20		
	Gly Leu Gly Cys Tyr Gly Val Ser Ala Thr Lys Leu Gly Leu Val		
35	1 5 10 15		
	<210> 21		
	<211> 69		
	<212> AND		
40	<213> Artificial		
	<220>		
45	<223> oligómero, CD8 top		
	<400> 21		
50	ctagggacca gcaccggcaa ctacaactac aagtaccgct acctgcgcca cggcaagctg		60
	cgccccggg		69
	<210> 22		
	<211> 69		
55	<212> AND		
	<213> Artificial		
	<220>		
60	<223> oligómero, CD8 bot		
	<400> 22		
65	ctagccccggg gcgcagcttg ccgtggcgca ggtagcggta cttgtagtgt tagttgccgg		60
	tgctgttc		69

ES 2 341 501 T3

<210> 23
 <211> 26
 <212> PRT
 5 <213> Adenovirus humano tipo 5

 <400> 23
 10 Gly Leu Gly Thr Ser Thr Gly Asn Tyr Asn Tyr Lys Tyr Arg Tyr Leu
 1 5 10 15
 Arg His Gly Lys Leu Arg Pro Gly Leu Val
 20 25
 15 <210> 24
 <211> 20
 <212> AND
 20 <213> Artificial

 <220>
 <223> iniciador, Shex1
 25 <400> 24

 gaccgccgtt gttgtaaccc 20
 30 <210> 25
 <211> 35
 <212> AND
 35 <213> Artificial

 <220>
 <223> iniciador, BspSOErev
 40 <400> 25

 cgtgagttcc ggaagtagca gcttcattccc attcg 35
 45 <210> 26
 <211> 34
 <212> AND
 50 <213> Artificial

 <220>
 <223> iniciador, BspSOEfwd
 55 <400> 26

 tgctacttcc ggaactcacg tatttgggca ggcg 34
 60 <210> 27
 <211> 20
 <212> AND
 65 <213> Artificial

 <220>

ES 2 341 501 T3

<223> iniciador, 5hex4

<400> 27

5

ggaagaaggt ggcgtaaagg

20

<210> 26

10

<211> 48

<212> AND

<213> artificial

15

<220>

<223> oligómero, 2F5 top

<400> 28

20

ccggcgagca ggagctgctg gagctggaca agtgggccag cctgtggt

48

25

30

35

40

45

50

55

60

65