

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 925 950**

51 Int. Cl.:

A61K 39/04 (2006.01)

C07K 14/35 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.06.2014** **PCT/US2014/043889**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.12.2014** **WO14210018**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2014** **E 14817274 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.08.2022** **EP 3013364**

54 Título: **Composiciones para la tuberculosis y procedimientos de uso de las mismas**

30 Prioridad:

25.06.2013 US 201361838872 P

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

20.10.2022

73 Titular/es:

**INTERNATIONAL AIDS VACCINE INITIATIVE, INC.
(100.0%)
125 Broad Street, 9th Floor
New York, NY 10004, US**

72 Inventor/es:

**ANANTHA, RAVI;
CADIEUX, NATHALIE;
EVANS, THOMAS G.;
STONE, MICHELE y
WALKER, BARRY**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 925 950 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones para la tuberculosis y procedimientos de uso de las mismas

Campo

5 La presente divulgación se dirige, en parte, a proteínas de fusión que comprenden antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), moléculas de ácido nucleico que codifican las mismas, vectores que comprenden moléculas de ácido nucleico, composiciones que comprenden las mismas y procedimientos para provocar una respuesta inmunitaria contra la tuberculosis.

Antecedente

10 La tuberculosis (TB) es un problema sanitario mundial que provoca 8 millones de nuevos casos y 2 millones de muertes cada año. La aparición de cepas de tuberculosis multirresistentes y totalmente resistentes a los fármacos no hace sino agravar este problema. El ciclo de vida del Mtb tiene 3 etapas. En la etapa aguda que sigue a la infección inicial, las bacterias se replican en el huésped y se expresan los factores de virulencia, lo que lleva a la generación de una respuesta inmunitaria por parte del huésped. Cuando la respuesta inmunitaria comienza a controlar la infección, el Mtb entra en un estado latente y asintomático en el que las bacterias se vuelven no replicantes y se encajan en granulomas.

15 La bacteria puede persistir en este estado latente en los individuos infectados durante muchos años, lo que dificulta el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad. En algunos casos, las bacterias se reactivan y se comienzan a replicar de nuevo, lo que lleva de nuevo al estado de enfermedad. La reactivación se puede producir por numerosas razones, tales como la supresión inmunitaria causada por enfermedades tales como el VIH, tratamientos tales como la quimioterapia o el debilitamiento del sistema inmunitario debido al envejecimiento. Se estima que 2.000 millones de

20 personas están infectadas de forma latente por Mtb en todo el mundo, y la reactivación de Mtb latente es la causa de la mayoría de los nuevos casos de enfermedad tuberculosa activa. La reactivación está asociada a la inflamación, la necrosis y la cavitación del pulmón, un proceso que da lugar al drenaje de las lesiones en el bronquio. Los aerosoles que se generan cuando los individuos con lesiones bronquiales tosen provocan la diseminación del organismo de Mtb a personas no infectadas y susceptibles, con lo que se mantiene el ciclo de transmisión.

25 La única vacuna disponible actualmente contra la tuberculosis, *Mycobacterium bovis* (Bacille Calmette-Guérin) (BCG), se introdujo por primera vez en 1921. La BCG se ha utilizado ampliamente y, aunque los estudios demuestran que para algunos fines la BCG es eficaz (por ejemplo, contra la tuberculosis diseminada), se sabe que es ineficaz con respecto a la prevención del desarrollo, la persistencia y la reactivación de la tuberculosis latente. Existe una necesidad constante de desarrollar vacunas mejoradas y más eficaces contra la tuberculosis. En particular, es necesario

30 desarrollar vacunas que proporcionen protección contra el desarrollo, el mantenimiento y/o la reactivación de la infección tuberculosa latente. Con la disponibilidad de la secuencia genómica completa de Mtb, y las herramientas para el análisis bioinformático y experimental de los antígenos de Mtb, en los últimos años se han identificado muchos nuevos candidatos potenciales a vacunas contra Mtb. Entre ellos se encuentran los antígenos que intervienen en la infección aguda, el mantenimiento de la latencia o la reactivación de Mtb. Hay una serie de estrategias de

35 administración en desarrollo clínico que se componen de combinaciones de estos y otros antígenos que han sido probados en modelos animales y que están actualmente o estarán pronto en ensayos clínicos.

Aunque las vacunas son a menudo eficaces para inmunizar a los individuos de forma profiláctica o terapéutica contra la infección de patógenos o enfermedades humanas, existe la necesidad de mejorar las vacunas. También se necesitan composiciones y procedimientos que produzcan una respuesta inmunitaria mejorada. Asimismo, aunque

40 algunos inmunoterapéuticos son útiles para modular la respuesta inmunitaria de un paciente, sigue siendo necesario mejorar las composiciones y los procedimientos inmunoterapéuticos.

El documento US 2009/136534 describe una vacuna contra *Mycobacteria tuberculosis* que comprende subunidades recombinantes de Bacille-Calmette-Guerin. El documento WO 2008/124647 describe composiciones y proteínas de fusión que contienen al menos dos antígenos de *Mycobacteria sp.* y polinucleótidos que codifican los mismos, así

45 como procedimientos para su uso en el tratamiento, la prevención y/o el diagnóstico de una infección por tuberculosis. El documento Kaufmann S., Seminars in Immunology 25 (2013) 172-181 describe estrategias en el desarrollo de vacunas contra la tuberculosis. El documento WO 2014/009438 describe una vacuna contra *Mycobacteria tuberculosis* que comprende al menos cinco antígenos de una especie de *Mycobacteria* o una fusión de los mismos y moléculas de ácido nucleico, vectores y células huésped que codifican los mismos o

50 composiciones que los comprenden, así como procedimientos de uso de los mismos para inducir o estimular una respuesta inmunitaria contra una infección por *Mycobacteria*. El documento US 2013/142800 describe una composición antigénica que comprende polipéptidos o polinucleótidos antigénicos micobacterianos.

Sumario

55 En un primer aspecto de la presente invención se proporciona una proteína de fusión que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de: ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD o Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.

Convenientemente, la proteína de fusión puede comprender una secuencia de aminoácidos al menos un 95% idéntica

a Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.

Opcionalmente, la proteína de fusión puede ser: ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD o Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.

En consecuencia, la proteína de fusión puede ser Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.

- 5 En un segundo aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la proteína de fusión y un portador farmacéuticamente aceptable.

En un tercer aspecto, se proporciona un vector que codifica la proteína de fusión.

- 10 De manera adecuada, el vector puede ser el adenovirus 4, el adenovirus 5, el adenovirus de chimpancé 3, el adenovirus de chimpancé 63, el adenovirus de chimpancé 68, la vaccinia Ankara modificada (MVA), el virus de la parainfluenza modificado (PIV2) o el virus de la parainfluenza humana recombinante (rHPIV2).

En un cuarto aspecto, se proporciona una célula que comprende el vector.

En un quinto aspecto, se proporciona una composición que comprende al menos los cuatro antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD, en la que los al menos cuatro antígenos de Mtb están codificados por una única molécula de ácido nucleico dentro del mismo vector como proteína de fusión.

- 15 En consecuencia, la primera y/o segunda región transmembrana de Rv1733c puede ser eliminada.

Opcionalmente, la composición puede comprender además el antígeno Ag85B Mtb, en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos Mtb.

De manera adecuada, la composición puede comprender además un portador farmacéuticamente aceptable.

- 20 En un sexto aspecto, se proporciona una proteína de fusión o una composición para su uso en la provocación de una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero.

En un séptimo aspecto, se proporciona una proteína de fusión para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

- 25 En un octavo aspecto, se proporciona una proteína de fusión que comprende al menos los cuatro antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) ESAT6, Rv3407c, Rv2626c y RpfD, o secuencias de aminoácidos de los antígenos que son al menos un 95% idénticas.

En un noveno aspecto, se proporciona una composición que comprende al menos los cuatro antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD, en la que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.

- 30 La presente divulgación describe un casete de antígeno (y variantes especificadas) que se puede utilizar para crear vacunas contra la tuberculosis que comprenden antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) que están implicados con 3 etapas identificadas de la enfermedad: 1) la infección o infección aguda, 2) la latencia o el estado latente, y 3) la reanimación o reactivación de la enfermedad activa. La divulgación también describe la combinación estratégica de antígenos que se incorporan a una variedad de plataformas de entrega de forma que proporcionan vías a una matriz de combinaciones emparejadas de entrega de antígenos para obtener una respuesta inmune optimizada.
- 35 El objeto descrito en el presente documento se puede utilizar como vacuna profiláctica o terapéutica contra la tuberculosis. La selección inicial de antígenos para su inclusión en un casete utilizable se basó en una serie de parámetros que incluían, por ejemplo, una revisión exhaustiva de la bibliografía, datos de expresión, respuestas de las células T humanas, inclusión de regiones inmunogénicas humanas, estudios de protección en ratones y conservación en la secuencia en la mayoría de las cepas de tuberculosis con secuencias genómicas completas. Los
- 40 antígenos específicos se probaron para asegurarse de que se podían expresar en una variedad de sistemas (BCG, proteínas, vectores virales, ácidos nucleicos), que eran inmunogénicos y que se podían hacer como fusiones en proteínas u otros vectores para simplificar las cuestiones de fabricación posteriores. A continuación, se demostró que todos los antígenos seleccionados eran inmunogénicos en ratones, bien cuando se utilizaban solos, bien en una variedad de combinaciones, para llegar a la presente solicitud.

- 45 Las construcciones descritas en el presente documento se han integrado en una gama específica de plataformas de suministro que incluyen las siguientes clases (pero no exhaustivas) de plataformas de suministro representativas: 1) sistemas de entrega de vectores virales, 2) BCG recombinante, 3) fusiones de proteínas purificadas recombinantes, 4) sistemas de vectores de plásmidos de ADN y 5) sistemas de vectores de ARN. Estas plataformas de administración se pueden utilizar en una sola plataforma o en combinaciones como enfoques de refuerzo de antígenos emparejados.
- 50 Además, el uso de estos antígenos en un único sistema de vector rBCG, que se prevé utilizar como cebador de antígenos emparejados para un refuerzo con cualquiera de las modalidades anteriores, que incluyen proteínas, vectores virales, ácidos nucleicos u otros.

La presente divulgación proporciona proteínas de fusión que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en las que la proteína de fusión comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

- 5 La presente divulgación también proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican proteínas de fusión que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en las que la proteína de fusión comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

- 10 La presente divulgación también proporciona: composiciones que comprenden las proteínas de fusión y un portador farmacéuticamente aceptable; vectores que codifican las proteínas de fusión; composiciones que comprenden los vectores y un portador farmacéuticamente aceptable; células que comprenden los vectores; composiciones que comprenden las células y un portador farmacéuticamente aceptable.

- 15 La presente divulgación también proporciona composiciones que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en las que la composición comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

- 20 La presente divulgación también proporciona composiciones que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en las que la composición comprende: al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; en las que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.

- 25 La presente divulgación también proporciona procedimientos para provocar una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad inmunológicamente suficiente de una o más proteínas de fusión que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en la que al menos una proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

- 30 La presente divulgación también proporciona procedimientos para provocar una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad inmunológicamente suficiente de una composición que comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en la que la composición comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; y un portador farmacéuticamente aceptable.

- 35 La presente divulgación también proporciona procedimientos para provocar una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad inmunológicamente suficiente de una composición que comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en la que la composición comprende: al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.

- 40 La presente divulgación también proporciona proteínas de fusión para su uso en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en el que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en el que la proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

- 45 La presente divulgación también proporciona proteínas de fusión para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la proteína de fusión comprende: al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes y al menos un antígeno de Mtb de reanimación.

- 50 La presente divulgación también proporciona usos de una proteína de fusión en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en el que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en el que la proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

La presente divulgación también proporciona usos de una proteína de fusión en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos

de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la proteína de fusión comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

- 5 La presente divulgación también proporciona composiciones para su uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en las que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en las que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 10 La presente divulgación también proporciona una composición para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 15 La presente divulgación también proporciona usos de una composición en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 20 La presente divulgación también proporciona usos de una composición para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 25 La presente divulgación también proporciona composiciones para su uso en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en las que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en las que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el
- 30 que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.
- La presente divulgación también proporciona composiciones para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en las que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en las que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.
- 35 La presente divulgación también proporciona usos de una composición en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.
- 40 La presente divulgación también proporciona usos de una composición para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.
- 45 La presente divulgación también proporciona usos de una composición para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.
- 50

La presente divulgación también proporciona proteínas de fusión, composiciones, células, vectores, procedimientos y usos, como se describe en el presente documento, sustancialmente como se describe con referencia a los ejemplos y/o figuras que se acompañan.

Breve descripción de los dibujos

- 55 Las Figuras 1A y 1B muestran los mapas de los plásmidos utilizados para insertar los genes de interés en el cromosoma de BCG SSI u otras cepas de BCG: (A) construcciones con la secuencia señal Ag85B para la secreción de las fusiones; y (B) construcciones con la secuencia señal 19 kDa para anclar las fusiones en la membrana.

La Figura 2 muestra la capacidad de respuesta al antígeno *in vitro* tras la vacunación con cepas de BCG que llevan el casete de antígeno.

Las figuras 3A y 3B muestran la estimulación *in vitro*: (A) mostrar la inducción de INF- γ en los esplenocitos tras la estimulación de la proteína y el ELISpot; y (B) análisis que muestra el número de esplenocitos que expresan INF- γ de ratones CB6F1 inmunizados dos veces con 10 μ g de la proteína de fusión 5 Ag (Construct D) y un adyuvante sintético poli I:C.

Las Figuras 4A y 4B muestran la estimulación *in vitro*: (A) ELISpot; y (B) análisis de esplenocitos de ratones CB6F1 inmunizados dos veces con 3 μ g de la proteína de fusión 5 Ag (Construct D) o de la proteína de fusión 4 Ag (Construct A) y un adyuvante MPL TLR4 sintético; cuando se elimina el Ag85B de la proteína de fusión 5 Ag, aumentan las respuestas a los otros 4 antígenos de la proteína 4 Ag.

Las Figuras 5A y 5B muestran la estimulación *in vitro*: (A) ELISpot; y (B) análisis de esplenocitos de ratones CB6F1 inmunizados dos veces con 3 μ g de la proteína de fusión de 5 Ag (Construct D) y las proteínas de fusión de 4 Ag con Rv1733 de tipo salvaje o modificado o la proteína de 4 Ag con RpfD sustituido por RpfB, con RpfB en el extremo 3' o 5' de la proteína de fusión; las proteínas fueron adyuvadas con un adyuvante sintético de poli I:C; la RpfB induce una respuesta inmunitaria mucho más fuerte que la RpfD, en particular cuando la RpfB está en el extremo 5' de la proteína de fusión; ni la Rv1733 modificada ni la de tipo salvaje indujeron una respuesta inmunitaria fuerte.

Las Figuras 6A y 6B muestran el número de bacterias en: (A) los pulmones y (B) el bazo de ratones CB6F1 cebados con BCG y reforzados con la proteína de fusión 4 Ag o 5 Ag 4 semanas después de la provocación con *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

Descripción de las realizaciones

Debe entenderse que la terminología empleada en el presente documento tiene por objeto describir realizaciones particulares únicamente, y no pretende ser limitativa.

Como se utiliza en el presente documento, las formas singulares "uno", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

A fin de la recitación de intervalos numéricos en el presente documento, se contempla explícitamente cada número intermedio con el mismo grado de precisión. Por ejemplo, para el intervalo de 6 a 9, se contemplan los números 7 y 8 además de 6 y 9, y para el intervalo 6,0 a 7,0, se contemplan explícitamente los números 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 y 7,0.

Como se utiliza en el presente documento, "antígeno agudo de Mtb" significa cualquier antígeno de Mtb implicado en la fase aguda de la infección tuberculosa.

Como se utiliza en el presente documento, "adyuvante" significa cualquier molécula añadida a cualquier composición descrita en el presente documento para mejorar la inmunogenicidad de los antígenos de Mtb.

Como se utiliza en el presente documento, "secuencia codificante" o "ácido nucleico codificante" significa los ácidos nucleicos (molécula de ARN o ADN) que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de Mtb. La secuencia codificadora puede incluir además señales de iniciación y terminación vinculadas de forma operativa a elementos reguladores que incluyen un promotor y una señal de poliadenilación capaces de dirigir la expresión en las células de un individuo o mamífero al que se le administre el ácido nucleico.

Como se utiliza en el presente documento, "consenso" o "secuencia de consenso" significa una secuencia polipeptídica en base al análisis de una alineación de múltiples subtipos de un antígeno particular de Mtb. Se pueden preparar secuencias de ácido nucleico que codifican una secuencia polipeptídica consenso. Las vacunas que comprenden antígenos de Mtb que comprenden secuencias de consenso y/o moléculas de ácido nucleico que codifican dichos antígenos se pueden utilizar para inducir una amplia inmunidad contra múltiples subtipos o serotipos de un antígeno particular.

Como se utiliza en el presente documento, "electroporación" significa el uso de un pulso de campo eléctrico transmembrana para inducir vías microscópicas (poros) en una biomembrana; su presencia permite que biomoléculas tales como plásmidos, oligonucleótidos, ARNs, fármacos, iones y agua pasen de un lado a otro de la membrana celular.

Como se utiliza en el presente documento, "fragmento" con respecto a las secuencias de ácido nucleico, significa una secuencia de ácido nucleico o una porción de la misma, que codifica una porción de un antígeno de Mtb capaz de provocar una respuesta inmune en un mamífero que reacciona de forma cruzada con un antígeno de Mtb de longitud completa. Los fragmentos pueden ser fragmentos de ADN seleccionados entre al menos una de las diversas secuencias de nucleótidos que codifican fragmentos de proteínas que se exponen a continuación.

Como se utiliza en el presente documento, "fragmento" o "fragmento inmunogénico" con respecto a las secuencias polipeptídicas, significa una porción de un antígeno MTB capaz de provocar una respuesta inmunitaria en un mamífero que reacciona de forma cruzada con un antígeno Mtb de longitud completa de la cepa salvaje. Los fragmentos de antígenos de Mtb de consenso o de tipo salvaje pueden comprender al menos el 10%, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90% o al

menos el 95% de un antígeno de Mtb de consenso o de tipo salvaje. Como se describe en el presente documento, los fragmentos de proteínas de consenso pueden comprender al menos 20 aminoácidos o más, al menos 30 aminoácidos o más, al menos 40 aminoácidos o más, al menos 50 aminoácidos o más, al menos 60 aminoácidos o más, al menos 70 aminoácidos o más, al menos 80 aminoácidos o más, al menos 90 aminoácidos o más, al menos 100 aminoácidos o más, al menos 110 aminoácidos o más, al menos 120 aminoácidos o más, al menos 130 aminoácidos o más, al menos 140 aminoácidos o más, al menos 150 aminoácidos o más, al menos 160 aminoácidos o más, al menos 170 aminoácidos o más, al menos 180 aminoácidos o más de una proteína consenso o de tipo salvaje.

Como se utiliza en el presente documento, "construcción genética" se refiere a las moléculas de ADN o ARN que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de Mtb. La secuencia codificadora incluye señales de iniciación y terminación unidas de forma operativa a elementos reguladores que incluyen un promotor y una señal de poliadenilación capaces de dirigir la expresión en las células del individuo al que se le administra la molécula de ácido nucleico.

Como se utiliza en el presente documento, la "forma expresable" se refiere a las construcciones genéticas que contienen los elementos reguladores necesarios vinculados a una secuencia codificadora que codifica un antígeno de Mtb de forma que, cuando está presente en la célula del individuo, la secuencia codificadora se expresará.

Como se utiliza en el presente documento, "homología" se refiere a un grado de complementariedad. Puede haber homología parcial o completa (es decir, identidad). Una secuencia parcialmente complementaria que inhibe, al menos parcialmente, la hibridación de una secuencia completamente complementaria con un ácido nucleico diana se denomina con el término funcional "sustancialmente homóloga". Cuando se utiliza en referencia a una secuencia de ácido nucleico de doble cadena, tal como un ADNc o un clon genómico, el término "sustancialmente homólogo" se refiere a una sonda que se puede hibridar con una cadena de la secuencia de ácido nucleico de doble cadena en condiciones de baja rigurosidad. Cuando se utiliza en referencia a una secuencia de ácido nucleico monocatenario, el término "sustancialmente homólogo" se refiere a una sonda que puede hibridar con (es decir, es el complemento de) la secuencia plantilla de ácido nucleico monocatenario en condiciones de baja rigurosidad.

Como se utiliza en el presente documento, "idéntico" o "identidad" en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas, significa que las secuencias tienen un porcentaje específico de residuos que son iguales en una región específica. El porcentaje se puede calcular por medio de la alineación óptima de las dos secuencias, al comparar las dos secuencias en la región especificada, determinar el número de posiciones en las que el residuo idéntico aparece en ambas secuencias para obtener el número de posiciones coincidentes, dividir el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la región especificada y multiplicar el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de la secuencia. En los casos en los que las dos secuencias tienen longitudes diferentes o el alineamiento produce uno o más extremos escalonados y la región de comparación especificada incluye una sola secuencia, los residuos de la secuencia única se incluyen en el denominador pero no en el numerador del cálculo. Al comparar el ADN y el ARN, los residuos de timina (T) y uracilo (U) se pueden considerar equivalentes. La identificación se puede llevar a cabo manualmente o por medio de un algoritmo informático de secuencias tal como BLAST o BLAST 2.0.

Como se utiliza en el presente documento, "respuesta inmunitaria" significa la activación del sistema inmunitario de un huésped, por ejemplo, el de un mamífero, en respuesta a la introducción de un antígeno de Mtb. La respuesta inmunitaria puede ser en forma de respuesta celular o humoral, o ambas.

Como se utiliza en el presente documento, "antígeno de Mtb latente" significa cualquier antígeno de Mtb implicado en la infección de tuberculosis en fase latente.

Como se utiliza en el presente documento, "antígeno de Mtb" significa un antígeno de *Mycobacterium tuberculosis*, que puede ser un antígeno aislado o un antígeno que forma parte de una proteína de fusión con otro(s) antígeno(s).

Como se utiliza en el presente documento, "ácido nucleico" u "oligonucleótido" o "polinucleótido" significa al menos dos nucleótidos unidos covalentemente. La representación de una sola hebra también define la secuencia de la hebra complementaria. De este modo, un ácido nucleico también abarca la cadena complementaria de una cadena simple representada. Muchas variantes de un ácido nucleico se pueden utilizar para el mismo fin que un ácido nucleico determinado. De este modo, un ácido nucleico también abarca los ácidos nucleicos sustancialmente idénticos y sus complementos. Una sola hebra proporciona una sonda que se puede hibridar con una secuencia objetivo en condiciones de hibridación estrictas. De este modo, un ácido nucleico también abarca una sonda que se hibrida en condiciones de hibridación estrictas. Los ácidos nucleicos pueden ser monocatenarios o bicatenarios, o pueden contener porciones de secuencia bicatenario y monocatenario. El ácido nucleico puede ser ADN, tanto genómico como ADNc, ARN, o un híbrido, en el que el ácido nucleico puede contener combinaciones de desoxirribosa y ribonucleótidos, y combinaciones de bases que incluyen uracilo, adenina, timina, citosina, guanina, inosina, xantina hipoxantina, isocitosina e isoguanina. Los ácidos nucleicos se pueden obtener por procedimientos de síntesis química o por procedimientos recombinantes.

Como se utiliza en el presente documento, "operablemente ligado" significa que la expresión de un gen está bajo el control de un promotor con el que está conectado espacialmente. Un promotor se puede situar a 5' (corriente arriba)

o a 3' (corriente abajo) de un gen bajo su control. La distancia entre el promotor y un gen puede ser aproximadamente la misma que la distancia entre ese promotor y el gen que controla en el gen del que deriva el promotor. Como se sabe en la técnica, la variación de esta distancia se puede acomodar sin pérdida de la función del promotor.

Como se utiliza en el presente documento, "promotor" significa una molécula sintética o de origen natural que es capaz de conferir, activar o potenciar la expresión de un ácido nucleico en una célula. Un promotor puede comprender una o más secuencias reguladoras transcripcionales específicas para mejorar aún más la expresión y/o alterar la expresión espacial y/o temporal de la misma. Un promotor también puede incluir elementos distales potenciadores o represores, que pueden estar situados a varios miles de pares de bases del sitio de inicio de la transcripción. Un promotor puede provenir de fuentes que incluyen virus, bacterias, hongos, plantas, insectos y animales. Un promotor puede regular la expresión de un componente génico de forma constitutiva, o de forma diferencial con respecto a la célula, el tejido u órgano en el que se produce la expresión o, con respecto a la etapa de desarrollo en la que se produce la expresión, o en respuesta a estímulos externos tales como tensiones fisiológicas, patógenos, iones metálicos o agentes inductores.

Como se utiliza en el presente documento, "antígeno de Mtb de reanimación" significa cualquier antígeno de Mtb implicado en la reanimación o reactivación de una infección tuberculosa.

Como se utiliza en el presente documento, "péptido señal" y "secuencia líder", utilizados indistintamente, se refieren a una secuencia de aminoácidos que se puede unir en el extremo amino de una proteína antigénica de Mtb establecida en el presente documento. Los péptidos señalizadores/secuencias líderes suelen dirigir la localización de una proteína. Los péptidos señalizadores/secuencias líderes utilizados en el presente documento pueden facilitar la secreción de la proteína de la célula en la que se produce o anclarla en la membrana. Los péptidos señalizadores/secuencias líderes se suelen escindir del resto de la proteína, a menudo denominada proteína madura, al ser secretada por la célula. Los péptidos señalizadores/secuencias líderes se unen en el extremo N de la proteína.

Como se utiliza en el presente documento, "condiciones de hibridación estrictas" significa condiciones en las que una primera secuencia de ácido nucleico (por ejemplo, la sonda) se hibridará con una segunda secuencia de ácido nucleico (por ejemplo, el objetivo), tal como en una mezcla compleja de ácidos nucleicos. Las condiciones estrictas dependen de la secuencia y serán diferentes en distintas circunstancias. Las condiciones estrictas se pueden seleccionar para que sean entre 5 y 10 °C más bajas que el punto de fusión térmica (T_m) para la secuencia específica en un pH de fuerza iónica definido. La T_m puede ser la temperatura (bajo una fuerza iónica, un pH y una concentración nucleica definidos) a la que el 50% de las sondas complementarias a la diana hibridan con la secuencia diana en equilibrio (como las secuencias diana están presentes en exceso, a la T_m , el 50% de las sondas están ocupadas en equilibrio). Las condiciones estrictas pueden ser aquellas en las que la concentración de sal es inferior a aproximadamente 1,0 M de iones de sodio, tales como por ejemplo entre 0,01 y 1,0 M de concentración de iones de sodio (u otras sales) a un pH de 7,0 a 8,3 y la temperatura es de al menos unos 30 °C para sondas cortas (por ejemplo, de unos 10 a 50 nucleótidos) y de al menos unos 60 °C para sondas largas (por ejemplo, mayores de unos 50 nucleótidos). También se pueden conseguir condiciones más estrictas con la adición de agentes desestabilizadores tales como la formamida. A fin de la hibridación selectiva o específica, una señal positiva puede ser al menos de 2 a 10 veces la hibridación de fondo. Algunos ejemplos de condiciones de hibridación estrictas son los siguientes: 50% de formamida, 5x SSC, y 1% de SDS, incubando a 42 °C, o, 5x SSC, 1% de SDS, incubando a 65 °C, con lavado en 0,2x SSC, y 0,1% de SDS a 65 °C.

Como se utiliza en el presente documento, "sustancialmente complementaria" significa que una primera secuencia es al menos un 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% idéntica al complemento de una segunda secuencia en una región de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540, o más nucleótidos o aminoácidos, o que las dos secuencias hibridan en condiciones de hibridación estrictas.

Como se utiliza en el presente documento, "sustancialmente idéntica" significa que una primera y segunda secuencia son al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% idénticas en una región de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540 o más nucleótidos o aminoácidos, o con respecto a los ácidos nucleicos, si la primera secuencia es sustancialmente complementaria al complemento de la segunda secuencia.

Como se utiliza en el presente documento, "variante" con respecto a un ácido nucleico significa: i) una porción o fragmento de una secuencia de nucleótidos de referencia; ii) el complemento de una secuencia de nucleótidos de referencia o una porción de la misma; iii) un ácido nucleico que es sustancialmente idéntico a un ácido nucleico de referencia o a su complemento; o iv) un ácido nucleico que se hibrida en condiciones estrictas con el ácido nucleico de referencia, su complemento o una secuencia sustancialmente idéntica.

Como se utiliza en el presente documento, "variante" con respecto a un péptido o polipéptido significa que difiere en la secuencia de aminoácidos por la inserción, supresión o sustitución conservadora de aminoácidos, pero conserva al menos una actividad biológica. Variante también puede significar una proteína con una secuencia de aminoácidos que es sustancialmente idéntica a una proteína de referencia con una secuencia de aminoácidos que conserva al menos una actividad biológica. Una sustitución conservadora de un aminoácido, es decir, la sustitución de un aminoácido por

otro de propiedades similares (por ejemplo, hidrofilia, grado y distribución de las regiones cargadas) se reconoce en la técnica como algo que típicamente implica un cambio menor. Se entiende que las sustituciones de aminoácidos que son compatibles con la función biológica dependen de la similitud relativa de los aminoácidos, y en particular de las cadenas laterales de esos aminoácidos, como revelan la hidrofobicidad, la hidrofilia, la carga, el tamaño y otras propiedades.

Como se utiliza en el presente documento, "vector" significa una secuencia de ácido nucleico que contiene un origen de replicación. Un vector puede ser un vector viral, un bacteriófago, un cromosoma artificial bacteriano o un cromosoma artificial de levadura. Un vector puede ser de ADN o de ARN. Un vector puede ser un vector extracromosómico autorreplicante.

La presente divulgación proporciona proteínas de fusión que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos dos antígenos de Mtb latentes y al menos un antígeno de Mtb de reanimación.

Como se describe en el presente documento, la molécula de ácido nucleico que codifica cualquier antígeno particular de Mtb puede ser una secuencia micobacteriana, una secuencia bacteriana optimizada por codones (tal como una secuencia optimizada de *E. coli*) o una secuencia optimizada de mamífero (tal como una secuencia optimizada humana). Las secuencias optimizadas de *E. coli* se pueden utilizar, por ejemplo, para producir proteínas de fusión. Las secuencias humanas optimizadas se pueden utilizar, por ejemplo, en vectores virales. Los procedimientos de optimización de codones (tanto para bacterias como para mamíferos) son bien conocidos por el experto en la técnica.

Como se describe en el presente documento, el antígeno agudo de Mtb es Ag85B, ESAT6, MPT64, PPE15, PPE51 o Rv3615c. Como se describe en el presente documento, el antígeno agudo de Mtb es Ag85B, ESAT6 o Rv3615c. Como se describe en el presente documento, el antígeno agudo de Mtb es el Ag85B o el ESAT6. Otros antígenos agudos de Mtb son bien conocidos por el experto en la técnica.

El antígeno agudo de Mtb Ag85B también se conoce como Rv1886c. Una secuencia de nucleótidos que codifica el Ag85B se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:1 (secuencia micobacteriana; no optimizada para el codón), SEQ ID NO:2 (optimizada para *E. coli*), y SEQ ID NO:3 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos del Ag85B se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:4 (secuencia micobacteriana) y SEQ ID NO:5 (optimizada para *E. coli* y humanos).

El antígeno agudo de Mtb ESAT-6 también se conoce como Rv3875. Una secuencia de nucleótidos que codifica la ESAT-6 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:6 (secuencia de micobacterias; no optimizada para el codón) y SEQ ID NO:7 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de la ESAT-6 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:8.

El antígeno agudo de Mtb MPT64 también se conoce como Rv1980c. Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno agudo de Mtb MPT64 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:9 (secuencia micobacteriana; no optimizada para el codón) y como SEQ ID NO:10 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de MPT64 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:11.

El antígeno agudo de Mtb PPE15 también se conoce como Rv1039c. Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno agudo de Mtb PPE15 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:12 (secuencia micobacteriana; no optimizada para el codón) y como SEQ ID NO:13 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de PPE15 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:14.

El antígeno agudo de Mtb PPE51 también se conoce como Rv3136. Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno agudo de Mtb PPE51 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:15 (secuencia de micobacterias; no optimizada para el codón), SEQ ID NO:16 (optimizada para *E. coli*) y como SEQ ID NO:17 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de PPE51 se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:18.

Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno agudo de Mtb Rv3615c se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:19 (secuencia micobacteriana; no optimizada para el codón) y como SEQ ID NO:20 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de Rv3615c se muestra en la Tabla 1 como SEQ ID NO:21.

Tabla 1

Construir	Secuencia de nucleótidos
	Secuencia de aminoácidos

Ag85B	atgacagacgtgagccgaaagattcgagcttggggacgccgattgatgatcgccacggcagcggctgtagt ccttcgggctgtggggcttccgcggagcggcaaccgcggcgcttccccggccgggctgccg gtcgagtacctgcaggtgccgtgccgtcgatggccgcgacatcaaggttcagttccagagcgggtgggaa
	caactcacctcgggtttatctgctcgacggcctgcgcgcccaagacgactacaacggctgggatatcaaac cccggcgttcgagtggactaccagtcgggactgtcgatagtcacgggtcggcggcagtcagcttctac agcgactggtacagcccggcctgcggtaaggctggctgccagacttacaagtgaggaaaccttctgaccag cgagctgccgcaatggtgtccgccaacaggccgtgaagccaccggcagcgtgcaatcggtgtgca tggccggctcgtcgcaatgatcttggccgctaccacccccagcagttcatctacgggctcgtgtcggc cctgtggacccctctcaggggatggggcctagcctgatcgccctcgcgatgggtgacggcggttaca aggccgcagacatgtggggctcctcgagtaccggcatgggagcgcaacgacctacgcagcagatccc caagctggtcgaaacaacacccggctatgggtttattgcgggaacggcacccgaacagttggcggtg ccaacatacccgcgagttcttgagaacttcgtcgtagcagcaacctgaagttccaggatcggtacaacgc cgggcggggcacaacgccgtgtcaacttccgcccaacggcacgcacagctgggagtagtggggcgct cagctcaacgccatgaagggtgacctgcagagttcgttaggcggcgctga (SEQ ID NO:1)
	atgttagccgtcctggcctgccagttgaatacctgcaagttcagagcccgtccatgggtcgtgacattaaggt gcagttccagagcggcggttaacaatagcccggctgtgtacctgttgacgggtcgtgctgcgcaggtatgatta caacggctgggacatcaataccccgcatttgagtgggtattaccagtcgggtctgagcattgtgatccgggtg gcggtcaagcagcttctatagcgattggtacagcccggcatgcggcaaggctggttgccaaacctacaagt gggaaactttctgaccagcgagctgcgcaatggttgagcgcaaccgtgcgggtcaaaccgaccggtagc gctgctattggcctgtccatggccggcagcagcgatgatcttggcgccatccatccgcagcagtttatcta cgccggtagcctgagcgattgctggaccgagccaaggcatgggtccgagcctgattggtctggcaatgg gtgacgcaggtggttacaagcgccgatatgtggggcccatctagcgaccggcatgggagcgtaatgac ccgaccagcaaattccgaaactggtggcgaataacacgcgcctgtgggtctactgtggcaatggtacgccg aacgagctgggtggcggaatatccctgcggagtttctggaaaacttctgctgcagcagcaacctgaaattcca ggacgcgtataacgcagccggtggtcacaatgcggtttcaatttccgccaaatggcactcatagctgggag tactggggtgcgcagttgaacgcaatgaaggcgatctgcaatcctctctgggtgcgggc (SEQ ID NO:2)
	atgttccagggcccgctgctgtcgagtatctgcaggtccctccccctccatgggcagagacatcaagg tgcagttcaatccggaggcaacaacagccccgcgtgtatctctcgacggcctgagggctcaggacgact acaacggctgggacatcaacacccccgcttcgagtgtactaccagtcgggactgagcatcgtcatccccg tggcgggccagagctccttctacagcgactggtatagccctgcctgcggcaaaagccggatgccagacctaca agtgggagaccttctgaccagcgactgccccagtggtgtccgccaataggccgtcaaacctaccggct ccgctgccatcgactcagcatggccggaagctccgctatgatcctggccgctaccacccccagcaatttat ctacgtggcagcctgtccgctgtggtatcctagccaaggcatgggccctagcctcattggcctggccatg ggcgatgtggcgctataagcccgcatatgtggggccctagctccgatcctgctgggagaggaatga ccccaccagcagatcccaagctgtgtggccaacaacacaggtctgggtgtactgcggcaatggcacc ccaacgaactggcgaggccaacattcccgagttcttgagaacttcgtcaggagcagcaacctgaag ttcaggagcctacaatgcccgaggccacaacgctgtgttcaacttccctcccaacggcaccacagc tgggagtattggggcgctcagctgaacgccatgaaaggcgacctccagagctccctgggagctgga (SEQ ID NO:3)
	MTDVSRRKIRAWGRRMLMIGTAAAVVLPGLVGLAGGAATAGAFSRPGL PVEYLQVPSMGRDIKVQFQSGGNNSPAVYLLDGLRAQDDYNGWD INTPAFEWYYQSGLSIVMPVGGQSSFYSDWYSPACGKAGCQTYKWE TFLTSELPQWLSANRAVKPTGSAIIGLSMAGSSAMILAAYHPQQFIY AGSLSALLDPSQGMGPSLIGLAMGDAGGYKAADMWGPSSDPAWER NDPTQQIPKLVANNTRLWVYCGNGTPNELGGANIPAEFLENFVRSSN LKFQDAYNAAGGHNAVFNFPPNGTHSWEYWGAQLNAMKGDQLQSSL GAG (SEQ ID NO:4)
	MFSRPGLPVEYLQVPSMGRDIKVQFQSGGNNSPAVYLLDGLRAQD DYNGWDINTPAFEWYYQSGLSIVMPVGGQSSFYSDWYSPACGKAGC QTYKWETFLTSELPQWLSANRAVKPTGSAIIGLSMAGSSAMILAAY HPQQFIYAGSLSALLDPSQGMGPSLIGLAMGDAGGYKAADMWGPSS

	<p>DPAWERNDPTQQIPKLVANNTRLWVYCGNGTPNELGGANIPAEFLE NFVRSSNLKFQDAYNAAGGHNAVFNFPPNGTHSWEYWGAQLNAMK GDLOSSLGAG (SEQ ID NO:5)</p>
ESAT6	<p>atgacagagcagcagtggaatttcgcggtatcgaggccgcggaagcgcaatccagggaatgtcacgtc cattcattccctccttgacgagggggaagcagtccttgaccaagctcgcagcggcctggggcggtagcgggtc ggaggcgtaccagggtgtccagcaaaatgggacgccacggctaccgagctgaacaacgcgtgcagaa cctggcgcgacgatcagcgaagccggcaggcaatggcttcgaccgaaggcaacgtcactgggatgttcg catag (SEQ ID NO:6)</p>
	<p>accgagcagcagtggaacttcgcccgcacgaagctgccgtagcgccatccaaggcaacgtgaccagcat ccacagcctgtggacgagggaagcagagcctgaccaagctggctgctgttggggcggtaccggaagc gaagcctaccaggcgtgcagcagaagtgggacgccacagccaccgagctgaacaacgcctgcagaac ctcgccagaacctcagcgaagccggacaggctatggccagcacagaggcaatgtgaccggcatgttcg cc (SEQ ID NO:7)</p>
	<p>TEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLDEGKQSLTKLAAWGGSGS EAYQGVQKWDATATELNNALQNLARTISEAGQAMASTEENVTGM FA (SEQ ID NO:8)</p>
MPT64	<p>gtgcatcaagatcttcatgctggcagcgtgtcgtttgctctgttggcgggtgtggccacggccgcgcc aagacactactcgaggaggtgaaaggcaccgataccggccaggcgtgcagattcaaatgtccgacccggc ctacaacatcaacatcagcctgccagttactaccccgaccagaagtcgctggaattacatcgccagacg cgcgacaagtctcagcgcggccacatcgtccactccacgcgaagccccctcgaattgaatcacctcg gccacataccagtcggcagatccgcgcgtgtgtacgcaggccgtgggtgctcaaggctaccagaacggcg cggcacgcaccaacgaccacgtacaaggccttcgattgggaccaggcctatcgcaagccaatcacctatg acacgtgtggcaggctgacaccgatccgctgccagtcgtcttccattgtgcaagggtgaactgagcaagc agaccggacaacaggtatcgatagcggcaatgccggttgaccgggtgaattatcagaacttcgagtc cgaacgacggggtgattttcttctcaaccgggggagttgctgccgaagcagccggcccaaccaggtat tggtccacgttccgcatcgactcgatgctggcctag (SEQ ID NO:9)</p>
	<p>atggtcaggatcaagatcttcatgctcgtgaccgcccgtgtgtcctgtgttggcggcgtggctaccgctgt cccaagacactactcgaggagctgaagggaaccgacaccggccaggcctgccagatccaaatgagcgac cccgctacaacatcaacatctcccctcctactaccccgatcagaagtcctcgagaactacatcgctca gaccagggacaagttcctgagcgccgcacaaagcagcacacccagagggccccctacgagctgaacatc acctcgccacctaccagtcgctattctcctcagaggcaccaggtgtgtgtcgaaggtctacaaaacg ctggcggaacacacccccaccaccacataaaggccttcgactgggaccaggcctacaggaagccccatcac atacgacacctgtggcaggctgataccgatccccctgccggtgtgttccccatcgtgcaggcgagctctcc aagcagaccggccagcaagtgcagcagcccccaatgctggactggacccgtgaactaccagaacttcgc cgtcaccaacgacggcgtgatcttcttcaatcccggaactgctgctgaagctgctggccccacccaa gtgctggtgcctagaagcgccatcgactccatgctggcctga (SEQ ID NO:10)</p>
	<p>VRKIFMLVTA VVLLCCSGVATAAPKTYCEELKGTDTGQACQIQMSD PAYNINISLPSYYPDQKSLENYIAQTRDKFLSAATSSTPREAPYELNITS ATYQSAIPPRGTQAVVLKVYQNAGGTHPTTTYKAFDWDQAYRKPI YDTLWQADTDPLPVVFPVQVQVSIAPNAGLDPVNYQNF AVTNDGVIFFFNPGELLPEAAGPTQVLVPRSAIDSM (SEQ ID NO:11)</p>
PPE15	<p>atggatttcggagctttacccctgagatcaactccgcacgcatgtacggcgcggggtgcaggaccgatg atggccggcgggcgcatggaacggcctggccggcagttgggtacgagcgccgctgtagtgagtcgg tgatcaccggctgaccaccgagtcgtggtgggtcggcctcgatggcgatggtcgccgagccagcc tatctggcttggtgacctacaccgccgaagccgctgcgcatgccggctcgagccatggcgctggcggc cgctacgaggcgccctatgcgatgacagtgccggcgaggtggctcgcccaaccggcgctgctggc ggccctggtcgcgacgaacgtcctgggatacacaccggcaatcatggcgaccgaagccctctatgccg agatgtgggtcaggacgctctgctatgtacggctacggcggttcgggagccggcggtgctgcaa ccgttaagcccgctgcagaccaccaaccggcggggtggcgcccgatccggcggtcggtcg</p>

	<p>ggtgccgccaccgccggtcaaccaggtgagcgtgacggacgtgatcagtagcctgcccaacgcggtga gtgggctcgcctcccagtcacatcggttctcgactcgacggggtgagcggatcattgccgacatcgacg ccctgctcgcgaccccggtcgtggcaaacatcatcaacagcgagtcacaccgccgcttggtatgtaacgc cgccatccccaccgcatattcctagcaaatgcctgaacagtgggggcgccggtagcgtacgccgaaggcg ccatcgaggctgccgaggggtccgccaagtgcggccgccgagggttgccggactcggtagccagcg ggctcggcgcaagtttaggcgaggccaccctggtcggcggtgtcagtgccggcgccgtggtctacggcc gcaccggcgacaaccgccgcgccacagcgtcgaaggcagcggtggtgaccgtcggcgccgaagaagc cgcccagttaccgggatgatgccgggaatggcctcgcccgccaaggcgaccggtgcctatgccgggccc cggtacggattcaagcccactgtcatgccaaacaggtcgtcgtga (SEQ ID NO:12)</p>
	<p>atggatttggcgccctgcctcccagatcaacagcgctaggtatgtatgctggcgctggagccggacctatga tggccgctggagccgctggaatggactggtgctccgaactgggcacacagccgcttctacagtcgctg atcaccagactcaccacagagtcctggatgggacctgccagcatggctatggtcggcgctgtaacccctac ctggcctggtgacctatacagctgaagccgctgctcagccggaagccaagctatggctagcggcgccgt tatgaggccgcttatgccatgacctgctcctccgaggtcgtggctgccacagagctcctcctggcgccctcg tggtaccaacgtgctgggaatcaacacccccgtattatggccaccgaggtcgtgtagcgtgagatgtgggc ccaggatgccctgccatgtacggatacggcgctcctccggagctgctggaatgtcagccccctgtcccc ccctccagaccaccaaccccgaggactggctgctcaaacgctgctgtgggatccgctgctgctaccgc tgccgtcaatcaggtcagcgtcgccgacctcatctccagcctgcctaacgctgtgagcggactggcctccct gtcacatccgtgctcgatagcaccggcctgtccggcatcatcgccgacattgatgctcctcctgccacccctt gtcgcaacatcatcaattccgccgtgaacaccgctgcctgtgacgtcaacgctgccattcccaccgccattt cctcgcaacgccctgaactccggagctcctgtcgccatcgctgagggcgctattgaggtgctggaaggagc cgtagcgtgctgctgctggactggctgatagcgtcaccctgctggactcggagctagcctgggagaagc caccctggtcggcagactgtccgtgcctgctgctggagcaccgctgctcctgtacaaccgctggagctacc gctctgagggatccggatggacagtggctgctgaggaagctggaccgtgaccggaatgatgctggtcat ggccagcgtgctaagggaaccggcgctatgccggaccagatacggattcaagcccaccgtcatgccca agcaggtcgtcgtctaa (SEQ ID NO:13)</p>
	<p>MDFGALPPEINSARMYAGAGAGPMMAAGAAWNGLAELGTAAAS YESVITRLTTESWMGPASMAAMVAAAQPYLAWLTYTAEAAAHAGSQ AMASAAAYEAAAYAMTVPEVVAANRALLAALVATNVLGINTPAIM ATEALYAEMWAQDALAMYGYAAASGAAGMLQPLSPSQTNNPGL AAQSAAVGSAATAAVNQSVADLISSLPNAVSGLASPVTSVLDSTG LSGIIADIDALLATPFVANIINSAVNTAAWYVNAAIPTAIFLANALNSG APVAIAEGAIEAAEGAASAAAAGLADSVTPAGLGASLGEATLVGRLS VPAAWSTAAPATTAGATALEGSWTVAAEEAGPVTGMMPGMAASA AKGTGAYAGPRYGFKPTVMPKQVVV (SEQ ID NO:14)</p>
PPE51	<p>atggatttcgactgttaccaccggaagtcaactccgccggatgtacaccggccctggggcaggatcgctgt tggctgccgcggcggtgggattcgctggccgccgagttggccaccacagccgaggtatggtcgggt gctgtccggactggccgcttgattggcgtggaccggcagcggaatcgatggcggtgacggcgctcct atatcggttggtgtacacgaccgccgaaaagacacagcaaacagcgatccaagcagggcgagcgct ggccttcgagcaagcatatcgcaatgacctgcccgcaccgggtggtagcggccaaccggatagcgtgtag cactgatcgcgacgaacttctcgccagaaactgcggcgatcgcgccaccgagggcacagtacgccga gatgtgggcccaggacggcgccgatgtacggttacgccaccgcctcagcggtgctggccctgctgaca ccgttctccccgccgagaccaccaacccggcgccgctgaccgctcagggcgccggtcagccag gccaccgaccactgtcgctgctgattgagacgggtgaccaagcgtgcaagcgctgacgattccgagcttc atccctgaggacttcacctccttgacgcatattcgtggatatgccacggtaggtgtgacgaggtatgctga gtcctttgttccggggaccatcggggccgagcaacctaggcctttgaacgtcgcgacgagaatccc gcggaggtgacaccggcgacttgggatcgcgaggttgggttccgcgaccagtcggcggtgggggtgct tgcgtcgggtcgccgggtgctggcgagcgtggcaacacggtgctcgcgaggtgcggcgccgcaaacctc gattgggcaactatcggtcccaccgagctggccgcgccctcgacgcgcctgtctcggcattgtcgccgc cggcctgaccacactcccggggaccgacgtggccgagcagggatgccaggtgtaccgggggtgccagt ggcagcaggcgagcctccggcgtcctacctgatacggggttcggtcacggtgatggccaccacc</p>
	<p>gcggcagggtaa (SEQ ID NO:15)</p>

	<p>atggattttgcgctgctgccgccggaagtgaacagcgcgcgcatgtataccggccgggcgcgggcagcct gctggcgcgcgcgggcggtgggatagcctggcgggcggaactggcgaccaccgcggaagcgtatggca gcgtgctgagcgccctggcggcgctgcattggcgcgcccgcgcggaagcattggcggtgaccgcg gcgccgtatattggctggctgtataccaccgcggaacccagcagaccgcgattcaggcgcgcgggc ggcgctggcggttgaaacaggcgtatgcgatgacctgccgccggcggtggtggcgcgaaaccgattcagc tgctggcgctgattgcgaccaactttttggccagaacaccgcgcgattgcggcgaccgaagcgcagtatg cgaaatgtggcgcgaggatgcggcgcgatgtatggctatgcgaccgcgagcgcgcgcgcgcgctgc tgaccctgttagcccgccgcccagaccaccaacccggcgggcctgaccgcgagcgcgcgcgcggtga gccagcgagccgatccgctgagcctgctgattgaaaccgtgaccagcgctgcagcgctgaccattccg agctttattccggaagattttacctttctggatgcgatttttgcgggctatgcgaccgtggcgctgaccaggatg tggaaagctttgtggcgggcgaccattggcgcggaagcaacctgggcctgctgaacgtggcgatgaaac ccggcggaagtgaacccggcgatgtttggcattggcgaactggtgagcgcgaccagccggcgcgcggc gtgagcgcgagcgcgcgggcgggcgcgcgagcgtgggcaacaccgtgctggcgagcgtggcgcgcg cgaacagcattggcagctgagcgtgcccgagcgtggcgcgcgagcaccgccgggtgagcgcgcg tgagcccgcgggcctgaccacctgccggcgaccgatgtggcggaacatggcatgccggcgctgccgg gcgtgccgggtggcgggcgggcgcgagcgcgctgctccgcgctatggcggtgcgctgaccgtgatgg cgcatccggcgggcgggcggaattt (SEQ ID NO:16)</p>
	<p>atggatttcgctctgctcccccgaggatgaatagcgtaggatgtacacaggaccggagctggaagcctc ctggctgctgctggaggatgggactccctggctgccgagctcgtacacaccgctgaggcttacggaagcgtg ctctccggcctggctgctctcattggagaggcctgctgccgagtcctggtgtcacagccgctccctacat tggatggctgtacaccaccgcccagagaagaccagcaaacgctattcaggccagagctgccgcccctggcct tcgaacaggcctacgctatgacactccccccctgtcgtggtgccaataggatccagctcctggccctcat cgccaccaactcttcggccaaaacacgcgtgccatcgtgccaccgaagccagctacgcccgaatgtggg cccaggatgccgctgctatgtacggctatgccacagctagcgtgccgctgctctgctcacacccttcagccc ccccaggcaacaaccaacctgcccggactgacagcccaagctgctgccgtcagccaagctaccgacccc ctgagcctcctgatcgaaaccgtgacacaggccctgcaggccctgaccattcccagctttatccccaggact tcacctttctggacgctatcttcgctggctacgccaccgtggcggtgacacaagcgtcgagtccttcgctgcc ggcacaatcgagccgagtcacacctcgactcctcaacgtcggcgacgaaaatcccccgcggaagtgcac ctggagacttcggcattggagaactcgtcagcgccacatccccggcgaggagtgagcgcttcgggagct ggaggagctgcttcctgggcaataaccgtgctggccagcgtgggaaggcgcaactccattggccagctcag cgcccccttcctgggctgccccttcacaaggcctgtgtccgctcagccctgctggactgaccacactcc ctggcacagacgtggctgagcatggcatccccggagtgccctggagtcctgtggctgctggcagagctcc ggagtcctccctaggtatggcgtgaggctgacagtgatggctcatcccccgctgccggataa (SEQ ID NO:17)</p>
	<p>MDFALLPPEVNSARMYTGPGAGSLLAAAGGWDSLAAELATTAEAY GSVLSGLAALHWRGPAAESMAVTAAPYIGWLYTTAEKTQQTAIQAR AAALAFEQAYAMTLPPPVAANRIQLLALIANFFGQNTAAIAATEA QYAEMWAQDAAAMYGYATASAAAALLTPFSPPRQTTNPAGLTAQA AAVSQATDPLSLLIETVTQALQALTIPSFIPEDFTFLDAIFAGYATVGV TQDVESFVAGTIGAESNLGLLNVDENPAEVTGPDGFIGELVSATSPG GGVSASGAGGAASVGNVTLASVGRANSIGQLSVPPSWAAPSTRPVSA LSPAGLTTLPGTDVAEHGMPGVPVGPVVAAGRASGVLPVRYGVRLTVM AHPPAAG (SEQ ID NO:18)</p>
Rv3615c	<p>atgacggaaaacttgaccgtccagcccgagcgtctcgtgactggcgctgcaccatgacaacgcggcggt cgatgcctcctcgggcgctgaagctgccgctggcctagcggaatctgtggcgatcactcacggtccgtactg ctcacagttcaacgacacgttaaatgtgtacttgactgccacaatgccctgggctcgtcctgcatacggccg gtgtcgtatcgcgaataatcttcgaattggcggaagatatagcgaggccgacgaagcgtggcgcaag gctatcgacgggtgtttacctga (SEQ ID NO:19)</p>
	<p>atgaccgagaacctgaccgtgacgcctgagaggctgggagtgtggccagccaccacgacaacgctgccg tggacgcttcacgcgagtgagggtgctgctgctgactgggagagagcgtggccatcaccacggacccta ctgcagccagttcaacgacacctgaacgtgtacctgacagcccacaacgccctgggaagcagcctgcata cagccggcgtggacctggctaagtcctgaggatgccgccaagatctacagcgaggccgacgaggcctg gaggaaagccatcgacggcctgttcacctaa (SEQ ID NO:20)</p>

	MTENLTVQPERLGLVLASHHDNAAVDASSGVEAAAGLGESVAITHGP YCSQFNDTLNVYLTAHNALGSSLHTAGVDLAKSLRIA AKIYSEADEA WRKAIDGLFT (SEQ ID NO:21)
--	--

Como se describe en el presente documento, el antígeno latente de Mtb es Rv1733c, Rv2626c, Rv3407 o Rv2628c. Como se describe en el presente documento, el antígeno latente de Mtb es Rv1733c o Rv2626c. Otros antígenos latentes de Mtb son bien conocidos por el experto en la técnica.

- Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno latente de Mtb de tipo salvaje Rv1733c se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:22 (secuencia de micobacterias; no optimizada para el codón), SEQ ID NO:23 (optimizada para *E. coli*), y una secuencia de aminoácidos de Rv1733c de tipo salvaje se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:24. Estas secuencias incluyen dos regiones transmembrana de Rv1733c. Una secuencia de nucleótidos que codifica Rv1733c, en la que se suprimen ambas regiones transmembrana, se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:25 (optimizada para *E. coli*) y SEQ ID NO:26 (optimizada para humanos), y las correspondientes secuencias de aminoácidos se muestran en la Tabla 2 como SEQ ID NO:27 (optimizada para *E. coli*) y SEQ ID NO:28 (optimizada para humanos) (Rv1733cΔTM). Como se describe en el presente documento, sólo se suprime una porción de la primera y/o segunda o ambas regiones transmembrana. En la secuencia de nucleótidos optimizada de *E. coli* (SEQ ID NO:23), se añadió un sitio de restricción XmaI, correspondiente a una adición de aminoácidos PG; y se añadió un sitio de restricción XbaI, correspondiente a una adición de aminoácidos SR (véanse las secuencias añadidas subrayadas y en negrita).
- Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno latente de Mtb Rv2626c se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:29 (secuencia micobacteriana; no optimizada para el codón), SEQ ID NO:30 (optimizada para *E. coli*), y SEQ ID NO:31 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de Rv2626c se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:32.
- Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno latente de Mtb Rv3407 se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:33 (secuencia micobacteriana; no optimizada para el codón), SEQ ID NO:34 (optimizada para *E. coli*), y SEQ ID NO:35 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de Rv3407 se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:36.
- Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno latente de Mtb Rv2628c se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:37 (secuencia micobacteriana; no optimizada para el codón) y como SEQ ID NO:38 (optimizada para humanos), y una secuencia de aminoácidos de Rv2628c se muestra en la Tabla 2 como SEQ ID NO:39.

Tabla 2

Construir	Secuencia de nucleótidos
	Secuencia de aminoácidos
Rv1733c	atgatcgccacaacccgcatcgtgaaggagccaccatgatcacgtttaggctgcgttgccgtgccggagc gatactgcgggtgttcagccgaatccgctggtgcgtgggacggatcgactcgagggcgtgctcatgctgc tgccgtcacggctcgtgctgactatcccgttcgccgccggccggcaccgcagtcaccagattcccg agccacgtctatgccaccaggccagaccgccatcccgaaccgcgaccgtgatcgatcacgagggg gtgatcgacagcaacacgacggccacgtcagcgccgccgcgacgaagatcacctgctcctgccgatgg gtcgtgaacggaatagaacgcagcgggtgaggtcaacgcgaagccgggaaccaaaccgggtgaccgcgtc ggcatttgggtcgacagtgcgggtcagctggtcgatgaaccagctccgccggcccggtgcattgcggatgc ggccctggccgccttgggactctggttgagcgtcgccgggttcggggcgccctgctggcgctcactcgg gcgattctgatccgcgttcgcaacgccagtggtgcaacacgacatcgacagcctgttgcacgcagcgggtg a (SEQ ID NO:22)
	atgattgcgactaccgtgatcgtgagggcgcgaccatgatcacgttccgtctgcgtctgcgtgctgcacc attttgcgctgttttcgctaaccgctggtccgcgggtaccgacgtctggaggccgtgtcatgctgctgg cggftaccgtgagcctgctgacgatccattcgacgcggcagctggcagggccgtccaaagacagccgtag ccatgtgtatgctcaccaggctcaaacccgtcacccggctactgccactgttatgatcacgaaggcgtgatt gactccaataccacggcaacctccgcaccgcctcgaccaagattacggttcctgcgcgttgggtggtgaat ggattgaacgcagcggcgaagttaatgcaaacgggtaccaaagcgggtgacctgtgggcatctggg tcgatagcggcggtcagctggtcgacgagccggcaccgccagcgcgtgcgacgcccgtgagcggcgtgg ctgccctgggtctgtggctgagcgtggcagcggctgcgggtgcgttgcgtggcgctgacgcgcgaattctg atccgcgttcgcaatgcgagctggcagcacgatattgatagcctgtttgcaccaacgt (SEQ ID NO:23)

	MIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRLAENVML LAVTVSLLTIPFAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHPATATVIDHE GVIDSNTTATSAPPRTKITVPAWVNVNGIERSGEVNAKPGTKSGDRV GIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVA AVAGALLAL TRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQR (SEQ ID NO:24)
RV1733C _{ΔTM}	atgattgcgactaccggtgatcgtgagggcgcgaccatgatcacgttccgtctgcgtctgccgtgtgcacc atgttgcgcgtgtttcgcgtaaccgctggccggtaccgaccgtctggaggcccccgggtccaagac agccgtagccatgtgtatgctcaccaggctcaaaccgctaccggctactgccactgttatcgtacacgaa ggcgtgattgactccaataaccacggcaacctccgaccgctcgcaccaagattacggttctgcgcgttg gtgtgaatggtattgaacgcagcggcgaaagtaagccaaaccgggtacaaaagcggtgaccgtgtgg gcatctgggtcgatagcgccggtcagctggcgacgagccggcaccgcccagcgctgcgatcgccgat <u>ctagac</u> gcgcgaattctgatccggttcgaatgcgagctggcagcacgatattgatagcctgtttgcacca acgt (SEQ ID NO:25)
	atcgccaccaccagggaaggcgctaccatgatcacctcaggtgaggtccccctgcaggacca tcttgagggtgttcagcaggaacccccgtgtgaggggcaccgacagactggaagcgtgcaggacagca ggagccacgtgtatgccaccaggctcagaccaggcacctgtaccgccaccgtgatcaccacgagg gcgtgatcactccaacaccaccgccaccagcgctcctcccagaaccaagatcacagtccccgccaggtg ggtgtgaacggcatcgagaggagcggcgaggtgaacccaagcctggaaccaagagcggcgacagg gtgggcatttgggtcgatagcgccggccagctggtgatgaacctgctccccctgccagagccatcgccg ataggccatcctgatcagggtgaggaacgccagctggcagcacgacatcgacagcctgtttgcacca aagg (SEQ ID NO:26)
	MIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRLAEPGVQ DSRSHVYAHQAQTRHPATATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPA RWVNVNGIERSGEVNAKPGTKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAI ADSRRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQR (SEQ ID NO:27)
	IATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRLAENVQDSRS HVYAHQAQTRHPATATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPAWV VNGIERSGEVNAKPGTKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADR AILIRVRNASWQHDIDSLFCTQR (SEQ ID NO:28)
Rv2626c	atgaccaccgcacgcacatcatgaacgcaggtgtgacctgtgttgccgaacacgagacgtaaccgctg ccgtcaatacatgcgtgagcacgacatcgccggttgcgatctgcggggacgacgaccgggtgcacg gcatgctaccgaccgcacattgtgatcaaggcctggctgcgggcttagaccgaataaccgccagggc tgccgagttggccgggacagcatctactacgtcgatgcgaacgaagcatccaggagatgctaacgtc atggaagaacatcaggtccgctgttccggtcatctcagagcaccgcttggtcgaatcgtcaccgaagc cgacatgcccgcacactgcccagcagccattgtgcagttcgtcaaggcaatctgctgcccatggccc tcgccagctag (SEQ ID NO:29)
	atgaccacggcgctgatcatgaatcggggtgtcacctgtgttgccgagcagcaaacgttgaccgcagc agcacagtacatgcgcgaacatgatcggcgcatcgccgattgcggcgacgatgatcgtcgcaggtat gctgaccgaccgcgatcgttatcaagggtctggccgaggttgaccggaacaccgcgaccgcccgtg gaactggcagctgacagcatctattacgtcgacgcgaacgccagcattcaagagatgctgaacgtgatgga agagcatcaggtgcgtcgtgtcccgttatcagcgaacatcgtctggttggtatcgttaccgaagccgacatc gcacgtcacctgccgagcagcgattgttcagttcgtgaaagcgatttcagccccgatggcgttgccgtc (SEQ ID NO:30)
	acaacagccaggacatcatgaacgcggcgctgacctgctgggagagcatgaaacctcaccgccgc gccaatacatgaggagcacgacatcgccgcccctgccatctgtggagacgacgacaggtgcacggc atgctgaccgacaggacatcgtgatcaaggcctggctgccggcctcgatcctaaccgctacagccg gcgagctggccagagacagcatctactacgtggacgccaacgccagcatccaggagatgctcaacgtgat ggaggagcaccaggtgagaagggtgcctgtgatcagcgagcacaggctggtgggcatcgtgaccgagg ccgatcgttaggcacctgcccagcagccatcgtgcagttcgtgaaggccatctgcagccccatggct ctggccagc (SEQ ID NO:31)

	MTTARDIMNAGVTCVGEHETLTAAAQYMREHDIGALPICGDDDR HGMLTDRDIVIKGLAAGLDPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEM NVMEEHQVRRVPVISEHRLVGIVTEADIAHLPEHAIVQFVKAICSP MALAS (SEQ ID NO:32)
Rv3407	atgctgtctaccgttgggtgtggaggcaatccgagaactaagacagcacgcacgcgatacct cgccccgggtgaagccggcgaggaacttggcgtcaccaacaaaggaagacttggccccgactcatccg gtgcaggccgaggcgttctcggaagccctgattgaatcagggtgctctgattccggctcgtctccaca aaccttctcgacgtcaccgccgaaccggcgcgccgcaagcgccacctgtccgatgttctcaacgaat gcgcgacgagcagtga (SEQ ID NO:33)
	atgctgtcgactgtgggtctggtgaggcgattggcattcgcgagctgcgccaacatgccagccgttactg gctcgtgtcgaggcggtgaagaactggcggtgacgaataagggtcgtctggtcgccgtctgattccggt tcaggcagctgagcgttctcgagggcgctgattgaatccggcgctctgattccggctcgcgtccgcaa acctgctggacgtgacggcgagccagctcgtggtcgaaacgcacgctgtctgatgtcctaagaaatg cgcgacgagcag (SEQ ID NO:34)
	atgagggcgaccgtcgggtggtggaggcgataggtatccgggagttgcgacagcacgcacatcacgatac tggcacgggtggaagctggggagggaactggcggtgaccaacaaggggcggtggtcgcgaggctgac cccgtgcaggccgagcggtcccggaagccctcatcagctggtgggtgctcattccagcacgcagg ccgcaaatctcctggacgtcactgaggcgccgagggcagagggcagaaaggagcgtgagtgacgtgctg aacgagatgagggacgaacag (SEQ ID NO:35)
	MRATVGLVEAIGIRELRQHASRYLARVEAGEELGVTNKGRLVARLI PVQAAERSREALIESGVLPARRPQNLLDVTAEARGRKRTLSDVLN EMRDEQ (SEQ ID NO:36)
Rv2628c	atgtccacgcaacgaccgagggcactccggtattcgggctgttggccctacgcatggccggccgatgtg
	gtcggataggcaggtgggggtgcaccaggaggcgatgatgaatctagcgatatggcaccgcgcaagg tgcaatccgccaccatctacaggtgaccgatcgctcgacgacggcgacagcacgggtgctggtga cgagatcactagcaccgtgtccggtggtgtcggagttgggcaccaaagccgttgccgatgagcttgc gctgtcggtgcggatcgcgactggccgctgcgtacgcaatcggtgagcacctgtccgttgagattgcc gttgcggtctaa (SEQ ID NO:37)
	atgagcaccagagaccaggcacagcggcattaggcgctgggacctatgcttgggcccggcagatgc ggaaggatcggcagatggggcgtgcaccaagaggccatgatgaacctggccatctggcaccaggaa gggtgcagagcgccaccatctaccaggtgaccgacaggagccatgacggaaggaccgagagtgcccg gcgatgagatcaccagcaccgtgagcggtggtgagcgaactgggcacccaatccccctggctgatga actggccagggtgtgaggatcggcgattggcctgccgctatgccatggcgagcatctgagcgtggag atcgccgtggcgtgtaa (SEQ ID NO:38)
	MSTQRP RHSGIRAVGPYAWAGRCGRIGRWGVH QEAMMNLAIWHP RKVQSATIIQVTDRSHDGR TARVPGDEITSTVSGWLSELGTQSPLAD ELARAVRIGDWPAAYAIGEHL SVEIAVAV (SEQ ID NO:39)

Como se describe en el presente documento, el antígeno de Mtb de reanimación es RpfB, RpfD o RpfE. Como se describe en el presente documento, el antígeno de Mtb de reanimación es RpfB o RpfD. Otros antígenos de reanimación son, entre otros, Rv0867c, Rv0288, Rv1009, Rv0685, Rv0824c, Rv2744c, Rv3347c, Rv1130, Rv1 169c, Rv1884c, Rv2389c y Rv2450c. Como se describe en el presente documento, el antígeno de reanimación es Rv0867c, Rv1884c o Rv2389c. Otros antígenos de Mtb de reanimación son bien conocidos por el experto en la técnica. Como se describe en el presente documento, el antígeno de reanimación no es uno o más de los siguientes: Rv0867c, Rv0288, Rv1009, Rv0685, Rv0824c, Rv2744c, Rv3347c, Rv1130, Rv1 169c, Rv1884c, Rv2389c, y Rv2450c. Como se describe en el presente documento, el antígeno de reanimación no es Rv0867c, Rv1884c o Rv2389c.

El antígeno de Mtb de reanimación RpfB también se conoce como Rv1009. Una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno de Mtb de reanimación RpfB se muestra en la Tabla 3 como SEQ ID NO:40 (secuencia de micobacterias; sin optimización de codones) y SEQ ID NO:41 (secuencia de micobacterias; secuencia de señal eliminada), y las secuencias de aminoácidos de RpfB correspondientes a la misma se muestran en la Tabla 3 como SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43, respectivamente.

5 de RpfD se muestran en la Tabla 3 como SEQ ID NO:47 (optimizada para *E. coli*) y SEQ ID NO:48 (secuencia de micobacterias y optimizada para humanos).

10 NO:50.

Tabla 3

Construir	Secuencia de nucleótidos
	Secuencia de aminoácidos
RpfB	<p>atgttgcgcctggtagtcgggtgcgctgctgctggtgttggcgttcgccggtggctatgcggtgccgcatgca aaacgggtgacgttgaccgtcgacggaaccgcgatcgccgtgaccacgatgaaatcgccgggtgatcgacatc gtcgaagagaacgggttctcagtcgacgaccgcgacgacctgtatcccgcggccggcgtgcagggtccatga cgccgacaccatcgtgctgcggcgtagccgtccgtgcgagatctcgtggtatggtcacgacgctaagcaggt gtggacgaccgcgtcgacgggtggacgaggcgctggcccaactcgcatgaccgacacggcgccggccgc ggcttctcgcgccagccgcgtcccgctgtccgggatggcgctaccggctcgcagcgccaagacgggtgcagc tcaacgacggcggggttggtgcgcacgggtgcacttgccggccccaatgtcgcggggctgctgagtgcggcc ggcgtgcccgtgttgcaaaagcaccacgtggtgccggccgcgacggccccgatcgtcgaaggcatgcaga tcaggtgacccgcaatcggtatcaagaaggtcaccgagcggctgccgctgccgccaacgcgcgtcgtgtc gaggacccggagatgaacatgagccgggaggctcgtcgaagaccgggggttcgggggaccaggtatgtg acgttcgcggtagctgaggtcaacggcgctcgagaccggccgtttgccgtcgccaacgtcgtggtgacccc ggcccacgaagccgtggtgcccgtgggcaccaagcccgggtaccgaggtgccccgggtgatcgacggaag catctgggacgcgatcgccggctgtgaggccggtggcaactgggcgatcaacaccggcaacgggtattac ggtggtgtgcagttgaccagggcacctgggaggccaacggcgggctgcggatgcaccccgcgctgacct cgccaccgcgaagagcagatcgccgttcccagggtgaccgactcgtcaaggttggggcgctgcccg gtatgtgctgcacgagcgggtgcgcgtga (SEQ ID NO:40)</p> <p>gcatgcaaaacggtgacgttgaccgtcgacggaaccgcgatcgccggtgaccacgatgaaatcgccgggtgat cgacatcgtcgaagagaacgggttctcagtcgacgaccgcgacgacctgtatcccgcggccggcgtgcag gtccatgacgccgacaccatcgtgctcggcgttagccgtccgtgcgagatctcgtggtatggtcacgacgct aagcaggtgtggacgaccgcgtcgacgggtggacgaggcgctggcccaactcgcgatgaccgacacggcg ccggccggcggcttctcgcgccagccgcgtcccgtgtccgggatggcgctaccggctcgtcagcgccaaga cgggtcagctcaacgacggcgggttggtgcgcacgggtgcacttcggcgccccaatgtcgcggggctgctg agtgcggccggcgtgccgtgttgcaaaagcaccacgtggtgcccgccgcgacggccccgatcgtcgaag gcatgcagatccaggtgaccgcgaatcggtatcaagaaggtcaccgagcggctgccgctgccgccgaacgc gcgtcgtgtcgaggacccggagatgaacatgagccgggaggctcgtcgaagaccgggggttcgggggac ccaggatgtgacgttcgggtagctgagggtcaacggcgctcgagaccggccgtttgccgtcgccaacgtcgt ggtgaccccgccccagaaagccgtggtgcccgtgggcaccaagcccgggtaccgaggtgccccgggtgat cgacggaagcatctgggacgcgatcgccggctgtgaggccggtggcaactgggcgatcaacaccggcaa cgggtattacgggtggtgtgcagttgaccagggcacctgggaggccaacggcgggctgcggatgcacccc gcgtgacctgccaccgcgaagagcagatcgccgttcccagggtgaccgactcgtcaaggttgggg cgcttggccggatgtgctgcacgagcgggtgcgcgtga (SEQ ID NO:41)</p>
	<p>MLRLVVGALLLVLA FAGGYAVAACKTVTLTVDGTAMRVTTMKSRV IDIVEENGFSVDDRDDLPAAGVQVHDADTIVLRRSRPLQISLDGHD KQVWTTASTVDEALAQLAMTDTPAAASRASRVPLSGMALPVVSA KTVQLNDGGLVRTVHLPAPNVAGLLSAGVPLLQSDHVVPAATAPI VEGMQIQVTRNRIKKVTERLPLPPNARRVEDPEMNMSREVVEDPGVP GTQDVTFAVAEVNGVETGRLPVANVVVTPAHEAVVRVGTKPGTEVP PVIDGSIWDAIAGCEAGGNWAIN TGNGYYGGVQFDQGTWEANGGL RYAPRADLATREEQIAVAEVRTLRQGWGAWPVCAARAGAR (SEQ ID NO:42)</p>

	ACKTVTLTVDGTAMRVTTMKSRVIDIVEENGFSVDDRDDLYPEAAGV QVHDADTIVLRRSRPLQISLDGHDQVWTTASTVDEALQALMTD TAPAAASRASRVPLSGMALPVVSAKTVQLNDGGLVRTVHLPAPNVA GLLSAAGVPLLQSDHVPAATAPIVEGMQIQVTRNRIKKVTERLPLPP NARRVEDPEMNMSREVVEDPGVPGTQDVTFAVAEVNGVETGRLPV ANVVVTPAHEAVVRVGTKPGTEVPPVIDGSIWDAIAGCEAGGNWAI
	NTGNGYYGGVQFDQGTWEANGGLRYAPRADLATREEQIAVAEVTR LRQGWGAWPVCAARAGAR (SEQ ID NO:43)
RpfD	atgacacgggttcttactactcgccggtgctggccgaccacgtgacaggtgcgccaggtatgcacg gtgttcacgaaccgccgtgtgcgcaccatgttgcgcgtgttgggtctgccaccatcagctcgaagcc gacgacatcgattgggacgccatcgcaatcgcaatccggcgcaattggcgccgaacaccggtaacg ggttatacgggtgctgcagatcagccagcgacgtgggattccaacgggtgctgggtgcgccggcgcc gcgagtccccagcaacagatcgaggtcgagacaacattatgaaaacccaaggccccgggtgcgtggccga aatgtagtcttctagtcagggagacgcaccgtgggtcgtcaccacatctgacgttctcgcggccga gactggaggtgttcggggagcaggacgattga (SEQ ID NO:44)
	aagcttttctggcctgagcaccattagcagcaagcggtgacatcgactgggatgcgattgcgcagtgtg agagcggtggcaattgggcagcgaataccggcaatggcctgtacggcggtctgcagatctccagcgac gtgggacagcaatgggtgctgcgcagccggctgccgcgtcccccacaacaacagatcgaggtggcagat aacattatgaaacgcagggtccgggtgcttgccaaaatgctcagctgcagccagggtagcgcaccgt gggcagcctgacccacattctgacgttctggcagcggaaaccggtggtgtagcggtagccgcgatgac (SEQ ID NO:45)
	acccccggactcctcaccacagctggagctggcagggccagagacagatgcgccaggtatggtgcaccg tgttcacgagaccgccgtgggtgctaccatgttctgtggcctgctggcctgagcaccatcagcagcaagg ccgacgacatcgactgggacgccatcgccagtgatccggcggaactggcgccgaataccggcaa tggcctgtacggcgccctgcagatcagccaggtacgtgggactccaacggaggagtgaggaaacctgccc gctgcttcccctcagcagcagatcgaggtggcgacaacatcatgaagaccaaggccctggcgctggcc taagtgtccagctgtagccagggcgatgctcctctgggcagcctgacccacatctgaccttctcgccgccg agacagcggtatgtagcggaagcaggacgactaatga (SEQ ID NO:46)
	LLGLSTISSKADDIDWDAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQAT WDSNGGVGSPAAASPQQQIEVADNIMKTQGPWPKCSSCSQGDAP LGSLTHILTFLLAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:47)
	TPGLLTAGAGRPRDRCARIVCTVFIETAVVATMFVALLGLSTISSKA DDIDWDAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQATWDSNGGVGSP AAASPQQQIEVADNIMKTQGPWPKCSSCSQGDAPLGSLTHILTFLL AAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:48)
RpfE	ttgaagaacgcccgtacgacgtcatcgccgccgcgattgcggggacgttggtgaccacgtcaccagccgg tatcgccaatccgacgacgcgggcttgaccgaacgcccgcagccggcccgatgcgtgggcttgacc cgaacctgcccggccccggacgtgcacccgtcgatactccgggctccggaggacgcgggcttgat cccaacctcccccgccgtggccccggacttctgtccccgctgagggaagcgctcccggtgccgt ggcctacagcgtgaactgggacgcgatcgcgagtcgagtcgggtggaactggtgatcaacaccggta acggttactacggcgccctgcgggtaccgcccgcacctggcgtgccaacgggtgctcggggtccgcggc caacgcgagccgggaggagcagatccgggtggctgagaacgtgctgctgcagggtatccgcgcctgg ccggtctgcccggccgcggctga (SEQ ID NO:49)
	LKNARTTLIAAAIAGTLVTTSPAGIANADDAGLDPNAAAGPDAVGFD PNLPPAPDAAPVDTPPAPEDAGFDPNLPPPLAPDFLSPPAEEAPPVPVA YSVNWDAIAQCESGGNWSINTGNGYYGGLRFTAGTWRANGSGSA ANASREEQIRVAENVLRSQGIRAWPVCGRRG (SEQ ID NO:50)

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos cuatro antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende

al menos cinco antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos seis antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende de al menos tres a al menos seis antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende de al menos tres a al menos cinco antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos tres o al menos cuatro antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende de al menos cuatro a al menos seis antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos cuatro o al menos cinco antígenos de Mtb.

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfB Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos RpfB, ESAT6, Rv1733c y Rv2626c de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos Ag85B, ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos Ag85B, ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfB de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos PPE51, Rv1733c, Rv2628c y RpfD Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos PPE51, Rv1733c, Rv2628c y RpfB Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos Rv3407, Rv1733c, Rv2626c y RpfB Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende los antígenos Rv3407, Rv1733c, Rv2626c y RpfD Mtb.

En cualquiera de las descripciones de las proteínas de fusión expuestas en la presente memoria, los antígenos individuales de Mtb pueden estar presentes en cualquier orden. Por ejemplo, para una proteína de fusión que comprende los antígenos ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD de Mtb, el primer antígeno (o N-terminal) puede ser ESAT6, Rv1733c, Rv2626c o RpfD; el segundo antígeno puede ser ESAT6, Rv1733c, Rv2626c o RpfD; el tercer antígeno puede ser ESAT6, Rv1733c, Rv2626c o RpfD; y el cuarto antígeno (o C-terminal) puede ser ESAT6, Rv1733c, Rv2626c o RpfD. Lo mismo ocurre con todas las proteínas de fusión desveladas en el presente documento.

Los antígenos individuales de Mtb pueden unirse de manera C-terminal a N-terminal sin ningún enlazador (es decir, el C-terminal de ESAT6 unido directamente al N-terminal de Rv1733c). Alternativamente, un enlazador puede estar presente entre dos antígenos de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión divulgadas en el presente documento. Como se describe en el presente documento, el enlazador es un segmento de ADN o ARN que contiene opcionalmente uno o más sitios de restricción, en el que el enlazador se inserta entre moléculas de ácido nucleico que codifican dos antígenos de Mtb de cualquiera de las proteínas de fusión desveladas en el presente documento. La Tabla 5 muestra cebadores representativos de antígenos particulares de Mtb utilizados para introducir sitios de restricción en una construcción de proteína de fusión.

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (Construct A; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:51 (*optimizada para E. coli* optimizada; los sitios de restricción EcoRI, SacI e HindIII insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados) y SEQ ID NO:52 (optimizada para humanos; los sitios de restricción BstBI, PvuI y AscI insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados); las secuencias de aminoácidos correspondientes son SEQ ID NO:53 (optimizada para *E. coli*) y SEQ ID NO:54 (optimizada para humanos); véase la Tabla 4).

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfB (Construct B; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:55, en la que los sitios de restricción EcoRI, SacI e HindIII insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:56; véase la Tabla 4).

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende RpfB-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c (Construct C; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:57, en la que los sitios de restricción BamHI, EcoRI y SacI insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:58; véase la Tabla 4).

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (Construct D; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:59 (*optimizada para E. coli* optimizada; los sitios de restricción insertados BamHI, EcoRI, SacI e HindIII, respectivamente, están en negrita y subrayados) y SEQ ID NO:60 (optimizada para humanos; los sitios de restricción insertados XmaI, BstBI, PvuI y AscI, respectivamente, están en negrita y subrayados); la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:61 (optimizada para *E. coli*) y SEQ ID NO:62 (optimizada para humanos); véase la Tabla 4).

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende PPE51-Rv1733c-Rv2628c-RpfD (Construct E; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:63, en la que los sitios de restricción EcoRI, SacI e HindIII insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:64; véase la Tabla 4).

Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende PPE51-Rv1733c-Rv2628c-RpfB (Construct F; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:65, en la que los sitios de restricción EcoRI, Sall e HindIII

insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:66; véase la Tabla 4).

- 5 Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende Rv3407-Rv1733c-Rv2626c-RpfB (Construct G; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:67, en la que los sitios de restricción EcoRI, SacI e HindIII insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:68; véase la Tabla 4).

- 10 Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende Rv3407-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (Construct H; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:69, en la que los sitios de restricción EcoRI, SacI e HindIII insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:70; véase la Tabla 4).

- 15 Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende PPE51-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (Construct I; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:71, en la que los sitios de restricción EcoRI, SacI e HindIII insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:72; véase la Tabla 4).

- 15 Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende PPE51-Rv1733c-Rv2626c-RpfB (Construct J; la secuencia de nucleótidos es SEQ ID NO:73, en la que los sitios de restricción EcoRI, SacI e HindIII insertados, respectivamente, están en negrita y subrayados; la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO:74; véase la Tabla 4).

Tabla 4

Construir	Secuencia de nucleótidos
	Secuencia de aminoácidos
A	<p>atgacagagcagcagtggaatttcgcggtatcgaggccgcggaagcgcaatccagggaatgtcacgtc cattcattccctccttgacgaggggaagcagtccttgaccaagctcgagcggcctggggcggtagcgggtc ggagggcgtaccagggtgtccagcaaaaatgggacgccacggctaccgagctgaacaacgcgctgcagaa cctggcgcgagcagcaggaagccggcaggaatggcttcgaccgaagcaacgtcactgggatgttcg cagaattcatgattgcgactaccgtgatcgtgagggcgcgaccatgatcacgttcctgtcgtctcgtgtg cgcaccatttgcgctgttttcgctaaccgctggctcgggtaccgacctgtggaggccccggggtcc aagacagccgtagccatgtgtatgctaccaggctcaaaccgctaccggctactgccactgttatcgtatca cgaaggcgtgattgactccaataccacggcaacctccgaccgcctcgaccaagattacggtcctgcgcg ttgggtggtgaatggtattgaacgcagcggcgaaagtaatgccaaccgggtacaaaagcggtgacctgt gggcatctgggtcgatagcgccggcagctggtcgacgagccggcaccgacgcgtgcgatcgccgat tctagacgcgaattctgatccggttcgcaatgcgagctggcagcacgataattgatgcctgtttgcaccaa cgtgagctcatgaccacggcgctgatcatgaatcggggtgtcacctgtgtggcgagcacgaaacgttg accgcagcagcacagtacatgcgcaacatgatcggcgcatcgccatttgcggcgacgatgatcgtctg cacggtatgctgaccgaccgcgatcgttatcaagggtctggccgaggcttgacccgaacaccgcgacc gccggtgaactggcacgtgacagcatctattacgtcgacgcgaacccagcattcaagagatgctgaacgtg atggaagagcatcaggtgcgtcgtgtcccgttatcagcgaacatcgtctggttggtatcgttaccgaagccg acatgcacgtcacctgccggagcacgcgattgttcagttcgtgaaagcgatttgcagcccgatggcggtggc gtctaagctttgtctgggcctgagcaccattagcagcaaacgggatgacatcgactgggatgcgattgcgca gtgtgagagcggtggcaattgggcagcgaataccggcaatggcctgtacggcggtctgcagatctccagg cgacgtgggacagcaatggtggcgtcggcagcccggtgccgcgtccccacaacaacagatcgaggtggc agataacattatgaaaacgcagggtccgggtgcttgccaaaatgctccagctgcagccagggtgacgcacc gctgggcagcctgaccacattctgacgttcctggcagcggaaaccggtggtgtgacggtagccgcgatga c = (SEQ ID NO:51)</p>

	<p>atgaccgagcagcagtggaaacttcgccggcatcgaagctgccgctagcgccatccaaggcaacgtgacca gcatccacagcctgctggacgagggcaagcagagcctgaccaagctggctgctgcttggggcgatccgg aagcgaagcctaccagggcgctgcagcagaagtgggacgccacagccaccgagctgaacaacgcctgca gaacctcgccagaacctcagcagggccggacaggctatggccagcacagagggcaatgtgaccggcat gttcgccttcgaaatcgccaccaccagggacaggggaaggcgctaccatgatcaccttcaggctgaggctcc cctgcaggaccatcctgaggggtgttcagcaggaacccctggtagggggcaccgacagactggaagcgt gcaggacagcaggagccacgtgtatgccaccaggtcagaccaggcacctgctaccgccaccgtgatc gaccacgagggcgatcgactccaacaccaccgccaccagcgctcctccagaaccaagatcacagtgc ccgccagggtgggtggtgaacggcatcgagaggagcggcgagggtgaacgccaagcctggaaccaagagc ggcgacaggggtgggcatttgggtcgatagcgccggccagctgggtgatgaacctgctccccctgccagagc catcgccgataggccatcctgatcagggtaggaacgccagctggcagcacgacatcgacagcctgttct gcacccaaaggcgatcgacaacagccagggacatcatgaacgccggcgtagcctgcgtgggagagcatg aaacctcaccgccggccccaatacatgaggagcacgacatcgggcgccctgccatctgtggagacga cgacaggtgcacggcatgctgaccgacagggacatcgtgatcaaggcctggctgccggcctgatccta acaccgctacagccggcgagctggccagagacagcatctactacgtggacccaacgccagcatccagga gatgctcaacgtgatggaggagcaccaggtgagaagggtgcctgtgatcagcagcagagcgtggtggc atcgtgaccgagggcgatcgttaggcacctgcccgagcacgccatcgtcagttcgtgaaggccatctgc agccccatggctctggccagggcgcgccacccccggactcctaccacagctggagctggcagggccca gagacagatcgccaggatcgtgtgcacctgttcatcgagaccgccgtggtggctaccatgttcgtggccct</p>
	<p>gctgggcctgagcaccatcagcagcaaggccgacgacatcgactgggacgccatcgccagtgatgaatcc ggcggaactgggcccgaataccggcaatggcctgtacggcgccctgcagatcagccaggctacctggg actccaacggaggagtgagggaagccctgccgctgcttccctcagcagcagatcaggtggccgacaatc atgaagaccaagggcctggcgctggcctaagtgtccagctgtagccagggcgatgctcctctgggcagc ctgaccacatcctgaccttctcgccggcgagacagggcgatgtagcggaagcaggggacgactaatgatag (SEQ ID NO:52)</p>
	<p>MTEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLEDEGKQSLTKLAAAWGGS GSEAYQGVQQKWDATATELNNALQNLARTISEAGQAMASTEGNVT GMFAEFMIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRLE APGVQDSRSHVYAHQAQTRHPATATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKI TVPARWVVNGIERSGEVNAKPGTKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPP ARAIADSRRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMTTARDIMNAGVT CVGEHETLTAAQYMRHDIGALPICGDDDRHLHGMLTDRDIVIKGLA AGLDPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISE HRLVGIVTEADIRHLPEHAIVQFVKAICSPMALASKLLLGLSTISSKA DDIDWDAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQATWDSNGGVGSP AAASPQQQIEVADNIMKTQGPAGWPKCSSCSQGDAPLGS LTHIL TFL AAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:53)</p>
	<p>MTEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLEDEGKQSLTKLAAAWGGS GSEAYQGVQQKWDATATELNNALNLARTISEAGQAMASTEGNVTG MFAFEIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRLEAV QDSRSHVYAHQAQTRHPATATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPA RWVVNGIERSGEVNAKPGTKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAI ADRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRRSTTARDIMNAGVTCVGEHET LTAAQYMRHDIGALPICGDDDRHLHGMLTDRDIVIKGLAAGLDPNT ATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISEHRLVGIV TEADIRHLPEHAIVQFVKAICSPMALASGAPTPGLLTAGAGRPRDR CARIVCTVFIETAVVATMFVALLGLSTISSKADDIDWDAIAQCESGGN WAANTGNGLYGGLQISQATWDSNGGVGSPAAASPQQQIEVADNIMK TQGPAGWPKCSSCSQGDAPLGS LTHIL TFLAAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:54)</p>

B	<p>atgacagagcagcagtggaatttcgcggtatcgaggccgcgcaagcgcaatccagggaatgtcacgtc cattcattccctccttgacgaggggaagcagtcctgaccaagctcgacgagcgctggggcggtagcggttc ggaggcggtaccagggtgtccagcaaaaatgggacgccacggctaccgagctgaacaacgcgctgcagaa cctggcgcgagcagcagcgaagccggtcaggaatggcttcgaccgaaggcaacgtcactgggatgttcg cagaattcatgattgcgactaccctgatcgtgaggcgcgaccatgatcacgttccgtctgcgtctgccgtgt cgcaccattttgcgctgttttcgctaaccgcgtggccgcggtaccgaccgtctggaggccgttgcatgtct gctggcggttaccgtgagcctgctgacgatccattcgacgagcgagctggcacggccgtccaagacagcc gtagccatgtgtatgctcaccaggctcaaacccgtcaccggctactgccactgttatcgatcacgaaggcgt gattgactccaataccacggcaacctccgaccgcctcgaccaagattacggttctgcgcgttgggtgggtg aatggtattgaacgcagcgcggaagttaatgccaaaccgggtaccaaaagcggtgaccgtgtgggcatctg ggtcgatagcgccgggtcagctggtcgacgagccggcaccggcagcgctgcgacgccgatgcggcgct ggctgccctgggtctgtggctgagcgtggcagcggtcgccggtgctgtggcgctgacgcgcgaattct gatccgcttcgcaatgcgagctggcagcacgatattgatagcctgtttgcaccaacgtgagctcatgacc acggcgcggtgatatcatgaatgcgggtgtcacctgtgtggcgagcacgaaacgttgaccgcagcagcaca gtacatgcgcgaacatgatcggcgattgccgatttgcggcgacgatgatcgtctgcacggtatgctgacc gaccgcgatatcgttatcaagggtctggccgcaaggctggaccggaacaccgcgaccgcccgtgaaatggc acgtgacagcatctattacgtcagcgcgaacccagcattcaagagatgctgaacgtgatggaagagcatca ggcgctcgtgtccgggtatcagcgaacatcgtctggttggtatcgttaccgaagccgacatgcacgtcacc tgccggagcacgcgattgttcagttcgtgaaagcgatttgcagcccgatggcggtggcgctctgcaaaaggg cgacacaaaatttctaaatgcaaagcttgcatgcaaaacgggtgacgttgaccgtcgacggaaccgcatg</p>
	<p>cgggtgaccacgatgaaatcgcggtgatcgacatcgtcgaagagaacgggttctcagtcgacgaccgcga cgacctgtatcccgcgccggcggtgcaggtccatgacgccgacaccatcgtgctgcggcgtagccgtccgc tcgagatctcgtgatggtcacgacgctaagcaggtgtggacgaccgcgtcgacggtggacgagcgctg gccaactcgcgatgaccgacacggcgccggcgcggtctcgcgccagccgctcccgtgtccggga tggcgctaccggtcgtcagcgccaagacggtgcagctcaacgacggcggggtggtgcgcacggtgcacttg ccggccccaatgtcgcggggtgctgagtgccggcgcggtgcccgtgttgcgaagcgaccacgtggtgc ccggccgacggccccgatcgtcgaaggcatgcagatccaggtgacccgcaatcgatcaagaaggtcac cgagcggtgcccgtgcccgcgaacgcgcgtcgttcgagacccggagatgaacatgagccgggaggt cgtcgaagacccgggggttccggggaccaggtgacgttcgcggtagctgaggtcaacggcgctcgag accggccgtttgccgtcgccaacgtcgtgtgaccccgcccacgaagccgtggtgcccgtgggcacca agcccgggtaccgaggtgccccgggtgatcgcaggaagcatctgggacgcgatcggcggtgtgagccg gtggcaactggcgatcaacaccggcaacgggtattacggtggtgtgagttgaccagggcacctgggag gccaacggcggtgctcggtatgcaccccgctgacctgccaccgcgaagagcagatcgccgttgcg aggtgacccgactgcgtcaaggttggggcgctggccggtatgtctgcacgagcgggtgcgcgctga (SEQ ID NO:55)</p>
	<p>MTEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLEDEGKQSLTKLAAAWGGS GSEAYQGVQQKWDATATELNNALQNLARTISEAGQAMASTEIGNVT GMFAEFMIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRL AVVMLLAVTVSLLTIPFAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHPATAT VIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPARWVVGIERSGEVNAKPGTKS GDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVA AVAGA LLALTRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMTTARDIMNAGVTCVG EHETLTAAQYMREHDIGALPICGDDDRHLHGMLTDRDIVIKGLAAGL DPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISEHRL VGIVTEADIAHRLPEHAIVQFVKAICSPMALASRQKGD TKFILNAKLA CKTVTLTVDGTAMRVTTMKSRVIDIVEENGFSVDDRDDLPAAGVQ VHDADTIVLRRSRPLQISLDGHD AKQVWTTASTVDEALAQLAMTDT APAAASRASRVPLSGMALPVVSAKTVQLNDGGLVRTVHLPAPNVAG LLSAAGVPLLQSDHVPAATAPIVEGMQIQVTRNRIKKVTERLPLPPN ARRVEDPEMNMSREVVEDPGVPGTQDVTFAVAEVNGVETGRLPVA NVVVTPAHEAVVRVGTGKPGTEVPPVIDGSIWDAIAGCEAGGNWAIN TNGYYGGVQFDQGTWEANGGLRYAPRADLATREEQIAVAEVTRLR QGWGAWPVCAARAGAR (SEQ ID NO:56)</p>

C	<p>atgaagcttgcatacgaacacgggtgacgttgaccgtgcacggaaccgcgatcggggtgaccacgatgaaatc gccccgtgatcgacatcgatcgaagagaacgggttctcagtcgacgaccgcgacgacctgatcccgccgccc gctgacaggtccatgacgccgacaccatcgctgctcgccgctagccgtccgctgcagatctcgctggatggc acgacgctaagcaggtgtggacgaccgctgcacgggtggacgagcgctggcccaactcgcatgaccg acacggcgccggccgcttctcgccagccgctcccgctgcccgggatggcgctaccggctgctcag cgccaagacgggtgcagctcaacgacggcggttggtgcgcacgggtgcacttgcggcccccactgctcgcg gggctgctgagtgccggccgctgcccgtgttgcgaagcgaccacgtgggtcccgccgacgacggccccg atcgctgaagcgcagatccaggtgacccgcaatcgatcaagaaggtcaccgacggctgcccgtgccc gcccgaacgcgctgctgagagaccggagatgaacatgagccgggaggtcgcgaagaccgggggt tccggggaccacaggtgacgttcgctgtagctgaggtcaacggcgctgagaccggccgttccccgctc ccaacgctggtgacccccggccacgaagcgtggtgcgggtgggacccaagcccggatccgaggtgc ccccgggtgatcgacggaagcatctgggacgcgatcgccgctgtgagccgggtggcaactggcgatcaa caccggcaacgggtattacgggtgtgcatgttgaccagggcacctgggaggccaacggcgggctgccc tatgacccccgcgctgacctgccaccgcgaagagcagatcgccgttgcgaggtgacccgactgctca agggtggggcgctgcccgtgtgtgctgcacgagcggtgcgcgcggaatccatgacagagcagcagtg aatttcgcccgtatcgaggccgcccgaagcgcaatccagggaatgtcacgttcattcctcctctgacg aggggaagcagtcctgaccaagctgcagcgccgctggggcggtgagcggtcggagcgctaccagggtg ccagcaaaaatgggacgccacggctaccgagctgaacaacgcgctgcagaacctggcgcgacgatcag cgaagccggtcaggaatggcttcgaccgaaggcaacgtcactgggatgttcgcaaatccatgattgcgac</p>
	<p>taccgctgatcgtgagggcgccacatgatcacgttccgtctgcttgcctgctgcacacatttgcgcgtgtt ttcgctaaccgctgggtccggtaccgaccgtctggaggccgtgtcatgctgctggcggttaccgtgagc ctgctgacgatccattcgacggcagctggcacggccgtccaagacagccgtagccatgtgtatgctcac caggctcaaacccgtcaccggctactgccactgtatcgatcacgaaggcgtgattgactccaataccacgg caacctccgaccgctcgaccaagattacgggtcctgcgcgttgggtggtgaatggtattgaacgcagcg gcgaagtaatgccaaaccgggtaccaaaagcggtgaccgtgtgggcatctgggtcgatagccgggtcag ctggctgacgagccggcaccggcagcgctgctgacgacgacgacgacgacgacgacgacgacgacgacg gagcgtggcagcggtcgccgggtgctgctggcgctgacgcgcgaattctgatccgcttgcgaatgcga gttggcagcagcagatattgatagcctgtttgcaccaacgtgagctcaccacggcgctgatatcatgaat gcgggtgtcacctgtgtggcagcagcgaacgttgaccgcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc ggcgcatcgccgatttgcggcgacgatgctgctgacggatgctgacgaccgcgatatcggtatcaagg gtctggccgagcgttgaccggacacaccgcgaccgccgtgaactggcagctgacagcatctattacgtc gacgcgaacgccagcattcaagagatgctgaacgtgatggaagagcagcaggtgcgctgctccgggtatc agcgaacatgctggttgggtatcgttaccgaagccgacatcgacgtcacctgcccggagcagcagcagc agttcgtgaaagcgatttgcagcccgatggcgttggcgtctcgtcaaaaggcgacacaaaatttattctaat gcatga (SEQ ID NO:57)</p>
	<p>MKLACKTVTLTVDGTAMRVTTMKSRVIDIVEENGFSVDDRDDLPA AGVQVHDADTIVLRRSRPLQISLDGHDQVWTTASTVDEALAQLA MTDTAPAAASRASRVPLSGMALPVVSAKTVQLNDGGLVRTVHLPAP NVAGLLSAAGVPLLQSDHVVPAATAPIVEGMQIQVTRNRIKKVTERL PLPPNARRVEDPEMNMMSREVVEDPGVPGTQDVTFAVAEVENGVETGR LPVANVVVTPAHEAVVRVGTKPGTEVPPVIDGSIWDAIAGCEAGGN WAINGTNGYYGGVQFDQGTWEANGGLRYAPRADLATREEQIAVAE VTRLRQGWGAWPVCAARAGARGSMTEQQWNFAGIEAAASAIQGNV TSIHSLLDEGKQSLTKLAAAWGGSGSEAYQGVQQKWDATATELNNA LQNLARTISEAGQAMASTEENVTGMFAEFMIATTRDREGATMITFRL RLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRLAENVMLLA VTVSLLTIPFAAAAGTA VQDSRSHVYAHQAQTRHPATATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVP ARWVNGIERSGEVNAKPGTKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARA IADAALALGLWLSVA AVAGALLALTRAILRVNRASWQHIDISLFC TQRELMTTARDIMNAGVTCVGEHETLAAAQYMREHDIGALPICGD DDRLHGMLTDRDIVIKGLAAGLDPNTATAGELARDSIYYVDANASIQ EMLNVMEEHQVRRVPVISEHRLVGIVTEADIARHLPEHAIVQFVKAIC SPMALASRQKGDTKFILNA (SEQ ID NO:58)</p>

D	<p>atgttttagccgtcctggcctgccagttgaatacctgcaagttccgagcccgtccatgggtcgtgacattaaggt gcagttccagagcggcggttaacaatagcccggtgtgtacctgtggacggtctgcgtgcgaggtatgatta caacggctgggacatcaataccccggcatttgagtggtattaccagtcgggtctgagcattgtgatccgggtg gcgggtcaaagcagcttctatagcgattgggtacagccggcatcgggcaaggctggttgccaaacctacaagt gggaaactttctgaccagcagctgccgaatggttgagcgccaaccgtgcgggtcaaaccgaccggt agcgctgctattggcctgtccatggccggcagcagcgcgatgatcttggcgccataccatccgcagcagttta tctacgccggtagcctgagcgattgttgaccgagccaaaggcatgggtccgagcctgattggtctggcaa tgggtgacgcaggtggttacaaagcggccgatatgtggggcccatctagcgaccggcatgggagcgtaat gacccgacccagcaaatccgaaactgggtggcgaataacacgcgcctgtgggtctactgtggcaatggtacg ccgaacgagctgggtggcggaatatccctgcggagtttctgaaaactttgttcgacgagcaacctgaaat tccaggacgcgtataacgcagccgggtggtcacaatgcggttttcaatttcccgccaaatggcactcatagctgg gagtactgggtgctgcagttgaacgcaatgaaaggcgatctgcaatcctctctgggtgcgggcggatccatg acagagcagcagtggaatttcgcggtatcgaggccggcgaagcgcaatccaggaaatgtcacgtccat tcattccctccttgacgaggggaagcagtcctgaccaagctcgagcgccctgggcggtagcggttcgg aggcgtagcaggtgtccagcaaaaatgggacgccacggctaccgagctgaacaacgcgctgcagaacct ggcgcgacgatcagcgaagccgggtcaggcaatggcttcgaccgaaggcaacgtcactgggatgttcgca gaattcatgattgcgactaccctgatcgtgagggcgcgaccatgatcacgtccgtctgcgtctccgtgtc gcaccattttgcgctgttttcgctaaccgcgtggtccgggtaccgaccgtctggaggccccggggcca</p>
	<p>agacagccgtagccatgtgtatgctcaccaggtcaaaccggtcaccgggtactgccactgttatcgtacac gaaggcgtgattgactccaataccacggcaacctccgaccgcctcgcaccaagattacgggtcctgcgctt gggtggtgaatggtattgaacgcagcggcgaaagttatgccaaaccgggtacaaaaagcgggtgaccgtgtg ggcatctgggtcgtatagcgccgggtcagctggtcgacgagccggcaccgccagcgctgcgatccggtatt ctagacgcgcaattctgatccggttcgcaatgcgagctggcagcacgataattgatagcctgtttgcacccaa cgtgagctcatgaccacggcgctgatcatgaatgcgggtgtcacctgtgttggcgagcacgaaacgttg accgcagcagcacagtacatgcgcgaacatgatacggcgattgccgatttgccgagcagatgatcgtctg cacggtatgctgaccgaccgcgatacgttatcaagggtctggccgcagcgttgaccggaacaccgcgacc gccggtgaactggcacgtgacagcatctattacgtcgacgcgaacgccagcattcaagagatgctgaacgtg atggaagagcatcaggtgcgtcgtgtcccggttatcagcgaacatcgtctggttggtatcgttacggaagccg acatcgacgtcacctgccggagcacgcgattgttcagttcgtgaaagcgatttcagccccgatggcgttggc gtctaagcttttgctggcctgagcaccattagcagcaaaagggtgacatcgactgggatgcgattgcgca gtgtgagagcgggtggcaattgggcagcgaataccggcaatggcctgtacggcggtctgcagatctccagg cgacgtgggacagcaatggtggcgtcggcagcccgctgccgcgtccccacaacaacagatcgaggtggc agataacattatgaaaacgcaggtccgggtccttgccaaaatgctccagctgcagccaggggtgacgcacc gctgggcagcctgaccacattctgacgttcctggcagcggaaaccggtggttgtagcggtagccgcgatga c (SEQ ID NO:59)</p>

	<p>atgtttccaggcccgccctgctgtcagtatctgcaggtccccccccccatgggcagagacatcaagg tgcagttccaatccggaggcaacaacagccccgcctgtatctctcgacggcctgagggtcaggacgact acaacggctgggacatcaacacccccgccttcagtggtactaccagtcggactgagcatcgcatgccg tggcgggccagagctccttctacagcgactggtatagccctgctgcggcaagccggatgccagacctaca agtgggagacctttctgaccagcgaactgccccagtggtctccccaataggccgtcaaacctaccggct ccgctgccatcgactcagcatggccgaagctccgctatgatectggccgctaccacccccagcaattat ctacgctggcagcctgtcgcctgtgctggatcctagccaaggcatggccctagcctcattggcctggccatg ggcgtgctggcggtataagccgcccagatatgtggggccctagctccgatcctgctgggagaggaatga ccccccagcagatcccaagctggtggccaacaacacaaggctctgggtgtactgggcaatggcacc ccaacgaactggcgaggccaacattccccgcgagttctggagaacttcgtcaggagcagcaacctgaag ttcaggacgcctacaatgccgcccggaggccacaacgctgtgttcaactccctcccaacggcaccacagc tgggagltattggggcgctcagctgaacgccatgaaggcgacctccagagctccctgggagctggacccc ggaccgagcagcagtggaacttcgccggcatgaagctgccgtagcgccatccaaggcaacgtgaccag catccacagcctgctggacgagggaagcagagcctgaccaagctggctgctgctggggcgatccgga agcgaagcctaccaggcgctgcagcagaagtgggacgccacagccaccgagctgaacaacgcctgcag aacctgccagaaccatcagcagggccggacaggctatggccagcacagagggaatgtgaccggcatgt tcgcttcgaaaatgccaccaccaggacagggaaggcgtaccatgatcacttcaggctgaggtcccc tgcaggaccatcctgagggtgttcagcaggaacccccgtgtgaggggcaccgacagactggaagccgtgc aggacagcaggagccacgtgtatgccaccaggctcagaccaggcacctgctaccgccaccgtgatcga ccacgaggcgctgatcactcaacaccaccgccaccagcgtcctccagaaccaagatcacagtccc ggcaggtgggtgtgaacggcatcgagaggagcggcgaggtgaacgccaagcctggaaccaagagcgg cgacaggggtggcatttgggtcgatagcggcgccagctggtggatgaactgctccccctgccagagcca tcgccgatagggccatcctgatcagggtgaggaacgccagctggcagcagacatcgacagcctgttctgc acccaaaggcgatcgacaacagccaggacatcatgaacgccggcggtgacctgctgggagagcatgaa accctcaccgccgcccatacatgaggagcagcagatcggcgccctgccatctgtggagacgacg acaggctgcacggcatgctgaccgacaggacatcgtgatcaagggcctggctgccggcctgatcctaac accgctacagccggcgagctggccagagacagcatctactacgtggacgccaacgccagcatccaggaga tgctcaacgtgatggaggagcaccaggtgagaagggtgctgtgatcagcagcagcaggtggtggcatc gtgaccgaggccgatatcgtaggcacctgccgagcagccatcgtgcagttcgtgaaggccatctgcag ccccatggtctggccagcggcgccccacccccggactcctaccacagctggagctggcaggcccaga gacagatgcgccaggatcgtgtgcaccgtgttcacgcagaccgccgtggtggctaccatgtctgtggcctgc tgggctgagcaccatcagcagcaaggccgacgacatcactgggacgccatcgccagctgtgaatccgg cggaaactggcgcccaataccggcaatggcctgtacggcgccctgcagatcagccagctacctgggact ccaacggaggagtgagggaagccctgccgctgcttccctcagcagcagatcgaggtggccgacaacatcatg</p>
	<p>aagaccaaggccctggcgctggcctaagtgttcagctgtagccaggcgcatgctcctctgggcagcctg accacatcctgaccttctcgccgccgagacaggcgatgtagcggaaagcagggacgactaatgatag (SEQ ID NO:60)</p>
	<p>MFSRPLPVEYLQVPSMGRDIKVFQSGGNNSPAUYLLDGLRAQD DYNWWDINTPAFEWYYQSGLSIVMPVGGQSSFYSDWYSPACGKAGC QTYKWETFLTSELPQWLSANRAVKPTGSAIIGLSMAGSSAMILAAY HPQQFIYAGSLSALLDPSQGMGPSLIGLAMGDAGGYKAADMWGPSS DPAWERNDPTQQIPKLVANNTLWVYCGNGTPNELGGANIPAEFLE NFVRSSNLKFQDAYNAAGGHNAVFNFPNGTHSWEYWGAQLNAMK GDLQSSLGAGGSMTEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLDEGKQS LTKLAAAWGGSGSEAYQGVQKWDATATELNNALQNLARTISEAG QAMASTEKNVTGMFAEFMIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSR NPLVRGTDRLLEAPGVQDSRSHVYAHQAQTRHPATATVIDHEGVIDSN TTATSAPPRTKITVPAWVWNGIERSGEVNAKPGTKSGDRVGIWVDS AGQLVDEPAPPARAIADSRRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMTT ARDIMNAGVTCVGEHETLTAAQYMREHDIGALPICGDDRLHGMML TDRDIVIKGLAAGLDPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVME HQVRRVPVISEHRLVGIVTEADIRHLPEHAIVQFVKAICSPMALASK LLLGLSTISSKADDIDWDIAIQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQAT WDSNGGVGSPAAASPQQQIEVADNIMKTQGPRAWPKSSCSQGDAP LGLSLTHILTFLLAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:61)</p>

	<p>MFSRPGLPVEYLQVPSPSMGRDIKVQFQSGGNNSPAVYLLDGLRAQD DYNGWDINTPAFEWYYQSGLSIVMPVGGQSSFYSDWYSPACGKAGC QTYKWETFLTSELPQWLSANRAVKPTGSAAIGLSMAGSSAMILAAY HPQQFIYAGSLSALLDPSQGMGPSLIGLAMGDAGGYKAADMWGPSS DPAWERNPTQQIPKLVANNTLWVYCGNGTPNELGGANIPAEFLE NFVRSSNLKFQDAYNAAGGHNAVFNFPNGTHSWEYWGAQLNAMK GDLQSSLGAGPGTEQQWNFAGIEAAASAIQGNVTSIHSLLEDEGKQSL TKLAAAWGGSGSEAYQGVQQKWDATATELNALQNLARTISEAGQ AMASTEGNVTGMFAFEIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNP LVRGTDRLAIVQDSRSHVYAHQAQTRHPATATVIDHEGVIDSNTTAT SAPPRTKITVPARWVNGIERSGEVNAKPGTKSGDRVGIWVDSAGQL VDEPAPPARAIADRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRRSTTARDIMNA GVTCVGEHETLTAQAQYMRHDIGALPICGDDRLHGMILTDRDIVIK GLAAGLDPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVP VISEHRLVGIVTEADIARHLPEHAIVQFVKAICSPMALASGAPTPGLLT TAGAGRPRDRCARIVCTVFIETAVVATMFVALLGLSTISSKADDIDW DAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGGLQISQATWDSNGGVGSPAAASPQ QQIEVADNIMKTQGPQAWPKCSSCSQGDAPLGSLLTHILFLAAETGG CSGSRDD (SEQ ID NO:62)</p>
E	<p>atggattttgcgctgctgccgcccgaagtgaacagcgcgcatgtataccggcccggcgccggcagcct gctggcggcgccggcgctgggatagcctggcgccggaactggcgaccaccgccaagcgtatggca gcgtgctgagcgccctggcgccgctgcatggcgccggccggcgccgaaagcatggcggtgaccgcg gcgccgtatattggctggctgtataccaccgcggaataaccagcagaccgcgattcaggcgcgccggc ggcgctggcggttgaacaggcgatgcatgaccctgccgcccggcggtggcgccggaaccgattcagc tgctggcgctgattgcgaccaactttttggccagaacaccgcgccgattgcggcgaccgaagcgcatatg cggaaatgtggcgccagcatggcgccgcatgtatggctatgcgaccgcgagcgccggcgccgctgc tgaccccggttagcccgccgcccagaccaccaaccggcgccgctgaccgcgcaggcgccggcggtga gccaggcgaccgatccgctgagcctgctgattgaaaccgtgacccaggcgctgcaggcgctgaccattccg agctttattccggaagattttaccttctggatgcgattttgcgggctatgcgaccgtggcgctgaccaggatg</p>
	<p>tggaagctttgtggcgggcaccattggcgccggaagcaacctgggcctgctgaacgtggcgatgaaac ccggcggaagtgaacccggcgctattttggcattggcgaactggtgagcgcgaccagccggcgccggc gtgagcgcgagcgccgcccggcgccgagcgtgggcaacaccgtgctggcgagcgtggcgccg cgaacagcattggccagctgagcgtgcccgcgagctggcgccgcccagcaccgcccggcgagcgcc tgagcccgccggcctgaccacctgccgggcaccgatgtggcggaacatggcatgccggcgctgccgg gcgtgcccgtggcgccggcgccgagcgccgctgctgccgctatggcgctgacgctgacgctgatgg cgcatccgcccggcgccggcggaattcatgattgcgactaccgctgacgctgagggcgccagcatgacacg ttccgtctgcgtctgccgtgctgacacattttgcgctgttttcgcgtaaccgctggtcgccggtaccgaccgt ctggaggccgttgcctgctgctggcggtaccgtgagcctgctgacgatccattcgagcgccagctggc acggccgtccaagacagcctgagcctatgtatgctcaccaggctcaaacccgtcaccggctactgccact gttatcgatcacgaaggcgctgattgactccaataccagcgcaacctccgaccgctcgaccaagattacgg ttctcgcgcttggtggtgaatggtattgaacgcagcgccgaagttatgccaaccgggtacaaaagcg gtgaccgtgtggcgatctgggtcgatagcgccggtcagctggtcgacgagccggcaccgccagcgctgc gatcgccgatgcggcgctggctgccctgggtctgtggctgagcgtggcgagcggtcgccggtgctgtg cgctgacgcgcgaattctgatccgctgctgcaatgcgagctggcgagcacgatattgatagcctgtttgcacc caacgtgagctcatgtccacgcaacgaccgagggcactccggtattcgggctgttggccctacgcatggcc ggccgatgtggtcgatagcgaggtgggggtgcaccaggagcgatgatgaatctagcgatagtcacc cgcgcaagggtgcaatccgccaccatctatcaggtgaccgatcgctcgacgagggcgacagcaggggt gcctgtgacgagatcactagcaccgtgtccggtggtgtgcgagttggcgacccaagccggtggccga tgagcttgcgctgctgggtgctgactggccgctgctgacgcaatcggtgagcacctgtccgttga gattccggttgcggctgaagctttgctggcgctgagcaccattagcagcaaaagggtgacatcgactgggt gcgattgcgagctgtgagagcggtggcaattggcgagcgaataccggcaatggcctgtacggcggtctgca gatctccaggcgagctgggacgcaatggtggcgtggcgagccggctgccgctccccacaacaacag atcgaggtggcgagataacattatgaaaacgcaggggtccgggtgcttggccaaatgtccagctgcagccag ggtgacgcaccgctggcgagcctgaccacattctgacgttctggcgagcgaaaccggtggtgtgagcggt agcccgcatgactga (SEQ ID NO:63)</p>

	<p>MDFALLPPEVNSARMYTGPGAGSLLAAAGGWDSLAAELATTAEAY GSVLSGLAALHWRGPAAESMAVTAAPYIGWLYTTAEKTQQTAIQAR AAALAFEQAYAMTLPPPVAANRIQLLALATNFFGQNTAAIAATEA QYAEMWAQDAAAMYGYATASAAAALLTPFSPPRQTTNPAGLTAQA AAVSQATDPLSLLIETVTQALQALTIPSFIPEDFTFLDAIFAGYATVGV TQDVESFVAGTIGAESNLGLLNVGDENPAEVTGDFGIGELVSATSPG GGVSASGAGGAASVGNTVLASVGRANSIGQLSVPPSWAAPSTRPVSA LSPAGLTTLPGTDVAEHGMPGVPGVPVAAGRASGVLPTRYGVRLTVM AHPPAAGEFEFMIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGT DRLEAVVMLLAVTVSLLTIPFAAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHP ATATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPARWVNGIERSGEVNAKP GTKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVAAY AGALLALTRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMSTQRPRHSGIRAV GPYAWAGRCGRIGRWGVHQEAMMNLAIWHPRKVQSATYQVTDRS HDGRTARVPGDEITSTVSGWLSELGTQSPLADELARAVRIGDWPAAY AIGEHLISVEIAVAVKLLLGLSTISSKADDIDWDAIAQCESGGNWAAN TGNGLYGGLQISQATWDSNGGVGSPAAASPQQQIEVADNIMKTQGP GAWPKSSCSQGDAPLGSLLTHILFLAAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:64)</p>
F	<p>atggattttgcgctgctgccgcccgaagtgaacagcgcgcgcgtatataccggccggcgccggcagcct gctggcgccggcgccggcgctgggatagcctggcgccggaactggcgaccaccgcggaagcgtatggca gcgtgctgagcggcctggcgccgctgcattggcgccggccggcgccggaagcatggcggtgaccgcg gcgccgtatattggctggctgtataccaccgcggaacccagcagaccgcgattcaggcgcgccgcgcgc ggcgctggcggttgaacaggcgtatgcgatgacctgccgcccgggtggtggcgccgaaccgcattcagc tgctggcgctgattgcgaccaactttttggccagaacaccgcgcgattgcggcgaccgaagcgagtatg cggaaatgtggcgagcagatgcggcgccgatgtatggctatgcgaccgcgagcgccggcgccgcgcgcgc</p>

	<p>tgaccccgtttagcccgccgcgccagaccaccaaccggcgggcctgaccgcgcaggcgggcggtga gccaggcgaccgatccgctgagcctgctgattgaaccgtgaccagcgctgcaggcgctgaccattccg agctttattccggaagattttacctttctggatgcgatttttcgggctatgcaccgtggcgctgaccaggatg tggaagcttttgggcgggcaccattggcgcggaagcaacctgggcctgctgaacgtggcgatgaaac ccggcggaagtgaccccgggcgattttggcattggcgaactggtgagcgcgaccagccggcgggcggc gtgagcgcgagcgggcgggcgggcgagcgtgggcaacaccgtgctggcgagcgtggcgccg cgaacagcattggccagctgagcgtgccgccgagctggcgggcgccgagcaccgccgggtgagcgcg tgagcccgggggcctgaccacctgccgggcaccgatgtggcggaacatggcatgccggcgctgccgg gcgtgccgggtggcgggcgggcgcgcgagcgcgctgctgccgcgctatggcgcgctgaccgtgatgg cgcatccggcgggcgggcggaattcatgattgcgactaccgtgatcgtgaggcgcgaccatgatcacg ttcgtctgcgtctgccgtgctgcaccattttgcgctgttttcgcgtaaccgctggtccgcggtaccgaccgt ctggaggccggtgctgctgctggcggtaccgtgagcctgctgacgatccattcgcagcgcgagctggc acggccgtccaagacagccgtagccatgtgtatgctcaccaggctcaaacccgtcaccggctactgccact gttatcgtacgaaggcggtgattgactccaataccagcgcaacctccgaccgcctgcaccaagattacgg ttctcgcggttgggtggtgaatggtattgaacgcagcgggcggaagttaatgccaaccgggtacaaaagcg gtgaccgtgtgggcatctgggtcgatagcgccggtcagctggctgacgagcgccgaccgccagcgcgctgc gatcgccgatcgggcgctggctgccctgggtctgtggctgagcgtggcgagcggtcgccggtgctgtgctgg cgctgacgcgcgaattctgatccgcttcgcaatgcgagctggcgagcagatattgatagcctgtttgcacc caacgtgagctcatgtccacgcaacgaccgaggcactccggtattcgggctgttggccctacgcatgggcc ggccgatgtggtcgatagggcaggtgggggggtgcaccaggaggcgatgatgaatcagcgatattggcacc cgcgcaaggtgcaatccgccaccatctatcaggtgaccgatcgtcgcacgacggcgacagcagcggtg gcctggtgacgagatcactagcaccgtgtccggttgggtgctggagttggcgaccgcaagccggtggccga tgagcttgcgctgctgggtgctggatcgggcgactggccgctgctgacgcaatcggtgagcacctgtccgtga gattgccgttgcgtcgcaagctgcatgcaaacggtgacgttgaccgtcgacggaaccgcatgctgggtga ccacgatgaatcgcggtgatcgacatcgtcgaagagaacgggttctcagtcgacgaccgagcagacctg tatcccgccggcgcgctgaggtccatgacgccacaccatcgtgctgcggcgtagccgtccgtcgagat ctcgctggatggtcagcagcgtaagcaggtgtggacgaccgctgcagcgtggagcagggcgctggccaa ctcgcgatgaccgacacggcgccggcgccggttctcgccagccgctcccgtgtccgggatggcg taccggtcgtcagcgccaagacgggtgagctcaacgacggcggggttggcgacggtgacttgcggc ccccaatgctcgggggtgctgagtgccggcgcgctgcccgtgttgcgaagcgaccacgtggtgcccgcc gcgacggccccgatcgtcgaaggcatgcagatccagggtgacccgcaatcgatcaagaaaggacggagc ggctgcgctgccgccaacgcgcgtcgtgctgaggacccggagatgaacatgagccgggaggtcgtcg aagaccgggggttccggggaccaggtgtgacgttcgcggtgtagctgaggtcaacggcgctgagaccgg ccgtttcccgtcgcaacgtcgtggtgacccggccacgaagccgtggtgcggtggggcaccagccc ggtaccgaggtgccccgggtgatcgacggaagcatctgggacgcgatcggcgctgtgaggccggtggca actggcgcatcaacaccggcaacgggtattacgggtgtgtagttgaccagggcaccctgggagggcaac ggcggggtgctggtatgaccccgctgacctgccaccgcaagagcagatcgggttgcggaggtga cccactgcgtcaaggttggggcgctgcccgggtatgtgctgcacgagcggtgctgcgtga (SEQ ID NO:65)</p>
	<p>MDFALLPPEVNSARMYTGPAGSLLAAAGGWDSLAAELATTAEAY GSVLSGLAALHWRGPAAESMAVTAAPYIGWLYTTAEKTQQTAIQAR AAALAFEQAYAMTLPPPVVAANRIQLLALIATNFFGQNTAAIAATEA QYAEMWAQDAAAMYGYATASAAAALLTPFSPPRQTNPAGLTAQA AAVSQATDPLSLLIETVTQALQALTIPSFIPEDFTFLDAIFAGYATVGV TQDVESFVAGTIGAESNLGLLNVGDENPAEVTPGDFGIGELVSATSPG GGVSASGAGGAASVGN TVLASVGRANSIGQLSVPPSWAAPSTRPVSA LSPAGLTTLPGTDVAEHGMPPGVPGVPVAAGRASGVLPRYGVRLTVM AHPPAAGEFMIAATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTD RLEAVVMLLAVTVSLLTIPFAAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHPA TATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPARWVVNGIERSGEVNAKPG TKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVAAVA GALLALTRAILIRVRNASWQHIDSLFCTQRELMSTQRPRHSGIRAVG</p>

	<p>PYAWAGRCGRIGRWGVHQAEMMNLAIWHPRKVQSATIIYQVTDRSH DGR TARVPGDEITSTVSGWLSELGTQSPLADELARAVRIGDWPAAYA IGEHL SVEIAVAVKLACKTVTLTV DGTAMRVTTMKSRVIDIVEENG SVDDRD DLYPAAGVQVHDADTIVLRRSRPLQISLDGHD AKQVWTTA STVDEALAQLAMTDTAPAAASRASRVPLSGMALPVVSAKTVQLNDG GLVRTVHLPAPNVAGLLSAAGVPLLQSDHVVPAATAPIVEGMQIQVT RNRIKKVTERLPLPPNARRVEDPEMNMSREVVEDPGVPGTQDVTFAV AEVNGVETGRLPVANVVVTPAHEAVVRVGT KPGTEVPPVIDGSIWD AIAGCEAGGNW AINTGNGYYGGVQFDQGTWEANGGLRYAPRADLA TREEQIAVAEVTRLRQGWGAWPVCAARAGAR (SEQ ID NO:66)</p>
G	<p>atgctgctgactgtgggtctggttagggcgattggcattcgcgagctgcgccaacatgccagccgttacttgg ctcgtgtcgaggcgggtgaagaactgggcgtgacgaataagggtcgtctggcgcccgctctgattccggttca ggcagctgagcgttctcgcgaggcgctgattgaatccggcgctctgattcccggtcgccgtccgcaaacct gctggacgtgacggcgagccagctcgtggtcgcaaacgcacgctgtctgatgtcctgaacgaaatgcgcg acgagcagggaattcattgactgactaccgctgatcgtgagggcgcgaccatgatcacttccgtctgctgt gccgtgtcgaccattttgcgcgtgttttcgctaaccgctggtccggtgaccgacctgtggagggcggtg tcatgctgtggcggttaccgtgagcctgctgacgatccattcgagcgggcagctggcagggcggtccaag acagccgtagccatgtgtatgctaccaggctcaaacccgtcaccggctactgccactgttatcgatcacga aggcggtgattgactccaataccacggcaacctccgaccgcctcgaccaagattacgggttctgcgcgttgg gtggtgaatggtattgaacgcagcgcggaagttaatgcaaacgggtaccaaaagcggtgacctgtggg catctgggtcgatagcgccggtcagctggtcgacgagccggcaccggcagcgctgcgctgcggatgcg gcgctgggtgccctgggtctgtggtgagcgtggcgagcggtcgccggtgcgtgtgctggcgctgacgcgcg aattctgatcccggttcgcaatgcgagctggcgacgacgatattgatagcctgtttgcacccaacgtgagctcat gaccacggcgctgatcatgaatcggggtgtcacctgtgttggcgagcacgaaacgttgaccgcagcag cacagtacatgcgcgaacatgatcggcgacgttgcggtgacgatgatcgtctgcacggatgct gaccgaccgcgatcgttatcaagggtctggccgagcgttgaccgaacaccgcgaccgcccgtgaac tggcacgtgacagcatctattacgtcgacgcgaacgccagcattcaagagatgctgaacgtgatggaagagc atcaggtgcgtgctgcccgggtatcagcgaacatcgtctggttggtatcgttaccgaagccgacatgcacgt cacctgccggagcagcgattgttcagttcgtgaagcgaatttcagcccgatggcggtggcgctcgtcaaa agggcgacacaaaattattctaaatgcaagcttgcacgcaaacgggtgacgttgaccgtcgacggaaccg cgatcggggtgaccacgatgaaatcggggtgatcgacatcgtcgaagagaacgggttctcagtcgacgac cgcgacgacctgtatcccgccggcggtgcaggtccatgacgccacaccatcgtgctgcggcgtagcc gtccgctgcagatctcgtggatggtcacgacgtaagcaggtgtggacgaccgcgtcgacggtggacgag gcgctggcccaactgcgatgaccgacacggcgccggcgccgcttctcgcgcagccgcgtcccgtgt ccgggatggcgctaccggtcgtcagcgcaagacgggtgcagctcaacgacggcggtgtggtgcgcacggt gcacttgccggcccccaatgtcgcggggctgctgagtgccggcggtgctccgctgttgcaaaagcaccac gtgtgcccgcgcgacggccccgatcgtcgaaggcatgcagatccaggtgaccgcaatcgatgaaga aggtcaccgagcggtgctgcccgcgaacgcgcgtcgtgtcgaggaccggagatgaacatgagcc gggaggtcgtcgaagaccgggggttccggggaccaggtatgacgttcgcggtgctgaggtcaacgg cgtcgagaccggccgtttgccgctgcgaacgtcgtggtgaccccgccacgaagccgtggtgcgggtg ggcaccgaagcccggtaccgaggtgccccggtgatcgacggagcatctgggacgcgatcgccggctgtg aggccggtggcaactggcgatcaacaccggcaacgggtattacggtggtgtgacgtttgaccagggcacc tgggaggccaacggcggggtgcggtatgcacccgcgctgacctgccacccgcgaagagcagatcgcc gttgccgaggtgacccgactgcgtcaaggttggggcgctgcccgggtatgtgctgcacgagcgggtgcgcg ctga (SEQ ID NO:67)</p>
	<p>MRATVGLVEAIGIRELRQHASRYLARVEAGEELGVTNKGRLVARLIP VQAAERSREALIESGVLIPARRPQNLLDVTAEPARGRKRTLSDVLNE MRDEQEFMIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRL EAVVMLLAVTVSLLTIPFAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHPATA TVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITV PARWVVNGIERSGEVNAKPGTK SGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVA AVAGA LLALTRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMTTARDIMNAGVTCVG</p>

	EHETLTAAAQYMREHDIGALPICGDDDRHLHGMLTDRDIVIKGLAAGL DPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISEHRL VGIVTEADIARHLPEHAIVQFVKAICSPMALASRQKGDTKFILNAKLA CKTVTLTVDGTAMRVTTMKSRVIDIVEENGFSVDDRDDLPAAGVQ VHDADTIVLRRSRPLQISLDGHDAKQVWTTASTVDEALAQLAMTDT APAAASRASRVPLSGMALPVVSAKTVQLNDGGLVRTVHLPAPNVAG LLSAAGVPLLQSDHVVPAATAPIVEGMQIQVTRNRIKKVTERLPLPPN ARRVEDPEMNMSREVVEDPGVPGTQDVTFAVAEVNGVETGRLPVA NVVVTPAHEAVVRVGTGKPGTEVPPVIDGSIWDAIAGCEAGGNWAIN GNGYYGGVQFDQGTWEANGGLRYAPRADLATREEQIAVAEVTRLR QGWGAWPVCAARAGAR (SEQ ID NO:68)
H	atgcgtgcgactgtgggtctggtgaggcgattggcattcgcgagctgcgccaacatgccagccgttacttgg ctcgtgtcgagcggtgaagaactggcgctgacgaataagggtcgtctggcgcctcgtgattccggttca ggcagctgagcgttctcgcgagcgctgattgaatccggcgtctgatcccggtcgcgctccgcaaaacct gctggacgtgacggcgagccagctcgtggtcgcaaacgcacgctgtctgatgctgaacgaaatgcgcg acgagcaggaattcattgctgactaccgtgatcgtgaggcgcgaccatgatcagctccgctgctgctt gccgtgtcgaccattttgcgcgtgttttcgctaaccgctggtccggtgaccgaccgtctggaggcggtg tcattgctggtggcggttaccgtgagcctgctgacgatccattcgagcgagcgtggcagcgccgtccaag acagccgtagccatgtgtatgctcaccaggctcaaacccgtcaccggctactgccactgttatcgatcacga aggcgtgattgactccaataccacggcaacctccgaccgcctcgaccaagattacggttctgcgcgttgg gtggtgaatggtattgaacgcagcgcggaagttaatgcaaacgggtaccaaaagcggtgacctgtggg catctgggtcgatagcgccggtcagctggtcgacgagccggcaccggcagcgctgctgacgctgacg gcgtggtgcccgtgggtctggtgctgagcgtggcagcggtcgccggtgctgctggtgctgacgcgcg aattctgatccggttcgcaatgcgagctggcagcacgatattgatacctgtttgcacccaacgtgagctcat gaccacggcgctgatatcatgaatgcgggtgtcacctgtgttggcgagcacgaaacgttgaccgcagcag cacagtacatgcgcgaacatgatacggcgattgcccgttgcggcgacgatgatgctgacggttatgct gaccgaccgcgatatcgttatcaagggtctggccgagcgttgaccggaacaccgcgaccgcccgtgaac tggcacgtgacagcatctattacgtcgacgcgaacgccagcattcaagagatgctgaacgtgatggaagagc atcaggtgctgctgtcccgttatcagcgaacatcgtctggttggtatcgttaccgaagccgacatgcacgt cacctgccggagcagcgcgattgttcagttcgtgaaagcgattgcagcccgatggcgttggcgtctcgtcaaa aggcgacacaaaatttattctaaatgcaaaagctttgctgggcctgagcaccattagcagcaaacgcggtatga catcgactgggatgcgattgcgcagctgtgagagcggtggcaattgggcagcgaataaccggcaatggcctgt acggcggtctgcagatctccaggcgacgtgggacagcaatggtggcgtcggcagccgggtgcccgcgtc cccacaacaacagatcgaggtggcagataacattatgaaaacgcaggggtccgggtgcttgccaaaatgctc cagctgcagccagggtgacgcaccgctgggcagcctgaccacattctgacgttctgagcagcggaacccg gtggtttagcggtagccgcgatgactga (SEQ ID NO:69)
	MRATVGLVEAIGIRELRQHASRYLARVEAGEELGVTNKGRLVARLIP VQAAERSREALIESGVLIPARRPQNLLDVTAEPARGRKRTLSDVLNE MRDEQEFMIATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTDRL EAVVMLLAVTVSLLTIPFAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHPATA TVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPARWVNGIERSGEVNAKPGTK SGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVAAVAGA LLALTRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMTTARDIMNAGVTCVG EHETLTAAAQYMREHDIGALPICGDDDRHLHGMLTDRDIVIKGLAAGL DPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISEHRL VGIVTEADIARHLPEHAIVQFVKAICSPMALASRQKGDTKFILNAKLL LGLSTISSKADDIDWDAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQATW DSNGGVGSPAAASPQQQIEVADNIMKTQGPAGWPKSSCSQGDAPL GSLTHILTFLLAAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:70)
I	atggattttgcgctgctgccgcccgaagtgaacagcgcgcgcatgtataccggccccggcgccggcagcct gctggcgccggcgccggcgctgggatagcctggcgccggaactggcgaccaccgcggaagcgtatggca gcgtgctgagcggcctggcgccgctgcattggcgcgcccgccggcgcggaagcatggcggtgaccgcg

	<p>gccccgtatattggctggctgtataccaccgcgaaaaaaccagcagaccgcgattcaggcgcgcgcgcc ggcgcgtggcggttgaacaggcgtatgcgatgacctgccgccgggtggggcggaaccgcattcagc tgctggcgctgattgcgaccaactttttggccagaacaccgcgcgattgcggcgaccgaagcgcgatg cggaaatgtggcgcgaggatgcggcgcgcatgtatggctatgcgaccgcgagcgcgccggcgcgcgctgc tgaccccgtttagcccgccgcccagaccaccaaccggcgggcctgaccgcgagggcgcgcgcggtga gccaggcgaccgatccgctgagcctgctgattgaaaccgtgaccaggcgctgcaggcgctgaccattcg agctttattccggaagattttacctttctggatgcgatttttcgggctatgcgaccgtggcgctgaccaggatg tggaagcttttgggcgggcaccattggcgcggaagcaacctgggctgctgaacgtggcgatgaaaac ccggcggaagtgaccccgggcgattttggcattggcgaactggtgagcgcgaccagccggcgcgcgcg gtgagcgcgagcgggcgcgggcgcgcgcgagctgggcaacaccgtgctggcgagcggtggcgcgcg cgaacagcattggccagctgagcggtgccgccgagctggggcgcgccgagcaccggccgggtgagcgcg tgagcccgggcgggcctgaccacctgccggcgaccgatgtggcggaacatggcatgccggcgctgccgg gcgtgccgggtggcgcgggcgcgcgagcgcgctgctgccgcctatggcgctgcgctgaccgtgatgg cgcatccggcgggcgggcgaaattatgacagagcagcagtggaatttcggggtatcgaggcgcgcg aagcgcaatccagggaatgtcacgtccattcctccttgacgaggggaagcagtcctgaccaagctc gcagcgcgctggggcggtgagcggtcggagggcggtaccagggtgccagcaaaatgggacgccagggct accgagctgaacaacgcgctgcgaacctggcgcgagcagcagcgaagccggtcaggcaatggctcga ccgaagcaacgtcactgggatgttcgcagaattccatgattgcgactacctgctgagggcgcgacca tgatcacgtccgtctgctgctgccgtgcgaccattttgcgctgttttcgctaaccgctgttccggctac cgaccgtctggaggcggtgtcatgctgctggcggtaccgtgagcctgctgacgatccattcgagcgga gctggcacggcgctccaagacagcgtagccatgtgatgctaccaggtcaaaccgctaccggctact gccactgttatcgatcacgaaggcggtgattgactccaataccacggcaacctccgaccgcctcgaccaag attacggttctgcgcttgggtggtgaatggtattgaacgcagcgcggaagtaattgcaaacgggtacca aaagcggtgaccgtgtggcatctgggtcgatagcgcggtcagctggtcgagcgcgcgaccggcgagc gcgtgcgatcgccgatgcggcggtggctgccctgggtctgtggtgagcggtggcgcgcgcggtgcgt tgctggcgctgacgcgcgaattctgatccgcgttcgcaatgcgagctggcagcagatattgatgcctgtt tgcaccaacgtgagctcatgaccacggcgctgatcatgaatgcgggtgtcacctgtgttggcgagcac gaacgttgaccgcagcagcacagctacatgcgcgaacatgatatggcgattgccgatttggcgagcag gatgctctgcaggtatgctgaccgaccgcatatcgttatcaagggtctggcgcgaggttgagccgaac accgcgaccgcgggtgaactggcacgtgacagcatctattacgtcgacgcgaacgcagcattcaagagat gctgaacgtgatggaagagcatcaggtgcgtcgtgtccgggtatcagcgaacatcgtctggttggtatcgtta ccgaagcgacatcgacgtcacctgcggagcacgcgattgttcagttcgtgaaagcgatttgagccgga tggcggttggcgctctgcaaaaggcgacacaaaatttattcaaatgcaaagcttttgctggcgctgagcacc attagcagcaaaagggtgacatcgactgggatgcgattgcgagtgtagagcggtggcaattggcgagc gaataccggcaatggcctgtacggcggtctgcagatctccagggcgagctgggacgaatggtggcgctg gcagcccggtgccggtccccacaacaacagatcgaggtggcagataacattatgaaaacgcaggggtccg ggtgcttggccaaatgctccagctgcagccagggtagcgaccgctggggcagcctgaccacattctgac gttctggcagcggaaccgggtggtgtgtagcggtagcccgatgactga (SEQ ID NO:71)</p>
	<p>MDFALLPPEVNSARMYTGPGAGSLAAAGGWDSLAAELATTAEAY GSVLSGLAALHWRGPAAESMAVTAAPYIGWLYTTAEKTQQTAIQAR AAALAFEQAYAMTLPPPVAANRIQLLALIAATNFFGQNTAAIAATEA QYAEMWAQDAAAMYGYATASAAAALLTPFSPPRQTTNPAGLTAQA AAVSQATDPLSLLIETVTQALQALTIPSFIPEDFTFLDAIFAGYATVGV TQDVESFVAGTIGAESNLGLLNVGDENPAEVTGDFGIGELVSATSPG GGVSASGAGGAASVGNTVLASVGRANSIGQLSVPPSWAAPSTRPVSA LSPAGLTTLPGTDVAEHGMPGVPGVPVAAGRASGVLPRYGVRLTVM AHPPAAGEFMIAATTRDREGATMITFRLRLPCRILRVFSRNPLVRGTD RLEAVVMLLAVTVSLLTIPFAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHPA TATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPAWVNGIERSGEVNAKPG TKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVAAVA GALLALTRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMTTARDIMNAGVTC VGEHETLTAAAQYMREHDIGALPICGDDDRLHGMLTDRDIVIKGLAA</p>

	GLDPTNTATAGELARDLSIYYVDANASIQEMNLNVMEEHQVRRVPISEH RLVGIVTEADIARHLPEHAIVQFVKAICSPMALASRQKGDTKFILNAK LLLGLSTISSKADDIDWDAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQAT WDSNGGVGSPAAASPPQQIEVADNIMKTQGPRAWPKSSCSQGDAP LGLSLTHILTFLAAETGGCSGSRDDKMK (SEQ ID NO:72)
J	atggattttgcgctgctgcccgcggaagtgaacagcgcgcgcatgtataccggcccggcgcgggcagcct gctggcgcgcgggcgggcgctgggatagcctggcgcggaactggcgaccaccgcggaagcgatggca gcgtgctgagcgccctggcgcgctgcatggcgcgccccggcgcggaagcatggcggtgaccgcg gcgccgtatattggctggctgtataccaccgcggaaaaaaccagcagaccgcgattcaggcgcgcgcg ggcgctggcggttgaacaggcgatgcatgaccctgcccgcgcggctgggtggcgcggaaccgcattcagc tgttggcgctgattgcaacaactttttggccagaacaccgcggcgattggcgcgaccgaagcgagatg cggaaatgtggcgcgaggatgcggcgcgcatgtatggctatgcgaccgcgagcgcgcgcgcgcgctgc tgaccccggttagcccgccgcgccagaccaccaaccggcgggcgctgaccgcgagcgcgcgcgcggtga gccaggcgaccgatccgctgagcctgctgattgaaaccgtgaccaggcgctgcaggcgctgaccattccg agctttattccggaagattttacctttctggatgcgattttgctgggctatgcgaccgtggcgctgaccaggatg tggaaagctttgtggcgggcgaccattggcgcggaagcaacctgggctgctgaacgtggcgcatgaaac ccggcggaagtgaacccggcgatgtttggcattggcggaactgtgagcgagccagcccgggcgcgcgcg gtgagcgcgagcgcgcgcgcgcgcgcgagctggcgcaacacctgtctggcgagctgtggcgcgcg cgaaacagcattggcgagctgagcgtgcccgcgagctggcgcgcgcgagcaccgcggcggtgagcgcg tgagcccgcgggcgctgaccacctgcccggcgaccgatgtggcggaacatggcatgccggcgctgcccgg gcgtgcgggtgcccggcgcgcgcgagcgcgcgctgctggcgctatggcgctgcgcctgaccgtgatgg cgcatccgccggcgcgggcggaatttatgacagagcagcagtggaatttcggggtatcagggccgcggc aagcgcaatccagggaatgtcacgtccattccttcccttgcagagggggaagcagtccttgaccaagctc gcagcgcgctggggcggtgagcggttcggaggcggtaccagggtgacagcaaaatgggacgccacggct accgagctgaacaacgcgtgcgaacacctggcgcgagcagcagcgaagccgggtcaggcaatggcttga ccgaaggcaacgtcactgggatgttcgca <u>gaattc</u> atgattgcgactaccctgacgtgagggcgcgacca tgatcacgttccgtctgcgtctgccgtgctgcaccattttgcgcgtgttttcgctaaccgcgtggtccgcgtac cgaccgtctggaggcggtgtcatgctgctggcggttaccgtgagcctgctgacgatcccattcgacgcgga gctggcacggcgctccaaagacagcgctagccatgtgtatgtcacagggtcaaaaccgtcacccggctact gccactgttatcgtacacgaagcggtgattgactccaataccacggcaacctcgcaccgcctcgaccaag attacggttcctgcgcgttgggtgtgtgaattggtatgaacgcagcgcggaagttaatgcaaaccgggtacca aaagcggtgaccgtgtgtggcatctgggtcgatagcgccgggtcagctggtcgacgagccggcaccgccagc gcgtgcgatcccgatgcggcgctgggtgcccgtggtctgtgggtgagcgtggcagcggtcgccgggtgcgt tgttggcgctgacgcgcgcaattctgatccgcgttcgcaatgcgagctggcgacagatattgatagcgtgtt tgcacccaacgtgagctc atgaccacggcgctgatatcatgaatgcgggtgtcacctgtgttggcgagcac gaaacgttgaccgcagcagcacagtacatgcgcgaacatgatatggcgcatcgccgatttgcggcgacgat gatcgtctgcacggtatgctgaccgaccgcgatatcgttatcaagggtctggcgacggcttgaccggaac accgcgaccgcgggtgaactggcacgtgacagcatctattacgtcgacgcgaacgccagcattcaagagat gctgaacgtgatggaagagcatcaggtgcgtcgtgtcccgggttatcagcgaacatcgtctggttgatcgtta ccgaaggcgacatcgacgtcacctgcccggagcagcgcgattgttcagttcgtgaaagcgatttgacgccga tggcggttggcgctctgtcaaaaggcgacacaaaatttattcaaatgc <u>aaagctt</u> gcacgaaacgggtgac gttgaccgtgcggaacacgcgatgctgggtgaccacgatgaaactgcgggtgacgcacatcgtcgaagaga acgggttctcagtcgacgaccgcgacgacctgataccggcgccggcgctgaggtccatgacgcggacac atcgtgctgcggcgtagccgtccgtgcagatctcgtggtggatggcagcagcgttaagcaggtgtggacgacc gcgtcgacgggtggacgaggcgctggcccaactcgcatgaccgacacggcgccggcgcggttctcgc gccagccgcgtcccgtgtccgggatggcgctaccgctgcagcgcgaagacgggtgcagctcaacgacg cggggttgggtgcgcacggtgcacttggcgcccccaatgtcggggggtgctgagtgcgccggcggtgcc gctgttgcaaaagcgaccacgtggtgcccgcgcgacggccccgatcgtgaaggcatgcagatccaggtg acccgcaatcggaatgaagaaggtcaccgagcggtgccgtgccgccgaacgcgctgctgcgaggacc cggagatgaacatgagccgggaggtcgtcgaagaccgggggttcggggaccaggtatgacgttcgc ggtagctgaggtcaacggcgctgagaccggcggttgcctgcgcaacgtcgtggtgacccggccacg aagccgtgtgctgggtgggcaccaagccgggtaccgaggtcccccggtgacgcaggaagcatctggg
	acgcgatccgggtgtgaggccgggtggcaactggcgatcaacaccggcaacgggtattacgggtgtg cagtttgaccagggcacctgggagggcaacggcggtcgtcggtatgcaccccgctgacctgccaccc gcgaagagcagatcgccgttccgaggtgaccgactgcgtcaaggttggggcgcttggccggtatgtgt gcacgagcgggtgcgcgtga (SEQ ID NO:73)

	MDFALLPPEVNSARMYTGPGAGSLLAAAGGWDSLAAELATTAEAY GSVLSGLAALHWRGPAAESMAVTAAPYIGWLYTTAEKTQQTAIQAR AAALAFEQAYAMTLPPPVAANRIQLLALIATNFFGQNTAAIAATEA QYAEMWAQDAAAMYGYATASAAAALLTPFSPPRQTTNPAGLTAQA AAVSQATDPLSLLIETVTQALQALTIPSFIPEDFTFLDAIFAGYATVGV TQDVESFVAGTIGAESNLGLLNVGDENPAEVTGDFGIGELVSATSPG GGVSASGAGGAASVGNVTLASVGRANSIGQLSVPPSWAAPSTRPVSA LSPAGLTTLPGLTDVAEHGMPGVPGVPVAAGRASGVLPYGVRLTVM AHPPAAGEFMIAATTRDREGATMITFRLRLPCRTILRVFSRNPLVRGTD RLEAVVMLLAVTVSLLTIPFAAAAAGTAVQDSRSHVYAHQAQTRHPA TATVIDHEGVIDSNTTATSAPPRTKITVPARWVVNGIERSGEVNAKPG TKSGDRVGIWVDSAGQLVDEPAPPARAIADAALAALGLWLSVAAVA GALLALTRAILIRVRNASWQHDIDSLFCTQRELMTTARDIMNAGVTC VGEHETLTAQAQYMREHDIGALPICGDDDLRHGMLTDRDIVIKGLAA GLDPNTATAGELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISEH RLVGIVTEADIARHLPEHAIVQFVKAICSPMALASRQKGDTKFILNAK LACKTVTLTVDGTAMRVTTMKSRVIDIVEENGFSVDDRDDLPAAG VQVHDADTIVLRRSRPLQISLDGHDAKQVWTTASTVDEALAQLAMT DTAPAAASRASRVPLSGMALPVVSAKTVQLNDGGLVRTVHLPAPNV AGLLSAAGVPLLQSDHVVPAATAPIVEGMQIQVTRNRIKKVTERLPLP PNARRVEDPEMNMSREVVEDPGVPGTQDVTFAVAEVNGVETGRLPV ANVVVTPAHEAVVRVGTKPGTEVPPVIDGSIWDAIAGCEAGGNWAI NTGNGYYGGVQFDQGTWEANGGLRYAPRADLATREEQIAVAEVTR LRQGWGAWPVCAARAGAR (SEQ ID NO:74)
--	---

Cualquier antígeno de Mtb, incluido cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, puede tener una secuencia de aminoácidos que sea 100%, o de 70% a 99,9%, idéntica a la secuencia de aminoácidos particular enumerada en las Tablas 1 a 4. La secuencia de aminoácidos de cualquier antígeno individual de Mtb, que incluye cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, puede ser al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, o al menos un 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos particular enumerada en las Tablas 1 a 4. La identidad o la similitud con respecto a una secuencia de aminoácidos o de nucleótidos se define en el presente documento como el porcentaje de residuos de aminoácidos (o de residuos de nucleótidos, según sea el caso) en el antígeno de Mtb particular que son idénticos (es decir, el mismo residuo) con la secuencia de aminoácidos o de nucleótidos para el antígeno de Mtb que se muestra en las Tablas 1 a 4, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia. El porcentaje de identidad de la secuencia se puede determinar, por ejemplo, con el programa Gap (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison WI), mediante el uso de la configuración por defecto, que utiliza el algoritmo de Smith y Waterman (Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482-489). Cualquier número de aminoácido calculado como % de identidad se puede redondear hacia arriba o hacia abajo, según el caso, al número entero más cercano.

Cualquier antígeno de Mtb, que incluye cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, puede ser fragmentos de la secuencia particular de aminoácidos enumerada en las Tablas 1 a 3. La secuencia de aminoácidos de cualquier antígeno de Mtb individual, incluido cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, puede carecer de aminoácidos consecutivos que constituyan al menos el 20%, al menos el 15%, al menos el 10%, al menos el 5%, al menos el 4%, al menos el 3%, al menos el 2%, o al menos el 1%, de la secuencia de aminoácidos particular enumerada en las Tablas 1 a 3. Los aminoácidos consecutivos omitidos pueden ser de la porción C-terminal o N-terminal del antígeno. Alternativamente, los aminoácidos consecutivos omitidos pueden ser de la porción interna del antígeno, para de este modo conservar al menos sus aminoácidos C-terminal y N-terminal del antígeno.

Cualquier antígeno de Mtb, que incluye cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, puede tener una o más adiciones, supresiones o sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia particular de aminoácidos enumerada en las Tablas 1 a 3. Cualquier antígeno individual de Mtb, que incluye cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, puede tener al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once o al menos doce adiciones, supresiones o sustituciones de aminoácidos en comparación con la secuencia particular de aminoácidos enumerada en las Tablas 1 a 3. Las adiciones, supresiones o sustituciones de aminoácidos pueden tener lugar en cualquier posición de aminoácidos dentro del antígeno de Mtb.

Cuando un antígeno particular de Mtb, que incluye cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, comprende al menos una o más sustituciones, el/los aminoácido(s) sustituido(s) puede(n) ser, independientemente, cualquier aminoácido de origen natural o cualquier aminoácido de origen no natural. De este modo, un antígeno de Mtb particular puede comprender una o más sustituciones de aminoácidos que son aminoácidos naturales y/o una o más sustituciones de aminoácidos que son aminoácidos no naturales. Las sustituciones individuales de aminoácidos se seleccionan entre cualquiera de las siguientes: 1) el conjunto de aminoácidos con cadenas laterales no polares, por ejemplo, Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val; 2) el conjunto de aminoácidos con cadenas laterales cargadas negativamente, por ejemplo, Asp, Glu 3) el conjunto de aminoácidos con cadenas laterales cargadas positivamente, por ejemplo, Arg, His, Lys; y 4) el conjunto de aminoácidos con cadenas laterales polares no cargadas, por ejemplo, Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, a los que se añaden Cys, Gly, Met y Phe. Las sustituciones de un miembro de una clase por otro miembro de la misma clase se contemplan en el presente documento. Entre los aminoácidos naturales se encuentran, por ejemplo, alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), cisteína (Cys), glutamina (Gln), ácido glutámico (Glu), glicina (Gly) histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y valina (Val). Los aminoácidos no naturales incluyen, por ejemplo, norleucina, omitina, norvalina, homoserina y otros residuos de aminoácidos análogos tales como los descritos en Ellman *et al.*, Meth. Enzym., 1991, 202, 301-336. A fin de generar estos residuos de aminoácidos no naturales, los procedimientos de Noren *et al.*, Science, 1989, 244, 182 y Ellman *et al.*, *supra*, se pueden utilizar. Brevemente, estos procedimientos implican la activación química de un ARNt supresor con un residuo de aminoácido no natural, seguido de la transcripción y traducción *in vitro* del ARN.

Los antígenos de Mtb, incluido cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, que se modifican como se describe en el presente documento, conservan su capacidad de provocar una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis*. Es decir, la modificación de un antígeno particular de Mtb, incluido cualquier antígeno de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, seguirá permitiendo que el antígeno de Mtb resultante, o la proteína de fusión que lo comprende, provoque una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis*.

La presente divulgación también proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos dos antígenos de Mtb latentes y al menos un antígeno de Mtb de reanimación.

Las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento y en las Tablas 1 a 4 son representativas. Es decir, las secuencias específicas recitadas en las Tablas 1 a 4 son simplemente un ejemplo de una molécula de ácido nucleico que puede codificar un antígeno particular de Mtb dentro de una proteína de fusión. Un experto en la técnica que conozca el código genético puede preparar y diseñar rutinariamente una plétora de moléculas de ácido nucleico que codifiquen el mismo antígeno de Mtb. La longitud y el contenido de nucleótidos de cualquier molécula de ácido nucleico en particular están dictados por la secuencia de aminoácidos deseada del antígeno de Mtb codificado. Las secuencias de moléculas de ácido nucleico mostradas en las Tablas 1 a 4 son de ADN, aunque también se contemplan moléculas de ácido nucleico de ARN.

Tabla 5

Nombre de la cartilla	Secuencia
85B Para NdeI	ata gat cat atg ttt agc cgt cct ggc ctg c (SEQ ID NO:75)
85B Rev EcoRI nostop	tta aga gaa ttc gcc cgc acc cag aga gga t (SEQ ID NO:76)
ESAT-6 Para BamHI	aac gtt gga tcc atg aca gag cag cag tgg aa (SEQ ID NO:77)
ESAT-6 Rev EcoRI ns	ata cta gaa ttc tgc gaa cat ccc agt gac gt (SEQ ID NO:78)
1733 Para EcoRI	aac tta gaa ttc atg att gcg act cgt gat (SEQ ID NO:79)
1733 In1 Rev Xma	gat ata ccc ggg ggc ctc cag acg gtc ggt (SEQ ID NO:80)
1733 Fuera para Xma	aac gaa ccc ggg gtc caa gac agc cgt agc c (SEQ ID NO:81)
1733 Fuera Rev Xba	taa gta tct aga atc ggc gat cgc acg cgc t (SEQ ID NO:82)
1733 In2 Para Xba	ata gaa tct aga cgc gca att ctg atc cgc gt (SEQ ID NO:83)
1733 Rev ns SacI	aga taa gag ctc acg ttg ggt gca aaa cag gc (SEQ ID NO:84)

2626 Para SacI	ata gaa gag ctc atg acc acg gcg cgt gat a (SEQ ID NO:85)
2626 Rev HindIII ns	taa aga aag ctt tgc att tag aat aaa ttt tgt gtc (SEQ ID NO:86)
RpfD Para HindIII	taa cta aag ctt ttg ctg ggc ctg agc acc (SEQ ID NO:87)
RpfD Rev XhoI stop	atc taa ctc gag cta gtc atc gcg gct acc gct (SEQ ID NO:88)
ESAT6 Para NdeI	taa gat cat atg aca gag cag tgg aat ttc (SEQ ID NO:89)
ESAT-6 Rev EcoRI ns	ata cta gaa ttc tgc gaa cat ccc agt gac gt (SEQ ID NO:90)

La presente divulgación también proporciona vectores que codifican cualquiera de los antígenos de Mtb, que incluyen antígenos de Mtb dentro de cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, que incluyen cualquiera de las versiones modificadas descritas en el presente documento. El vector puede ser capaz de expresar un antígeno de Mtb en la célula de un mamífero en una cantidad eficaz para provocar una respuesta inmunitaria en el mamífero. El vector puede ser recombinante. El vector puede comprender ácido nucleico heterólogo que codifica el antígeno. El vector puede ser un plásmido. El vector puede ser útil para transfectar células con ácido nucleico que codifica un antígeno de Mtb, que la célula huésped transformada se cultiva y mantiene en condiciones en las que tiene lugar la expresión del antígeno.

Como se describe en el presente documento, las secuencias de codificación se pueden optimizar para lograr estabilidad y altos niveles de expresión. En algunos casos, los codones se seleccionan para reducir la formación de la estructura secundaria del ARN, tales como la que se forma debido al enlace intramolecular.

Como se describe en el presente documento, los vectores pueden comprender elementos reguladores para la expresión génica de las secuencias codificantes del ácido nucleico. Los elementos reguladores pueden ser un promotor, un potenciador, un codón de iniciación, un codón de parada o una señal de poliadenilación. Como se describe en el presente documento, el vector puede comprender ácido nucleico heterólogo que codifica un antígeno de Mtb y puede comprender además un codón de iniciación, que está corriente arriba de la secuencia de codificación del antígeno, y un codón de parada, que está corriente abajo de la secuencia de codificación del antígeno. El codón de iniciación y terminación están en el marco de la secuencia de codificación del antígeno.

El vector también puede comprender un promotor que está operablemente unido a la secuencia codificadora del antígeno. El promotor operativamente unido a la secuencia codificadora del antígeno de Mtb puede ser un promotor del virus simio 40 (SV40), un promotor del virus del tumor mamario del ratón (MMTV), un promotor del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) como el promotor de la repetición terminal larga (LTR) del virus de la inmunodeficiencia bovina (BIV), un promotor del virus Moloney, un promotor del virus de la leucosis aviar (ALV), un promotor del citomegalovirus (CMV) como el promotor temprano inmediato del CMV, un promotor del virus de Epstein Barr (EBV) o un promotor del virus del sarcoma de Rous (RSV), o similares. El promotor también puede ser un promotor de un gen humano tal como actina humana, miosina humana, hemoglobina humana, creatina muscular humana o metalotioneína humana. El promotor también puede ser un promotor específico del tejido, tal como un promotor específico del músculo o de la piel, natural o sintético. Ejemplos representativos de promotores incluyen el promotor del bacteriófago T7, el promotor del bacteriófago T3, el promotor SP6, el operador-promotor lac, el promotor tac, el promotor Hsp60 de las micobacterias, el promotor tardío de SV40, el promotor temprano de SV40, el promotor RSV-LTR, el promotor IE de CMV, el promotor temprano de SV40 o el promotor tardío de SV40 y el promotor IE de CMV.

El vector también puede comprender una señal de poliadenilación, que puede estar corriente abajo de la secuencia codificadora del antígeno. La señal de poliadenilación puede ser una señal de poliadenilación de SV40, una señal de poliadenilación de LTR, una señal de poliadenilación de CMV, una señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (bGH), una señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento humana (hGH) o una señal de poliadenilación de la β -globina humana. La señal de poliadenilación del SV40 puede ser una señal de poliadenilación de un vector pCEP4 (Invitrogen, San Diego, CA).

El vector también puede comprender un potenciador corriente arriba de las secuencias consenso de antígeno BoNT-A, BoNT-B, BoNT-E y BoNT-F. El potenciador puede ser necesario para la expresión del ADN. El potenciador puede ser actina humana, miosina humana, hemoglobina humana, creatina muscular humana o un potenciador viral tal como uno de CMV, HA, RSV o EBV. Las mejoras de la función de los polinucleótidos se describen en el documento Patente de EE.UU. Núm. 5.593.972, 5.962.428 y en el documento WO94/016737.

El vector también puede comprender un origen de replicación de mamífero para mantener el vector extracromosómico y producir múltiples copias del vector en una célula. El vector puede ser pVAX1, pCEP4 o pREP4 de Invitrogen (San Diego, CA), que puede comprender el origen de replicación del virus de Epstein Barr y la región de codificación del antígeno nuclear EBNA-1, que puede producir una replicación episomal de alta copia sin integración. El vector puede ser pVAX1 o una variante de pVax1 con cambios, tal como el plásmido variante descrito en el presente documento. La variante del plásmido pVax1 es una variante de 2998 pares de bases del plásmido vectorial pVAX1 (Invitrogen, Carlsbad CA). El promotor del CMV se encuentra en las bases 137 a 724. El sitio promotor/de cebado de T7 está en

las bases 664 a 683. Los sitios de clonación múltiple están en las bases 696 a 811. La señal de poliadenilación de la GH bovina se encuentra en las bases 829 a 1053. El gen de resistencia a la kanamicina se encuentra en las bases 1226 a 2020. El origen del pUC está en las bases 2320 a 2993.

5 El vector también puede comprender una secuencia reguladora, que puede ser muy adecuada para la expresión del gen en una célula de mamífero o humana en la que se administra el vector. La secuencia codificadora consensuada puede incluir un codón, que puede permitir una transcripción más eficiente de la secuencia codificadora en la célula huésped.

10 El vector puede ser pSE420 (Invitrogen, San Diego, Calif.) o pET28b (EMD Millipore, Billerica, Mass.), que se puede utilizar para la producción de proteínas en *Escherichia coli* (*E. coli*). El vector también puede ser pYES2 (Invitrogen, San Diego, California), que se puede utilizar para la producción de proteínas en cepas de levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El vector también puede ser del sistema completo de expresión de baculovirus MAXBAC™ (Invitrogen, San Diego, California), que se puede utilizar para la producción de proteínas en células de insectos. El vector también puede ser pcDNA1 o pcDNA3 (Invitrogen, San Diego, California), que se puede utilizar para la producción de proteínas en células de mamíferos tales como las células de ovario de hámster chino (CHO). El vector puede ser vectores de expresión o sistemas para producir proteínas por medio de técnicas rutinarias y materiales de partida fácilmente disponibles, entre ellos Sambrook *et al.*, Molecular Cloning and Laboratory Manual, Second Ed., Cold Spring Harbor (1989).

20 Como se describe en el presente documento, el vector es un vector viral. Los vectores virales adecuados incluyen, entre otros, un vector de adenovirus, un vector de virus de vaccinia y un vector de paramixovirus. Los vectores de adenovirus adecuados incluyen, pero no se limitan a, adenovirus 4, adenovirus 5, adenovirus de chimpancé 3, adenovirus de chimpancé 63 y adenovirus de chimpancé 68. Un vector de virus vaccinia adecuado incluye, pero no se limita a, la vaccinia Ankara modificada (MVA). Los vectores de paramixovirus adecuados incluyen, entre otros, el virus de la parainfluenza modificado (PIV2) y el virus de la parainfluenza humana recombinante (rHPIV2). Como se describe en el presente documento, el vector está presente dentro de una composición que comprende un portador farmacéuticamente aceptable. Un experto en la técnica está fácilmente familiarizado con numerosos vectores, muchos de los cuales están disponibles en el mercado.

30 a presente divulgación también proporciona células huésped que comprenden cualquiera de las moléculas de ácido nucleico o vectores divulgados en el presente documento. Las células huésped se pueden utilizar, por ejemplo, para expresar los antígenos de Mtb, o fragmentos de los mismos. Los antígenos de Mtb, o sus fragmentos, también se pueden expresar en células *in vivo*. La célula huésped que se transforma (por ejemplo, se transfecta) para producir los antígenos de Mtb, o fragmentos de los mismos, puede ser una línea celular de mamífero immortalizada, tal como las de origen linfoide (por ejemplo, una línea celular de mieloma, hibridoma, trioma o cuadroma). La célula huésped también puede incluir células linfoides normales, tales como las células B, que han sido immortalizadas por transformación con un virus (por ejemplo, el virus de Epstein-Barr).

35 Como se describe en el presente documento, las células huésped incluyen, pero no se limitan a: células bacterianas, tales como *E. coli*, *Caulobacter crescentus*, especies de *Streptomyces* y *Salmonella typhimurium*; células de levadura, tales como *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia pastoris*, *Pichia methanolica*; líneas celulares de insectos, tales como las de *Spodoptera frugiperda* (por ejemplo, líneas celulares Sf9 y Sf21, y células expresSF™ (Protein Sciences Corp, Meriden, CT, EE.UU.), células S2 de *Drosophila* y *Trichoplusia* en células High Five® (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.); y células de mamífero, tales como células COS1 y COS7, células de ovario de hámster chino (CHO), células de mieloma NS0, células NIH 3T3, células 293, células Procell92S, perC6, células HEPG2 Células HeLa, células L, HeLa, MDCK, HEK293, WI38, líneas celulares ES murinas (por ejemplo, de las cepas 129/SV, C57/BL6, DBA-1, 129/SVJ), K562, células Jurkat y BW5147. Otras líneas celulares de mamíferos útiles son bien conocidas y están disponibles en la American Type Culture Collection ("ATCC") (Manassas, VA, EE.UU.) y en el National Institute of General Medical Sciences (NIGMS) Human Genetic Cell Repository at the Coriell Cell Repositories (Camden, NJ, EE.UU.). Como se describe en este documento, la célula es un BCG recombinante. Estos tipos de células son sólo representativos y no pretenden ser una lista exhaustiva.

50 Entre otras consideraciones, algunas de las cuales se han descrito anteriormente, se puede elegir una cepa de células huésped por su capacidad de procesar los antígenos de Mtb expresados, o fragmentos de los mismos, de la forma deseada. Las modificaciones postraduccionales del polipéptido incluyen, pero no se limitan a, glicosilación, acetilación, carboxilación, fosforilación, lipidación y acilación, y es un aspecto de la presente divulgación proporcionar antígenos de Mtb con una o más de estas modificaciones postraduccionales.

55 Como se describe en el presente documento, el BCG recombinante ha sido diseñado genéticamente para expresar una proteína endosomalítica funcional que es bioactiva a valores de pH cercanos a la neutralidad (por ejemplo, alrededor de pH 6-8 o alrededor de 6,5 a 7,5). La proteína endosomalítica es activa dentro de los endosomas que contienen micobacterias, que suelen tener un pH interno cercano a la neutralidad. La actividad de la proteína endosomalítica producida por el rBCG provoca la ruptura del endosoma, lo que permite que el rBCG escape del endosoma y pase al citoplasma de la célula.

Como se describe en el presente documento, la proteína endosomalítica que se introduce en el rBCG por ingeniería

genética es la Perfringolisina O (PfoA) de *Clostridium perfringens* o un mutante de la misma, tal como PfoA_{G137Q}, como se describe en WO 2007/058663.

Como se describe en el presente documento, las *micobacterias* están atenuadas, como se ejemplifica con el BCG. Sin embargo, los expertos en la técnica reconocerán que existen otras *micobacterias* atenuadas y no atenuadas que también serían adecuadas para su uso en el presente documento. Entre los ejemplos de tipos adicionales de *micobacterias* se incluyen, entre otros, la cepa *M. tuberculosis* CDC1551, la cepa *M. tuberculosis* Beijing, la cepa *M. tuberculosis* H37Ra (ATCC#:25177), la cepa *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC#:25618), *M. bovis* (ATCC#:19211 y 27291), *M. fortuitum* (ATCC#:15073), *M. smegmatis* (ATCC#:12051 y 12549), *M. intracellulare* (ATCC#:35772 y 13209), *M. kansasii* (ATCC#:21982 y 35775) *M. avium* (ATCC#:19421 y 25291), *M. gallinarum* (ATCC#:19711), *M. vaccae* (ATCC#:15483 y 23024), *M. leprae* (ATCC#), *M. marinum* (ATCC#:11566 y 11567), y *M. microti* (ATCC#:11152).

Los ejemplos de cepas de *Mycobacterium* atenuadas incluyen, pero no se limitan a, la cepa auxiliar de pantotenato de *M. tuberculosis*, la cepa mutante rpoV de *M. tuberculosis*, la cepa auxiliar de leucina de *M. tuberculosis*, la cepa danesa de BCG (ATCC # 35733), la cepa japonesa de BCG (ATCC # 35737), la cepa de Chicago de BCG (ATCC # 27289), la cepa de Copenhague de BCG (ATCC #: 27290), la cepa BCG Pasteur (ATCC #: 35734), la cepa BCG Glaxo (ATCC #: 35741), la cepa BCG Connaught (ATCC # 35745), la cepa BCG Montreal (ATCC # 35746), la cepa BCG1331, la cepa BCG Tokyo, la cepa BCG Moreau, la cepa BCG-Pasteur Aeras y la cepa BCG Moscow.

Como se describe en el presente documento, la célula que comprende uno o más vectores está presente dentro de una composición que comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

Como se describe en el presente documento, el antígeno de Mtb, o un fragmento del mismo, está marcado con un marcador detectable. Los marcadores detectables incluyen, entre otros, isótopos radiactivos (tales como P32 y S35), enzimas (tales como la peroxidasa de rábano picante, la cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), la β -galactosidasa (β -gal) y similares), fluorocromos, cromóforos, oro coloidal, tintes y biotina. Los antígenos de Mtb marcados, o sus fragmentos, se pueden utilizar para llevar a cabo procedimientos de diagnóstico en una variedad de tipos de células o tejidos. A fin de los procedimientos de obtención de imágenes, *in vitro* o *in vivo*, los antígenos de Mtb se pueden marcar con agentes adicionales, tales como agentes de contraste de RMN, agentes de contraste de rayos X o puntos cuánticos. Los procedimientos para unir un agente detectable a los polipéptidos son conocidos en la técnica. Los antígenos de Mtb también se pueden unir a un soporte insoluble (tal como una perla, un portaobjetos de vidrio o plástico, o similar).

Como se describe en el presente documento, los antígenos de Mtb, o fragmentos de los mismos, se pueden conjugar con un agente terapéutico que incluye, pero no se limita a, radioisótopos (tales como ¹¹¹In o ⁹⁰Y), toxinas (tales como toxoide tetánico o ricina), toxoides y agentes quimioterapéuticos.

Como se describe en el presente documento, los antígenos de Mtb, o fragmentos de los mismos, se pueden conjugar con un agente de imagen. Los agentes de imagen incluyen, por ejemplo, una fracción de etiquetado (tal como biotina, fracciones fluorescentes, fracciones radiactivas, etiqueta de histidina u otras etiquetas peptídicas) para facilitar el aislamiento o la detección.

La presente divulgación también proporciona composiciones que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en las que la composición comprende: al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes y al menos un antígeno de Mtb de reanimación. Como se describe en el presente documento, los al menos tres antígenos de Mtb no están presentes en una proteína de fusión. Como se describe en el presente documento, los al menos tres antígenos de Mtb están en forma de proteína y no de moléculas de ácido nucleico que codifican los antígenos de Mtb.

Como se describe en el presente documento, el antígeno agudo de Mtb es Ag85B, ESAT6, MPT64, PPE15, PPE51 o Rv3615c. Como se describe en el presente documento, el antígeno latente de Mtb es Rv1733c, Rv2626c, Rv3407 o Rv2628c. Como se describe en el presente documento, la primera y/o la segunda región transmembrana de Rv1733c se elimina (Rv1733c Δ TM). Como se describe en el presente documento, el antígeno de Mtb de reanimación es RpfB, RpfD o RpfE. Como se describe en el presente documento, la composición comprende al menos cuatro antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la composición comprende: Antígenos de Mtb ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD; antígenos de Mtb ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfB; antígenos de Mtb RpfB, ESAT6, Rv1733c y Rv2626c; antígenos de Mtb Ag85B, ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD; Ag85B, ESAT6, Rv1733c, Rv2626c, y RpfB antígenos de Mtb; PPE51, Rv1733c, Rv2628c, y RpfD antígenos de Mtb; PPE51, Rv1733c, Rv2628c y antígenos RpfB Mtb; Rv3407, Rv1733c, Rv2626c y antígenos RpfB Mtb; o Rv3407, Rv1733c, Rv2626c y antígenos RpfD Mtb. Como se describe en el presente documento, la composición comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.

La presente divulgación también proporciona composiciones que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en las que la composición comprende: al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; en las que la composición comprende al menos una molécula

de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la composición comprende un antígeno de Mtb en forma de proteína y una o dos moléculas de ácido nucleico que codifican dos antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la composición comprende dos antígenos de Mtb en forma de proteína, opcionalmente como proteína de fusión, y una molécula de ácido nucleico que codifica un antígeno de Mtb. De este modo, la presente composición es una mezcla de un antígeno(s) proteico de Mtb y una molécula(s) de ácido nucleico que codifica(n) un antígeno(s) de Mtb.

Como se describe en el presente documento, al menos dos antígenos de Mtb están codificados por una o más moléculas de ácido nucleico dentro de uno o más vectores. Como se describe en el presente documento, el uno o más vectores es uno o más vectores virales. Como se describe en el presente documento, los uno o más vectores virales son uno o más de los vectores de adenovirus, vectores de virus de vaccinia o vectores de paramixovirus. Como se describe en el presente documento, el vector de adenovirus es el adenovirus 4, el adenovirus 5, el adenovirus de chimpancé 3, el adenovirus de chimpancé 63 o el adenovirus de chimpancé 68. Como se describe en el presente documento, el uno o más vectores de virus vaccinia es el Ankara vaccinia modificado (MVA). Como se describe en el presente documento, los uno o más vectores de paramixovirus son uno o más de los virus de la parainfluenza modificados (PIV2 o PIV3) o del virus de la parainfluenza humana recombinante (rHPIV2). Como se describe en el presente documento, los al menos dos antígenos de Mtb están codificados por una única molécula de ácido nucleico dentro del mismo vector de expresión como proteína de fusión.

Como se describe en el presente documento, el antígeno agudo de Mtb es Ag85B, ESAT6, MPT64, PPE15, PPE51 o Rv3615c. Como se describe en el presente documento, el antígeno latente de Mtb es Rv1733c, Rv2626c, Rv3407 o Rv2628c. Como se describe en el presente documento, la primera y/o la segunda región transmembrana de Rv1733c se elimina. Como se describe en el presente documento, el antígeno de Mtb de reanimación es RpfB, RpfD o RpfE. Como se describe en el presente documento, la composición comprende al menos cuatro antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la composición comprende: Antígenos de Mtb ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD; antígenos de Mtb ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfB; antígenos de Mtb RpfB, ESAT6, Rv1733c y Rv2626c; Ag85B, ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD antígenos de Mtb; Ag85B, ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfB antígenos de Mtb; PPE51, Rv1733c, Rv2628c, y RpfD antígenos de Mtb; PPE51, Rv1733c, Rv2628c, y RpfB antígenos de Mtb; Rv3407, Rv1733c, Rv2626c, y RpfB antígenos de Mtb; o Rv3407, Rv1733c, Rv2626c, y RpfD antígenos de Mtb; en los que dos o más antígenos de Mtb pueden estar dentro de una proteína de fusión. Como se describe en el presente documento, la composición comprende al menos cuatro antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la composición comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.

Como se describe en el presente documento, cuando se utiliza un rBCG como portador para entregar los antígenos de Mtb, o las proteínas de fusión, o los ácidos nucleicos y o los vectores que comprenden o codifican los mismos, la expresión de todo o parte del regulador Dos R no se regula al alza en el rBCG. Como se describe en el presente documento, uno o más de los siguientes antígenos del regulón Dos R no están regulados al alza en el rBCG: Rv1738, Rv2623, Rv2031c, Rv2032, Rv2626c, Rv2005c, Rv3127, Rv1733c, Rv1996, Rv2628c, Rv0079, Rv3130c, Rv3131, Rv1813c, Rv2006, Rv2029c, Rv2627c, Rv2030c, Rv3132c y Rv2629. Como se describe en el presente documento, el rBCG no comprende la regulación al alza de: 1) uno o más antígenos de Mtb, incluidos los antígenos "clásicos" de Mtb tales como el 85A, el 85B y el TB 10.4; y 2) al menos un antígeno de resucitación de Mtb seleccionado entre el Rv0867c, el Rv1009, el Rv1884c, el Rv2389c, el Rv2450c, el Rv0288, el Rv1009, el Rv0685, el Rv0824c, el Rv1349, el Rv2744c, el Rv3347c, el Rv1130 y el Rv1169c. Como se describe en este documento, el rBCG no incluye la expresión de las siguientes combinaciones: antígenos clásicos Rv1886c, Rv3804c; antígenos de reanimación Rv0867c, Rv1884c, Rv2389c; y antígeno específico de Mtb Rv3407. Como se describe en el presente documento, el rBCG no incluye la expresión de la siguiente combinación: Rv3804c, Rv1886c y Rv3407, o además con Rv3133c, y con la combinación de Rv0867c, Rv1884c y Rv2389c. Como se describe en el presente documento, el rBCG no incluye la expresión de la siguiente combinación: TB10.4, Ag85B, Ag85A y Rv3407. Como se describe en el presente documento, la célula no es un rBCG.

La presente divulgación también proporciona composiciones que comprenden una o más de las proteínas de fusión, antígenos de Mtb, moléculas de ácido nucleico que codifican antígenos de Mtb, que incluyen proteínas de fusión de los mismos, células y/o vectores y un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones incluyen, por ejemplo, composiciones farmacéuticas. Un portador farmacéuticamente aceptable se refiere a al menos un componente de una preparación farmacéutica que normalmente se utiliza para la administración de ingredientes activos. Como tal, un portador puede contener cualquier excipiente farmacéutico utilizado en la técnica y cualquier forma de portador para la administración. Los portadores incluyen, entre otros, solución salina tamponada con fosfato, solución salina fisiológica, agua, formulaciones de citrato/sacarosa/Tween y emulsiones tales como, por ejemplo, emulsiones de aceite/agua.

Las composiciones también pueden incluir un agente terapéutico activo y una variedad de otros componentes farmacéuticamente aceptables. Véase Remington's Pharmaceutical Science (15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (1980)). La forma deseada depende del modo de administración previsto y de la aplicación terapéutica. Las composiciones también pueden incluir, dependiendo de la formulación deseada, portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables y no tóxicos, que se definen como portadores comúnmente utilizados para formular composiciones farmacéuticas para la administración animal o humana. El diluyente se selecciona de forma

que no afecte a la actividad biológica de la combinación. Ejemplos de tales diluyentes incluyen, pero no se limitan a, agua destilada, solución salina fisiológica tamponada con fosfato, soluciones de Ringer, solución de dextrosa y solución de Hank. Además, la composición o formulación farmacéutica también puede incluir otros portadores, adyuvantes o estabilizadores no tóxicos, no terapéuticos, no inmunogénicos y similares.

- 5 Las formulaciones sólidas de las composiciones para administración oral pueden contener portadores o excipientes adecuados, tales como almidón de maíz, gelatina, lactosa, acacia, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, carbonato de calcio, cloruro de sodio o ácido algínico. Los desintegradores que se pueden utilizar incluyen, sin limitación, celulosa microcristalina, almidón de maíz, glicolato de almidón de sodio y ácido algínico. Los
- 10 aglutinantes de los comprimidos que se pueden utilizar son la acacia, la metilcelulosa, la carboximetilcelulosa sódica, la polivinilpirrolidona (Povidone™), la hidroxipropilmetilcelulosa, la sacarosa, el almidón y la etilcelulosa. Entre los lubricantes que se pueden utilizar están los estearatos de magnesio, el ácido esteárico, el líquido de silicona, el talco, las ceras, los aceites y la sílice coloidal. Los excipientes adicionales incluyen, por ejemplo, colorantes, agentes de enmascaramiento del sabor, auxiliares de solubilidad, agentes de suspensión, agentes de compresión, recubrimientos entéricos, auxiliares de liberación sostenida y similares.
- 15 Como se describe en el presente documento, las composiciones se pueden administrar en forma de inyección de depósito o preparación de implante, que se puede formular de forma que permita una liberación sostenida. Una composición ejemplar comprende una o más de las composiciones descritas en el presente documento formuladas en un tampón acuoso.

- 20 Como se describe en el presente documento, las formulaciones líquidas de una composición farmacéutica para administración oral preparadas en agua u otros portadores acuosos pueden contener diversos agentes de suspensión, tales como metilcelulosa, alginatos, tragacanto, pectina, kelgin, carragenina, acacia, polivinilpirrolidona y alcohol polivinílico. Las formulaciones líquidas de las composiciones farmacéuticas también pueden incluir soluciones, emulsiones, jarabes y elixires que contengan, junto con el o los compuestos activos, agentes humectantes, edulcorantes y agentes colorantes y aromatizantes. Varias formulaciones líquidas y en polvo de las composiciones
- 25 farmacéuticas se pueden preparar por procedimientos convencionales para su inhalación en los pulmones del mamífero a tratar.

- Como se describe en el presente documento, las formulaciones líquidas de una composición farmacéutica inyectable pueden comprender diversos portadores tales como aceites vegetales, dimetilacetamida, dimetilformamida, lactato de etilo, carbonato de etilo, miristato de isopropilo, etanol, polioles tales como, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido y similares. Como se describe en el presente documento, la composición incluye un portador de
- 30 citrato/sacarosa/tween. En el caso de las inyecciones intravenosas, las versiones hidrosolubles de las composiciones se pueden administrar por el procedimiento de goteo, por medio del cual se infunde una formulación farmacéutica que contiene el agente antifúngico y un excipiente fisiológicamente aceptable. Los excipientes fisiológicamente aceptables pueden incluir, por ejemplo, dextrosa al 5%, solución salina al 0,9%, solución de Ringer u otros excipientes adecuados.
- 35 Una forma insoluble adecuada de la composición se puede preparar y administrar como una suspensión en una base acuosa o una base oleosa farmacéuticamente aceptable, tal como un éster de un ácido graso de cadena larga tal como, por ejemplo, el oleato de etilo.

- Las composiciones pueden ser, por ejemplo, soluciones inyectables, suspensiones o soluciones acuosas, suspensiones o soluciones no acuosas, formulaciones orales sólidas y líquidas, bálsamos, geles, ungüentos, parches
- 40 intradérmicos, cremas, lociones, comprimidos, cápsulas, formulaciones de liberación sostenida y similares. Como se describe en el presente documento, para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas se pueden formular en una pomada adecuada. Como se describe en el presente documento, una formulación tópica de pomada semisólida comprende típicamente una concentración del ingrediente activo de aproximadamente 1 a 20%, o de 5 a 10%, en un portador, tal como una base de crema farmacéutica. Algunos ejemplos de formulaciones de una composición para uso
- 45 tópico incluyen, pero no se limitan a, gotas, tinturas, lociones, cremas, soluciones y ungüentos que contienen el ingrediente activo y varios soportes y portadores.

- Típicamente, las composiciones se preparan como inyectables, ya sea como soluciones líquidas o suspensiones; también se pueden preparar formas sólidas adecuadas para la solución en, o la suspensión en, portadores líquidos antes de la inyección. El preparado también se puede emulsionar o encapsular en liposomas o micropartículas tales
- 50 como polilactida, poliglicolida o copolímero para mejorar el efecto adyuvante (véase Langer, Science, 1990, 249, 1527 y Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews, 1997, 28, 97). También se puede preparar una preparación inyectable estéril tal como, por ejemplo, una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable. Estas suspensiones se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica mediante el uso de agentes de dispersión o humedecimiento adecuados y agentes de suspensión. Como se describe en el presente documento, la composición
- 55 farmacéutica se puede administrar en un dispositivo de microencapsulación para reducir o prevenir una respuesta inmunitaria del huésped contra la proteína.

- Las dosis efectivas de las composiciones de la presente divulgación, para el tratamiento de una condición varían y dependen de muchos factores diferentes, que incluyen los medios de administración, el sitio de destino, el estado fisiológico del individuo, si el individuo es humano o un animal, otros medicamentos administrados, y si el tratamiento
- 60 es profiláctico o terapéutico. Por lo general, el individuo es un humano, pero también se pueden tratar mamíferos no

humanos, incluidos los transgénicos.

Como se describe en el presente documento, las composiciones se pueden administrar a un individuo por inyección intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intramedular, intraventricular, intraepidural, intraarterial, intravascular, intraarticular, por vía intrasinoval, intrasternal, intratecal, intrahepática, intraespinal, intratumoral, intracraneal, enteral, intrapulmonar, transmucosa, intrauterina, sublingual, o localmente en sitios de inflamación o crecimiento tumoral mediante el uso de procedimientos estándar. Alternativamente, las composiciones se pueden administrar a un individuo por vías que incluyen la oral, nasal, oftálmica, rectal o tópica. La vía de administración más típica es la intravascular, subcutánea o intramuscular, aunque otras vías pueden ser eficaces. Como se describe en el presente documento, las composiciones se administran como una composición o dispositivo de liberación sostenida, tal como un dispositivo Medipad™. La composición también se puede administrar a través de las vías respiratorias, por ejemplo, mediante el uso de un dispositivo de inhalación de polvo seco, un nebulizador o un inhalador de dosis medida. La composición también se puede administrar por medio de jeringuillas tradicionales, dispositivos de inyección sin aguja, "pistolas de bombardeo de microproyectos" u otros procedimientos físicos tales como la electroporación ("EP"), el "procedimiento hidrodinámico" o los ultrasonidos.

Como se describe en el presente documento, la composición se puede administrar a un individuo por medio de una administración de liberación sostenida, por medios tales como inyecciones de depósito de implantes erodables aplicados directamente durante la cirugía o por medio de la implantación de una bomba de infusión o un implante biocompatible de liberación sostenida en el individuo. Alternativamente, la composición se puede administrar a un individuo por vías de administración de depósito inyectables, como por ejemplo mediante el uso de materiales y procedimientos inyectables o biodegradables de depósito de 1, 3 o 6 meses, o la aplicación a la piel del individuo de un parche transdérmico que contenga la composición, y dejar el parche en contacto con la piel del individuo, generalmente de 1 a 5 horas por parche.

Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden desde aproximadamente 1 nanogramo hasta aproximadamente 10 mg de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden: 1) al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 nanogramos, o al menos 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340, 345, 350, 355, 360, 365, 370, 375, 380, 385, 390, 395, 400, 405, 410, 415, 420, 425, 430, 435, 440, 445, 450, 455, 460, 465, 470, 475, 480, 485, 490, 495, 500, 605, 610, 615, 620, 625, 630, 635, 640, 645, 650, 655, 660, 665, 670, 675, 680, 685, 690, 695, 700, 705, 710, 715, 720, 725, 730, 735, 740, 745, 750, 755, 760, 765, 770, 775, 780, 785, 790, 795, 800, 805, 810, 815, 820, 825, 830, 835, 840, 845, 850, 855, 860, 865, 870, 875, 880, 885, 890, 895, 900, 905, 910, 915, 920, 925, 930, 935, 940, 945, 950, 955, 960, 965, 970, 975, 980, 985, 990, 995 o 1000 microgramos, o al menos 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 mg o más; y 2) hasta 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 nanogramos, o hasta 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340, 345, 350, 355, 360, 365, 370, 375, 380, 385, 390, 395, 400, 405, 410, 415, 420, 425, 430, 435, 440, 445, 450, 455, 460, 465, 470, 475, 480, 485, 490, 495, 500, 605, 610, 615, 620, 625, 630, 635, 640, 645, 650, 655, 660, 665, 670, 675, 680, 685, 690, 695, 700, 705, 710, 715, 720, 725, 730, 735, 740, 745, 750, 755, 760, 765, 770, 775, 780, 785, 790, 795, 800, 805, 810, 815, 820, 825, 830, 835, 840, 845, 850, 855, 860, 865, 870, 875, 880, 885, 890, 895, 900, 905, 910, 915, 920, 925, 930, 935, 940, 945, 950, 955, 960, 965, 970, 975, 980, 985, 990, 995 o 1000 microgramos, o hasta 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 mg.

Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden de unos 5 nanogramos a unos 10 mg de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden desde aproximadamente 25 nanogramos hasta aproximadamente 5 mg de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 50 nanogramos y 1 mg de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 0,1 y 500 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 1 y 350 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 5 y 250 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 10 y 200 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 15 y 150 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 20 y 100 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 25 y 75 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 30 y 50 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 35 y 40 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 100 y 200 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden entre aproximadamente 10 y aproximadamente 100 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden entre aproximadamente 20 y aproximadamente

80 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden entre aproximadamente 25 y aproximadamente 60 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden entre aproximadamente 30 nanogramos y 50 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones comprenden entre aproximadamente 35 nanogramos y 45 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 0,1 y 500 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 1 y 350 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 25 y 250 microgramos de molécula de ácido nucleico. Como se describe en el presente documento, las composiciones contienen entre aproximadamente 100 y 200 microgramos de molécula de ácido nucleico.

Las composiciones se pueden formular de acuerdo con el modo de administración que se vaya a utilizar. En los casos en que las composiciones son composiciones farmacéuticas inyectables, son estériles, libres de pirógenos y de partículas. Se puede utilizar una formulación isotónica. Generalmente, los aditivos para la isotonicidad pueden incluir cloruro de sodio, dextrosa, manitol, sorbitol y lactosa. En algunos casos, son adecuadas las soluciones isotónicas, tales como la solución salina tamponada con fosfato. Los estabilizadores incluyen la gelatina y la albúmina. Como se describe en este documento, se añade un agente vasoconstrictor a la formulación.

Las composiciones pueden comprender además un excipiente farmacéuticamente aceptable. El excipiente farmacéuticamente aceptable puede ser moléculas funcionales tales como portadores, adyuvantes, portadores o diluyentes. El excipiente farmacéuticamente aceptable puede ser un agente facilitador de la transfección, que puede incluir agentes activos de superficie, tales como complejos inmunoestimulantes (ISCOMS), adyuvante incompleto de Freund, análogo del LPS, incluido el monofosforilípido A péptidos de muramil, análogos de quinona, vesículas tales como escualeno y escualano, ácido hialurónico, lípidos, liposomas, iones de calcio, proteínas virales, polianiones, policationes o nanopartículas, u otros agentes facilitadores de la transfección conocidos.

El agente facilitador de la transfección es un polianión, un polication, incluido el poli-L-glutamato (LGS), o un lípido. El agente facilitador de la transfección es poli-L-glutamato, y más convenientemente, el poli-L-glutamato está presente en la composición a una concentración inferior a 6 mg/ml. El agente facilitador de la transfección también puede incluir agentes activos de superficie tales como complejos inmunoestimulantes (ISCOMS), adyuvante incompleto de Freund, análogo de LPS que incluye el lípido monofosforil A, péptidos de muramilo, análogos de quinona y vesículas tales como el escualeno y el escualano, y el ácido hialurónico también se puede utilizar administrado junto con la construcción genética. Como se describe en el presente documento, las composiciones de plásmidos también pueden incluir un agente facilitador de la transfección tales como lípidos, liposomas, que incluyen liposomas de lecitina u otros liposomas conocidos en la técnica, como una mezcla de ADN-liposoma (véase por ejemplo el documento WO9324640), iones de calcio, proteínas virales, polianiones, policationes o nanopartículas, u otros agentes facilitadores de la transfección conocidos. Como se describe en el presente documento, el agente facilitador de la transfección es un polianión, un polication, que incluye el poli-L-glutamato (LGS), o un lípido. La concentración del agente de transfección en la composición es inferior a 4 mg/ml, inferior a 2 mg/ml, inferior a 1 mg/ml, inferior a 0,750 mg/ml, inferior a 0,500 mg/ml, inferior a 0,250 mg/ml, inferior a 0,100 mg/ml, inferior a 0,050 mg/ml o inferior a 0,010 mg/ml.

El excipiente farmacéuticamente aceptable puede ser un adyuvante. El adyuvante puede ser otros genes que se expresan en el plásmido alternativo o se entregan como proteínas en combinación con el plásmido anterior. El adyuvante se puede seleccionar del grupo formado por: α -interferón (IFN- α), β -interferón (IFN- β), γ -interferón, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, factor de crecimiento epidérmico (EGF), quimioquina atrayente de células T cutáneas (CTACK) quimioquina expresada por el timo epitelial (TECK), quimioquina epitelial asociada a la mucosa (MEC), IL-12, IL-15, MHC, CD80, CD86, incluida la IL-15 con la secuencia de señal suprimida y opcionalmente con el péptido señal de la IgE. El adyuvante puede ser IL-12, IL-15, IL-28, CTACK, TECK, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, factor de crecimiento epidérmico (EGF), IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, o una combinación de ellos.

Otros genes que pueden ser adyuvantes útiles incluyen los que codifican MCP-1, MIP-1a, MIP-1p, IL-8, L-selectina, P-selectina, E-selectina, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-4, formas mutantes de IL-18, CD40, CD40L, factor de crecimiento vascular, factor de crecimiento de fibroblastos, IL-7, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento endotelial vascular, Fas, receptor del TNF, Flt, Apo-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, Caspasa ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, Ikb, Inactive NIK, SAP K, SAP-1, JNK, genes de respuesta al interferón, NFkB, Bax, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK LIGAND, Ox40, Ox40 LIGAND, NKG2D, MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 y sus fragmentos funcionales.

Las composiciones plasmídicas pueden comprender además un agente facilitador de vacunas genéticas como se describe en U.S. Serial No. 021,579 presentado el 1 de abril de 1994.

La presente divulgación también proporciona kits que comprenden cualquiera de los antígenos de Mtb, fragmentos de

los mismos, proteínas de fusión, moléculas de ácido nucleico, vectores o células, descritos en el presente documento. El kit puede incluir, por ejemplo, contenedor(es), paquete(s) o dispensador(es) junto con etiquetas e instrucciones de administración o uso.

La presente divulgación también proporciona procedimientos para provocar una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad inmunológicamente suficiente de una o más proteínas de fusión que comprenden al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en la que al menos una proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb. Se puede administrar cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento. Como se describe en el presente documento, la proteína de fusión comprende al menos cuatro antígenos de Mtb.

La presente divulgación también proporciona procedimientos para provocar una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad inmunológicamente suficiente de una composición que comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en la que la composición comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; y un portador farmacéuticamente aceptable. Se puede administrar cualquiera de las composiciones que comprenden tres o más antígenos de Mtb. Como se describe en el presente documento, la composición comprende al menos cuatro antígenos de Mtb.

La presente divulgación también proporciona procedimientos para provocar una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad inmunológicamente suficiente de una composición que comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), en la que la composición comprende: al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb. Se puede administrar cualquiera de las composiciones que comprenden una mezcla de una o más proteínas de antígeno de Mtb y una o más moléculas de ácido nucleico que codifican uno o más antígenos de Mtb descritos en el presente documento.

Las proteínas de fusión y las composiciones descritas en el presente documento se pueden utilizar para tratar o prevenir la tuberculosis. Como se describe en el presente documento, el procedimiento comprende la administración a un ser humano de una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de cualquiera de las proteínas de fusión o composiciones descritas en el presente documento, de forma que se disminuya o prevenga la infección por tuberculosis.

Como se describe en el presente documento, el individuo a tratar habrá sido diagnosticado previamente de tuberculosis. De este modo, estos individuos habrán sido diagnosticados como necesitados de dicho tratamiento. Alternativamente, el tratamiento puede estar destinado a prevenir una infección de tuberculosis en un individuo que todavía no tiene tuberculosis o a un individuo que viaja a una zona donde la tuberculosis es prevalente.

El tratamiento de un individuo que sufre de tuberculosis puede ser monitoreado mediante el uso de procedimientos estándar. Algunos procedimientos implican la determinación de un valor de referencia, por ejemplo, de un nivel o perfil de anticuerpos en un individuo, antes de administrar una dosis de agente, y su comparación con un valor del perfil o nivel después del tratamiento. Un aumento significativo como, por ejemplo, mayor que el margen típico de error experimental en las mediciones repetidas de la misma muestra, expresado como una desviación estándar de la media de dichas mediciones en valor del nivel o perfil señala un resultado positivo del tratamiento (es decir, que la administración del agente ha logrado una respuesta deseada). Si el valor de la respuesta inmunitaria no cambia significativamente, o disminuye, se indica un resultado negativo del tratamiento.

Como se describe en el presente documento, se determina un valor de control, tal como una media y una desviación estándar, de nivel o perfil para una población de control. Normalmente, los individuos de la población de control no han recibido tratamiento previo. Los valores medidos del nivel o perfil en un individuo tras la administración de un agente terapéutico se comparan entonces con el valor de control. Un aumento significativo en relación con el valor de control, tal como una desviación estándar de la media, indica un resultado positivo o suficiente del tratamiento. La ausencia de un aumento significativo o una disminución señala un resultado negativo o insuficiente del tratamiento. La administración de la terapéutica se continúa generalmente mientras el nivel aumenta en relación con el valor de control. Al igual que antes, la consecución de una meseta en relación con los valores de control es un indicador de que la administración del tratamiento se puede interrumpir o reducir en dosis y/o frecuencia.

Como se describe en el presente documento, un valor de control del nivel o perfil, tal como una media y una desviación estándar, se determina a partir de una población de control de individuos que se han sometido a un tratamiento con un agente terapéutico y cuyos niveles o perfiles se han estabilizado en respuesta al tratamiento. Los valores medidos de los niveles o perfiles en un individuo se comparan con el valor de control. Si el nivel medido en un individuo no es significativamente diferente, por ejemplo, en más de una desviación estándar, del valor de control, el tratamiento puede

ser interrumpido. Si el nivel en un individuo es significativamente inferior al valor de control, se justifica la administración continuada del agente. Si el nivel en el individuo persiste por debajo del valor de control, puede estar indicado un cambio de tratamiento.

Como se describe en el presente documento, un individuo que no está recibiendo actualmente un tratamiento, pero que ha sido sometido a un curso de tratamiento anterior, es monitoreado para los niveles o perfiles de anticuerpos para determinar si se requiere una reanudación del tratamiento. El nivel o perfil medido en el individuo puede compararse con un valor previamente alcanzado en el individuo tras un curso de tratamiento anterior. Una disminución significativa con respecto a la medición anterior, por ejemplo, mayor que un margen de error típico en las mediciones repetidas de la misma muestra, es una indicación de que se puede reanudar el tratamiento. Alternativamente, el valor medido en un individuo se puede comparar con un valor de control (media más desviación estándar) determinado en una población de individuos después de someterse a un curso de tratamiento. Alternativamente, el valor medido en un individuo se puede comparar con un valor de control en poblaciones de individuos tratados profilácticamente que permanecen libres de síntomas de la enfermedad, o poblaciones de individuos tratados terapéuticamente que muestran una mejora de las características de la enfermedad. En todos estos casos, una disminución significativa en relación con el nivel de control, tal como más de una desviación estándar, es un indicador de que el tratamiento debe reanudarse en un individuo.

En algunos procedimientos, se lleva a cabo una medición de referencia de los anticuerpos contra un antígeno dado en el individuo antes de la administración, se lleva a cabo una segunda medición poco después para determinar el nivel máximo de anticuerpos, y se llevan a cabo una o más mediciones adicionales a intervalos para controlar la disminución de los niveles de anticuerpos. Cuando el nivel de anticuerpos ha disminuido hasta la línea de base o un porcentaje predeterminado del pico menos la línea de base, tal como el 50%, el 25% o el 10%, se administra otra dosis de antígeno. Como se describe en el presente documento, los niveles máximos o subsiguientes medidos menos el fondo se comparan con los niveles de referencia previamente determinados para constituir un régimen de tratamiento profiláctico o terapéutico beneficioso en otros individuos. Si el nivel de anticuerpos medido es significativamente inferior a un nivel de referencia, tal como por ejemplo inferior a la media menos una desviación estándar del valor de referencia en la población de individuos que se benefician del tratamiento, está indicada la administración de una dosis adicional de antígeno.

Como se describe en el presente documento, el/los individuo(s) que puede(n) ser tratado(s) por los procedimientos descritos anteriormente es un animal, tal como un mamífero, que incluye, pero no se limita a, humanos, primates no humanos, roedores (que incluyen ratas, ratones, hámsters y cobayas) vaca, caballo, oveja, cabra, cerdo, perro y gato. En la mayoría de las instancias, el mamífero es un ser humano.

La presente divulgación también proporciona proteínas de fusión para su uso en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en el que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en el que la proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

La presente divulgación también proporciona proteínas de fusión para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la proteína de fusión comprende: al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes y al menos un antígeno de Mtb de reanimación.

La presente divulgación también proporciona usos de una proteína de fusión en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en el que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en el que la proteína de fusión comprende al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

La presente divulgación también proporciona usos de una proteína de fusión en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la proteína de fusión comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la proteína de fusión comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb.

La presente divulgación también proporciona composiciones para su uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en las que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en las que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable.

La presente divulgación también proporciona composiciones para su uso en el tratamiento o la prevención de una

infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en las que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en las que la composición comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; y un portador farmacéuticamente aceptable.

5 La presente divulgación también proporciona usos de una composición en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable.

10 La presente divulgación también proporciona usos de una composición para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende: al menos un antígeno agudo de Mtb, al menos un antígeno latente de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; o al menos dos antígenos latentes de Mtb, y al menos un antígeno de resucitación de Mtb; y un portador farmacéuticamente aceptable.

15 La presente divulgación también proporciona composiciones para su uso en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en las que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en las que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el
20 que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.

La presente divulgación también proporciona composiciones para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en las que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en las que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al
25 menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.

La presente divulgación también proporciona usos de una composición en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres
30 antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.

35 La presente divulgación también proporciona usos de una composición para tratar o prevenir una infección por *Mycobacterium tuberculosis*, en la que la composición comprende al menos tres antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), y en la que la composición comprende al menos un antígeno de Mtb agudo, al menos un antígeno de Mtb latente, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; o al menos dos antígenos de Mtb latentes, y al menos un antígeno de Mtb de reanimación; y un portador farmacéuticamente aceptable; en el que la composición comprende
40 al menos una molécula de ácido nucleico que codifica al menos uno de los antígenos de Mtb.

La presente divulgación también proporciona cualquiera de las proteínas de fusión descritas en el presente documento, o cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento, o cualquiera de las células descritas en el presente documento, o cualquiera de los vectores descritos en el presente documento, o cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento, o cualquiera de los usos descritos en el presente documento,
45 sustancialmente como se describe con referencia a los ejemplos y/o figuras adjuntos.

A fin de que el objeto divulgado en el presente documento pueda ser comprendido más eficazmente, a continuación se proporcionan ejemplos. Debe entenderse que estos ejemplos son sólo para fines ilustrativos y no se deben interpretar como una limitación de la técnica reivindicada de ninguna manera. A lo largo de estos ejemplos, las reacciones de clonación molecular, y otras técnicas estándar de ADN recombinante, se llevaron a cabo de acuerdo
50 con los procedimientos descritos en Maniatis *et al.*, Molecular Cloning - A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1989), mediante el uso de reactivos disponibles en el mercado, salvo que se indique lo contrario.

Ejemplos

Ejemplo 1: Construcción del casete de antígeno como herramienta básica para la posterior inserción de la plataforma

55 El casete de 5 antígenos (Construct D), que fue optimizado para el codón humano, fue sintetizado comercialmente por Aldevron y clonado en pVAX-1. Para su uso en vectores MVA, el antígeno 85B se sintetizó con su secuencia líder nativa. En el caso de los vectores virales distintos del MVA, el antígeno 85B se sustituyó por genes que contenían o

no la secuencia líder, lo que se consiguió mediante el uso de las secuencias únicas de la nucleasa EcoRI y XmaI. Para clonar el casete de 5 antígenos en vectores adenovirales o CMV, se utilizaron cebadores con brazos de homología para amplificar el casete por PCR, y este producto de PCR se recombinó en la región apropiada del BAC.

Para la expresión de la proteína recombinante del constructo D, los genes 85B, Rv1733, Rv2626 y RpfD fueron sintetizados por DNA2.0 y optimizados en codones para la expresión de *E. coli*. El antígeno 85B y el RpfD se sintetizaron sin las secuencias líderes nativas. Cada gen se amplificó por PCR a partir del vector DNA2.0 respectivo con los sitios de restricción adecuados añadidos y se clonó en pET28b de forma secuencial. La ESAT-6 se amplificó por PCR a partir del ADN del H37Rv.

Más concretamente, los genes que codifican los antígenos proteicos se amplificaron por PCR mediante el uso de los cebadores de la Tabla 5 y se clonaron en el vector pET28b (Novagen) a través de los sitios de enzimas de restricción indicados. ESAT6 se amplificó por PCR a partir de Mtb y se clonó primero en el vector pET23b (Novagen). Posteriormente se amplificó por PCR y se clonó en pET28b. Los genes del antígeno 85B, Rv1733c, Rv2626c y RpfD fueron sintetizados con sus codones optimizados para la expresión en *E. coli* (DNA2.0). El antígeno Ag85B y el rpfD se sintetizaron sin las bases que codifican la secuencia señal N-terminal, y el rpfB se amplificó por PCR a partir de Mtb sin la secuencia señal N-terminal. Los genes optimizados para el codón se amplificaron por PCR y se clonaron en pET28b creando proteínas de fusión N-terminal marcadas con 6xHis. Los genes se clonaron sin secuencias espaciadoras, sólo con los sitios de enzimas de restricción entre cada gen. Para eliminar las 2 regiones transmembrana del Rv1733c, se amplificó por PCR en 3 trozos que se ligaron entre sí.

En otra realización, las proteínas 4 Ag y 5 Ag se construyeron con Rv1733c de tipo salvaje que incluyen las regiones transmembrana. Las construcciones pET28b se clonaron en cepas de clonación de *E. coli*, se examinaron por medio de digestión de restricción y se secuenciaron para verificar cada construcción.

Ejemplo 2: Construcción de cepas de BCG recombinante (rBCG)

Se construyeron cepas de rBCG que sobreexpresan antígenos relacionados con la infección activa, la latencia y la reanimación. Los genes de interés se clonaron primero en un plásmido que permite su inserción en el cromosoma de BCG en el sitio de integración attB (pJFINT-RIAR). Como este plásmido tiene tres sitios de clonación diferentes, los 5 genes no se fusionaron, sino que se dividieron en tres grupos. Ag85B se fusionó con ESAT-6 (Ag85B-ESAT6; SEQ ID NO:91 (nucleótido) y SEQ ID NO:92 (aminoácido) con la secuencia señal de Ag85B; SEQ ID NO:93 (nucleótido) y SEQ ID NO:94 (aminoácido) con la secuencia señal de la lipoproteína de 19 kDa) y se colocó en el primer sitio de clonación, Rv1733c se clonó por sí mismo, y Rv2626c se fusionó con RpfD (Rv2626c-RpfD; SEQ ID NO:95 y SEQ ID NO:96 con la secuencia de señal de Ag85B; SEQ ID NO:97 y SEQ ID NO:98 con la secuencia de señal de la lipoproteína de 19 kDa) y luego se colocó en el tercer sitio para crear la siguiente construcción: Ag85B-ESAT6 + Rv1733c + Rv2626c-RpfD. Cada inserto se colocó bajo el control del promotor Hsp60 y se añadió una secuencia de señal a ambas fusiones, excepto a Rv1733c, dado que es una proteína de membrana micobacteriana. Se hicieron construcciones con dos secuencias de señal diferentes; la secuencia de señal Ag85B, que permite la secreción de las fusiones, y la secuencia de señal de la lipoproteína de 19 kDa, que las ancla en la membrana, para examinar cuál permitiría una mejor expresión y/o inmunogenicidad de los antígenos. Se construyeron versiones replicantes y no replicantes de esas cepas rBCG. Los mapas de los plásmidos que se utilizaron para construir las cepas rBCG se muestran en la Figura 1A (fusiones con la secuencia señal Ag85B) y 1B (fusiones con la secuencia señal 19 kDa).

Después de construir las cepas rBCG por medio de la integración de los plásmidos lanzadera en el cromosoma de BCG SSI, BCG SSIΔPanCD u otras cepas BCG, se prepararon lisados y sobrenadantes celulares para evaluar la expresión relativa de los diferentes antígenos, así como su localización en las células rBCG. Los datos de Western blot mediante el uso de un anticuerpo monoclonal contra ESAT-6 como sonda mostraron lo siguiente el control BCG SSI, que no tiene el gen para ESAT-6, no mostró reactividad con el anticuerpo monoclonal ni en el lisado celular ni en el sobrenadante del cultivo; en el caso del rBCG que expresa la fusión Ag85B-ESAT6 unida a la secuencia señal de 19 kDa, se detectaron bajos niveles de la fusión, pero sólo en los lisados celulares y no en el sobrenadante de cultivo de las cepas de rBCG replicantes y no replicantes, lo que demuestra que esta secuencia señal no da lugar a la secreción de la fusión, como se esperaba la cepa rBCG que expresa la fusión Ag85B-ESAT6 unida a la secuencia señal Ag85B mostró un nivel muy alto de expresión tanto en el lisado celular como en el sobrenadante de cultivo, lo que confirma que esta secuencia señal sí da lugar a la secreción de esta fusión (datos no mostrados).

Tras los estudios de expresión del antígeno, se llevó a cabo un experimento preliminar de inmunogenicidad en ratones C57/BL6 al comparar el control BCG SSI y las cepas rBCG que expresaban las fusiones con las dos secuencias de señal diferentes. Los ratones fueron inmunizados una vez sc con 10^5 o 10^6 UFC de las diferentes cepas de BCG y fueron sacrificados 6 semanas después. Los esplenocitos fueron estimulados durante 72 horas con las proteínas recombinantes Ag85B o ESAT-6 y se midieron los niveles de IFN γ específico del antígeno liberado en los sobrenadantes del cultivo por medio de un ensayo ELISA. Se obtuvieron los siguientes resultados con las fusiones Ag85B-ESAT6 (ver, Figura 2): el control BCG SSI administrado a la dosis más baja mostró niveles de fondo de IFN γ , similares a los obtenidos con los ratones sin tratamiento, mientras que los ratones a los que se les administró la dosis más alta mostraron niveles más altos de IFN γ específico de Ag85B, pero ninguna respuesta específica de ESAT6, lo que era de esperar dado que el control BCG SSI no tiene el gen para ESAT-6; por el contrario, la cepa rBCG que expresa la fusión Ag85B-ESAT6 unida a la secuencia señal de Ag85B dio una respuesta específica de Ag85B mucho

más fuerte en ambas dosis, pero una respuesta de ESAT-6 por encima del fondo sólo en la dosis más alta; se obtuvieron resultados similares con la cepa rBCG que expresa la fusión unida a la secuencia señal de 19 kDa, pero sólo en la dosis más alta, lo que no es sorprendente teniendo en cuenta que los niveles de expresión eran mucho más bajos en esa cepa (datos no mostrados).

5 Secuencia de ADN de la fusión Ag85B-ESAT6 con la secuencia señal de Ag85B

atgacagacgtgagccgaaagattcgagcttggggacgccgattgatgatcggcacggcagcggctgtagtcctccgggcctggtggg
gcttgccggcggagcggcaaccgcgggcgcttctccggccggggctgccggtcgagtagctgcaggtgccgtcgccgtcgatgggc
cgcgacatcaaggttcagttccagagcgggtgggaacaactcacctgcgggttatctgctcgacggcctgcgcgcccagacgactacaac
ggctgggatataacaccccgcggttcgagtggtactaccagtcgggactgtcgatagtcagccggtcggcgggcagtcagcttctaca
gcgactggtacagccggcctgcggttaaggctggctgccagacttacaagtggaaccttcctgaccagcgagctgccgcaatggtgt
ccgccaacagggccgtgaagcccaccggcagcgctgcaatcggttgcgagtcggcggtcgtcggaatgatcttgccgcctaccac
ccccagcagttcatctacgccggctcgtctgcggccctgctggaccctctcaggggatggggcctagcctgatcgccctcgcatgggt
gacggcggcggttacaaggccgcagacatgtggggtcctcgagtgacccggcatgggagcgcgaacgacctacgcagcagatcccc
aagctggctcgaaacaacacccggctatgggtttattcggggaacggcaccccgaacgagttggcggtgccaataccggcgagttc
ttggagaacttcgttcgtagcagaacctgaagttccaggatgcgtacaacgccgcgggcgggcacaacgccgtgttcaactccgcccc
acggcagcagcagctgggagtagtggggcgtcagctcaacgccatgaagggtgacctgcagagttcgttaggcgccgcatgacaga
gcagcagtggaatttcgcggtatcgaggccgcggcaagcgcaatccagggaatgtcacgtccattcattccctccttgacgaggggaa
gcagtcctgaccaagctcgagcgccctggggcggttagcggttcggaggcggtaccagggtgtccagcaaaaatgggagccacggct
accgagctgaacaacgcgtgcagaacctggcgcgagcatcagcgaagccggtcaggcaatggcttcgaccgaaggcaacgtcactg
ggatgttcgcatga (SEQ ID NO:91).

Secuencia de aminoácidos de la fusión Ag85B-ESAT6 con la secuencia señal de Ag85B

MTDVSRKIRAWGRRLMIGTAAAVVLPGLVGLAGGAATAGAFSRPGLPVEYLQVPSPSM
GRDIKVQFQSGGNNSPAVYLLDGLRAQDDYNGWDINTPAFEWYYQSGLSIVMPVGGQS
SFYSDWYSPACGKAGCQTYKWETFLTSELPQWLSANRAVKPTGSAAIGLSMAGSSAMI
LAAYHPQQFIYAGSLSALLDPSQGMGPSLIGLAMGDAGGYKAADMWGPSSDPAWERN
DPTQQIPKLVANNTRLWVYCGNGTPNELGGANIPAEFLENFVRSSNLKFQDAYNAAGG
HNAVFNFPPNGTHSWEYWGAQLNAMKGDLQSSLGAGMTEQQWNFAGIEAAASAIQG
NVTSIHSLLDEGKQSLTKLAAAWGGSGSEAYQGVQKQKWDATATELNNALQNLARTISE
AGQAMASTEGRNVTGMFA (SEQ ID NO:92).

Secuencia de ADN de la fusión Ag85B-ESAT6 con la secuencia señal de 19 kDa

atgaagcgtggactgacggcgcggtagccggagccgcattctggcgcaggtctttccggatgtcaagcaacaagtcgactacagga
agcgggtgagaccacgaccgcggcaggtaccacggcaagccccggccggccgggctccgggtcagtagctgacgtgcccgtcgcc
gtcgatgggcccgcacatcaagggtcagttccagagcgggtgggaacaactcacctcgggtttatctgctcgacggcctgcgcgcccaga
cgactacaacggctgggatataacacccccggcgttcgagtggtactaccagtcgggactgtcgatagtcgacgggtcggcgggcagtc
cagctttacagcgactggtacagcccggcctgcggtaaggctggctgccagacttacaagtggaacaccttctgaccagcgagctgcc
gcaatggtgtcgcgaacagggccgtgaagcccaccggcagcgctgcaatcggtgtcgatggccggctcgtcgcaatgatcttggc
cgctaccacccccagcagttcatctacgcggcctcgtgtcgccctcgtggacccctctcaggggatggggcctagcctgatcgccctc
ggatgggtgacgcggcggttacaagccgcagacatgtggggtccctcagtgacccggcatgggagcgcaacgaccctacgcag
cagatcccaagctggtcgaaacaacacccggctatgggtttattgcgggaacggcaccgccagagtgggcggtgccaacatacc
cgccgagttcttgagaacttcgttcgtagcgaacctgaagttccaggtatgcgtacaacccgcggcgggcgacaaacgccgtgttcaa
cttcccccccaacggcagcgacagctgggagtagtggggcgtcagctcaacgcatgaagggtgacctgcagagttcgttagcgccg
gcatgacagagcagcagtggaatttcgcgggtatcaggcccgcgcaagcgcaatccagggaatgtcacgtccattcctccttga
cgaggggaagcagtcctgaccaagctcgacggcctggggcggtagcgggtcgaggcggtaccagggtgtccagcaaaaatggga
cgccacggctaccgagctgaacaacgcgtgcagaacctggcgcgagcatcagcgaagccggtcaggcaatggcttcgaccgaagg
caacgtcactgggatgttcgcatga (SEQ ID NO:93).

Secuencia de aminoácidos de la fusión Ag85B-ESAT6 con la secuencia señal de 19 kDa

MKRGLTVAVAGAILVAGLSGCSSNKSTTGSGETTTAAGTTASPRGPLPVEYLQVPSP
SMGRDIKVQFQSGGNNSPA VYLLDGLRAQDDYNGWDINTPAFEWYYQSGLSIVMPVG
GQSSFYSDWYSPACGKAGCQTYKWETFLTSELPQWLSANRAVKPTGSAAIGLSMAGSS
AMILAAYHPQQFIYAGSLSALLDPSQGMGPSLIGLAMGDAGGYKAADMWGPSSDPAW
ERNPTQQIPKLVANNTRLWVYCGNGTPNELGGANIPAEFLENFVRSSNLKFQDAYNA
AGGHNAVFNFPNGTHSWEYWGAQLNAMKGDLQSSLGAGMTEQQWNFAGIEAAASA
IQGNVTSIHSLLDEGKQSLTKLAAAWGGSGSEAYQGVQQKWDATATELNNALQNLAR
TISEAGQAMASTEGNVTGMFA (SEQ ID NO:94).

Secuencia de ADN de la fusión Rv2626c-RpFD con la secuencia señal de Ag85B

atgacagacgtgagccgaagattcgagcttggggacgccgattgatgatcggcacggcagcggctgtagtccttcgggcctggtggg
gcttgcggcgagcggcaaccgcggcggttccatgaccaccgcacgcgacatcatgaacgcaggtgtgacctgtgttggcgaac
acgagacgctaaccgctgccgtcaatacatgcgtgagcacgacatcgccgcgttgccgatctcgggggacgacgaccggctgcacgg
catgctcaccgaccgcgacattgtgatcaaaggcctggctgcgggcctagaccgaataccgccacggctggcgagttggccgggaca
gcatctactacgtgatgcgaacgcaagcatccaggagatgtcaacgtcatggaagaacatcaggtccgcccgtgtccggtcatctcaga
gcaccgcttggtcggaatcgtcaccgaagcgacatcgccgacacctgccgagcacgccattgtgcagttcgtcaaggcaatctgctc
gcccattggccctcgccagcatgacacgggtgtgttactactgcgggtgctggccgaccacgt
gacaggtgcgccaggtatgtgacgggtgttcacgaaaccggtgtgcgcgacctgtttgtcgcgtgtgtgggtctgtccaccatcagc
tcgaaagccgacgacatcgattgggacgccatcgcgcaatcgcaatccggcggaattggcgcccaacacccgtaacgggtataccgg
tggtctgcagatcagccaggcgacgtgggattccaacgggtgtgtcgggtcgcggcgccgcgagtcgccagcaacagatcgaggtc
gcagacaacattatgaaaacccaaggcccggtgcgtggccgaaatgtatgttctgtatgcaggagacgacccgtgggctcgtcacc
cacatcctgacgttctcgcggccgagactggaggtgttcggggagcaggacgattag (SEQ ID NO:95).

Secuencia de aminoácidos de la fusión Rv2626c-RpFD con la secuencia señal Ag85B

MTDVSRKIRAWGRRMLMIGTAAAVVLPGLVGLAGGAATAGAFSMTTARDIMNAGVTCV
 GEHETLTAAAQYMREHDIGALPICGDDDRHLHGMLTDRDIVIKGLAAGLDPNTATAGEL
 ARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISEHRLVGIVTEADIARHLPEHAIVQFVK
 AICSPMALASMTPLGTTAGAGRPRDRCARIVCTVFIETAVVATMFVALLGLSTISSKAD
 DIDWDAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQATWDSNNGGVGSPAAASPQQQIEVAD
 NIMKTQGPAGWPKSSCSQGDAPLGLSLTHILTFLAAETGGCSGSRDD (SEQ ID NO:96).

Secuencia de ADN de la fusión Rv2626c-RpD con la secuencia señal de 19 kDa

Atgaagcgtggactgacggtcgcgtagccggagccgcattctggtcgaggtcttccggtgttcaagcaacaagtcgactacagga
 agcgggtgagaccagaccgcgaggtaccacggcaagccccggcatgaccaccgcacgcgacatcatgaacgcaggtgtgacctgt
 gttggcgaaacagagacgctaaccgctgccgtcaatacatgctgagcagacatcgggcgctgtgccgatctgccccgacgacgaccg
 gctgcacggcatgctcaccgaccgcacattgtgatcaaggcctggctgccccctagaccgaataccgccacggctggcgagttgg
 cccgggacagcatctactacgtcgatgcgaacgaagcatccaggagatgctcaacgtcatggaagaacatcaggtccgctgttccgg
 tcatctcagagcaccgcttggtcggaatcgtcaccgaagccgacatcgcccgacacctgcccagcagccattgtgcagttcgtaagg
 caatctgctgccccatggccctcgccagcatgacacgggttggcttactactcggggtgctggccgaccacgtgacaggtgcccagga
 cgatgacaggtgttcacgaacccggtgtcgcgaccatgtttgtcgctgttgggtctgtccaccatcagctcgaaagccgacgacat
 cgattgggacgcatcgcgcaatgcgaatccggcggaattggcgcccaacaccggtaacgggttatacgggtgctgcagatcagcc
 agggcagctgggattccaacgggtgtcggtcgccggcgccgagtgcccgcaacagatcgaggtcgagacaacattatgaa
 aacccaagccccgggtgctggccgaaatgtagttctgtagtcaggagacgcaccgctgggtcgctcaccacatcctgacgttctc
 gcggccgagactggaggtgttcggggagcagggacgattag (SEQ ID NO:97).

Secuencia de aminoácidos de la fusión Rv2626c-RpD con la secuencia señal de 19 kDa

MKRGLTVAVAGAAILVAGLSGCSSNKSTTGSGETTTAAGTTASPGMTTARDIMNAGVT
 CVGEHETLTAAAQYMREHDIGALPICGDDDRHLHGMLTDRDIVIKGLAAGLDPNTATAG
 ELARDSIYYVDANASIQEMLNVMEEHQVRRVPVISEHRLVGIVTEADIARHLPEHAIVQF
 VKAICSPMALASMTPLGTTAGAGRPRDRCARIVCTVFIETAVVATMFVALLGLSTISSK
 5 ADDIDWDAIAQCESGGNWAANTGNGLYGGLQISQATWDSNNGGVGSPAAASPQQQIEV
 ADNIMKTQGPAGWPKSSCSQGDAPLGLSLTHILTFLAAETGGCSGSRDD (SEQ ID
 NO:98).

Ejemplo 3: Clonación y sobreexpresión de proteínas de fusión del Casete y Variantes

La preparación del casete de antígeno y sus variantes como proteína de fusión requirió una estrategia modificada que se describe a continuación:

- 10 **Clonación:** Se crearon múltiples proteínas de fusión recombinantes, de las que en el presente documento se ejemplifican dos: una con cuatro antígenos de Mtb (ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpD), y otra con cinco antígenos (Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpD). Los genes que codifican los antígenos proteicos se amplificaron por PCR mediante el uso de los cebadores de la Tabla 5 y se clonaron en el vector pET28b (Novagen) a través de los sitios de enzimas de restricción indicados. ESAT6 se amplificó por PCR a partir de Mtb y se clonó primero en el vector pET23b
- 15 (Novagen). Posteriormente se amplificó por PCR y se clonó en pET28b. Los genes del antígeno 85B, Rv1733c, Rv2626c y RpD fueron sintetizados con sus codones optimizados para la expresión en *E. coli* (DNA2.0). Ag85B y rpD se sintetizaron sin las bases que codifican la secuencia señal N-terminal, y rpB se amplificó por PCR a partir de Mtb sin la secuencia señal N-terminal. Los genes optimizados para el codón se amplificaron por PCR y se clonaron en pET28b al crear proteínas de fusión N-terminal marcadas con 6xHis. Los genes se clonaron sin secuencias espaciadoras, sólo con los sitios de enzimas de restricción entre cada gen. Para eliminar las 2 regiones transmembrana del Rv1733c, se amplificó por PCR en 3 trozos que se ligaron entre sí. En otra realización, las proteínas 4 Ag y 5 Ag
- 20 se construyeron con Rv1733c de tipo salvaje, que incluyen las regiones transmembrana. Las construcciones pET28b

se clonaron en cepas de clonación de *E. coli*, se examinaron por medio de digestión de restricción y se secuenciaron para verificar cada construcción. Las secuencias de ADN y aminoácidos de las fusiones 4 Ag y 5 Ag se prepararon sin las regiones transmembrana de Rv1733c. Las versiones posteriores de estas fusiones sustituyeron a RpfD por RpfB en la fusión de 4 Ag, con RpfB colocado en el extremo 5' o 3' de la fusión.

- 5 **Expresión:** Los plásmidos que codifican el constructo D y sus variantes de proteínas de fusión se transformaron en *E. coli* T7 express (NEB) o *E. coli* BL21 DE3 (Novagen). Se recogieron múltiples colonias de cada construcción de fusión y se cultivaron durante la noche agitando a 37 °C en caldo de soja triptico (TSB) (Sigma). Los cultivos nocturnos se diluyeron 1:100 en TSB y se cultivaron en agitación a 37 °C hasta alcanzar una DO600 = 0,6. Los cultivos se indujeron con 1 mM de IPTG y se cultivaron en agitación a 37 °C durante 3 horas. Las alícuotas inducidas y no inducidas de cada cultivo se corrieron en geles de SDS-PAGE Bis/Tris al 4-12 % para verificar la inducción de las proteínas de fusión. Las colonias que expresan cada una de las proteínas de fusión se congelaron en TSB + 20% de glicerol a -80 °C como stocks de investigación.

Purificación de las proteínas de fusión

- 15 Se inocularon cultivos de 10 ml a partir de existencias de glicerol de las construcciones de fusión BE1726D y su variante y se cultivaron durante la noche agitando a 37 °C. Los cultivos de una noche se diluyeron 1:100 en 250 ml de TSB y se cultivaron agitando a 37 °C hasta alcanzar una DO600 = 0,6. Los cultivos se indujeron con 1 mM de IPTG y se cultivaron en agitación a 37 °C durante 3 horas. Una alícuota de la muestra inducida se corrió en un gel Bis/Tris SDS-PAGE al 4-12% para confirmar la inducción de la proteína. El cultivo inducido se centrifugó a 6.000 × g durante 10 m y los pellets se congelaron a -80 °C. Los pellets se descongelaron y se resuspendieron en 10 ml de tampón BPER (Thermo Scientific), y se tomó una alícuota para el análisis (lisado). Se añadió lisozima (20 u/ml) y DNasa I (25 U/ml) para ayudar a completar la lisis celular. Las células lisadas se centrifugaron a 12.000 × g durante 10 minutos y se recogió el sobrenadante (fracción soluble). El pellet insoluble se resuspendió en 10 ml de tampón BPER y se extrajo una alícuota de 100 µl (fracción insoluble). Las células del pellet resuspendido se diluyeron con 10 ml de tampón BPER al 10% y la suspensión se centrifugó a 12.000 × g durante 10 minutos. El sobrenadante se descartó y el pellet se lavó de nuevo con 10 ml de tampón BPER al 10% 3 veces más. El lisado, las fracciones solubles e insolubles y los lavados se corrieron en un gel de SDS-PAGE Bis/Tris al 4-12% para confirmar la expresión y determinar la localización subcelular de la proteína. Las proteínas de fusión se encontraron localizadas en el pellet insoluble en cuerpos de inclusión. El pellet insoluble se resuspendió en 10 ml de tampón de unión desnaturante (DBB) (8 M de urea, 92 mM de Na₂HPO₄, 7 mM de NaH₂PO₄, 10 mM de Tris) de pH 7,8. Los cuerpos de inclusión se lisaron por sonicación, y el lisado se limpió de restos por centrifugación a 12.000 × g durante 20 minutos.

- Las proteínas con las regiones transmembrana de Rv1733c eliminadas se purificaron por medio de purificación en columna. Se equilibraron cinco (5) ml de resina HisPur Cobalt (Thermo Scientific) con DBB y se incubaron con 5 ml de lisado aclarado. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 90 horas. La mezcla de lisado/resina se cargó en una columna de 30 ml y se lavó con 25 volúmenes de tampón de lavado desnaturante (8 M de urea, 25 mM de Na₂HPO₄, 75 mM de NaH₂PO₄, 10 mM de Tris, 12 mM de desoxicolato sódico, pH 7,8). La proteína marcada con His se eluyó de la columna de Co+ eluyendo con el tampón de elución (8 M de urea, 10 mM de Tris, 5% de glicerol) de pH 8,0 con 50, 100, 350, 500 y 1000 mM de imidazol. Las proteínas eluidas se corrieron en un gel de SDS-PAGE de Bis/Tris al 4-12% y las fracciones limpias se dializaron etapa a etapa de 8M de urea, 10mM de Tris, 5% de glicerol a 10mM de Tris, 5% de glicerol. La proteína dializada se analizó por SDS-PAGE para determinar su pureza, por western blot para determinar la presencia de cada antígeno, y se analizó para determinar la presencia de endotoxina residual. Las muestras puras con < 0,25 U de endotoxina/ml fueron alícuotadas y congeladas a -80° C.

- Las proteínas que tienen Rv1733c de tipo salvaje se purificaron mediante el uso de un purificador AKTA (GE Healthcare). Después de separar los cuerpos de inclusión por medio de lavados de BPER como se ha indicado anteriormente, el pellet insoluble se resuspendió en 10 ml de tampón de unión desnaturante (DBB) + 20mM de imidazol. Los cuerpos de inclusión se lisaron por sonicación, y el lisado se limpió de restos por centrifugación a 12.000 × g durante 20 minutos. Se equilibraron cinco (5) ml de resina Ni Sepharose High Performance (GE Healthcare) con DBB y se incubaron con 10 ml de lisado aclarado. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A continuación, la mezcla se cargó en el purificador AKTA. Todas las líneas utilizadas en el purificador AKTA se equilibraron con DBB + 20 mM de imidazol, tampón de lavado desnaturante (8 M de urea, 25 mM de Na₂HPO₄, 75 mM de NaH₂PO₄, 10 mM de Tris, 12 mM de desoxicolato sódico, 20mM de imidazol) pH 7,8, o tampón de elución (8 M de urea, 10 mM de Tris, 5% de glicerol, 20 mM de imidazol), según fuera necesario. Las proteínas se eluyeron por elución en gradiente (tampón de elución 1: 8 M de urea, 10 mM de Tris, 5% de glicerol, 20 mM de imidazol, recorrido de 100% a 0; tampón de elución 2: 8 M de urea, 10 mM de Tris, 5% de glicerol, 500 mM de imidazol, diversión de 0 a 100%) y se recogieron las fracciones. Las fracciones positivas se corrieron en un gel Bis-Tris SDS-PAGE al 4-12% y se dializaron etapa a etapa de 8 M de urea, 10 mM de Tris, 5% de glicerol a 10 mM de Tris, 5% de glicerol. La proteína dializada se analizó por SDS-PAGE para determinar su pureza, por western blot para determinar la presencia de cada antígeno, y se analizó para determinar la presencia de endotoxina residual. Las muestras puras con < 0,25 U de endotoxina/ml fueron alícuotadas y congeladas a -80 °C.

- Lo anterior describe la purificación de las proteínas 4 Ag y 5 Ag que fueron expresadas con etiquetas 6xHis. Las proteínas también se pueden expresar sin etiquetas. Las proteínas no etiquetadas se pueden purificar por medio de la combinación de procedimientos cromatográficos, tales como la cromatografía de intercambio iónico y de exclusión

por tamaño, y procedimientos de filtración, tales como el flujo tangencial.

Ejemplo 4: Inmunogenicidad de las proteínas de fusión 5 Ag y 4 Ag en ratones

Se probó la inmunogenicidad de la proteína de fusión 5 Ag en ratones CB6F1, adyuvada con un agonista sintético de TLR3 poli I:C. Se probaron otros múltiples adyuvantes, tales como los agonistas de TLR4, y se demostró que eran inmunogénicos, por lo que la realización es independiente del adyuvante utilizado, y aplicable a muchas clases de adyuvantes. Los ratones fueron inmunizados por vía subcutánea dos veces, con dos semanas de diferencia, con 1 o 10 µg de proteína de fusión adyuvada. Dos (2) semanas después de la segunda inmunización, los ratones fueron sacrificados y se aislaron los esplenocitos. Los esplenocitos se incubaron con antígenos proteicos recombinantes para la estimulación *in vitro* y con proteínas recombinantes o péptidos superpuestos para el análisis ELISpot. La proteína de fusión 5 Ag indujo respuestas significativas de IFN-γ a cada antígeno que fueron medibles tanto por estimulación *in vitro* como por ELISpot (ver, Figuras 3A y 3B). La respuesta a Ag85B, el antígeno más inmunogénico y el primero de la proteína de fusión, fue mucho más fuerte que las respuestas a los otros antígenos.

Las proteínas 4 Ag y 5 Ag fueron entonces probadas para la inmunogenicidad en ratones CB6F1, adyuvados con un agonista sintético MPL TLR4. Los ratones fueron inmunizados por vía subcutánea dos veces, con dos semanas de diferencia, con 3 µg de proteína de fusión adyuvada. Se aislaron los esplenocitos para la estimulación *in vitro* y el ELISpot. Los esplenocitos fueron estimulados con antígenos individuales o proteínas de fusión. La inmunización con las proteínas de fusión 4 Ag o 5 Ag indujo respuestas de IFN-γ a todos los antígenos. Las respuestas a ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD fueron todas más altas en la proteína de fusión 4 Ag, que carece de Ag85B, que en la proteína de fusión 5 Ag (ver, Figuras 4A y 4B).

También se llevaron a cabo estudios de inmunogenicidad en las proteínas de fusión con el Rv1733c de tipo salvaje (85B-ESAT6-Rv1733cwt-Rv2626c-RpfD y ESAT6-Rv1733cwt-Rv2626c-RpfD) y las 4 fusiones de Ag en las que RpfD fue reemplazado por RpfB (ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfB y RpfB-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c). Estos estudios compararon la inmunogenicidad de las proteínas de fusión que contienen el Rv1733c modificado con la de las fusiones que contienen el Rv1733c de tipo salvaje, y también la inmunogenicidad de las proteínas de fusión que contienen RpfD con la de las fusiones que contienen RpfB. Los estudios mostraron que, aunque la sustitución del Rv1733c modificado por el 1733c de tipo salvaje no afectaba a la inmunogenicidad general, el RpfB es significativamente más inmunogénico que el RpfD en estas fusiones (véanse las figuras 5A y 5B).

Ejemplo 5: Eficacia protectora permanente

Las proteínas de fusión 5 Ag y 4 Ag (BE1726D, E1726D) se utilizaron en un experimento de protección de refuerzo en ratones. Los ratones fueron cebados con BCG SSI y BCG SSI recombinante que sobreexpresa los 5 antígenos de Mtb que componen la proteína de fusión 5 Ag. Seis (6) y ocho semanas después, los ratones fueron reforzados con la proteína 5 Ag o la 4 Ag más un adyuvante de poli I:C. Cuatro (4) semanas después del segundo refuerzo, los ratones recibieron una provocación de Mtb en aerosol de 50-100 UFC. Los ratones fueron sacrificados a las 4 y 12 semanas después de la provocación para determinar las bacterias viables en los pulmones (véase la figura 6A) y el bazo (véase la figura 6B). Este experimento determinó si la gran respuesta al Ag85B es más protectora en los ratones que la respuesta más amplia a los otros 4 antígenos de la proteína de fusión de 4 Ag.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Fundación Global para la Vacuna contra la Tuberculosis de Aeras

<120> Composiciones para la tuberculosis y procedimientos de uso de las mismas

<130> 139268.01402 WO

<140>

<141>

<150> 61/838,872

<151> 2013-06-25

<160> 98

<170> Patente In Ver. 2,1

<210> 1

<211> 977

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Ag85B

ES 2 925 950 T3

<400> 1

```

atgacagacg tgagccgaaa gattcgagct tggggacgcc gattgatgat cggcacggca 60
gcggctgtag tccttccggg cctggtgggg cttgccgcgg agcggcaacc gcgggcgcgt 120
tctcccggcc ggggctgccg gtcgagtacc tgcaggtgcc gtcgccgtcg atgggcccgcg 180
acatcaaggt tcagttccag agcgggtggga acaactcacc tgcggtttat ctgctcgacg 240
gcctgcgcgc ccaagacgac tacaacggct gggatatcaa caccgccgcg ttcgagtggg 300
actaccagtc gggactgtcg atagtcatgc cggtcggcgg gcagtccagc ttctacagcg 360
actggtacag cccggcctgc ggtaaggctg gctgccagac ttacaagtgg gaaaccttcc 420
tgaccagcga gctgccgcaa tggttgtccg ccaacagggc cgtgaagccc accggcagcg 480
ctgcaatcgg cttgtcgatg gccggctcgt cggcaatgat cttggccgcc taccaccccc 540
agcagttcat ctacgccggc tcgctgtcgg ccctgctgga cccctctcag gggatggggc 600
ctagcctgat cggcctcgcg atgggtgacg ccggcgggta caaggccgca gacatgtggg 660
gtccctcgag tgaccgggca tgggagcgca acgaccctac gcagcagatc cccaagctgg 720
tcgcaaacaa caccgggcta tgggtttatt gcgggaacgg caccgccaac gagttgggcg 780
gtgccaacat acccgccgag ttcttgaga acttcgttcg tagcagcaac ctgaagttcc 840
aggatgcgta caacgccgcg ggcgggcaca acgccgtgtt caacttcccg cccaacggca 900
cgcacagctg ggagtactgg ggcgctcagc tcaacgccat gaagggtgac ctgcagagtt 960
cgttaggcgc cggctga 977

```

<210> 2

<211> 858

5

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Ag85B (E. coli optimizada)

<400> 2

ES 2 925 950 T3

```

atgtttagcc gtcctggcct gccagttgaa tacctgcaag ttccgagccc gtccatgggt 60
cgtgacatta aggtgcagtt ccagagcggc ggtaacaata gcccggctgt gtacctgctg 120
gacggctctgc gtgcgcagga tgattacaac ggctgggaca tcaatacccc ggcatattgag 180
tggtattacc agtcgggtct gagcattgtg atgccgggtg gcgggtcaaag cagcttctat 240
agcgattggt acagcccggc atgcccgaag gctggttgcc aaacctacaa gtgggaaact 300
ttcttgacca gcgagctgcc gcaatggttg agcgccaacc gtgcggtcaa accgaccggt 360
agcgctgcta ttggcctgtc catggccggc agcagcgca tgatcttgcc ggcataccat 420
ccgcagcagt ttatctacgc cggtagcctg agcgcatctg tggaccgag ccaaggcatg 480
gggtccgagcc tgattggtct ggcaatgggt gacgcaggtg gttacaaagc ggccgatatg 540
tgggggcccat ctacgcagccc ggcatgggag cgtaatgacc cgaccagca aattccgaaa 600
ctggtggcga ataacacgcg cctgtgggtc tactgtggca atggtacgcc gaacgagctg 660
gggtggcgcga atatccctgc ggagtttctg gaaaactttg ttccgagcag caacctgaaa 720
ttccaggacg cgtataacgc agccggtggt cacaatgcgg ttttcaattt cccgcaaat 780
ggcactcata gctgggagta ctgggggtgcg cagttgaacg caatgaaagc cgatctgcaa 840
tcctctctgg gtgcgggc

```

858

<210> 3

<211> 858

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Ag85B (optimizado para humanos)

<400> 3

```

atgtttctcca ggcccgccct gcctgtcgag tatctgcagg tccccctccc ctccatgggc 60
agagacatca aggtgcagtt ccaatccgga ggcaacaaca gcccgcctgt gtatctcctc 120
gacggcctga gggctcagga cgactacaac ggctgggaca tcaacacccc cgccttcgag 180
tggtactacc agtcgggact gagcatcgtc atgcccggtg gcggccagag ctccttctac 240
agcgactggt atagccctgc ctgcggcaaa gccggatgcc agacctacaa gtgggagacc 300
tttctgacca gcgaactgcc ccagtggctg tccgccaata gggccgtcaa acctaccggc 360
tccgctgccca tcggactcag catggccgga agctccgcta tgatcctggc cgcctaccac 420
ccccagcaat ttatctacgc tggcagcctg tccgctctgc tggatcctag ccaaggcatg 480
ggccctagcc tcattggcct ggccatgggc gatgctggcg gctataaggc cgccgatatg 540
tgggggcccta gctccgatcc tgctgggag aggaatgacc ccaccagca gatccccaag 600
ctggtggcca acaacacaag gctctgggtg tactgcggca atggcacccc caacgaactg 660
ggcggagcca acattcccgc cgagttcctg gagaacttcg tcaggagcag caacctgaag 720
ttccaggacg cctacaatgc cgccggaggc cacaacgctg tgttcaactt ccctcccaac 780
ggcaccaca gctgggagta ttggggcgct cagctgaacg ccatgaaagc cgacctccag 840
agctccctgg gagctgga

```

858

<210> 4

<211> 325

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Ag85B

5

<400> 4

```

Met Thr Asp Val Ser Arg Lys Ile Arg Ala Trp Gly Arg Arg Leu Met
 1          5          10          15

Ile Gly Thr Ala Ala Ala Val Val Leu Pro Gly Leu Val Gly Leu Ala
      20          25          30

Gly Gly Ala Ala Thr Ala Gly Ala Phe Ser Arg Pro Gly Leu Pro Val
      35          40          45

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

Gln Phe Gln Ser Gly Gly Asn Asn Ser Pro Ala Val Tyr Leu Leu Asp
 65          70          75          80

Gly Leu Arg Ala Gln Asp Asp Tyr Asn Gly Trp Asp Ile Asn Thr Pro
      85          90          95

Ala Phe Glu Trp Tyr Tyr Gln Ser Gly Leu Ser Ile Val Met Pro Val
      100          105          110

Gly Gly Gln Ser Ser Phe Tyr Ser Asp Trp Tyr Ser Pro Ala Cys Gly
      115          120          125

Lys Ala Gly Cys Gln Thr Tyr Lys Trp Glu Thr Phe Leu Thr Ser Glu
      130          135          140

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

Ala Ala Ile Gly Leu Ser Met Ala Gly Ser Ser Ala Met Ile Leu Ala
      165          170          175

Ala Tyr His Pro Gln Gln Phe Ile Tyr Ala Gly Ser Leu Ser Ala Leu
      180          185          190

Leu Asp Pro Ser Gln Gly Met Gly Pro Ser Leu Ile Gly Leu Ala Met
      195          200          205

Gly Asp Ala Gly Gly Tyr Lys Ala Ala Asp Met Trp Gly Pro Ser Ser
      210          215          220

Asp Pro Ala Trp Glu Arg Asn Asp Pro Thr Gln Gln Ile Pro Lys Leu
      225          230          235          240

Val Ala Asn Asn Thr Arg Leu Trp Val Tyr Cys Gly Asn Gly Thr Pro
      245          250          255

Asn Glu Leu Gly Gly Ala Asn Ile Pro Ala Glu Phe Leu Glu Asn Phe
      260          265          270

Val Arg Ser Ser Asn Leu Lys Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Gly
      275          280          285

Gly His Asn Ala Val Phe Asn Phe Pro Pro Asn Gly Thr His Ser Trp
      290          295          300

Glu Tyr Trp Gly Ala Gln Leu Asn Ala Met Lys Gly Asp Leu Gln Ser
      305          310          315          320

Ser Leu Gly Ala Gly
      325

```

<210> 5

<211> 286
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 5 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Ag85B (*E. coli* y humano optimizado)
 <400> 5

```

Met Phe Ser Arg Pro Gly Leu Pro Val Glu Tyr Leu Gln Val Pro Ser
1          5          10          15

Pro Ser Met Gly Arg Asp Ile Lys Val Gln Phe Gln Ser Gly Gly Asn
          20          25          30

Asn Ser Pro Ala Val Tyr Leu Leu Asp Gly Leu Arg Ala Gln Asp Asp
          35          40          45

Tyr Asn Gly Trp Asp Ile Asn Thr Pro Ala Phe Glu Trp Tyr Tyr Gln
50          55          60

Ser Gly Leu Ser Ile Val Met Pro Val Gly Gly Gln Ser Ser Phe Tyr
65          70          75          80

Ser Asp Trp Tyr Ser Pro Ala Cys Gly Lys Ala Gly Cys Gln Thr Tyr
          85          90          95

Lys Trp Glu Thr Phe Leu Thr Ser Glu Leu Pro Gln Trp Leu Ser Ala
          100          105          110

Asn Arg Ala Val Lys Pro Thr Gly Ser Ala Ala Ile Gly Leu Ser Met
          115          120          125

Ala Gly Ser Ser Ala Met Ile Leu Ala Ala Tyr His Pro Gln Gln Phe
          130          135          140

Ile Tyr Ala Gly Ser Leu Ser Ala Leu Leu Asp Pro Ser Gln Gly Met
145          150          155          160

Gly Pro Ser Leu Ile Gly Leu Ala Met Gly Asp Ala Gly Gly Tyr Lys
          165          170          175

Ala Ala Asp Met Trp Gly Pro Ser Ser Asp Pro Ala Trp Glu Arg Asn
          180          185          190

Asp Pro Thr Gln Gln Ile Pro Lys Leu Val Ala Asn Asn Thr Arg Leu
          195          200          205

Trp Val Tyr Cys Gly Asn Gly Thr Pro Asn Glu Leu Gly Gly Ala Asn
210          215          220

Ile Pro Ala Glu Phe Leu Glu Asn Phe Val Arg Ser Ser Asn Leu Lys
225          230          235          240

Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Gly Gly His Asn Ala Val Phe Asn
          245          250          255

Phe Pro Pro Asn Gly Thr His Ser Trp Glu Tyr Trp Gly Ala Gln Leu
          260          265          270

Asn Ala Met Lys Gly Asp Leu Gln Ser Ser Leu Gly Ala Gly
          275          280          285

```

<210> 6
 <211> 288
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial

<220>
 10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium ESAT-6

ES 2 925 950 T3

<400> 6

```
atgacagagc agcagtggaa tttcgcggtt atcgaggccg cggcaagcgc aatccaggga 60
aatgtcacgt ccattcattc cctccttgac gaggggaagc agtccctgac caagctcgca 120
gcggcctggg gcggtagcgg ttcggaggcg taccagggtg tccagcaaaa atgggacgcc 180
acggctaccg agctgaacaa cgcgctgcag aacctggcgc ggacgatcag cgaagccggt 240
caggcaatgg cttcgaccga aggcaacgtc actgggatgt tcgcatag 288
```

<210> 7

<211> 282

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium ESAT-6 (optimizado para humanos)

<400> 7

```
accgagcagc agtggaaactt cgccggcatc gaagctgccg ctagcgccat ccaaggcaac 60
gtgaccagca tccacagcct gctggacgag ggcaagcaga gcctgaccaa gctggctgct 120
gcttggggcg gatccggaag cgaagcctac cagggcgctg agcagaagtg ggacgccaca 180
gccaccgagc tgaacaacgc cctgcagaac ctgccagaa ccatcagcga ggccggacag 240
gctatggcca gcacagaggg caatgtgacc ggcattgttcg cc 282
```

<210> 8

<211> 94

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: ESAT-6

<400> 8

```
Thr Glu Gln Gln Trp Asn Phe Ala Gly Ile Glu Ala Ala Ala Ser Ala
1          5          10          15

Ile Gln Gly Asn Val Thr Ser Ile His Ser Leu Leu Asp Glu Gly Lys
20          25          30

Gln Ser Leu Thr Lys Leu Ala Ala Ala Trp Gly Gly Ser Gly Ser Glu
35          40          45

Ala Tyr Gln Gly Val Gln Gln Lys Trp Asp Ala Thr Ala Thr Glu Leu
50          55          60

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

Ala Met Ala Ser Thr Glu Gly Asn Val Thr Gly Met Phe Ala
85          90
```

<210> 9

<211> 687

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1980c

<400> 9

ES 2 925 950 T3

```

gtg'gc'catca agatcttcat gctggtcacg gctgtcgttt tgctctgttg ttcgggtgtg 60
gccacggccg cgcccaagac ctactgcgag gagttgaaag gcaccgatac cggccaggcg 120
tgccagattc aaatgtccga cccggcctac aacatcaaca tcagcctgcc cagttactac 180
cccgaccaga agtcgctgga aaattacatc gccagacgc gcgacaagtt cctcagcgcg 240
gccacatcgt ccactccacg cgaagcccc tacgaattga atatcacctc ggccacatac 300
cagtccgcga taccgccgcg tggtagcgag gccgtggtgc tcaaggctta ccagaacgcc 360
ggcggcacgc acccaacgac cacgtacaag gccttcgatt gggaccaggc ctatcgcaag 420
ccaatcacct atgacacgct gtggcaggct gacaccgatc cgctgccagt cgtcttcccc 480
attgtgcaag gtgaactgag caagcagacc ggacaacagg tatcgatagc gccgaatgcc 540
ggcttggacc cgggtgaatta tcagaacttc gcagtcacga acgacggggg gatatttcttc 600
ttcaaccggg gggagttgct gcccgaagca gccggcccaa ccaggtatt ggtcccacgt 660
tccgcgatcg actcgatgct ggcctag 687

```

<210> 10

<211> 690

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1980c (optimizado para humanos)

<400> 10

```

atggtcagga tcaagatctt catgctcgtg accgccgtgg tgctcctgtg ttgttccggc 60
gtggctaccg ctgctcccaa gacctactgc gaggagctga agggaaacga caccggccag 120
gcctgcaga tccaaatgag cgaccccgcc tacaacatca acatctccct cccctcctac 180
taccocgatc agaagtccct cgagaactac atcgctcaga ccagggacaa gtccctgagc 240
gccgccacaa gcagcacacc cagagaggcc ccctacgagc tgaacatcac ctccgccacc 300
taccagtccg ctattcctcc cagaggcacc caggctgtgg tgctcaaggt ctacaaaaac 360
gctggcgga caccacccac caccacctac aaggccttcg actgggacca ggcttacagg 420
aagcccatca catacgacac cctgtggcag gctgataccg atcccctgcc cgtggtgttc 480
cccatcgtgc agggcgagct ctccaagcag accggccagc aagtgagcat cgccccaat 540
gctggactgg acccgtgaa ctaccagaac ttccgctca ccaacgacgg cgtgatcttc 600
ttcttcaatc cgggcgaact gctgcctgaa gctgctggcc ccaccaagt gctggtgcct 660
agaagcgcca tcgactccat gctggcctga 690

```

<210> 11

<211> 228

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv1980c

<400> 11

ES 2 925 950 T3

```

Val Arg Ile Lys Ile Phe Met Leu Val Thr Ala Val Val Leu Leu Cys
1          5          10          15

Cys Ser Gly Val Ala Thr Ala Ala Pro Lys Thr Tyr Cys Glu Glu Leu
20          25          30

Lys Gly Thr Asp Thr Gly Gln Ala Cys Gln Ile Gln Met Ser Asp Pro
35          40          45

Ala Tyr Asn Ile Asn Ile Ser Leu Pro Ser Tyr Tyr Pro Asp Gln Lys
50          55          60

Ser Leu Glu Asn Tyr Ile Ala Gln Thr Arg Asp Lys Phe Leu Ser Ala
65          70          75          80

Ala Thr Ser Ser Thr Pro Arg Glu Ala Pro Tyr Glu Leu Asn Ile Thr
85          90          95

Ser Ala Thr Tyr Gln Ser Ala Ile Pro Pro Arg Gly Thr Gln Ala Val
100         105         110

Val Leu Lys Val Tyr Gln Asn Ala Gly Gly Thr His Pro Thr Thr Thr
115         120         125

Tyr Lys Ala Phe Asp Trp Asp Gln Ala Tyr Arg Lys Pro Ile Thr Tyr
130         135         140

Asp Thr Leu Trp Gln Ala Asp Thr Asp Pro Leu Pro Val Val Phe Pro
145         150         155         160

Ile Val Gln Gly Glu Leu Ser Lys Gln Thr Gly Gln Gln Val Ser Ile
165         170         175

Ala Pro Asn Ala Gly Leu Asp Pro Val Asn Tyr Gln Asn Phe Ala Val
180         185         190

Thr Asn Asp Gly Val Ile Phe Phe Phe Asn Pro Gly Glu Leu Leu Pro
195         200         205

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

Ser Met Leu Ala
225

```

<210> 12

<211> 1176

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1039c

<400> 12

ES 2 925 950 T3

```

atggatttcg gagctttacc ccctgagatc aactccgcac gcatgtacgc cggcgcgggt 60
gcaggaccga tgatggccgc cggggccgca tggaacggcc tggccgccga gttgggtacg 120
acggccgcgt cgtatgagtc ggtgatcacc cggctgacca ccgagtcgtg gatgggtccg 180
gcctcgatgg cgatggtcgc cgcagcccag ccctatctgg cttggttgac ctacaccgcc 240
gaagccgctg cgcattgccg ctcgcaggcc atggcgctcg cggccgccta cgaggcggcc 300
tatgcgatga cagtgccgcc ggaggtggtc gcggccaacc gggcgctgct ggcggccctg 360
gtcgcgacga acgtcctggg gatcaacaca ccggcaatca tggcgaccga agccctctat 420
gccgagatgt gggctcagga cgctctggct atgtacggct acgcggccgc ttcgggagcc 480
gccgggatgc tgcaaccgtt aagcccgcgc tcgcagacca ccaaccggg cgggctggcc 540
gccagtcctg ccgcggtcgc ctcggctgcc gccaccgcgc ccgtcaacca ggtgagcgta 600
gcggacctga tcagtagcct gcccaacgcg gtgagtgggc tcgcctcccc agtcacatcg 660
gttctcgact cgacggggct gagcgggaatc attgccgaca tcgacgccct gctcgcgacc 720
ccgttcgtgg caaacatcat caacagcgca gtcaacaccg ccgcttggtg tgtcaacgcc 780
gccatcccca ccgcgatatt cctagcaaat gccctgaaca gtggggcgcc ggtagcgatc 840
gccgaaggcg ccatcgaggc tgccgagggg gccgccagtg cggccgcgcg ggggttggcg 900
gactcgggtg cgcagcggg gctcggcgca agtttaggcg aggccaccct ggtcggcccg 960
ctgtcagtgc cggcggcctg gtctacggcc gcaccggcga caaccgcgg cgcacagcg 1020
ctcgaaggca ggggctggac cgtcgcgcgc gaagaagccg gccagttac cgggatgatg 1080
ccgggaatgg cctcggccgc caagggcacc ggtgcctatg ccgggccgcg gtacggattc 1140
aagcccactg tcatgcccac acaggtcgtc gtgtga 1176

```

<210> 13

<211> 1176

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1039c (optimizado para humanos)

<400> 13

ES 2 925 950 T3

```

atggattttg ggcgcctgcc tcccagatc aacagcgcta ggatgtatgc tggcgctgga 60
gccggaccta tgatggccgc tggagccgcc tggaaaggac tggctgccga actgggcaca 120
acagccgctt cctacgagtc cgtgatcacc agactcacca cagagtcctg gatgggacct 180
gccagcatgg ctatggtcgc cgctgctcaa ccctacctgg cctggctgac ctatacagct 240
gaagccgctg ctcacgccgg aagccaagct atggctagcg ccgccgctta tgaggccgct 300
tatgccatga ccgtgcctcc cgaggctgtg gctgccaca gagctctcct ggccgccctc 360
gtggctacca acgtgctggg aatcaacacc cccgctatta tggccaccga ggctctgtac 420
gctgagatgt gggcccagga tgccctcgcc atgtacggat acgccgctgc ttccggagct 480
gctggaatgc tgcagccctt gtccccccct tcccagacca ccaaccccg aggactggct 540
gctcaaagcg ctgctgtggg atccgctgct gctaccgctg ccgtcaatca ggtcagcgtc 600
gccgacctca tctccagcct gcctaagcgt gtgagcggac tggcctcccc tgtcacatcc 660
gtgctcgata gcaccggcct gtccggcatc atcgccgaca ttgatgctct cctcgccacc 720
ccctttgtcg ccaacatcat caattccgcc gtgaacaccg ctgcctggta cgtcaacgct 780
gccattccca ccgccatctt cctcgccaac gccctgaact ccggagctcc tgtcgccatc 840
gctgagggcg ctattgaggc tgctgaagga gccgctagcg ctgctgctgc tggactggct 900
gatagcgtca cccctgctgg actcggagct agcctgggag aagccaccct ggtcggcaga 960
ctgtccgtgc ctgctgcttg gagcaccgct gctcctgcta caaccgctgg agctaccgct 1020
ctggagggat ccggatggac agtggctgct gaggaagctg gaccctgac cggaatgatg 1080
cctggcatgg ccagcgctgc taagggaacc ggcgctatg ccggaccag atacggattc 1140
aagcccaccg tcatgcccaa gcaggctgct gtctaa 1176

```

<210> 14

<211> 401

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv1039c

<400> 14

ES 2 925 950 T3

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

ES 2 925 950 T3

Pro Phe Val Ala Asn Ile Ile Asn Ser Ala Val Asn Thr Ala Ala Trp
245 250 255

Tyr Val Asn Ala Ala Ile Pro Thr Ala Ile Phe Leu Ala Asn Ala Leu
260 265 270

Asn Ser Gly Ala Pro Val Ala Ile Ala Glu Gly Ala Ile Glu Ala Ala
275 280 285

Glu Gly Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ala Gly Leu Ala Asp Ser Val Thr
290 295 300

Pro Ala Gly Leu Gly Ala Ser Leu Gly Glu Ala Thr Leu Val Gly Arg
305 310 315 320

Leu Ser Val Pro Ala Ala Trp Ser Thr Ala Ala Pro Ala Thr Thr Ala
325 330 335

Gly Ala Thr Ala Leu Glu Gly Ser Gly Trp Thr Val Ala Ala Glu Glu
340 345 350

Ala Gly Pro Val Thr Gly Met Met Pro Gly Met Ala Ser Ala Ala Lys
355 360 365

Gly Thr Gly Ala Tyr Ala Gly Pro Arg Tyr Gly Phe Lys Pro Thr Val
370 375 380

Met Pro Lys Gln Val Val Val
385 400

<210> 15

<211> 1143

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3136

<400> 15

atggatttcg cactgttacc accggaagtc aactccgccc ggatgtacac cggccctggg 60

gcaggatcgc tgttggctgc cgcgggcggc tgggattcgc tggccgccga gttggccacc 120

acagccgagg catatggatc ggtgctgtcc ggactggccg ccttgcatcg gcgtggaccg 180

gcagcggaat cgatggcggg gacggccgct ccctatatcg gttggctgta cacgaccgcc 240

gaaaagacac agcaaacagc gatccaagcc agggcggcag cgctggcctt cgagcaagca 300

tacgcaatga ccctgccgcc accggtggta gcggccaacc ggatacagct gctagcactg 360

atcgcgacga acttcttcgg ccagaacact gcggcgatcg cggccaccga ggcacagtac 420

gccgagatgt gggcccagga cgcgcccgcg atgtacgggt acgccaccgc ctcagcgggt 480

gcggccctgc tgacaccgtt cccccgccg cggcagacca ccaaccggc cggcctgacc 540

gctcaggccg ccgcggtcag ccaggccacc gaccactgt cgctgctgat tgagacgggtg 600

acccaagcgc tgcaagcgt gacgattccg agcttcatcc ctgaggactt caccttcctt 660

ES 2 925 950 T3

```

gacgccatat tcgctggata tgccacggta ggtgtgacgc aggatgtcga gtcctttgtt 720
gccggggacca tcggggccga gagcaaccta ggccttttga acgtcggcga cgagaatccc 780
gcggaggtga caccgggcga ctttgggatc ggcgagttgg tttccgcgac cagtcccggc 840
ggtgggggtgt ctgcgtcggg tgccggcggg gcggcgagcg tcggcaaacac ggtgctcgcg 900
agtgtcggcc gggcaaaactc gattgggcaa ctatcgggcc caccgagctg ggccgcgccc 960
tcgacgcgcc ctgtctcggc attgtcgccc gccggcctga ccacactccc ggggaccgac 1020
gtggccgagc acgggatgcc aggtgtaccg ggggtgccag tggcagcagg gcgagcctcc 1080
ggcgtcctac ctcgatacgg ggttcggctc acggtgatgg cccaccacc cgcggcaggg 1140
taa 1143

```

<210> 16

<211> 1146

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3136 (E. coli optimizada)

<400> 16

```

atggattttg cgctgctgcc gccggaagtg aacagcgcgc gcatgtatac cggcccgggc 60
gcgggcagcc tgctggcggc ggcggggcgc tgggatagcc tggcggcgga actggcgacc 120
accgcggaag cgtatggcag cgtgctgagc ggccctggcg cgctgcattg gcgcggcccc 180
gcggcggaaa gcatggcggg gaccgcggcg ccgtatatgt gctggctgta taccaccgcg 240
gaaaaaaccc agcagaccgc gattcaggcg cgcgcggcgc cgctggcggt tgaacaggcg 300
tatgcgatga ccctgccgcc gccggtggtg gcggcgaacc gcattcagct gctggcgctg 360
attgcgacca acttttttgg ccagaacacc gcggcgattg cggcgaccga agcgcagtat 420
gcggaatgt gggcgagga tgccggcgcg atgtatggct atgcgaccgc gagcgcgcg 480
gcggcgctgc tgaccccggt tagcccgccg gcgcagacca ccaaccggc gggcctgacc 540
gcgcaggcgg cggcggtgag ccaggcgacc gatccgctga gcctgctgat tgaaacctg 600
accagggcgc tcaggcgct gaccattccg agctttattc cggaagattt tacctttctg 660
gatgcgattt ttgcgggcta tgccagcgtg ggcgtgacct aggatgtgga aagctttgtg 720
gcgggcacca ttggcgcgga aagcaacctg ggccctgctga acgtgggcga tgaaaacccg 780
gcggaagtga ccccgggcga ttttggcatt ggcgaactgg tgagcgcgac cagcccgggc 840
ggcgcgctga gcgcgagcgg cgcggggcgc gcggcgagcg tgggcaaacac cgtgctggcg 900
agcgtgggcc gcgcgaacag cattggccag ctgagcgtgc cgccgagctg ggcggcgcgc 960
agcaccgcc cggtgagcgc gctgagcccc gcgggcctga ccaccctgcc gggcaccgat 1020
gtggcggaac atggcatgcc ggcgtgccg ggcgtgccg tggcgcggg ccgcgcgagc 1080
ggcgtgctgc cgcgctatgg cgtgcgcctg accgtgatgg cgcacccgcc ggcgcgggc 1140
gaattt 1146

```

<210> 17

<211> 1143

<212> DNA

ES 2 925 950 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3136 (optimizado para humanos)

<400> 17

```

atggatttcg ctctgctccc ccccgaggtg aatagcgcta ggatgtacac aggacccgga 60
gctggaagcc tcctggctgc tgctggagga tgggactccc tggctgccga gctcgctaca 120
accgctgagg cttacggaag cgtgctctcc ggcttggtg ctctccattg gagaggccct 180
gctgccgagt ccatggctgt cacagccgct ccctacattg gatggctgta caccaccgcc 240
gagaagacct agcaaaccgc tattcaggcc agagctgccg ccctggcctt cgaacaggcc 300
tacgctatga cactcccccc ccctgtcgtg gctgccataa ggatccagct cctggccctc 360
atcgccacca acttcttcgg ccaaaacacc gctgccatcg ctgccaccga agccagtagc 420
gccgaaatgt gggcccagga tgccgctgct atgtacggct atgccacagc tagcgctgcc 480
gctgctctgc tcacaccctt cagccccccc aggcaacaa ccaaccctgc cggactgaca 540
gcccagctg ctgccgtcag ccaagctacc gacccctga gcctcctgat cgaaaccgtg 600
acacaggccc tgcaggccct gaccattccc agctttatcc ccgaggactt cacccttctg 660
gacgctatct tcgctggcta cgccaccgtg ggcgtgacac aagacgtoga gtccttcgtc 720
gccggcacaa tcggagccga gtccaacctc ggactcctca acgtcggcga cgaaaatccc 780
gccgaagtga cacctggaga cttcggcatt ggagaactcg tcagcgccac atcccctggc 840
ggaggagtga gcgcttccgg agctggagga gctgcttccg tgggcaatac cgtgctggcc 900
agcgtgggaa gggccaactc cattggccag ctcagcgtcc ccccttctg ggctgccctc 960
tcacaaggc ctgtgtccgc tctcagccct gctggactga ccacactccc tggcacagac 1020
gtggctgagc atggcatgcc cggagtgcct ggagtccttg tggctgctgg cagagcttcc 1080
ggagtcctcc ctaggtatgg cgtgaggctg acagtgatgg ctcaccccc cgctgccgga 1140
taa

```

5

<210> 18

<211> 380

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv3136

<400> 18

ES 2 925 950 T3

Met	Asp	Phe	Ala	Leu	Leu	Pro	Pro	Glu	Val	Asn	Ser	Ala	Arg	Met	Tyr	1	5	10	15
Thr	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly	Ser	Leu	Leu	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Trp	Asp	20	25	30	
Ser	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Ala	Thr	Thr	Ala	Glu	Ala	Tyr	Gly	Ser	Val	35	40	45	
Leu	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Leu	His	Trp	Arg	Gly	Pro	Ala	Ala	Glu	Ser	50	55	60	
Met	Ala	Val	Thr	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ile	Gly	Trp	Leu	Tyr	Thr	Thr	Ala	65	70	75	80
Glu	Lys	Thr	Gln	Gln	Thr	Ala	Ile	Gln	Ala	Arg	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	85	90	95	
Phe	Glu	Gln	Ala	Tyr	Ala	Met	Thr	Leu	Pro	Pro	Pro	Val	Val	Ala	Ala	100	105	110	
Asn	Arg	Ile	Gln	Leu	Leu	Ala	Leu	Ile	Ala	Thr	Asn	Phe	Phe	Gly	Gln	115	120	125	
Asn	Thr	Ala	Ala	Ile	Ala	Ala	Thr	Glu	Ala	Gln	Tyr	Ala	Glu	Met	Trp	130	135	140	
Ala	Gln	Asp	Ala	Ala	Ala	Met	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Thr	Ala	Ser	Ala	Ala	145	150	155	160
Ala	Ala	Leu	Leu	Thr	Pro	Phe	Ser	Pro	Pro	Arg	Gln	Thr	Thr	Asn	Pro	165	170	175	
Ala	Gly	Leu	Thr	Ala	Gln	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Gln	Ala	Thr	Asp	Pro	180	185	190	
Leu	Ser	Leu	Leu	Ile	Glu	Thr	Val	Thr	Gln	Ala	Leu	Gln	Ala	Leu	Thr	195	200	205	
Ile	Pro	Ser	Phe	Ile	Pro	Glu	Asp	Phe	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Ile	Phe	210	215	220	
Ala	Gly	Tyr	Ala	Thr	Val	Gly	Val	Thr	Gln	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Val	225	230	235	240
Ala	Gly	Thr	Ile	Gly	Ala	Glu	Ser	Asn	Leu	Gly	Leu	Leu	Asn	Val	Gly	245	250	255	
Asp	Glu	Asn	Pro	Ala	Glu	Val	Thr	Pro	Gly	Asp	Phe	Gly	Ile	Gly	Glu	260	265	270	
Leu	Val	Ser	Ala	Thr	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala	275	280	285	
Gly	Gly	Ala	Ala	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Val	Leu	Ala	Ser	Val	Gly	Arg	290	295	300	
Ala	Asn	Ser	Ile	Gly	Gln	Leu	Ser	Val	Pro	Pro	Ser	Trp	Ala	Ala	Pro	305	310	315	320
Ser	Thr	Arg	Pro	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Pro	Ala	Gly	Leu	Thr	Thr	Leu	325	330	335	
Pro	Gly	Thr	Asp	Val	Ala	Glu	His	Gly	Met	Pro	Gly	Val	Pro	Gly	Val	340	345	350	
Pro	Val	Ala	Ala	Gly	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Arg	Tyr	Gly	Val	355	360	365	
Arg	Leu	Thr	Val	Met	Ala	His	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	370	375	380					

ES 2 925 950 T3

<210> 19
<211> 312
<212> DNA
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3615c

<400> 19
atgacggaaa acttgaccgt ccagcccag cgtctcgggtg tactggcgtc gcaccatgac 60
aacgcggcgg tcgatgcctc ctccggcgtc gaagctgccg ctggcctagg cgaatctgtg 120
gcgatcactc acggtccgta ctgctcacag ttcaacgaca cgttaaagt gtacttgact 180
gccacaaatg ccctgggctc gtccttgcac acggccgggtg tcgatctcgc caaaagtctt 240
cgaattgcgg cgaagatata tagcgaggcc gacgaagcgt ggcgcaaggc tatcgacggg 300
ttgtttacct ga 312

10 <210> 20
<211> 312
<212> DNA
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3615c (optimizado para humanos)

15 <400> 20
atgaccgaga acctgaccgt gcagcctgag aggctgggag tgctggccag ccaccacgac 60
aacgctgccg tggacgcttc cagcggagtg gaggtgctg ctggactggg agagagcgtg 120
gccatcacc caggacccta ctgcagccag ttcaacgaca ccctgaacgt gtacctgaca 180
gccacaaacg ccctgggaag cagcctgcat acagccggcg tggacctggc taagtccctg 240
aggatcgccg ccaagatcta cagcgaggcc gacgaggcct ggaggaaagc catcgacggc 300
ctgttcacct aa 312

20 <210> 21
<211> 103
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv3615c

<400> 21

ES 2 925 950 T3

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

<210> 22

<211> 633

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1733c

<400> 22

atgatcgcca caaccgcga tcgtgaagga gccaccatga tcacgtttag gctgogcttg 60
 ccgtgccgga cgatactgcg ggtgttcagc cgcaatccgc tgggtgcgtgg gacggatcga 120
 ctcgaggcgg tcgtcatgct gctggccgctc acgggtctcgc tgctgactat cccgttcgcc 180
 gccgcggccg gcaccgcagt ccaggattcc cgcagccacg tctatgcca ccaggcccag 240
 acccgccatc ccgcaaccgc gaccgtgatc gatcacgagg ggggtgatcga cagcaacacg 300
 accgccacgt cagcgccgcc gcgcacgaag atcaccgtgc ctgcccgatg ggtcgtgaac 360
 ggaatagaac gcagcgggtga ggtcaacgcg aagccgggaa ccaaaccgg tgaccgcgtc 420
 ggcatttggg tcgacagtgc cggtcagctg gtgatgaac cagctccgcc ggcccgtgcc 480
 attgcggatg cggccctggc cgccttggga ctctggttga gcgtcgccgc ggttgccggc 540
 gccctgctgg cgctcactcg ggcgattctg atccgcgttc gcaacgccag ttggcaacac 600
 gacatcgaca gcctgttctg cacgcagcgg tga 633

<210> 23

<211> 630

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1733c (E. coli optimizada)

<400> 23

ES 2 925 950 T3

```

atgattgcga ctacccgtga tcgtgagggc gcgaccatga tcacgttccg tctgcgtctg 60
ccgtgtcgca ccattttgcg cgtgttttcg cgtaaccgcg tggtccgcgg taccgaccgt 120
ctggaggccg ttgtcatgct gctggcgggt accgtgagcc tgctgacgat cccattcgca 180
gcggcagctg gcacggccgt ccaagacagc cgtagccatg tgtatgctca ccaggctcaa 240
acccgtcacc cggctactgc cactgttatc gatcacgaag gcgtgattga ctccaatacc 300
acggcaacct ccgcaccgcc tcgcaccaag attacggttc ctgcgcggtg ggtggtgaat 360
ggtattgaac gcagcggcga agttaatgcc aaaccgggta ccaaaagcgg tgaccgtgtg 420
ggcatctggg tcgatagcgc cggtcagctg gtgcagcagc cggcaccgcc agcgcgtgcg 480
atcgccgatg cggcgctggc tgccctgggt ctgtggctga gcgtggcagc ggtcgccggt 540
gcgttgctgg cgctgacgcg cgcaattctg atccgcgttc gcaatgcgag ctggcagcac 600
gatattgata gcctgttttg caccacaagt                                     630

```

<210> 24

<211> 210

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv1733c

<400> 24

```

Met Ile Ala Thr Thr Arg Asp Arg Glu Gly Ala Thr Met Ile Thr Phe
1           5           10           15

Arg Leu Arg Leu Pro Cys Arg Thr Ile Leu Arg Val Phe Ser Arg Asn
20          25          30

Pro Leu Val Arg Gly Thr Asp Arg Leu Glu Ala Val Val Met Leu Leu
35          40          45

Ala Val Thr Val Ser Leu Leu Thr Ile Pro Phe Ala Ala Ala Ala Gly
50          55          60

Thr Ala Val Gln Asp Ser Arg Ser His Val Tyr Ala His Gln Ala Gln
65          70          75          80

Thr Arg His Pro Ala Thr Ala Thr Val Ile Asp His Glu Gly Val Ile
85          90          95

Asp Ser Asn Thr Thr Ala Thr Ser Ala Pro Pro Arg Thr Lys Ile Thr
100         105         110

Val Pro Ala Arg Trp Val Val Asn Gly Ile Glu Arg Ser Gly Glu Val
115         120         125

Asn Ala Lys Pro Gly Thr Lys Ser Gly Asp Arg Val Gly Ile Trp Val

```

ES 2 925 950 T3

130	135	140
Asp Ser Ala Gly Gln Leu Val Asp Glu Pro Ala Pro Pro Ala Arg Ala		
145	150	155 160
Ile Ala Asp Ala Ala Leu Ala Ala Leu Gly Leu Trp Leu Ser Val Ala		
	165	170 175
Ala Val Ala Gly Ala Leu Leu Ala Leu Thr Arg Ala Ile Leu Ile Arg		
	180	185 190
Val Arg Asn Ala Ser Trp Gln His Asp Ile Asp Ser Leu Phe Cys Thr		
	195	200 205
Gln Arg		
210		

<210> 25

<211> 454

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1733c (transmembrana suprimida; E. coli optimizada)

<400> 25

```

atgattgcga ctaccctgga tcgtgagggc gcgaccatga tcacgttcgg tctgcgtctg 60
ccgtgtcgca ccatttttgcg cgtgttttcg cgtaaccggc tgggtccggg taccgaccgt 120
ctggaggccc ccgggggtcca agacagccgt agccatgtgt atgctcacca ggctcaaacc 180
cgtcaccggg ctactgccac tgttatcgat cacgaaggcg tgattgactc caataccacg 240
gcaacctccg caccgcctcg caccaagatt acggttcctg cgcgttgggt ggtgaatggg 300
attgaacgca gggcggaagt taatgcaaaa ccgggtacca aaagcgggtga ccgtgtgggc 360
atctgggtcg atagcgccgg tcagctgggtc gacgagccgg caccgccagc gcgtgcatc 420
gccgattcta gacgcgcaat tctgatccgc gttcgcaatg cgagctggca gcacgatatt 480
gatagcctgt tttgcaccca acgt 454

```

<210> 26

<211> 489

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1733c (transmembrana suprimida; optimizada para humanos)

<400> 26

```

atcgccacca ccaggacag ggaaggcgct accatgatca ccttcaggct gaggctcccc 60
tgcaggacca tcctgagggg gttcagcagg aacccctgg tgaggggcac cgacagactg 120
gaagccgtgc aggacagcag gagccacgtg tatgccacc aggctcagac caggcacct 180

```

ES 2 925 950 T3

```

gctaccgcca ccgtgatcga ccacgagggc gtgatcgact ccaacaccac cgccaccagc 240
gctcctccca gaaccaagat cacagtgcc gccaggtggg tggatgaacgg catcgagagg 300
agcggcgagg tgaacgcca gcctggaacc aagagcggcg acaggggtggg catttggtgc 360
gatagcgccg gccagctggt ggatgaacct gctccccctg ccagagccat cgccgatagg 420
gccatcctga tcaggtgag gaacgccagc tggcagcacg acatcgacag cctgttctgc 480
acccaaagg                                         489

```

<210> 27

<211> 168

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv1733c (ambas regiones transmembrana eliminadas; E. coli optimizada)

<400> 27

```

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

```

10

<210> 28

<211> 163

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv1733c (ambas regiones transmembrana eliminadas; optimizado para humanos)

<400> 28

ES 2 925 950 T3

```

Ile Ala Thr Thr Arg Asp Arg Glu Gly Ala Thr Met Ile Thr Phe Arg
1          5          10          15

Leu Arg Leu Pro Cys Arg Thr Ile Leu Arg Val Phe Ser Arg Asn Pro
20        25        30

Leu Val Arg Gly Thr Asp Arg Leu Glu Ala Val Gln Asp Ser Arg Ser
35        40        45

His Val Tyr Ala His Gln Ala Gln Thr Arg His Pro Ala Thr Ala Thr
50        55        60

Val Ile Asp His Glu Gly Val Ile Asp Ser Asn Thr Thr Ala Thr Ser
65        70        75        80

Ala Pro Pro Arg Thr Lys Ile Thr Val Pro Ala Arg Trp Val Val Asn
85        90        95

Gly Ile Glu Arg Ser Gly Glu Val Asn Ala Lys Pro Gly Thr Lys Ser
100       105       110

Gly Asp Arg Val Gly Ile Trp Val Asp Ser Ala Gly Gln Leu Val Asp
115       120       125

Glu Pro Ala Pro Pro Ala Arg Ala Ile Ala Asp Arg Ala Ile Leu Ile
130       135       140

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

Thr Gln Arg

```

<210> 29

<211> 432

<212> **DNA**

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2626c

<400> 29

```

atgaccaccg cacgcgacat catgaacgca ggtgtgacct gtgttgccga acacgagacg 60
ctaaccgctg ccgctcaata catgcgtgag cagcacatcg gcgcgttgcc gatctgcggg 120
gacgacgacc ggctgcacgg catgctcacc gaccgcgaca ttgtgatcaa aggcctggct 180
gcgggcctag acccgaatac cgccacggct ggcgagttgg cccgggacag catctactac 240
gtcgatgcga acgcaagcat ccaggagatg ctcaacgtca tggaagaaca tcagggtccgc 300
cgtgttccgg tcatctcaga gcaccgcttg gtcggaatcg tcaccgaagc cgacatcgcc 360
cgacacctgc ccgagcacgc cattgtgcag ttcgtcaagg caatctgctc gcccatggcc 420
ctcgccagct ag 432

```

<210> 30

<211> 428

<212> **DNA**

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2626c (*E. coli* optimizada)

<400> 30

ES 2 925 950 T3

```

atgaccacgg cgcgatgat catgaatgcg ggtgtcacct gtgttggcga gcacgaaacg 60
ttgaccgcag cagcacagta catgcgcgaa catgatatcg gcgcattgcc gatttgcggc 120
gacgatgatc gtctgcacgg tatgtctgacc gaccgcgata tcgttatcaa gggctctggcc 180
gcaggcttgg acccgaacac cgcgaccgcc ggtgaactgg cacgtgacag catctattac 240
gtcgacgcga acgccagcat tcaagagatg ctgaacgtga tggaagagca tcagggtgctg 300
cgtgtcccgg ttatcagcga acatcgtctg gttggtatcg ttaccgaagc cgacatcgca 360
cgtcacctgc cggagcacgc gattgttcag ttogtgaaag cgatttgcag cccgatggcg 420
ttggcgctc 428

```

<210> 31

<211> 426

<212> DNA

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2626c (optimizado para humanos)

<400> 31

```

acaacagcca gggacatcat gaacgccggc gtgacctgcg tgggagagca tgaaaccctc 60
accgccgccg cccaatacat gagggagcac gacatcggcg ccctgcccac ctgtggagac 120
gacgacaggc tgcacggcat gctgaccgac agggacatcg tgatcaaggg cctggctgcc 180
ggcctcgatc ctaacaccgc tacagccggc gagctggcca gagacagcat ctactacgtg 240
gacgccaacg ccagcatcca ggagatgctc aacgtgatgg aggagcacca ggtgagaagg 300
gtgcctgtga tcagcgagca caggctggtg ggcacgtga ccgaggccga tatcgctagg 360
cacctgcccg agcacgccat cgtgcagttc gtgaaggcca tctgcagccc catggctctg 420
gccagc 426

```

10 <210> 32

<211> 143

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv2626c

<400> 32

ES 2 925 950 T3

Met Thr Thr Ala Arg Asp Ile Met Asn Ala Gly Val Thr Cys Val Gly
1 5 10 15
Glu His Glu Thr Leu Thr Ala Ala Ala Gln Tyr Met Arg Glu His Asp
20 25 30
Ile Gly Ala Leu Pro Ile Cys Gly Asp Asp Asp Arg Leu His Gly Met
35 40 45
Leu Thr Asp Arg Asp Ile Val Ile Lys Gly Leu Ala Ala Gly Leu Asp
50 55 60
Pro Asn Thr Ala Thr Ala Gly Glu Leu Ala Arg Asp Ser Ile Tyr Tyr
65 70 75 80
Val Asp Ala Asn Ala Ser Ile Gln Glu Met Leu Asn Val Met Glu Glu
85 90 95
His Gln Val Arg Arg Val Pro Val Ile Ser Glu His Arg Leu Val Gly
100 105 110
Ile Val Thr Glu Ala Asp Ile Ala Arg His Leu Pro Glu His Ala Ile
115 120 125
Val Gln Phe Val Lys Ala Ile Cys Ser Pro Met Ala Leu Ala Ser
130 135 140

<210> 33
<211> 300
<212> DNA
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3407
<400> 33

atgcgtgcta ccgttgggct tgtggaggca atcggaatcc gagaactaag acagcacgca 60
tcgcgatacc tcgcccgggt tgaagccggc gaggaacttg gcgtcaccaa caaaggaaga 120
cttgtggccc gactcatccc ggtgcaggcc gcggagcgtt ctgcggaagc cctgattgaa 180
tcagggtgtcc tgattccggc tcgtcgtcca caaaaccttc tcgacgtcac cgccgaaccg 240
gcgcgcggcc gcaagcgcac cctgtccgat gttctcaacg aaatgcgcga cgagcagtga 300

<210> 34
<211> 297
<212> DNA
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3407 (*E. coli* optimizada)
<400> 34

atgcgtgcga ctgtgggtct ggttgaggcg attggcattc gcgagctgcg ccaacatgcc 60
agccgttact tggctcgtgt cgaggcgggt gaagaactgg gcgtgacgaa taagggctcgt 120
ctggtcgccc gtctgattcc ggttcaggca gctgagcgtt ctgcgaggc gctgattgaa 180
tccggcgtcc tgatcccgcc tcgccgtccg caaaacctgc tggacgtgac ggcggagcca 240
gctcgtggtc gcaaacgcac gctgtctgat gtctgaacg aaatgcgcga cgagcag 297

<210> 35
<211> 297
<212> DNA
<213> Secuencia artificial

ES 2 925 950 T3

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv3407 (optimizado para humanos)

<400> 35

```

atgagggcga ccgtcgggct ggtggaggcg ataggtatcc gggagttgcg acagcacgca 60
tcacgatatc tggcacgggt ggaagctggg gaggaactgg gcgtgaccaa caaggggagg 120
ctggtcgcga ggctgatccc cgtgcaggcc gccgagcggc cccgcgaagc cctcatcgag 180
tctgggggtgc tcattccagc acgcaggccg caaaatctcc tggacgtcac tgcggagccc 240
gccagaggca gaaagaggac gctgagtgac gtgctgaacg agatgaggga cgaacag 297

```

5

<210> 36

<211> 99

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv3407

<400> 36

```

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

```

<210> 37

<211> 363

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2628c

<400> 37

```

atgtccacgc aacgaccgag gcactccggt attcgggctg ttggccccta cgcattgggcc 60
ggccgatgtg gtcggatagg caggtggggg gtgcaccagg aggcgatgat gaatctagcg 120
atatggcacc cgcgcaaggt gcaatccgcc accatctatc aggtgaccga tcgctcgcac 180
gacgggagca cagcacgggt gcctggtgac gagatcacta gcaccgtgtc cggttggttg 240
tcggagttgg gcacccaaag cccgttggcc gatgagcttg cgcgtgcggg gcggatcggc 300
gactggcccg ctgcgtacgc aatcggtgag cacctgtccg ttgagattgc cgttgcggtc 360
taa 363

```

20

<210> 38

<211> 363

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2628c (optimizado para humanos)

5 <400> 38

```

atgagcaccc agagacccag gcacagcggc attagggccg tgggacctta tgcttggggc 60
ggcagatgcg gaaggatcgg cagatggggc gtgcaccaag aggccatgat gaacctggcc 120
atctggcacc ccaggaaggt gcagagcgcc accatctacc aggtgaccga caggagccat 180
gacggaagga cgcgcagagt gcccggcgat gagatcacca gcaccgtgag cggctggctg 240
agcgaactgg gcacccaatc ccccctggct gatgaactgg ccagggtgtg gaggatcggc 300
gattggcctg cgcctatgc catcggcgag catctgagcg tggagatcgc cgtggccgtg 360
taa 363

```

<210> 39

<211> 120

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv2628c

<400> 39

```

Met Ser Thr Gln Arg Pro Arg His Ser Gly Ile Arg Ala Val Gly Pro
1      5      10      15
Tyr Ala Trp Ala Gly Arg Cys Gly Arg Ile Gly Arg Trp Gly Val His
20     25     30
Gln Glu Ala Met Met Asn Leu Ala Ile Trp His Pro Arg Lys Val Gln
35     40     45
Ser Ala Thr Ile Tyr Gln Val Thr Asp Arg Ser His Asp Gly Arg Thr
50     55     60
Ala Arg Val Pro Gly Asp Glu Ile Thr Ser Thr Val Ser Gly Trp Leu
65     70     75     80
Ser Glu Leu Gly Thr Gln Ser Pro Leu Ala Asp Glu Leu Ala Arg Ala
85     90     95
Val Arg Ile Gly Asp Trp Pro Ala Ala Tyr Ala Ile Gly Glu His Leu
100    105    110
Ser Val Glu Ile Ala Val Ala Val
115    120

```

15

<210> 40

<211> 1089

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1009

<400> 40

ES 2 925 950 T3

```

atgttgcgcc tggtagtcgg tgcgctgctg ctggtggttg cgttcgccgg tggctatgcg 60
gtcgccgcat gcaaaacggt gacgttgacc gtcgacggaa ccgcgatgcg ggtgaccacg 120
atgaaatcgc gggtgatcga catcgtcgaa gagaacgggt tctcagtcga cgaccgcgac 180
gacctgtatc ccgcggccgg cgtgcaggtc catgacgccg acaccatcgt gctgcggcgt 240
agccgtccgc tgcagatctc gctggatggt cagcagccta agcaggtgtg gacgaccgcg 300
tcgacggtgg acgaggcgct ggcccaactc gcgatgaccg acacggcgcc ggccgcggct 360
tctcgcgcca gccgcgtccc gctgtccggg atggcgctac cggtcgtcag cgccaagacg 420
gtgcagctca acgacggcgg gttggtgcgc acggtgcaact tgcgggcccc caatgtcgcg 480
gggctgctga gtgcggccgg cgtgccgctg ttgcaaagcg accacgtggt gcccgccgcg 540
acggccccga tcgtcgaagg catgcagatc caggtgaccc gcaatcggat caagaaggctc 600
accgagcggc tgcgctgcc gccgaacgcg cgtcgtgtcg aggacccgga gatgaacatg 660
agccgggagg tcgtcgaaga cccggggggt ccggggaccc aggatgtgac gttcgcggta 720
gctgaggtca acggcgctga gaccggccgt ttgcccgctc ccaacgtcgt ggtgaccccg 780
gccacgaag ccgtggtgcg ggtgggcacc aagcccggta ccgaggtgcc cccggtgatc 840
gacggaagca tctgggacgc gatcgccggc tgtgaggccg gtggcaactg ggcgatcaac 900
accggcaacg ggtattacgg tgggtgtcag tttgaccagg gcacctggga ggccaacggc 960
gggctgcggt atgcaccccg cgctgacctc gccaccgcg aagagcagat cgccgttgcc 1020
gaggtgaccc gactgcgtca aggttggggc gcctggccgg tatgtgctgc acgagcgggt 1080
gcgcgctga 1089

```

<210> 41

<211> 1023

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv1009 (secuencia de señal eliminada)

<400> 41

ES 2 925 950 T3

```

gcatgcaaaa cggtgacgtt gaccgtcgac ggaaccgcga tgcgggtgac cacgatgaaa 60
tcgcgggtga tcgacatcgt cgaagagaac gggttctcag tcgacgaccg cgacgacctg 120
tatcccgcg cggcggtgca ggtccatgac gccgacacca tcgtgctgct gcgtagccgt 180
ccgctgcaga tctcgctgga tggtcacgac gctaagcagg tgtggacgac cgcgtcgacg 240
gtggacgagg cgctggccca actcgcgatg accgacacgg cgccggccgc ggcttctcgc 300
gccagcccg ccccgctgtc cgggatggcg ctaccggtcg tcagcgccaa gacggtgcag 360
ctcaacgacg gcgggttggg gcgcacggtg cacttgccgg cccccaatgt cgcggggctg 420
ctgagtgctg cggcgctgcc gctgttgcaa agcgaccacg tggtgccgc cgcgacggcc 480
ccgatcgctg aaggcatgca gatccaggtg acccgcaatc ggatcaagaa ggtcaccgag 540
cggctgccgc tgccgccgaa cgcgcgtcgt gtcgaggacc cggagatgaa catgagccgg 600
gaggtcgctg aagaccggg ggttccggg acccaggatg tgacgttcgc ggtagctgag 660
gtcaacggcg tcgagaccgg ccgtttgccc gtcgccaacg tcgtggtgac cccggccac 720
gaagccgtgg tgcgggtggg caccaagccc ggtaccgagg tgcccccggt gatcgacgga 780
agcatctggg acgcgatcgc cggctgtgag gccggtggca actgggcgat caacaccggc 840
aacgggtatt acggtggtgt gcagtttgac cagggcacct gggaggccaa cggcgggctg 900
cggtatgcac ccccgctga cctcgccacc cgcgaagagc agatcgccgt tgccgaggtg 960
acccgactgc gtcaagggtg gggcgctg cgggtatgtg ctgcacgagc ggggtgcgcgc 1020
tga 1023

```

<210> 42

<211> 362

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfB (secuencia micobacteriana)

<400> 42

```

Met Leu Arg Leu Val Val Gly Ala Leu Leu Leu Val Leu Ala Phe Ala
1          5          10          15
Gly Gly Tyr Ala Val Ala Ala Cys Lys Thr Val Thr Leu Thr Val Asp
20          25          30
Gly Thr Ala Met Arg Val Thr Thr Met Lys Ser Arg Val Ile Asp Ile
35          40          45

```

ES 2 925 950 T3

```

Val Glu Glu Asn Gly Phe Ser Val Asp Asp Arg Asp Asp Leu Tyr Pro
  50                               55                               60

Ala Ala Gly Val Gln Val His Asp Ala Asp Thr Ile Val Leu Arg Arg
  65                               70                               75                               80

Ser Arg Pro Leu Gln Ile Ser Leu Asp Gly His Asp Ala Lys Gln Val
                               85                               90                               95

Trp Thr Thr Ala Ser Thr Val Asp Glu Ala Leu Ala Gln Leu Ala Met
                               100                               105                               110

Thr Asp Thr Ala Pro Ala Ala Ala Ser Arg Ala Ser Arg Val Pro Leu
                               115                               120                               125

Ser Gly Met Ala Leu Pro Val Val Ser Ala Lys Thr Val Gln Leu Asn
                               130                               135                               140

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

Gly Leu Leu Ser Ala Ala Gly Val Pro Leu Leu Gln Ser Asp His Val
                               165                               170                               175

Val Pro Ala Ala Thr Ala Pro Ile Val Glu Gly Met Gln Ile Gln Val
                               180                               185                               190

Thr Arg Asn Arg Ile Lys Lys Val Thr Glu Arg Leu Pro Leu Pro Pro
                               195                               200                               205

Asn Ala Arg Arg Val Glu Asp Pro Glu Met Asn Met Ser Arg Glu Val
                               210                               215                               220

Val Glu Asp Pro Gly Val Pro Gly Thr Gln Asp Val Thr Phe Ala Val
                               225                               230                               235                               240

Ala Glu Val Asn Gly Val Glu Thr Gly Arg Leu Pro Val Ala Asn Val
                               245                               250                               255

Val Val Thr Pro Ala His Glu Ala Val Val Arg Val Gly Thr Lys Pro
                               260                               265                               270

Gly Thr Glu Val Pro Pro Val Ile Asp Gly Ser Ile Trp Asp Ala Ile
                               275                               280                               285

Ala Gly Cys Glu Ala Gly Gly Asn Trp Ala Ile Asn Thr Gly Asn Gly
                               290                               295                               300

Tyr Tyr Gly Gly Val Gln Phe Asp Gln Gly Thr Trp Glu Ala Asn Gly
                               305                               310                               315                               320

Gly Leu Arg Tyr Ala Pro Arg Ala Asp Leu Ala Thr Arg Glu Glu Gln
                               325                               330                               335

Ile Ala Val Ala Glu Val Thr Arg Leu Arg Gln Gly Trp Gly Ala Trp
                               340                               345                               350

Pro Val Cys Ala Ala Arg Ala Gly Ala Arg
                               355                               360

```

<210> 43

<211> 340

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfB (secuencia micobacteriana; secuencia de señalización suprimida)

<400> 43

ES 2 925 950 T3

Ala Cys Lys Thr Val Thr Leu Thr Val Asp Gly Thr Ala Met Arg Val
1 5 10 15

Thr Thr Met Lys Ser Arg Val Ile Asp Ile Val Glu Glu Asn Gly Phe
20 25 30

Ser Val Asp Asp Arg Asp Asp Leu Tyr Pro Ala Ala Gly Val Gln Val
35 40 45

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

Ser Leu Asp Gly His Asp Ala Lys Gln Val Trp Thr Thr Ala Ser Thr
65 70 75 80

Val Asp Glu Ala Leu Ala Gln Leu Ala Met Thr Asp Thr Ala Pro Ala
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Ser Arg Val Pro Leu Ser Gly Met Ala Leu Pro
100 105 110

Val Val Ser Ala Lys Thr Val Gln Leu Asn Asp Gly Gly Leu Val Arg
115 120 125

Thr Val His Leu Pro Ala Pro Asn Val Ala Gly Leu Leu Ser Ala Ala
130 135 140

Gly Val Pro Leu Leu Gln Ser Asp His Val Val Pro Ala Ala Thr Ala
145 150 155 160

Pro Ile Val Glu Gly Met Gln Ile Gln Val Thr Arg Asn Arg Ile Lys
165 170 175

Lys Val Thr Glu Arg Leu Pro Leu Pro Pro Asn Ala Arg Arg Val Glu
180 185 190

Asp Pro Glu Met Asn Met Ser Arg Glu Val Val Glu Asp Pro Gly Val
195 200 205

Pro Gly Thr Gln Asp Val Thr Phe Ala Val Ala Glu Val Asn Gly Val
210 215 220

Glu Thr Gly Arg Leu Pro Val Ala Asn Val Val Val Thr Pro Ala His
225 230 235 240

Glu Ala Val Val Arg Val Gly Thr Lys Pro Gly Thr Glu Val Pro Pro
245 250 255

Val Ile Asp Gly Ser Ile Trp Asp Ala Ile Ala Gly Cys Glu Ala Gly
260 265 270

Gly Asn Trp Ala Ile Asn Thr Gly Asn Gly Tyr Tyr Gly Gly Val Gln
275 280 285

Phe Asp Gln Gly Thr Trp Glu Ala Asn Gly Gly Leu Arg Tyr Ala Pro
290 295 300

Arg Ala Asp Leu Ala Thr Arg Glu Glu Gln Ile Ala Val Ala Glu Val
305 310 315 320

Thr Arg Leu Arg Gln Gly Trp Gly Ala Trp Pro Val Cys Ala Ala Arg
325 330 335

Ala Gly Ala Arg
340

<210> 44

<211> 465

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

ES 2 925 950 T3

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2389c

<400> 44

```

atgacaccgg gtttgcttac tactgcgggt gctggccgac cacgtgacag gtgcgccagg 60
atcgtatgca cgggtgtcat cgaaaccgcc gttgtcgca ccatgtttgt cgcgttggtg 120
ggtctgtcca ccatcagctc gaaagccgac gacatcgatt gggacgccat cgcgcaatgc 180
gaatccggcg gcaattgggc ggccaacacc ggtaacgggt tatacgggtg tctgcagatc 240
agccaggcga cgtgggattc caacgggtgt gtcgggtcgc cggcggccgc gagtccccag 300
caacagatcg aggtcgaga caacattatg aaaaccgaag gcccggtgc gtggccgaaa 360
tgtagtcttt gtagtcaggg agacgcaccg ctgggctcgc tcaccacat cctgacgttc 420
ctcgcggccg agactggagg ttgttcgggg agcagggacg attga 465

```

5

<210> 45

<211> 354

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2389c (optimizado para E. coli; secuencia líder eliminada)

<400> 45

```

aagcttttgc tgggcctgag caccattagc agcaaagcgg atgacatcga ctgggatgag 60
attgcgcagt gtgagagcgg tggcaattgg gcagcgaata ccggcaatgg cctgtacggc 120
ggtctgcaga tctcccaggc gacgtgggac agcaatggtg gcgtcggcag cccggctgcc 180
gcgtccccac aacaacagat cgaggtggca gataacatta tgaaaacgca gggctccgggt 240
gcttgggcaa aatgctccag ctgcagccag ggtgacgcac cgctgggcag cctgaccac 300
attctgacgt tcctggcagc ggaaaccggt ggtttagcgc gtagccgcga tgac 354

```

15

<210> 46

<211> 465

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2389c (optimizado para humanos; secuencia líder presente)

<400> 46

```

acccccggac tcctcaccac agctggagct ggcaggccca gagacagatg cgccaggatc 60
gtgtgcaccg tgttcacga gaccgccgtg gtggctacca tggtcgtggc cctgctgggc 120
ctgagcacca tcagcagcaa ggccgacgac atcgactggg acgccatcgc ccagtgtgaa 180
tccggcggaa actgggcccgc caataccggc aatggcctgt acggcggcct gcagatcagc 240
caggctacct gggactccaa cggaggagtg ggaagccctg ccgtgcttc ccctcagcag 300
cagatcgagg tggccgacaa catcatgaag acccaaggcc ctggcgccct gcctaagtgt 360
tccagctgta gccaggcgga tgctcctctg ggcagcctga cccacatcct gacctttctc 420
gccgccgaga caggcggatg tagcgggaagc agggacgact aatga 465

```

<210> 47
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfD (*E. coli* optimizado)
 <400> 47

```

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

Asp Ala Ile Ala Gln Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala Asn Thr
          20          25          30

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

Ser Asn Gly Gly Val Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln Gln Gln
          50          55          60

Ile Glu Val Ala Asp Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly Ala Trp
65          70          75          80

Pro Lys Cys Ser Ser Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly Ser Leu
          85          90          95

Thr His Ile Leu Thr Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys Ser Gly
          100          105          110

Ser Arg Asp Asp
          115
    
```

10

<210> 48
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfD (secuencia micobacteriana y humana optimizada)

15

<400> 48

ES 2 925 950 T3

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

<210> 49

<211> 519

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Mycobacterium Rv2450c

<400> 49

ttgaagaacg cccgtacgac gctcatcgcc gccgcgattg ccgggacggt ggtgaccacg 60
tcaccagccg gtatcgccaa tgccgacgac gcgggcttgg acccaaacgc cgcagccggc 120
ccgatgcccg tgggctttga cccgaacctg ccgccggccc cggacgctgc acccgctgat 180
actccgcccg ctccggagga cgcgggcttt gatcccaacc tcccccgcc gctggccccg 240
gacttcctgt cccgcctgc ggaggaagcg cctcccgctc ccgtggccta cagcgtgaac 300
tgggacgcga tcgcgcagtg cgagtcgggt ggaaactggt cgatcaacac cggtaacggt 360
tactacggcg gcctgcggtt caccgccggc acctggcgtg ccaacgggtg ctcgggggtcc 420
gcggccaacg cgagccggga ggagcagatc cgggtggctg agaacgtgct gcgttcgcag 480
ggtatccgcg cctggccggt ctgcggccgc cgcggctga 519

<210> 50

<211> 172

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfE

<400> 50

ES 2 925 950 T3

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

<210> 51

<211> 1584

<212> DNA

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (optimizada para *E. coli*)

<400> 51

atgacagagc agcagtggaa tttcgcgggt atcgaggccg cggcaagcgc aatccaggga 60
 aatgtcacgt ccattcattc cctccttgac gaggggaagc agtccctgac caagctcgca 120
 gcggcctggg gcggtagcgg ttcggaggcg taccagggtg tccagcaaaa atgggacgcc 180
 acggctaccg agctgaacaa cgcgctgcag aacctggcgc ggacgatcag cgaagccggg 240

10

ES 2 925 950 T3

```

caggcaatgg cttcgaccga aggcaacgtc actgggatgt tcgcagaatt catgattgcg 300
actaccctgt atcgtgaggg cgcgaccatg atcacgttcc gtctgctct gccgtgtcgc 360
accattttgc gcgtgttttc gcgtaacccg ctgggtccgc gtaccgaccg tctggaggcc 420
cccgggtcc aagacagccg tagccatgtg tatgctcacc aggtcaaac ccgtcaccgc 480
gctactgcca ctgttatcga tcacgaaggc gtgattgact ccaataccac ggcaacctcc 540
gcaccgcctc gcaccaagat tacggttcct gcgcgttggg tggatgaatg tattgaacgc 600
agcggcgaag ttaatgcaa accgggtacc aaaagcgggt accgtgtggg catctgggtc 660
gatagcgccg gtcagctggt cgacgagccg gcaccgccag cgcgtgcgat cgccgattct 720
agacgcgcaa ttctgatccg cgttcgcaat gcgagctggc agcacgatat tgatagcctg 780
ttttgcaccc aacgtgagct catgaccacg gcgcgtgata tcatgaatgc ggggtgcacc 840
tgtgttggcg agcacgaaac gttgaccgca gcagcacagt acatgcgcga acatgatatc 900
ggcgcattgc cgatttgccg cgacgatgat cgtctgcacg gtatgctgac cgaccgcgat 960
atcgttatca aggtctggc cgcaggcttg gacccgaaca ccgcgaccgc cggatgaactg 1020
gcacgtgaca gcatctatta cgtcgacgcg aacgccagca ttcaagagat gctgaacgtg 1080
atggaagagc atcaggtgcg tcgtgtcccg gttatcagcg aacatcgtct gggttggtatc 1140
gttaccgaag ccgacatcgc acgtcacctg ccgagcacg cgattgttca gttcgtgaaa 1200
gcgatttgca gcccgatggc gttggcgtct aagcttttgc tgggcctgag caccattagc 1260
agcaaagcgg atgacatcga ctgggatgcg attgcgcagt gtgagagcgg tggcaattgg 1320
gcagcgaata ccggcaatgg cctgtacggc ggtctgcaga tctcccaggc gacgtgggac 1380
agcaatggtg gcgtcggcag cccggctgcc gcgtccccc aacaacagat cgaggtggca 1440
gataacatta tgaacacgca ggggtccggg gcttggtcaa aatgctccag ctgcagccag 1500
ggtgacgcac cgctgggcag cctgaccac attctgacgt tcctggcagc ggaaaccggt 1560
ggttgtagcg gtagccgcga tgac 1584

```

<210> 52

<211> 1689

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (optimizada para humanos)

<400> 52

```

atgaccgagc agcagtggaa cttcgccggc atcgaagctg ccgctagcgc catccaaggc 60
aacgtgacca gcatccacag cctgctggac gagggcaagc agagcctgac caagctggct 120
gctgcttggg gcggatccgg aagcgaagcc taccagggcg tgcagcagaa gtgggacgcc 180

```

ES 2 925 950 T3

```

acagccaccg agctgaacaa cgccctgcag aacctcgcca gaaccatcag cgaggccgga 240
caggctatgg ccagcacaga gggcaatgtg accggcatgt tcgccttcga aatcgccacc 300
accagggaca ggaaggcgc taccatgatc accttcaggc tgaggctccc ctgcaggacc 360
atcctgaggg tgttcagcag gaaccccctg gtgaggggca ccgacagact ggaagccgtg 420
caggacagca ggagccacgt gtatgcccac caggctcaga ccaggcacc tgctaccgcc 480
accgtgatcg accacgaggg cgtgatcgac tccaacacca ccgccaccag cgctcctccc 540
agaaccaaga tcacagtgcc cgccaggtgg gtggtgaacg gcatcgagag gagcggcgag 600
gtgaacgcca agcctggaac caagagcggc gacaggggtg gcatttggtg cgatagcgcc 660
ggccagctgg tggtatgaacc tgctccccct gccagagcca tcgccgatag ggccatcctg 720
atcaggggtg ggaacgccag ctggcagcac gacatcgaca gcctgttctg cacccaaagg 780
cgatcgacaa cagccaggga catcatgaac gccggcgtga cctgcgtggg agagcatgaa 840
accctcaccg ccgccgcccc atacatgagg gagcacgaca tcggcgccct gcccatctgt 900
ggagacgacg acaggtcgca cggcatgctg accgacaggg acatcgatg caagggcctg 960
gctgccggcc tcgatcctaa caccgctaca gccggcgagc tggccagaga cagcatctac 1020
tacgtggacg ccaacgccag catccaggag atgctcaacg tgatggagga gcaccagggtg 1080
agaaggggtg ctgtgatcag cgagcacagg ctggtgggca tcgtgaccga ggccgatatc 1140
gctaggcacc tgcccagca cgccatcgtg cagtctgtga aggccatctg cagccccatg 1200
gctctggcca gcggcgcgcc ccccccgga ctctcacca cagctggagc tggcaggccc 1260
agagacagat gcgccaggat cgtgtgcacc gtgttcacg agaccgccgt ggtggctacc 1320
atgttcgtgg ccctgctggg cctgagcacc atcagcagca aggccgacga catcgactgg 1380
gacgccatcg cccagtgtga atccggcgga aactgggccc ccaataccgg caatggcctg 1440
tacggcggcc tgcatatcag ccaggctacc tgggactcca acggaggagt gggaagccct 1500
gccgctgctt cccctcagca gcagatcgag gtggccgaca acatcatgaa gacccaaggc 1560
cctggcgccct ggcctaagtg ttccagctgt agccagggcg atgctcctct gggcagcctg 1620
accacatcc tgacctttct cgccgccgag acaggcggtg gtagcggaag cagggacgac 1680
taatgatag 1689

```

<210> 53

<211> 528

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (*E. coli* optimizado)

<400> 53

ES 2 925 950 T3

Met	Thr	Glu	Gln	Gln	Trp	Asn	Phe	Ala	Gly	Ile	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	
1				5					10					15		
Ala	Ile	Gln	Gly	Asn	Val	Thr	Ser	Ile	His	Ser	Leu	Leu	Asp	Glu	Gly	
		20						25					30			
Lys	Gln	Ser	Leu	Thr	Lys	Leu	Ala	Ala	Ala	Trp	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	
		35					40					45				
Glu	Ala	Tyr	Gln	Gly	Val	Gln	Gln	Lys	Trp	Asp	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	
	50					55					60					
Leu	Asn	Asn	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Ala	Arg	Thr	Ile	Ser	Glu	Ala	Gly	
65					70					75					80	
Gln	Ala	Met	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Asn	Val	Thr	Gly	Met	Phe	Ala	Glu	
				85					90					95		
Phe	Met	Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	Thr	Met	Ile	Thr	
			100					105					110			
Phe	Arg	Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	
		115					120					125				
Asn	Pro	Leu	Val	Arg	Gly	Thr	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Pro	Gly	Val	Gln	
	130					135					140					
Asp	Ser	Arg	Ser	His	Val	Tyr	Ala	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Arg	His	Pro	
145				150						155					160	
Ala	Thr	Ala	Thr	Val	Ile	Asp	His	Glu	Gly	Val	Ile	Asp	Ser	Asn	Thr	
				165					170					175		
Thr	Ala	Thr	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Thr	Lys	Ile	Thr	Val	Pro	Ala	Arg	
			180					185					190			
Trp	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Glu	Arg	Ser	Gly	Glu	Val	Asn	Ala	Lys	Pro	
		195					200					205				
Gly	Thr	Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	Val	Gly	Ile	Trp	Val	Asp	Ser	Ala	Gly	
	210					215					220					
Gln	Leu	Val	Asp	Glu	Pro	Ala	Pro	Pro	Ala	Arg	Ala	Ile	Ala	Asp	Ser	
225					230					235					240	
Arg	Arg	Ala	Ile	Leu	Ile	Arg	Val	Arg	Asn	Ala	Ser	Trp	Gln	His	Asp	
				245					250					255		
Ile	Asp	Ser	Leu	Phe	Cys	Thr	Gln	Arg	Glu	Leu	Met	Thr	Thr	Ala	Arg	
			260					265					270			
Asp	Ile	Met	Asn	Ala	Gly	Val	Thr	Cys	Val	Gly	Glu	His	Glu	Thr	Leu	
		275					280					285				
Thr	Ala	Ala	Ala	Gln	Tyr	Met	Arg	Glu	His	Asp	Ile	Gly	Ala	Leu	Pro	
						295					300					
Ile	Cys	Gly	Asp	Asp	Asp	Arg	Leu	His	Gly	Met	Leu	Thr	Asp	Arg	Asp	
305					310					315					320	
Ile	Val	Ile	Lys	Gly	Leu	Ala	Ala	Gly	Leu	Asp	Pro	Asn	Thr	Ala	Thr	
				325					330					335		

ES 2 925 950 T3

Ala Gly Glu Leu Ala Arg Asp Ser Ile Tyr Tyr Val Asp Ala Asn Ala
340 345 350

Ser Ile Gln Glu Met Leu Asn Val Met Glu Glu His Gln Val Arg Arg
355 360 365

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

Asp Ile Ala Arg His Leu Pro Glu His Ala Ile Val Gln Phe Val Lys
385 390 395 400

Ala Ile Cys Ser Pro Met Ala Leu Ala Ser Lys Leu Leu Leu Gly Leu
405 410 415

Ser Thr Ile Ser Ser Lys Ala Asp Asp Ile Asp Trp Asp Ala Ile Ala
420 425 430

Gln Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala Asn Thr Gly Asn Gly Leu
435 440 445

Tyr Gly Gly Leu Gln Ile Ser Gln Ala Thr Trp Asp Ser Asn Gly Gly
450 455 460

Val Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln Gln Gln Ile Glu Val Ala
465 470 475 480

Asp Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly Ala Trp Pro Lys Cys Ser
485 490 495

Ser Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly Ser Leu Thr His Ile Leu
500 505 510

Thr Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys Ser Gly Ser Arg Asp Asp
515 520 525

<210> 54

<211> 559

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (optimizado para humanos)

<400> 54

Met Thr Glu Gln Gln Trp Asn Phe Ala Gly Ile Glu Ala Ala Ala Ser
1 5 10 15

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

Lys Gln Ser Leu Thr Lys Leu Ala Ala Ala Trp Gly Gly Ser Gly Ser
35 40 45

Glu Ala Tyr Gln Gly Val Gln Gln Lys Trp Asp Ala Thr Ala Thr Glu
50 55 60

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

Ala Met Ala Ser Thr Glu Gly Asn Val Thr Gly Met Phe Ala Phe Glu

ES 2 925 950 T3

85										90					95				
Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	Thr	Met	Ile	Thr	Phe	Arg				
			100					105					110						
Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	Asn	Pro				
		115					120					125							
Leu	Val	Arg	Gly	Thr	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Asp	Ser	Arg	Ser				
		130				135					140								
His	Val	Tyr	Ala	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Arg	His	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr				
145					150					155					160				
Val	Ile	Asp	His	Glu	Gly	Val	Ile	Asp	Ser	Asn	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser				
			165						170					175					
Ala	Pro	Pro	Arg	Thr	Lys	Ile	Thr	Val	Pro	Ala	Arg	Trp	Val	Val	Asn				
			180					185					190						
Gly	Ile	Glu	Arg	Ser	Gly	Glu	Val	Asn	Ala	Lys	Pro	Gly	Thr	Lys	Ser				
		195					200					205							
Gly	Asp	Arg	Val	Gly	Ile	Trp	Val	Asp	Ser	Ala	Gly	Gln	Leu	Val	Asp				
	210					215					220								
Glu	Pro	Ala	Pro	Pro	Ala	Arg	Ala	Ile	Ala	Asp	Arg	Ala	Ile	Leu	Ile				
225					230				235						240				
Arg	Val	Arg	Asn	Ala	Ser	Trp	Gln	His	Asp	Ile	Asp	Ser	Leu	Phe	Cys				
			245						250					255					
Thr	Gln	Arg	Arg	Ser	Thr	Thr	Ala	Arg	Asp	Ile	Met	Asn	Ala	Gly	Val				
			260					265					270						
Thr	Cys	Val	Gly	Glu	His	Glu	Thr	Leu	Thr	Ala	Ala	Ala	Gln	Tyr	Met				
		275					280					285							
Arg	Glu	His	Asp	Ile	Gly	Ala	Leu	Pro	Ile	Cys	Gly	Asp	Asp	Asp	Arg				
	290					295					300								
Leu	His	Gly	Met	Leu	Thr	Asp	Arg	Asp	Ile	Val	Ile	Lys	Gly	Leu	Ala				
305					310					315					320				
Ala	Gly	Leu	Asp	Pro	Asn	Thr	Ala	Thr	Ala	Gly	Glu	Leu	Ala	Arg	Asp				
			325						330					335					
Ser	Ile	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ala	Asn	Ala	Ser	Ile	Gln	Glu	Met	Leu	Asn				
			340					345					350						
Val	Met	Glu	Glu	His	Gln	Val	Arg	Arg	Val	Pro	Val	Ile	Ser	Glu	His				
		355					360					365							
Arg	Leu	Val	Gly	Ile	Val	Thr	Glu	Ala	Asp	Ile	Ala	Arg	His	Leu	Pro				
	370					375					380								
Glu	His	Ala	Ile	Val	Gln	Phe	Val	Lys	Ala	Ile	Cys	Ser	Pro	Met	Ala				
385					390					395					400				
Leu	Ala	Ser	Gly	Ala	Pro	Thr	Pro	Gly	Leu	Leu	Thr	Thr	Ala	Gly	Ala				
				405					410					415					
Gly	Arg	Pro	Arg	Asp	Arg	Cys	Ala	Arg	Ile	Val	Cys	Thr	Val	Phe	Ile				

420	425	430
Glu Thr Ala Val Val Ala Thr Met Phe Val Ala Leu Leu Gly Leu Ser		
435	440	445
Thr Ile Ser Ser Lys Ala Asp Asp Ile Asp Trp Asp Ala Ile Ala Gln		
450	455	460
Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala Asn Thr Gly Asn Gly Leu Tyr		
465	470	475
Gly Gly Leu Gln Ile Ser Gln Ala Thr Trp Asp Ser Asn Gly Gly Val		
485	490	495
Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln Gln Gln Ile Glu Val Ala Asp		
500	505	510
Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly Ala Trp Pro Lys Cys Ser Ser		
515	520	525
Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly Ser Leu Thr His Ile Leu Thr		
530	535	540
Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys Ser Gly Ser Arg Asp Asp		
545	550	555

<210> 55

<211> 2421

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-Rpfb

<400> 55

```

atgacagagc agcagtgga tttcgcggt atcgaggccg cggcaagcgc aatccaggga 60
aatgtcacgt ccattcattc cctccttgac gaggggaagc agtccctgac caagctcgca 120
gcggcctggg gcggtagcgg ttcggaggcg taccagggtg tccagcaaaa atgggacgcc 180
acggctaccg agctgaacaa cgcgctgcag aacctggcgc ggacgatcag cgaagccggg 240
caggcaatgg cttcgaccga aggcaacgtc actgggatgt tcgcagaatt catgattgcg 300
actaccctg atcgtgaggg cgcgaccatg atcacgttcc gtctgcgtct gccgtgtcgc 360
accatthtgc gcgtgttttc gcgtaaccgc ctggtccgcg gtaccgaccg tctggaggcc 420
gttgtcatgc tgctggcggg taccgtgagc ctgctgacga tccatttcgc agcggcagct 480
ggcacggccg tccaagacag ccgtagccat gtgtatgctc accaggctca aaccggtcac 540
ccggctactg ccaactgtat cgatcacgaa ggcgtgattg actccaatac cacggcaacc 600
tccgcaccgc ctgcaccaa gattacgggt cctgcgcgtt ggggtggtgaa tggattgaa 660
cgcagcggcg aagttaatgc caaacgggt accaaaagcg gtgaccgtgt gggcatctgg 720
gtcgatagcg ccggtcagct ggtcgacgag ccggcaccgc cagcgcgtgc gatcgccgat 780

```


ES 2 925 950 T3

```

gcggcgctgg ctgccctggg tctgtggctg agcgtggcag cggtcgcccg tgcgttgctg 840
gcgctgacgc gcgcaattct gatccgcgtt cgcaatgcga gctggcagca cgatattgat 900
agcctgtttt gcacccaacg tgagctcatg accacggcgc gtgatatcat gaatcggggt 960
gtcacctgtg ttggcgagca cgaaacgttg accgcagcag cacagtacat gcgcgaacat 1020
gatatcggcg cattgccgat ttgcggcgac gatgatcgtc tgcacgggat gctgaccgac 1080
cgcgatatcg ttatcaaggg tctggccgca ggcttggacc cgaacaccgc gaccgccggt 1140
gaactggcac gtgacagcat ctattacgtc gacgcgaacg ccagcattca agagatgctg 1200
aacgtgatgg aagagcatca ggtgcgtcgt gtcccgggta tcagcgaaca tcgtctgggt 1260
ggtatcggtt ccgaagccga catcgcacgt cacctgccgg agcacgcgat tgttcagttc 1320
gtgaaagcga tttgcagccc gatggcgttg gcgtctcgtc aaaagggcga caaaaattt 1380
attctaaatg caaagcttgc atgcaaaacg gtgacgttga ccgtcgacgg aaccgcgatg 1440
cgggtgacca cgatgaaatc gcgggtgatc gacatcgctc aagagaacgg gttctcagtc 1500
gacgaccgcg acgacctgta tcccgcggcc ggcgtgcagg tccatgacgc cgacaccatc 1560
gtgctgcggc gtgaccgtcc gctgcagatc tcgctggatg gtcacgacgc taagcaggtg 1620
tggacgaccg cgtcgacggt ggacgaggcg ctggcccaac tcgcatgac cgacacggcg 1680
ccggccgcgg cttctcgcg cagccgcgtc ccgctgtccg ggatggcgct accggtcgtc 1740
agcgccaaga cgggtgcagct caacgacggc ggggttggtg gcacgggtgca cttgccggcc 1800
cccaatgtcg cggggctgct gagtgcggcc ggcgtgccgc tgttgcaaag cgaccacgtg 1860
gtgcccgccg cgacggcccc gatcgtcgaa ggcattgcaga tccaggtgac ccgcaatcgg 1920
atcaagaagg tcaccgagcg gctgccgctg ccgccgaacg cgcgtcgtgt cgaggaccgg 1980
gagatgaaca tgagccggga ggtcgtcgaa gaccggggg ttccggggac ccaggatgtg 2040
acgttcgcgg tagctgaggt caacggcgtc gagaccggcc gtttgcccgt cgccaacgtc 2100
gtggtgaccc cggccacga agccgtggtg cgggtgggca ccaagcccgg taccgaggtg 2160
cccccggtga tcgacggaag catctgggac gcgatcgccg gctgtgaggc cgggtggcaac 2220
tgggcgatca acaccggcaa cgggtattac ggtggtgtgc agtttgacca gggcacctgg 2280
gaggccaacg gcgggctgcg gtatgcaccc cgcgctgacc tcgccacccg cgaagagcag 2340
atcgccgttg ccgaggtgac ccgactgcgt caaggttggg gcgcctggcc ggtatgtgct 2400
gcacgagcgg gtgcgcgctg a

```

<210> 56

<211> 806

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfB

<400> 56

ES 2 925 950 T3

Met	Thr	Glu	Gln	Gln	Trp	Asn	Phe	Ala	Gly	Ile	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	1	5	10	15
Ala	Ile	Gln	Gly	Asn	Val	Thr	Ser	Ile	His	Ser	Leu	Leu	Asp	Glu	Gly	20	25	30	
Lys	Gln	Ser	Leu	Thr	Lys	Leu	Ala	Ala	Ala	Trp	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	35	40	45	
Glu	Ala	Tyr	Gln	Gly	Val	Gln	Gln	Lys	Trp	Asp	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	50	55	60	
Leu	Asn	Asn	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Ala	Arg	Thr	Ile	Ser	Glu	Ala	Gly	65	70	75	80
Gln	Ala	Met	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Asn	Val	Thr	Gly	Met	Phe	Ala	Glu	85	90	95	
Phe	Met	Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	Thr	Met	Ile	Thr	100	105	110	
Phe	Arg	Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	115	120	125	
Asn	Pro	Leu	Val	Arg	Gly	Thr	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Val	Val	Met	Leu	130	135	140	
Leu	Ala	Val	Thr	Val	Ser	Leu	Leu	Thr	Ile	Pro	Phe	Ala	Ala	Ala	Ala	145	150	155	160
Gly	Thr	Ala	Val	Gln	Asp	Ser	Arg	Ser	His	Val	Tyr	Ala	His	Gln	Ala	165	170	175	
Gln	Thr	Arg	His	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr	Val	Ile	Asp	His	Glu	Gly	Val	180	185	190	
Ile	Asp	Ser	Asn	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Thr	Lys	Ile	195	200	205	
Thr	Val	Pro	Ala	Arg	Trp	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Glu	Arg	Ser	Gly	Glu	210	215	220	
Val	Asn	Ala	Lys	Pro	Gly	Thr	Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	Val	Gly	Ile	Trp	225	230	235	240
Val	Asp	Ser	Ala	Gly	Gln	Leu	Val	Asp	Glu	Pro	Ala	Pro	Pro	Ala	Arg	245	250	255	
Ala	Ile	Ala	Asp	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	Trp	Leu	Ser	Val	260	265	270	
Ala	Ala	Val	Ala	Gly	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Ile	275	280	285	
Arg	Val	Arg	Asn	Ala	Ser	Trp	Gln	His	Asp	Ile	Asp	Ser	Leu	Phe	Cys	290	295	300	
Thr	Gln	Arg	Glu	Leu	Met	Thr	Thr	Ala	Arg	Asp	Ile	Met	Asn	Ala	Gly	305	310	315	320

ES 2 925 950 T3

Val	Thr	Cys	Val	Gly	Glu	His	Glu	Thr	Leu	Thr	Ala	Ala	Ala	Gln	Tyr		
				325					330					335			
Met	Arg	Glu	His	Asp	Ile	Gly	Ala	Leu	Pro	Ile	Cys	Gly	Asp	Asp	Asp		
			340					345					350				
Arg	Leu	His	Gly	Met	Leu	Thr	Asp	Arg	Asp	Ile	Val	Ile	Lys	Gly	Leu		
		355					360					365					
Ala	Ala	Gly	Leu	Asp	Pro	Asn	Thr	Ala	Thr	Ala	Gly	Glu	Leu	Ala	Arg		
		370					375				380						
Asp	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ala	Asn	Ala	Ser	Ile	Gln	Glu	Met	Leu		
385					390					395					400		
Asn	Val	Met	Glu	Glu	His	Gln	Val	Arg	Arg	Val	Pro	Val	Ile	Ser	Glu		
			405					410					415				
His	Arg	Leu	Val	Gly	Ile	Val	Thr	Glu	Ala	Asp	Ile	Ala	Arg	His	Leu		
		420						425					430				
Pro	Glu	His	Ala	Ile	Val	Gln	Phe	Val	Lys	Ala	Ile	Cys	Ser	Pro	Met		
		435					440					445					
Ala	Leu	Ala	Ser	Arg	Gln	Lys	Gly	Asp	Thr	Lys	Phe	Ile	Leu	Asn	Ala		
	450					455					460						
Lys	Leu	Ala	Cys	Lys	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Gly	Thr	Ala	Met		
465					470					475					480		
Arg	Val	Thr	Thr	Met	Lys	Ser	Arg	Val	Ile	Asp	Ile	Val	Glu	Glu	Asn		
			485						490					495			
Gly	Phe	Ser	Val	Asp	Asp	Arg	Asp	Asp	Leu	Tyr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val		
		500						505						510			
Gln	Val	His	Asp	Ala	Asp	Thr	Ile	Val	Leu	Arg	Arg	Ser	Arg	Pro	Leu		
		515					520					525					
Gln	Ile	Ser	Leu	Asp	Gly	His	Asp	Ala	Lys	Gln	Val	Trp	Thr	Thr	Ala		
	530					535					540						
Ser	Thr	Val	Asp	Glu	Ala	Leu	Ala	Gln	Leu	Ala	Met	Thr	Asp	Thr	Ala		
545					550					555					560		
Pro	Ala	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ser	Arg	Val	Pro	Leu	Ser	Gly	Met	Ala		
			565						570					575			
Leu	Pro	Val	Val	Ser	Ala	Lys	Thr	Val	Gln	Leu	Asn	Asp	Gly	Gly	Leu		
		580						585					590				
Val	Arg	Thr	Val	His	Leu	Pro	Ala	Pro	Asn	Val	Ala	Gly	Leu	Leu	Ser		
		595					600					605					
Ala	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Leu	Gln	Ser	Asp	His	Val	Val	Pro	Ala	Ala		
		610					615					620					
Thr	Ala	Pro	Ile	Val	Glu	Gly	Met	Gln	Ile	Gln	Val	Thr	Arg	Asn	Arg		
625					630					635					640		
Ile	Lys	Lys	Val	Thr	Glu	Arg	Leu	Pro	Leu	Pro	Pro	Asn	Ala	Arg	Arg		
			645						650					655			

ES 2 925 950 T3

Val	Glu	Asp	Pro	Glu	Met	Asn	Met	Ser	Arg	Glu	Val	Val	Glu	Asp	Pro	
			660					665					670			
Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Gln	Asp	Val	Thr	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Val	Asn	
		675					680					685				
Gly	Val	Glu	Thr	Gly	Arg	Leu	Pro	Val	Ala	Asn	Val	Val	Val	Thr	Pro	
		690				695					700					
Ala	His	Glu	Ala	Val	Val	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Pro	Gly	Thr	Glu	Val	
705					710					715					720	
Pro	Pro	Val	Ile	Asp	Gly	Ser	Ile	Trp	Asp	Ala	Ile	Ala	Gly	Cys	Glu	
				725					730					735		
Ala	Gly	Gly	Asn	Trp	Ala	Ile	Asn	Thr	Gly	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Gly	
			740					745					750			
Val	Gln	Phe	Asp	Gln	Gly	Thr	Trp	Glu	Ala	Asn	Gly	Gly	Leu	Arg	Tyr	
		755					760					765				
Ala	Pro	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Thr	Arg	Glu	Glu	Gln	Ile	Ala	Val	Ala	
	770					775					780					
Glu	Val	Thr	Arg	Leu	Arg	Gln	Gly	Trp	Gly	Ala	Trp	Pro	Val	Cys	Ala	
785					790					795					800	
Ala	Arg	Ala	Gly	Ala	Arg											
				805												

<210> 57

<211> 2430

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

5

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium RpfB-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c

<400> 57

atgaagcttg	catgcaaaac	ggtgacgttg	accgtcgacg	gaaccgcgat	gcgggtgacc	60
acgatgaaat	cgcggtgat	cgacatcgtc	gaagagaacg	ggttctcagt	cgacgaccgc	120
gacgacctgt	atcccgcggc	cggcgtgcag	gtccatgacg	ccgacaccat	cgtgctgcgg	180
cgtagccgtc	cgctgcagat	ctcgctggat	ggtcacgacg	ctaagcaggt	gtggacgacc	240
gcgtcgacgg	tggacgaggc	gctggcccaa	ctcgcgatga	ccgacacggc	gccggccgcg	300
gcttctcgcg	ccagccgcgt	cccgtgtcc	gggatggcgc	taccggtcgt	cagcgccaag	360
acggtgcagc	tcaacgacgg	cggttggtg	cgacaggtgc	acttgccggc	ccccaatgtc	420
gcggggctgc	tgagtgcggc	cggcgtgccg	ctgttgcaaa	gcgaccacgt	ggtgcccgcc	480
gcgacggccc	cgatcgtcga	aggcatgcag	atccaggtga	cccgaatcg	gatcaagaag	540
gtcaccgagc	ggctgccgct	gccgccgaac	gcgcgtcgtg	tcgaggaccc	ggagatgaac	600
atgagccggg	aggtcgtcga	agaccggggg	gttccgggga	cccaggatgt	gacgttcgcg	660

ES 2 925 950 T3

```

gtagctgagg tcaacggcgt cgagaccggc cgtttgcccg tcgccaacgt cgtggtgacc 720
ccgccccacg aagccgtggt gcgggtgggc accaagcccg gtaccgaggt gccccgggtg 780
atcgacggaa gcatctggga cgcgatcgcc ggctgtgagg ccggtggcaa ctgggcgatac 840
aacaccggca acgggtatta cgggtggtgtg cagtttgacc agggcacctg ggaggccaac 900
ggcgggctgc ggtatgcacc ccgcgctgac ctcgccaccc gcgaagagca gatcgccgtt 960
gccgaggtga cccgactgcg tcaaggttgg ggccgctggc cggatatgtgc tgcacgagcg 1020
ggtgcgcgcg gatccatgac agagcagcag tggaatttcg cgggtatcga ggccgcggca 1080
agcgcaatcc agggaaatgt caggtccatt cattccctcc ttgacgaggg gaagcagtc 1140
ctgaccaagc tcgcagcggc ctggggcggt agcggttcgg aggcgtacca ggggtgtccag 1200
caaaaatggg acgccacggc taccgagctg aacaacgcgc tcgagaacct ggcgcgagcg 1260
atcagcgaag ccggtcaggc aatggcttcg accgaaggca acgtcactgg gatgttcgca 1320
gaattcatga ttgcgactac ccgtgatcgt gagggcgcgga ccatgatcac gttccgtctg 1380
cgtctgccgt gtcgcaccat tttgcgcgtg ttttcgcgta acccgctggg ccgcggtacc 1440
gaccgtctgg aggccgttgt catgctgctg gcggttaccg tgagcctgct gacgatccca 1500
ttcgcagcgg cagctggcac ggccgtccaa gacagccgta gccatgtgta tgctcaccag 1560
gctcaaaccc gtcacccggc tactgccact gttatcgatc acgaaggcgt gattgactcc 1620
aataccacgg caacctccgc accgcctcgc accaagatta cggttcctgc gcgttgggtg 1680
gtgaatggta ttgaacgcag cggcgaagtt aatgccaaac cgggtaccaa aagcggtgac 1740
cgtgtgggca tctgggtcga tagcgccggt cagctggtcg acgagccggc accgccagcg 1800
cgtgcgatcg ccgatcgggc gctggctgcc ctgggtctgt ggctgagcgt ggcagcggtc 1860
gccggtgcgt tgctggcgct gacgcgcgca attctgatcc gcgttcgcaa tgcgagctgg 1920
cagcacgata ttgatagcct gttttgcacc caacgtgagc tcatgaccac ggcgcgatgat 1980
atcatgaatg cgggtgtcac ctgtgttggc gagcacgaaa cgttgaccgc agcagcacag 2040
tacatgcgcg aacatgatat cggcgcatcg ccgatttcg gcgacgatga tcgtctgcac 2100
ggtatgtga ccgaccgca tatcgttatc aagggtcttg ccgcaggctt ggacccgaac 2160
accgcgaccg ccggtgaact ggcacgtgac agcatctatt acgtcgacgc gaacgccagc 2220
attcaagaga tgctgaacgt gatggaagag catcaggtgc gtcgtgtccc gggtatcagc 2280
gaacatcgtc tggttgggtat cgttaccgaa gccgacatcg cacgtcacct gccggagcac 2340
gcgattgttc agttcgtgaa agcgatttgc agcccgatgg cgttggcgtc tcgtcaaaag 2400
ggcgacacaa aatttattct aaatgcatga 2430

```

<210> 58

<211> 809

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfB-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c

<400> 58

ES 2 925 950 T3

Met	Lys	Leu	Ala	Cys	Lys	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Gly	Thr	Ala	1	5	10	15
Met	Arg	Val	Thr	Thr	Met	Lys	Ser	Arg	Val	Ile	Asp	Ile	Val	Glu	Glu	20	25	30	
Asn	Gly	Phe	Ser	Val	Asp	Asp	Arg	Asp	Asp	Leu	Tyr	Pro	Ala	Ala	Gly	35	40	45	
Val	Gln	Val	His	Asp	Ala	Asp	Thr	Ile	Val	Leu	Arg	Arg	Ser	Arg	Pro	50	55	60	
Leu	Gln	Ile	Ser	Leu	Asp	Gly	His	Asp	Ala	Lys	Gln	Val	Trp	Thr	Thr	65	70	75	80
Ala	Ser	Thr	Val	Asp	Glu	Ala	Leu	Ala	Gln	Leu	Ala	Met	Thr	Asp	Thr	85	90	95	
Ala	Pro	Ala	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ser	Arg	Val	Pro	Leu	Ser	Gly	Met	100	105	110	
Ala	Leu	Pro	Val	Val	Ser	Ala	Lys	Thr	Val	Gln	Leu	Asn	Asp	Gly	Gly	115	120	125	
Leu	Val	Arg	Thr	Val	His	Leu	Pro	Ala	Pro	Asn	Val	Ala	Gly	Leu	Leu	130	135	140	
Ser	Ala	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Leu	Gln	Ser	Asp	His	Val	Val	Pro	Ala	145	150	155	160
Ala	Thr	Ala	Pro	Ile	Val	Glu	Gly	Met	Gln	Ile	Gln	Val	Thr	Arg	Asn	165	170	175	
Arg	Ile	Lys	Lys	Val	Thr	Glu	Arg	Leu	Pro	Leu	Pro	Pro	Asn	Ala	Arg	180	185	190	
Arg	Val	Glu	Asp	Pro	Glu	Met	Asn	Met	Ser	Arg	Glu	Val	Val	Glu	Asp	195	200	205	
Pro	Gly	Val	Pro	Gly	Thr	Gln	Asp	Val	Thr	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Val	210	215	220	
Asn	Gly	Val	Glu	Thr	Gly	Arg	Leu	Pro	Val	Ala	Asn	Val	Val	Val	Thr	225	230	235	240
Pro	Ala	His	Glu	Ala	Val	Val	Arg	Val	Gly	Thr	Lys	Pro	Gly	Thr	Glu	245	250	255	
Val	Pro	Pro	Val	Ile	Asp	Gly	Ser	Ile	Trp	Asp	Ala	Ile	Ala	Gly	Cys	260	265	270	
Glu	Ala	Gly	Gly	Asn	Trp	Ala	Ile	Asn	Thr	Gly	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Gly	275	280	285	
Gly	Val	Gln	Phe	Asp	Gln	Gly	Thr	Trp	Glu	Ala	Asn	Gly	Gly	Leu	Arg	290	295	300	

ES 2 925 950 T3

Tyr	Ala	Pro	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Thr	Arg	Glu	Glu	Gln	Ile	Ala	Val	305	310	315	320
Ala	Glu	Val	Thr	Arg	Leu	Arg	Gln	Gly	Trp	Gly	Ala	Trp	Pro	Val	Cys	325	330	335	
Ala	Ala	Arg	Ala	Gly	Ala	Arg	Gly	Ser	Met	Thr	Glu	Gln	Gln	Trp	Asn	340	345	350	
Phe	Ala	Gly	Ile	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	Ile	Gln	Gly	Asn	Val	Thr	355	360	365	
Ser	Ile	His	Ser	Leu	Leu	Asp	Glu	Gly	Lys	Gln	Ser	Leu	Thr	Lys	Leu	370	375	380	
Ala	Ala	Ala	Trp	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	Ala	Tyr	Gln	Gly	Val	Gln	385	390	395	400
Gln	Lys	Trp	Asp	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	Leu	Asn	Asn	Ala	Leu	Gln	Asn	405	410		415
Leu	Ala	Arg	Thr	Ile	Ser	Glu	Ala	Gly	Gln	Ala	Met	Ala	Ser	Thr	Glu	420	425		430
Gly	Asn	Val	Thr	Gly	Met	Phe	Ala	Glu	Phe	Met	Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	435	440		445
Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	Thr	Met	Ile	Thr	Phe	Arg	Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	450	455	460	
Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	Asn	Pro	Leu	Val	Arg	Gly	Thr	465	470	475	480
Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Val	Val	Met	Leu	Leu	Ala	Val	Thr	Val	Ser	Leu	485	490		495
Leu	Thr	Ile	Pro	Phe	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Gln	Asp	Ser	500	505		510
Arg	Ser	His	Val	Tyr	Ala	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Arg	His	Pro	Ala	Thr	515	520	525	
Ala	Thr	Val	Ile	Asp	His	Glu	Gly	Val	Ile	Asp	Ser	Asn	Thr	Thr	Ala	530	535	540	
Thr	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Thr	Lys	Ile	Thr	Val	Pro	Ala	Arg	Trp	Val	545	550	555	560
Val	Asn	Gly	Ile	Glu	Arg	Ser	Gly	Glu	Val	Asn	Ala	Lys	Pro	Gly	Thr	565	570		575
Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	Val	Gly	Ile	Trp	Val	Asp	Ser	Ala	Gly	Gln	Leu	580	585		590
Val	Asp	Glu	Pro	Ala	Pro	Pro	Ala	Arg	Ala	Ile	Ala	Asp	Ala	Ala	Leu	595	600	605	
Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	Trp	Leu	Ser	Val	Ala	Ala	Val	Ala	Gly	Ala	Leu	610	615	620	
Leu	Ala	Leu	Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Ile	Arg	Val	Arg	Asn	Ala	Ser	Trp	625	630	635	640

ES 2 925 950 T3

Gln His Asp Ile Asp Ser Leu Phe Cys Thr Gln Arg Glu Leu Met Thr
645 650 655

Thr Ala Arg Asp Ile Met Asn Ala Gly Val Thr Cys Val Gly Glu His
660 665 670

Glu Thr Leu Thr Ala Ala Ala Gln Tyr Met Arg Glu His Asp Ile Gly
675 680 685

Ala Leu Pro Ile Cys Gly Asp Asp Asp Arg Leu His Gly Met Leu Thr
690 695 700

Asp Arg Asp Ile Val Ile Lys Gly Leu Ala Ala Gly Leu Asp Pro Asn
705 710 715 720

Thr Ala Thr Ala Gly Glu Leu Ala Arg Asp Ser Ile Tyr Tyr Val Asp
725 730 735

Ala Asn Ala Ser Ile Gln Glu Met Leu Asn Val Met Glu Glu His Gln
740 745 750

Val Arg Arg Val Pro Val Ile Ser Glu His Arg Leu Val Gly Ile Val
755 760 765

Thr Glu Ala Asp Ile Ala Arg His Leu Pro Glu His Ala Ile Val Gln
770 775 780

Phe Val Lys Ala Ile Cys Ser Pro Met Ala Leu Ala Ser Arg Gln Lys
785 790 795 800

Gly Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Ala
805

<210> 59

<211> 2448

<212> DNA

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpFD (optimizada para E. coli)

<400> 59

atgttttagcc gtcctggcct gccagttgaa tacctgcaag ttccgagccc gtccatgggt 60

cgtgacatta aggtgcagtt ccagagcggc ggtaacaata gcccggtgt gtacctgctg 120

gacggtctgc gtgcgcagga tgattacaac ggctgggaca tcaatacccc ggcatttgag 180

tggtattacc agtcgggtct gagcattgtg atgccggttg gcggtcaaag cagcttctat 240

agcgattggt acagcccggc atgcggcaag gctggttgcc aaacctacaa gtgggaaact 300

ttcttgacca gcgagctgcc gcaatggttg agcgccaacc gtgcggtcaa accgaccggt 360

agcgtgcta ttggcctgtc catggccggc agcagcgga tgatcttggc ggcataccat 420

ccgcagcagt ttatctacgc cggtagcctg agcgattgc tggacccgag ccaaggcatg 480

ggcccgagcc tgattggtct ggcaatgggt gacgcaggtg gttacaaagc ggccgatatg 540

10

ES 2 925 950 T3

```

tggggcccat ctacgaccc ggcatgggag cgtaatgacc cgaccagca aattccgaaa 600
ctggtggcga ataacacgcg cctgtgggtc tactgtggca atggtacgcc gaacgagctg 660
ggtggcgca ataccctgc ggagtttctg gaaaactttg ttcgcagcag caacctgaaa 720
ttccaggacg cgtataacgc agccggtggt cacaatgcgg ttttcaattt cccgccaaat 780
ggcactcata gctgggagta ctggggtgcg cagttgaacg caatgaaagg cgatctgcaa 840
tcctctctgg gtgcgggcgg atccatgaca gacgagcagt ggaatttcgc gggatcagag 900
gcgcgggcaa gcgcaatcca gggaaatgtc acgtccattc attccctcct tgacgagggg 960
aagcagtcct tgaccaagct cgcagcggcc tggggcggtg gcggttcgga ggcgtaccag 1020
ggtgtccagc aaaaatggga cgccacggct accgagctga acaacgcgct gcagaacctg 1080
gcgcggacga tcagcgaagc cggtcaggca atggcttcga ccgaaggcaa cgtcactggg 1140
atgttcgcag aattcatgat tgcgactacc cgtgatcgtg agggcgcgac catgatcacg 1200
ttcgtctgc gtctgccgtg tcgcaccatt ttgcgctgt tttcgcgtaa cccgctggtc 1260
cgcggtaccg accgtctgga gggccccggg gtccaagaca gccgtagcca tgtgtatgct 1320
caccaggctc aaaccgtca cccggctact gccactgtta tcgatcacga aggcgtgatt 1380
gactccaata ccacggcaac ctccgcaccg cctcgcacca agattacggt tcctgcgctg 1440
tgggtggtga atggtattga acgcagcgcc gaagttaatg ccaaaccggg taccaaaagc 1500
ggtgaccgtg tgggcatctg ggtcgatagc gccggtcagc tggtcgacga gccggcaccg 1560
ccagcgctg cgatcgccga ttctagacgc gcaattctga tccgcgttcg caatgcgagc 1620
tggcagcagc atattgatag cctgttttgc acccaacgtg agctcatgac cagggcgctg 1680
gatatcatga atgcgggtgt cacctgtgtt ggcgagcacg aaacgttgac cgcagcagca 1740
cagtacatgc gcgaacatga taccggcgca ttgccgattt gcggcgacga tgatcgtctg 1800
cacggtatgc tgaccgaccg cgatatcgtt atcaagggtc tggccgcagg cttggacccg 1860
aacaccgca ccgccggtga actggcacgt gacagcatct attacgtcga cgcgaacgcc 1920
agcattcaag agatgctgaa cgtgatggaa gagcatcagg tgcgtcgtgt cccggttatc 1980
agcgaacatc gtctggttg taccgttacc gaagccgaca tcgcacgtca cctgccggag 2040
cacgcgattg ttcagttcgt gaaagcgatt tgcagcccga tggcggtggc gtctaagctt 2100
ttgctgggcc tgagcaccat tagcagcaaa gcggatgaca tcgactggga tgcgattgag 2160
cagtgtgaga gcggtggcaa ttgggcagcg aataccggca atggcctgta cggcggtctg 2220
cagatctccc aggcgacgtg ggacagcaat ggtggcgctc gcagccggc tgccgcgtcc 2280
ccacaacaac agatcgaggt ggcagataac attatgaaaa cgcaggggtc ggggtgcttg 2340
ccaaaatgct ccagctgcag ccagggtgac gcaccgctgg gcagcctgac ccacattctg 2400
acgttcctgg cagcggaaac cggtggttgt agcggtagcc gcgatgac 2448

```

<210> 60

<211> 2550

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpFD (optimizada para humanos)

<400> 60

ES 2 925 950 T3

atgtttctcca ggcccggcct gcctgtcgag tatctgcagg tcccctcccc ctccatgggc 60
 agagacatca aggtgcagtt ccaatccgga ggcaacaaca gcccgcgct gtatctcctc 120
 gacggcctga gggctcagga cgactacaac ggctgggaca tcaacacccc cgccttcgag 180
 tgggtactacc agtccggact gagcatcgtc atgcccgtgg gcggccagag ctcttctac 240
 agcgactggt atagccctgc ctgcggaaca gccggatgcc agacctacaa gtgggagacc 300
 tttctgacca gcgaactgcc ccagtggctg tccgccaata ggcccgtaa acctaccggc 360
 tccgctgcca tcggactcag catggccgga agctccgcta tgatcctggc cgcctaccac 420
 cccagcaat ttatctacgc tggcagcctg tccgctctgc tggatcctag ccaaggcatg 480
 ggccctagcc tcattggcct ggccatgggc gatgctggcg gctataaggc cgcgcatatg 540
 tggggcccta gctccgatcc tgctgggag aggaatgacc ccaccagca gatccccaag 600
 ctggtggcca acaacacaag gctctgggtg tactgcggca atggcacccc caacgaactg 660
 ggcgagacca acattcccgc cgagttcctg gagaacttcg tcaggagcag caacctgaag 720
 ttccaggacg cctacaatgc cgccggaggc cacaacgctg tgttcaactt ccctcccaac 780
 ggaccccaca gctgggagta ttggggcgct cagctgaacg ccatgaaagg cgacctccag 840
 agctccctgg gagctggacc cgggaccgag cagcagtgga acttcgccgg catcgaagct 900
 gccgctagcg ccatccaagg caacgtgacc agcatccaca gcctgctgga cgagggcaag 960
 cagagcctga ccaagctggc tgctgcttgg ggcgatccg gaagcgaagc ctaccagggc 1020
 gtgcagcaga agtgggacgc cacagccacc gagctgaaca acgccctgca gaacctcgcc 1080
 agaaccatca gcgaggccgg acaggctatg gccagcacag agggcaatgt gaccggcatg 1140
 ttgccttcg aaatcgccac caccaggac agggaaaggc ctaccatgat caccttcagg 1200
 ctgaggctcc cctgcaggac catcctgagg gtgttcagca ggaaccccct ggtgaggggc 1260
 accgacagac tggaagccgt gcaggacagc aggagccacg tgtatgcca ccaggctcag 1320
 accaggcacc ctgctaccgc caccgtgatc gaccacgagg gcgtgatcga ctccaacacc 1380
 accgccacca gcgtcctcc cagaaccaag atcacagtgc ccgccaggtg ggtggtgaac 1440
 ggcacgaga ggagcggcga ggtgaacgcc aagcctggaa ccaagagcgg cgacagggtg 1500
 ggcatttggg tcgatagcgc cggccagctg gtggatgaac ctgctcccc tgccagagcc 1560

ES 2 925 950 T3

```

atcgccgata gggccatcct gatcaggggtg aggaacgccca gctggcagca cgacatcgac 1620
agcctgttct gcacccaaag gcgatcgaca acagccaggg acatcatgaa cgccggcggtg 1680
acctgctgtg gagagcatga aaccctcacc gccgccgcc aatacatgag ggagcacgac 1740
atcggcgcc tggccatctg tggagacgac gacaggctgc acggcatgct gaccgacagg 1800
gacatcgtga tcaagggcct ggctgccggc ctcgatccta acaccgctac agccggcgag 1860
ctggccagag acagcatcta ctacgtggac gccaacgccca gcatccagga gatgctcaac 1920
gtgatggagg agcaccaggt gagaaggggtg cctgtgatca gcgagcacag gctgggtgggc 1980
atcgtgaccg aggccgatat cgctaggcac ctgcccagagc acgccatcgt gcagttcgtg 2040
aaggccatct gcagcccat ggctctggcc agcggcgcgcc ccacccccgg actcctcacc 2100
acagctggag ctggcaggcc cagagacaga tgcgccagga tcgtgtgcac cgtgttcac 2160
gagaccgccg tgggtggtac catgttcgtg gccctgctgg gcctgagcac catcagcagc 2220
aaggccgacg acatcgactg ggacgccatc gccagtggtg aatccggcgg aaactgggcc 2280
gccaataccg gcaatggcct gtacggcgcc ctgcagatca gccaggctac ctgggactcc 2340
aacggaggag tgggaagccc tgccgctgct tcccctcagc agcagatcga ggtggccgac 2400
aacatcatga agacccaagg ccctggcgcc tggcctaagt gttccagctg tagccagggc 2460
gatgctcctc tgggcagcct gaccacatc ctgaccttc tcgccgccga gacaggcgga 2520
tgtagcggaa gcagggacga ctaatgatag 2550

```

<210> 61

<211> 816

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpFD (E. coli optimizado)

<400> 61

```

Met Phe Ser Arg Pro Gly Leu Pro Val Glu Tyr Leu Gln Val Pro Ser
1           5           10           15

Pro Ser Met Gly Arg Asp Ile Lys Val Gln Phe Gln Ser Gly Gly Asn
20          25          30

Asn Ser Pro Ala Val Tyr Leu Leu Asp Gly Leu Arg Ala Gln Asp Asp
35          40          45

Tyr Asn Gly Trp Asp Ile Asn Thr Pro Ala Phe Glu Trp Tyr Tyr Gln
50          55          60

Ser Gly Leu Ser Ile Val Met Pro Val Gly Gly Gln Ser Ser Phe Tyr
65          70          75          80

Ser Asp Trp Tyr Ser Pro Ala Cys Gly Lys Ala Gly Cys Gln Thr Tyr
85          90          95

```

ES 2 925 950 T3

Lys	Trp	Glu	Thr	Phe	Leu	Thr	Ser	Glu	Leu	Pro	Gln	Trp	Leu	Ser	Ala	
			100					105					110			
Asn	Arg	Ala	Val	Lys	Pro	Thr	Gly	Ser	Ala	Ala	Ile	Gly	Leu	Ser	Met	
		115					120					125				
Ala	Gly	Ser	Ser	Ala	Met	Ile	Leu	Ala	Ala	Tyr	His	Pro	Gln	Gln	Phe	
	130					135					140					
Ile	Tyr	Ala	Gly	Ser	Leu	Ser	Ala	Leu	Leu	Asp	Pro	Ser	Gln	Gly	Met	
145					150					155					160	
Gly	Pro	Ser	Leu	Ile	Gly	Leu	Ala	Met	Gly	Asp	Ala	Gly	Gly	Tyr	Lys	
			165						170					175		
Ala	Ala	Asp	Met	Trp	Gly	Pro	Ser	Ser	Asp	Pro	Ala	Trp	Glu	Arg	Asn	
			180					185					190			
Asp	Pro	Thr	Gln	Gln	Ile	Pro	Lys	Leu	Val	Ala	Asn	Asn	Thr	Arg	Leu	
		195					200					205				
Trp	Val	Tyr	Cys	Gly	Asn	Gly	Thr	Pro	Asn	Glu	Leu	Gly	Gly	Ala	Asn	
	210					215					220					
Ile	Pro	Ala	Glu	Phe	Leu	Glu	Asn	Phe	Val	Arg	Ser	Ser	Asn	Leu	Lys	
225					230					235					240	
Phe	Gln	Asp	Ala	Tyr	Asn	Ala	Ala	Gly	Gly	His	Asn	Ala	Val	Phe	Asn	
			245					250					255			
Phe	Pro	Pro	Asn	Gly	Thr	His	Ser	Trp	Glu	Tyr	Trp	Gly	Ala	Gln	Leu	
			260					265					270			
Asn	Ala	Met	Lys	Gly	Asp	Leu	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Ala	Gly	Gly	Ser	
		275					280					285				
Met	Thr	Glu	Gln	Gln	Trp	Asn	Phe	Ala	Gly	Ile	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	
	290					295					300					
Ala	Ile	Gln	Gly	Asn	Val	Thr	Ser	Ile	His	Ser	Leu	Leu	Asp	Glu	Gly	
305					310					315					320	
Lys	Gln	Ser	Leu	Thr	Lys	Leu	Ala	Ala	Ala	Trp	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	
				325					330					335		
Glu	Ala	Tyr	Gln	Gly	Val	Gln	Gln	Lys	Trp	Asp	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	
			340					345					350			
Leu	Asn	Asn	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Ala	Arg	Thr	Ile	Ser	Glu	Ala	Gly	
		355					360					365				
Gln	Ala	Met	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Asn	Val	Thr	Gly	Met	Phe	Ala	Glu	
	370					375					380					
Phe	Met	Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	Thr	Met	Ile	Thr	
385					390					395					400	
Phe	Arg	Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	
				405					410				415			
Asn	Pro	Leu	Val	Arg	Gly	Thr	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Pro	Gly	Val	Gln	
			420				425						430			

ES 2 925 950 T3

Asp Ser Arg Ser His Val Tyr Ala His Gln Ala Gln Thr Arg His Pro
 435 440 445
 Ala Thr Ala Thr Val Ile Asp His Glu Gly Val Ile Asp Ser Asn Thr
 450 455 460
 Thr Ala Thr Ser Ala Pro Pro Arg Thr Lys Ile Thr Val Pro Ala Arg
 465 470 475 480
 Trp Val Val Asn Gly Ile Glu Arg Ser Gly Glu Val Asn Ala Lys Pro
 485 490 495
 Gly Thr Lys Ser Gly Asp Arg Val Gly Ile Trp Val Asp Ser Ala Gly
 500 505 510
 Gln Leu Val Asp Glu Pro Ala Pro Pro Ala Arg Ala Ile Ala Asp Ser
 515 520 525
 Arg Arg Ala Ile Leu Ile Arg Val Arg Asn Ala Ser Trp Gln His Asp
 530 535 540
 Ile Asp Ser Leu Phe Cys Thr Gln Arg Glu Leu Met Thr Thr Ala Arg
 545 550 555 560
 Asp Ile Met Asn Ala Gly Val Thr Cys Val Gly Glu His Glu Thr Leu
 565 570 575
 Thr Ala Ala Ala Gln Tyr Met Arg Glu His Asp Ile Gly Ala Leu Pro
 580 585 590
 Ile Cys Gly Asp Asp Asp Arg Leu His Gly Met Leu Thr Asp Arg Asp
 595 600 605
 Ile Val Ile Lys Gly Leu Ala Ala Gly Leu Asp Pro Asn Thr Ala Thr
 610 615 620
 Ala Gly Glu Leu Ala Arg Asp Ser Ile Tyr Tyr Val Asp Ala Asn Ala
 625 630 635 640
 Ser Ile Gln Glu Met Leu Asn Val Met Glu Glu His Gln Val Arg Arg
 645 650 655
 Val Pro Val Ile Ser Glu His Arg Leu Val Gly Ile Val Thr Glu Ala
 660 665 670
 Asp Ile Ala Arg His Leu Pro Glu His Ala Ile Val Gln Phe Val Lys
 675 680 685
 Ala Ile Cys Ser Pro Met Ala Leu Ala Ser Lys Leu Leu Leu Gly Leu
 690 695 700
 Ser Thr Ile Ser Ser Lys Ala Asp Asp Ile Asp Trp Asp Ala Ile Ala
 705 710 715 720
 Gln Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala Asn Thr Gly Asn Gly Leu
 725 730 735
 Tyr Gly Gly Leu Gln Ile Ser Gln Ala Thr Trp Asp Ser Asn Gly Gly
 740 745 750
 Val Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln Gln Gln Ile Glu Val Ala
 755 760 765
 Asp Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly Ala Trp Pro Lys Cys Ser
 770 775 780
 Ser Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly Ser Leu Thr His Ile Leu
 785 790 795 800
 Thr Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys Ser Gly Ser Arg Asp Asp
 805 810 815

<210> 62
 <211> 847

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD (optimizado para humanos)

5

<400> 62

```

Met Phe Ser Arg Pro Gly Leu Pro Val Glu Tyr Leu Gln Val Pro Ser
 1          5          10          15

Pro Ser Met Gly Arg Asp Ile Lys Val Gln Phe Gln Ser Gly Gly Asn
          20          25          30

Asn Ser Pro Ala Val Tyr Leu Leu Asp Gly Leu Arg Ala Gln Asp Asp
          35          40          45

Tyr Asn Gly Trp Asp Ile Asn Thr Pro Ala Phe Glu Trp Tyr Tyr Gln
 50          55          60

Ser Gly Leu Ser Ile Val Met Pro Val Gly Gly Gln Ser Ser Phe Tyr
65          70          75          80

Ser Asp Trp Tyr Ser Pro Ala Cys Gly Lys Ala Gly Cys Gln Thr Tyr
          85          90          95

Lys Trp Glu Thr Phe Leu Thr Ser Glu Leu Pro Gln Trp Leu Ser Ala
          100          105          110

Asn Arg Ala Val Lys Pro Thr Gly Ser Ala Ala Ile Gly Leu Ser Met
          115          120          125

Ala Gly Ser Ser Ala Met Ile Leu Ala Ala Tyr His Pro Gln Gln Phe
130          135          140

Ile Tyr Ala Gly Ser Leu Ser Ala Leu Leu Asp Pro Ser Gln Gly Met
145          150          155          160

Gly Pro Ser Leu Ile Gly Leu Ala Met Gly Asp Ala Gly Gly Tyr Lys
          165          170          175

Ala Ala Asp Met Trp Gly Pro Ser Ser Asp Pro Ala Trp Glu Arg Asn
          180          185          190

Asp Pro Thr Gln Gln Ile Pro Lys Leu Val Ala Asn Asn Thr Arg Leu
          195          200          205

Trp Val Tyr Cys Gly Asn Gly Thr Pro Asn Glu Leu Gly Gly Ala Asn
210          215          220

```

ES 2 925 950 T3

Ile	Pro	Ala	Glu	Phe	Leu	Glu	Asn	Phe	Val	Arg	Ser	Ser	Asn	Leu	Lys	225	230	235	240
Phe	Gln	Asp	Ala	Tyr	Asn	Ala	Ala	Gly	Gly	His	Asn	Ala	Val	Phe	Asn	245	250	255	
Phe	Pro	Pro	Asn	Gly	Thr	His	Ser	Trp	Glu	Tyr	Trp	Gly	Ala	Gln	Leu	260	265	270	
Asn	Ala	Met	Lys	Gly	Asp	Leu	Gln	Ser	Ser	Leu	Gly	Ala	Gly	Pro	Gly	275	280	285	
Thr	Glu	Gln	Gln	Trp	Asn	Phe	Ala	Gly	Ile	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	290	295	300	
Ile	Gln	Gly	Asn	Val	Thr	Ser	Ile	His	Ser	Leu	Leu	Asp	Glu	Gly	Lys	305	310	315	320
Gln	Ser	Leu	Thr	Lys	Leu	Ala	Ala	Ala	Trp	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Glu	325	330	335	
Ala	Tyr	Gln	Gly	Val	Gln	Gln	Lys	Trp	Asp	Ala	Thr	Ala	Thr	Glu	Leu	340	345	350	
Asn	Asn	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Ala	Arg	Thr	Ile	Ser	Glu	Ala	Gly	Gln	355	360	365	
Ala	Met	Ala	Ser	Thr	Glu	Gly	Asn	Val	Thr	Gly	Met	Phe	Ala	Phe	Glu	370	375	380	
Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	Thr	Met	Ile	Thr	Phe	Arg	385	390	395	400
Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	Asn	Pro	405	410	415	
Leu	Val	Arg	Gly	Thr	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Val	Gln	Asp	Ser	Arg	Ser	420	425	430	
His	Val	Tyr	Ala	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Arg	His	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr	435	440	445	
Val	Ile	Asp	His	Glu	Gly	Val	Ile	Asp	Ser	Asn	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	450	455	460	
Ala	Pro	Pro	Arg	Thr	Lys	Ile	Thr	Val	Pro	Ala	Arg	Trp	Val	Val	Asn	465	470	475	480
Gly	Ile	Glu	Arg	Ser	Gly	Glu	Val	Asn	Ala	Lys	Pro	Gly	Thr	Lys	Ser	485	490	495	
Gly	Asp	Arg	Val	Gly	Ile	Trp	Val	Asp	Ser	Ala	Gly	Gln	Leu	Val	Asp	500	505	510	
Glu	Pro	Ala	Pro	Pro	Ala	Arg	Ala	Ile	Ala	Asp	Arg	Ala	Ile	Leu	Ile	515	520	525	
Arg	Val	Arg	Asn	Ala	Ser	Trp	Gln	His	Asp	Ile	Asp	Ser	Leu	Phe	Cys	530	535	540	
Thr	Gln	Arg	Arg	Ser	Thr	Thr	Ala	Arg	Asp	Ile	Met	Asn	Ala	Gly	Val	545	550	555	560

ES 2 925 950 T3

```

Thr Cys Val Gly Glu His Glu Thr Leu Thr Ala Ala Ala Gln Tyr Met
565                               570                               575

Arg Glu His Asp Ile Gly Ala Leu Pro Ile Cys Gly Asp Asp Asp Arg
580                               585                               590

Leu His Gly Met Leu Thr Asp Arg Asp Ile Val Ile Lys Gly Leu Ala
595                               600                               605

Ala Gly Leu Asp Pro Asn Thr Ala Thr Ala Gly Glu Leu Ala Arg Asp
610                               615                               620

Ser Ile Tyr Tyr Val Asp Ala Asn Ala Ser Ile Gln Glu Met Leu Asn
625                               630                               635                               640

Val Met Glu Glu His Gln Val Arg Arg Val Pro Val Ile Ser Glu His
645                               650                               655

Arg Leu Val Gly Ile Val Thr Glu Ala Asp Ile Ala Arg His Leu Pro
660                               665                               670

Glu His Ala Ile Val Gln Phe Val Lys Ala Ile Cys Ser Pro Met Ala
675                               680                               685

Leu Ala Ser Gly Ala Pro Thr Pro Gly Leu Leu Thr Thr Ala Gly Ala
690                               695                               700

Gly Arg Pro Arg Asp Arg Cys Ala Arg Ile Val Cys Thr Val Phe Ile
705                               710                               715                               720

Glu Thr Ala Val Val Ala Thr Met Phe Val Ala Leu Leu Gly Leu Ser
725                               730                               735

Thr Ile Ser Ser Lys Ala Asp Asp Ile Asp Trp Asp Ala Ile Ala Gln
740                               745                               750

Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala Asn Thr Gly Asn Gly Leu Tyr
755                               760                               765

Gly Gly Leu Gln Ile Ser Gln Ala Thr Trp Asp Ser Asn Gly Gly Val
770                               775                               780

Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln Gln Gln Ile Glu Val Ala Asp
785                               790                               795                               800

Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly Ala Trp Pro Lys Cys Ser Ser
805                               810                               815

Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly Ser Leu Thr His Ile Leu Thr
820                               825                               830

Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys Ser Gly Ser Arg Asp Asp
835                               840                               845

```

<210> 63

<211> 2499

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium PPE51-Rv1733c-Rv2628c-RpfD

<400> 63

ES 2 925 950 T3

atggattttg cgctgctgcc gccggaagtg aacagcgcgc gcatgtatac cggcccgggc 60
 gcgggcagcc tgctggcgcc gccggcgccg tgggatatgcc tggcggcgga actggcgacc 120
 accgcggaag cgtatggcag cgtgctgagc ggcctggcgg cgctgcattg gcgcggcccc 180
 gcggcggaag gcatggcggt gaccgcggcg ccgtatatattg gctggctgta taccaccgcg 240
 gaaaaaacc agcagaccgc gattcaggcg cgcgcggcgg cgctggcggt tgaacaggcg 300
 tatgcatga ccctgccgcc gccggtggtg gcggcgaacc gcattcagct gctggcgctg 360
 attgcatga acttttttgg ccagaacacc gcggcgattg cggcgaccga agcgcagtat 420
 gcggaaatgt gggcgagga tggcgcgccg atgtatggct atgcgaccgc gagcgcgccg 480
 gcggcgctgc tgaccccggt tagcccgccg cgcagacca ccaaccggc gggcctgacc 540
 gcgcaggcg cggcggtgag ccaggcgacc gatccgctga gcctgctgat tgaaccgctg 600
 acccaggcg tgcatggcgt gaccattccg agctttattc cggaagattt tacctttctg 660
 gatgcatgtt ttgctggcta tgcgaccgtg ggcgtgacc aggatgtgga aagctttgtg 720
 gcgggcacca ttggcgcgga aagcaacctg ggcctgctga acgtggcgga tgaaccggc 780
 gcggaagtga ccccgggcga ttttggcatt ggcgaactgg tgagcgcgac cagcccgggc 840
 gcggcgctga gcgcgagcg gcgcggcgcc gcgcgagcg tgggcaacac cgtgctggcg 900
 agcgtgggcc gcgcgaacag cattggccag ctgagcgtgc cgcgagctg ggcggcgccg 960
 agcaccggcc cggtagcgcc gctgagcccg gcgggcctga ccaccctgcc gggcaccgat 1020
 gtggcggaac atggcatgcc ggcgtgccg ggcgtgccg tggcgcggg ccgcgcgagc 1080
 ggcgtgctgc cgcgtatgg cgtgcccctg accgtgatgg cgcacccgcc ggcggcgggc 1140
 gaattcatga ttgcgactac ccgtgatcgt gagggcgga ccatgatcac gttccgtctg 1200
 cgtctgccgt gtcgcacat tttgcgcgtg ttttcgcgta acccgctggt ccgcgggtacc 1260
 gaccgtctg aggcggtgt catgctgctg gcggttaccg tgagcctgct gacgatccca 1320
 ttcgcagcg cagctggcac gccgtccaa gacagccgta gccatgtgta tgctcaccag 1380
 gctcaaacc gtcaccggc tactgccact gttatcgatc acgaaggcgt gattgactcc 1440
 aataccacgg caacctccg accgcctcgc accaagatta cggttcctgc gcgttgggtg 1500
 gtgaatgta ttgaacgcag gcgcgaagt atatgcaaac cgggtaccaa aagcggtgac 1560
 cgtgtgggca tctgggtcga tagcgccggt cagctggctg acgagccggc accgccagcg 1620
 cgtgcatcg ccgatgcggc gctggctgcc ctgggtctgt ggctgagcgt ggcagcggtc 1680
 gccggtgctg tgctggcgct gacgcgcgca attctgatcc gcgttcgcaa tgcgagctgg 1740
 cagcacgata ttgatagcct gttttgcacc caacgtgagc tcatgtccac gcaacgaccg 1800
 aggcactccg gtattcgggc tgttggcccc tacgcatggg ccggccgatg tggctcgata 1860

```

ggcaggtggg ggggtgcacca ggagggcgatg atgaatctag cgatatggca cccgcgcaag 1920
gtgcaatccg ccaccatcta tcaggtgacc gatcgctcgc acgacgggcy cacagcacgg 1980
gtgcctggtg acgagatcac tagcaccgtg tccggttggt tgcggagtt gggcacccaa 2040
agcccgttg ccatgatgct tgcgcgtgcg gtgcggatcg gcgactggcc cgctgcgtac 2100
gcaatcggtg agcacctgtc cgttgagatt gccgttgccg tcaagctttt gctgggcctg 2160
agcaccatta gcagcaaagc ggatgacatc gactgggatg cgattgcgca gtgtgagagc 2220
ggtggcaatt gggcagcgaa taccggcaat ggcctgtacg gcggtctgca gatctcccag 2280
gcgacgtggg acagcaatgg tggcgtcggc agcccggctg ccgctcccc acaacaacag 2340
atcgaggtgg cagataacat tatgaaaacg caggggtccg gtgcttgcc aaaatgctcc 2400
agctgcagcc aggggtgacgc accgctgggc agcctgaccc acattctgac gttcctggca 2460
gcggaaaccg gtggtttag cggtagccgc gatgactga 2499

```

<210> 64

<211> 834

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: PPE51-Rv1733c-Rv2628c-RpfD

<400> 64

```

Met Asp Phe Ala Leu Leu Pro Pro Glu Val Asn Ser Ala Arg Met Tyr
1          5          10          15

Thr Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Leu Ala Ala Ala Gly Gly Trp Asp
20          25          30

Ser Leu Ala Ala Glu Leu Ala Thr Thr Ala Glu Ala Tyr Gly Ser Val
35          40          45

Leu Ser Gly Leu Ala Ala Leu His Trp Arg Gly Pro Ala Ala Glu Ser
50          55          60

Met Ala Val Thr Ala Ala Pro Tyr Ile Gly Trp Leu Tyr Thr Thr Ala
65          70          75          80

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

Phe Glu Gln Ala Tyr Ala Met Thr Leu Pro Pro Pro Val Val Ala Ala
100         105         110

Asn Arg Ile Gln Leu Leu Ala Leu Ile Ala Thr Asn Phe Phe Gly Gln
115         120         125

Asn Thr Ala Ala Ile Ala Ala Thr Glu Ala Gln Tyr Ala Glu Met Trp
130         135         140

Ala Gln Asp Ala Ala Ala Met Tyr Gly Tyr Ala Thr Ala Ser Ala Ala
145         150         155         160

```

ES 2 925 950 T3

Ala	Ala	Leu	Leu	Thr	Pro	Phe	Ser	Pro	Pro	Arg	Gln	Thr	Thr	Asn	Pro		
				165					170					175			
Ala	Gly	Leu	Thr	Ala	Gln	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Gln	Ala	Thr	Asp	Pro		
				180				185						190			
Leu	Ser	Leu	Leu	Ile	Glu	Thr	Val	Thr	Gln	Ala	Leu	Gln	Ala	Leu	Thr		
		195					200					205					
Ile	Pro	Ser	Phe	Ile	Pro	Glu	Asp	Phe	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Ile	Phe		
	210					215						220					
Ala	Gly	Tyr	Ala	Thr	Val	Gly	Val	Thr	Gln	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Val		
225					230					235					240		
Ala	Gly	Thr	Ile	Gly	Ala	Glu	Ser	Asn	Leu	Gly	Leu	Leu	Asn	Val	Gly		
				245					250					255			
Asp	Glu	Asn	Pro	Ala	Glu	Val	Thr	Pro	Gly	Asp	Phe	Gly	Ile	Gly	Glu		
			260					265					270				
Leu	Val	Ser	Ala	Thr	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala		
		275					280					285					
Gly	Gly	Ala	Ala	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Val	Leu	Ala	Ser	Val	Gly	Arg		
	290					295					300						
Ala	Asn	Ser	Ile	Gly	Gln	Leu	Ser	Val	Pro	Pro	Ser	Trp	Ala	Ala	Pro		
305					310					315					320		
Ser	Thr	Arg	Pro	Val	Ser	Ala	Leu	Ser	Pro	Ala	Gly	Leu	Thr	Thr	Leu		
				325					330					335			
Pro	Gly	Thr	Asp	Val	Ala	Glu	His	Gly	Met	Pro	Gly	Val	Pro	Gly	Val		
			340					345					350				
Pro	Val	Ala	Ala	Gly	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Arg	Tyr	Gly	Val		
		355					360					365					
Arg	Leu	Thr	Val	Met	Ala	His	Pro	Pro	Ala	Ala	Gly	Glu	Phe	Glu	Phe		
	370					375						380					
Met	Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	Thr	Met	Ile	Thr	Phe		
385					390					395					400		
Arg	Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Phe	Ser	Arg	Asn		
				405					410					415			
Pro	Leu	Val	Arg	Gly	Thr	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Val	Val	Met	Leu	Leu		
			420					425					430				
Ala	Val	Thr	Val	Ser	Leu	Leu	Thr	Ile	Pro	Phe	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly		
		435					440					445					
Thr	Ala	Val	Gln	Asp	Ser	Arg	Ser	His	Val	Tyr	Ala	His	Gln	Ala	Gln		
	450					455					460						
Thr	Arg	His	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr	Val	Ile	Asp	His	Glu	Gly	Val	Ile		
465					470					475					480		
Asp	Ser	Asn	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Thr	Lys	Ile	Thr		
				485					490					495			

ES 2 925 950 T3

Val Pro Ala Arg Trp Val Val Asn Gly Ile Glu Arg Ser Gly Glu Val
500 505 510

Asn Ala Lys Pro Gly Thr Lys Ser Gly Asp Arg Val Gly Ile Trp Val
515 520 525

Asp Ser Ala Gly Gln Leu Val Asp Glu Pro Ala Pro Pro Ala Arg Ala
530 535 540

Ile Ala Asp Ala Ala Leu Ala Ala Leu Gly Leu Trp Leu Ser Val Ala
545 550 555 560

Ala Val Ala Gly Ala Leu Leu Ala Leu Thr Arg Ala Ile Leu Ile Arg
565 570 575

Val Arg Asn Ala Ser Trp Gln His Asp Ile Asp Ser Leu Phe Cys Thr
580 585 590

Gln Arg Glu Leu Met Ser Thr Gln Arg Pro Arg His Ser Gly Ile Arg
595 600 605

Ala Val Gly Pro Tyr Ala Trp Ala Gly Arg Cys Gly Arg Ile Gly Arg
610 615 620

Trp Gly Val His Gln Glu Ala Met Met Asn Leu Ala Ile Trp His Pro
625 630 635 640

Arg Lys Val Gln Ser Ala Thr Ile Tyr Gln Val Thr Asp Arg Ser His
645 650 655

Asp Gly Arg Thr Ala Arg Val Pro Gly Asp Glu Ile Thr Ser Thr Val
660 665 670

Ser Gly Trp Leu Ser Glu Leu Gly Thr Gln Ser Pro Leu Ala Asp Glu
675 680 685

Leu Ala Arg Ala Val Arg Ile Gly Asp Trp Pro Ala Ala Tyr Ala Ile
690 695 700

Gly Glu His Leu Ser Val Glu Ile Ala Val Ala Val Lys Leu Leu Leu
705 710 715 720

Gly Leu Ser Thr Ile Ser Ser Lys Ala Asp Asp Ile Asp Trp Asp Ala
725 730 735

Ile Ala Gln Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala Asn Thr Gly Asn
740 745 750

Gly Leu Tyr Gly Gly Leu Gln Ile Ser Gln Ala Thr Trp Asp Ser Asn
755 760 765

Gly Gly Val Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln Gln Gln Ile Glu
770 775 780

Val Ala Asp Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly Ala Trp Pro Lys
785 790 795 800

Cys Ser Ser Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly Ser Leu Thr His
805 810 815

Ile Leu Thr Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys Ser Gly Ser Arg
820 825 830

Asp Asp

<210> 65

<211> 3171

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium PPE51-Rv1733c-Rv2628c-Rpfb

<400> 65

ES 2 925 950 T3

atggatthttg cgctgctgcc gccggaagtg aacagcgcg cgatgtatac cggcccgggc 60
 gcgggcagcc tgctggcgcc ggccggcgcc tgggatagcc tggcgccgga actggcgacc 120
 accgcggaag cgtatggcag cgtgctgagc ggcctggcgg cgctgcattg gcgcggcccg 180
 gcggcggaag gcatggcggt gaccgcggcg ccgtatatattg gctggctgta taccaccgcg 240
 gaaaaaacc agcagaccgc gattcaggcg cgcgcggcgg cgctggcggt tgaacaggcg 300
 tatgcgatga ccctgccgcc gccggtggtg gcggcgaacc gcattcagct gctggcgctg 360
 attgcgacca actthttttg ccagaacacc gcggcgattg cggcgaccga agcgagtat 420
 gcggaaatgt gggcgagga tgccggcgcg atgtatggct atgcgaccgc gagcgcgcg 480
 gcggcgctgc tgaccccggt tagcccgccg cgcagacca ccaaccggc gggcctgacc 540
 gcgcaggcg cgccgggtgag ccaggcgacc gatccgctga gcctgctgat tgaaaccgtg 600
 acccaggcg tgccggcgct gaccattccg agctttattc cggaagattt tacctttctg 660
 gatgcgattt ttgcgggcta tgccgacctg ggcgtgacc aggatgtgga aagctttgtg 720
 gcgggcacca ttggcgcgga aagcaacctg ggcctgctga acgtggcgga tgaaaaccg 780
 gcggaagtga ccccgggcga ttttggcatt ggcgaactgg tgagcgcgac cagcccgggc 840
 ggcggcgctga gcgcgagcg cgccggcgcc gcgcgagcg tgggcaacac cgtgctggcg 900
 agcgtgggcc gcgcgaacag cattggccag ctgagcgtgc cgcgagctg ggcggcgccg 960
 agcaccgcc cggtagcgcg gctgagcccg gcgggcctga ccaccctgcc gggcaccgat 1020
 gtggcggaac atggcatgcc gggcgctgcc ggcgtgccg tggcgccggg ccgcgcgagc 1080
 ggcgtgctgc cgcgctatgg cgtgcgcctg accgtgatgg cgcacccgcc ggccggcgcc 1140
 gaattcatga ttgcgactac ccgtgatcgt gagggcgcg ccatgatcac gttccgtctg 1200
 cgtctgccgt gtcgcacat tttgcgcgtg ttttcgcgta acccgctggt ccgcggtacc 1260
 gaccgtctgg aggcggtgt catgctgctg gcggttacc tgagcctgct gacgatccca 1320
 ttgcgagcg cagctggcac ggccgtcaa gacagccgta gccatgtgta tgctcaccag 1380
 gctcaaacc gtcacccggc tactgccact gttatcgatc acgaaggcgt gattgactcc 1440
 aataccacgg caacctccg accgcctcgc accaagatta cggttcctgc gcgttggggtg 1500

ES 2 925 950 T3

```

gtgaatggta ttgaacgcag cggcgaagtt aatgccaaac cgggtaccaa aagcggtgac 1560
cgtgtgggca tctgggtcga tagcgccggt cagctggtcg acgagccggc accgccagcg 1620
cgtgcatcg ccgatgcggc gctggctgcc ctgggtctgt ggctgagcgt ggcagcggtc 1680
gccggtcgt tgctggcgct gacgcgcgca attctgatcc gcgttcgcaa tgcgagctgg 1740
cagcacgata ttgatagcct gttttgcacc caacgtgagc tcatgtccac gcaacgaccg 1800
aggcactccg gtattcgggc tgttggcccc tacgcatggg ccggccgatg tggtcggata 1860
ggcaggtggg ggggtcacca ggaggcgatg atgaatctag cgatatggca cccgcgcaag 1920
gtgcaatccg ccaccatcta tcaggtgacc gatcgctcgc acgacgggcg cacagcacgg 1980
gtgcctggtg acgagatcac tagcacctg tccggttggg tgcggagtt gggcacccaa 2040
agcccgttgg ccgatgagct tgcgcgtgcg gtgcggatcg gcgactggcc cgctgcgtac 2100
gcaatcggtg agcacctgtc cgttgagatt gccgttgagg tcaagcttgc atgcaaaacg 2160
gtgacgttga ccgtcgacgg aaccgcgatg cgggtgacca cgatgaaatc gcgggtgatc 2220
gacatcgctg aagagaacgg gttctcagtc gacgaccgag acgacctgta tcccgcggcc 2280
ggcgtgcagg tccatgacgc cgacaccatc gtgctcgagg gtagccgtcc gctgcagatc 2340
tcgctggatg gtcacgacgc taagcagggtg tggacgaccg cgtcgacggg ggacgaggcg 2400
ctggcccaac tcgcgatgac cgacacggcg ccggcccgcg cttctcgcgc cagccgcgtc 2460
ccgctgtccg ggatggcgct accggtcgtc agcgccaaga cgggtgcagct caacgacggc 2520
gggttgggtg gcacgggtgca cttgccggcc cccaatgtcg cggggctgct gagtgcggcc 2580
ggcgtgccgc tgttgcaaag cgaccacgtg gtgcccgcgg cgacggcccc gatcgctcga 2640
ggcatgcaga tccaggtgac ccgcaatcgg atcaagaagg tcaccgagcg gctgccgctg 2700
ccgccgaacg cgcgtcgtgt cgaggacccg gagatgaaca tgagccggga ggtcgtcga 2760
gacccggggg ttccggggac ccaggatgtg acgttcgcgg tagctgaggt caacggcgtc 2820
gagaccggcc gtttgccgt cgccaacgtc gtggtgaccc cggcccacga agccgtggtg 2880
cgggtgggca ccaagcccg taccgaggtg cccccggtga tcgacggaag catctgggac 2940
gcgatcgccg gctgtgaggc cgggtggcaac tgggcgatca acaccggcaa cgggtattac 3000
ggtggtgtgc agtttgacca gggcacctgg gaggccaacg gcgggctgcg gtatgcaccc 3060
cgcgctgacc tcgccacccg cgaagagcag atcgccgttg ccgaggtgac ccgactgcgt 3120
caaggttggg gcgcctggcc ggtatgtgct gcacgagcgg gtgcgcgctg a 3171

```

<210> 66

<211> 1056

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: PPE51-Rv1733c-Rv2628c-RpfB

<400> 66

ES 2 925 950 T3

Met	Asp	Phe	Ala	Leu	Leu	Pro	Pro	Glu	Val	Asn	Ser	Ala	Arg	Met	Tyr	1	5	10	15
Thr	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly	Ser	Leu	Leu	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Trp	Asp	20	25	30	
Ser	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Ala	Thr	Thr	Ala	Glu	Ala	Tyr	Gly	Ser	Val	35	40	45	
Leu	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Leu	His	Trp	Arg	Gly	Pro	Ala	Ala	Glu	Ser	50	55	60	
Met	Ala	Val	Thr	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ile	Gly	Trp	Leu	Tyr	Thr	Thr	Ala	65	70	75	80
Glu	Lys	Thr	Gln	Gln	Thr	Ala	Ile	Gln	Ala	Arg	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	85	90	95	
Phe	Glu	Gln	Ala	Tyr	Ala	Met	Thr	Leu	Pro	Pro	Pro	Val	Val	Ala	Ala	100	105	110	
Asn	Arg	Ile	Gln	Leu	Leu	Ala	Leu	Ile	Ala	Thr	Asn	Phe	Phe	Gly	Gln	115	120	125	
Asn	Thr	Ala	Ala	Ile	Ala	Ala	Thr	Glu	Ala	Gln	Tyr	Ala	Glu	Met	Trp	130	135	140	
Ala	Gln	Asp	Ala	Ala	Ala	Met	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Thr	Ala	Ser	Ala	Ala	145	150	155	160
Ala	Ala	Leu	Leu	Thr	Pro	Phe	Ser	Pro	Pro	Arg	Gln	Thr	Thr	Asn	Pro	165	170	175	
Ala	Gly	Leu	Thr	Ala	Gln	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Gln	Ala	Thr	Asp	Pro	180	185	190	
Leu	Ser	Leu	Leu	Ile	Glu	Thr	Val	Thr	Gln	Ala	Leu	Gln	Ala	Leu	Thr	195	200	205	
Ile	Pro	Ser	Phe	Ile	Pro	Glu	Asp	Phe	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Ile	Phe	210	215	220	
Ala	Gly	Tyr	Ala	Thr	Val	Gly	Val	Thr	Gln	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Val	225	230	235	240
Ala	Gly	Thr	Ile	Gly	Ala	Glu	Ser	Asn	Leu	Gly	Leu	Leu	Asn	Val	Gly	245	250	255	
Asp	Glu	Asn	Pro	Ala	Glu	Val	Thr	Pro	Gly	Asp	Phe	Gly	Ile	Gly	Glu	260	265	270	
Leu	Val	Ser	Ala	Thr	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala	275	280	285	
Gly	Gly	Ala	Ala	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Val	Leu	Ala	Ser	Val	Gly	Arg	290	295	300	
Ala	Asn	Ser	Ile	Gly	Gln	Leu	Ser	Val	Pro	Pro	Ser	Trp	Ala	Ala	Pro	305	310	315	320

ES 2 925 950 T3

Ser Thr Arg Pro Val Ser Ala Leu Ser Pro Ala Gly Leu Thr Thr Leu
 325 330 335
 Pro Gly Thr Asp Val Ala Glu His Gly Met Pro Gly Val Pro Gly Val
 340 345 350
 Pro Val Ala Ala Gly Arg Ala Ser Gly Val Leu Pro Arg Tyr Gly Val
 355 360 365
 Arg Leu Thr Val Met Ala His Pro Pro Ala Ala Gly Glu Phe Met Ile
 370 375 380
 Ala Thr Thr Arg Asp Arg Glu Gly Ala Thr Met Ile Thr Phe Arg Leu
 385 390 395 400
 Arg Leu Pro Cys Arg Thr Ile Leu Arg Val Phe Ser Arg Asn Pro Leu
 405 410 415
 Val Arg Gly Thr Asp Arg Leu Glu Ala Val Val Met Leu Leu Ala Val
 420 425 430
 Thr Val Ser Leu Leu Thr Ile Pro Phe Ala Ala Ala Gly Thr Ala
 435 440 445
 Val Gln Asp Ser Arg Ser His Val Tyr Ala His Gln Ala Gln Thr Arg
 450 455 460
 His Pro Ala Thr Ala Thr Val Ile Asp His Glu Gly Val Ile Asp Ser
 465 470 475 480
 Asn Thr Thr Ala Thr Ser Ala Pro Pro Arg Thr Lys Ile Thr Val Pro
 485 490 495
 Ala Arg Trp Val Val Asn Gly Ile Glu Arg Ser Gly Glu Val Asn Ala
 500 505 510
 Lys Pro Gly Thr Lys Ser Gly Asp Arg Val Gly Ile Trp Val Asp Ser
 515 520 525
 Ala Gly Gln Leu Val Asp Glu Pro Ala Pro Pro Ala Arg Ala Ile Ala
 530 535 540
 Asp Ala Ala Leu Ala Ala Leu Gly Leu Trp Leu Ser Val Ala Ala Val
 545 550 555 560
 Ala Gly Ala Leu Leu Ala Leu Thr Arg Ala Ile Leu Ile Arg Val Arg
 565 570 575
 Asn Ala Ser Trp Gln His Asp Ile Asp Ser Leu Phe Cys Thr Gln Arg
 580 585 590
 Glu Leu Met Ser Thr Gln Arg Pro Arg His Ser Gly Ile Arg Ala Val
 595 600 605
 Gly Pro Tyr Ala Trp Ala Gly Arg Cys Gly Arg Ile Gly Arg Trp Gly
 610 615 620
 Val His Gln Glu Ala Met Met Asn Leu Ala Ile Trp His Pro Arg Lys
 625 630 635 640
 Val Gln Ser Ala Thr Ile Tyr Gln Val Thr Asp Arg Ser His Asp Gly
 645 650 655

ES 2 925 950 T3

Arg Thr Ala Arg Val Pro Gly Asp Glu Ile Thr Ser Thr Val Ser Gly
 660 665 670
 Trp Leu Ser Glu Leu Gly Thr Gln Ser Pro Leu Ala Asp Glu Leu Ala
 675 680 685
 Arg Ala Val Arg Ile Gly Asp Trp Pro Ala Ala Tyr Ala Ile Gly Glu
 690 695 700
 His Leu Ser Val Glu Ile Ala Val Ala Val Lys Leu Ala Cys Lys Thr
 705 710 715 720
 Val Thr Leu Thr Val Asp Gly Thr Ala Met Arg Val Thr Thr Met Lys
 725 730 735
 Ser Arg Val Ile Asp Ile Val Glu Glu Asn Gly Phe Ser Val Asp Asp
 740 745 750
 Arg Asp Asp Leu Tyr Pro Ala Ala Gly Val Gln Val His Asp Ala Asp
 755 760 765
 Thr Ile Val Leu Arg Arg Ser Arg Pro Leu Gln Ile Ser Leu Asp Gly
 770 775 780
 His Asp Ala Lys Gln Val Trp Thr Thr Ala Ser Thr Val Asp Glu Ala
 785 790 795 800
 Leu Ala Gln Leu Ala Met Thr Asp Thr Ala Pro Ala Ala Ala Ser Arg
 805 810 815
 Ala Ser Arg Val Pro Leu Ser Gly Met Ala Leu Pro Val Val Ser Ala
 820 825 830
 Lys Thr Val Gln Leu Asn Asp Gly Gly Leu Val Arg Thr Val His Leu
 835 840 845
 Pro Ala Pro Asn Val Ala Gly Leu Leu Ser Ala Ala Gly Val Pro Leu
 850 855 860
 Leu Gln Ser Asp His Val Val Pro Ala Ala Thr Ala Pro Ile Val Glu
 865 870 875 880
 Gly Met Gln Ile Gln Val Thr Arg Asn Arg Ile Lys Lys Val Thr Glu
 885 890 895
 Arg Leu Pro Leu Pro Pro Asn Ala Arg Arg Val Glu Asp Pro Glu Met
 900 905 910
 Asn Met Ser Arg Glu Val Val Glu Asp Pro Gly Val Pro Gly Thr Gln
 915 920 925
 Asp Val Thr Phe Ala Val Ala Glu Val Asn Gly Val Glu Thr Gly Arg
 930 935 940
 Leu Pro Val Ala Asn Val Val Val Thr Pro Ala His Glu Ala Val Val
 945 950 955 960
 Arg Val Gly Thr Lys Pro Gly Thr Glu Val Pro Pro Val Ile Asp Gly
 965 970 975
 Ser Ile Trp Asp Ala Ile Ala Gly Cys Glu Ala Gly Gly Asn Trp Ala
 980 985 990
 Ile Asn Thr Gly Asn Gly Tyr Tyr Gly Gly Val Gln Phe Asp Gln Gly
 995 1000 1005
 Thr Trp Glu Ala Asn Gly Gly Leu Arg Tyr Ala Pro Arg Ala Asp Leu
 1010 1015 1020
 Ala Thr Arg Glu Glu Gln Ile Ala Val Ala Glu Val Thr Arg Leu Arg
 1025 1030 1035 1040
 Gln Gly Trp Gly Ala Trp Pro Val Cys Ala Ala Arg Ala Gly Ala Arg
 1045 1050 1055

<210> 67
 <211> 2433
 <212> DNA
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium Rv3407-Rv1733c-Rv2626c-RpfB
 <400> 67

```

atgctgtgca ctgtgggtct ggttgaggcg attggcattc gcgagctgcg ccaacatgcc 60
agccgttact tggctcgtgt cgagggcgggt gaagaactgg gcgtgacgaa taagggtcgt 120
ctggtcgccc gtctgattcc ggttcaggca gctgagcgtt ctcgcgaggc gctgattgaa 180
tccggcgctcc tgatcccggc tcgccgtccg caaaacctgc tggacgtgac ggcggagcca 240
gctcgtggtc gcaaacgcac gctgtctgat gtcctgaacg aaatgcgcga cgagcaggaa 300
ttcatgattg cgactaccgc tgatcgtgag ggcgcgacca tgatcacgtt ccgtctgcgt 360
ctgccgtgtc gcaccathtt gcgctgttt tcgcgtaacc cgctgggtccg cggtagccgac 420
cgtctggagg ccgttgtcat gctgctggcg gttaccgtga gcctgctgac gatcccattc 480
gcagcggcag ctggcacggc cgtccaagac agccgtagcc atgtgtatgc tcaccaggct 540
caaaccgctc acccggttac tgccactgtt atcgatcacg aaggcgtgat tgactccaat 600
accacggcaa cctccgcacc gcctcgcacc aagattacgg ttcctgcgcg ttgggtgggtg 660
aatggtattg aacgcagcgg cgaagttaat gccaaaccgg gtaccaaag cgggtgaccgt 720
gtgggcatct gggtcgatag cgccgggtcag ctggtcgacg agccggcacc gccagcgcgt 780
gcgatcgccg atgcggcgct ggctgccctg ggtctgtggc tgagcgtggc agcggtcgcc 840
ggtgcgttgc tggcgctgac gcgcgcaatt ctgatccgcg ttcgcaatgc gagctggcag 900
cacgatattg atagcctgtt ttgcacccaa cgtgagctca tgaccacggc gcgtgatatc 960
atgaatgcgg gtgtcacctg tggtggcgag cacgaaacgt tgaccgcagc agcacagtac 1020
atgcgcgaac atgatatcgg cgattgccg atttcgggcg acgatgatcg tctgcacggt 1080
atgctgaccg accgcgatat cgttatcaag ggtctggccg caggcttggc cccgaacacc 1140
gcgaccgccg gtgaactggc acgtgacagc atctattacg tcgacgcgaa cgccagcatt 1200

```

ES 2 925 950 T3

```

caagagatgc tgaacgtgat ggaagagcat caggtgcgtc gtgtcccggt tatcagcgaa 1260
catcgtctgg ttggtatcgt taccgaagcc gacatcgac gtcacctgcc ggagcacgcg 1320
attgttcagt tcgtgaaagc gatttgcagc ccgatggcgt tggcgtctcg tcaaaagggc 1380
gacacaaaat ttattctaaa tgcaaagctt gcatgcaaaa cggtgacgtt gaccgtcgac 1440
ggaaccgcga tgcgggtgac cagcatgaaa tcgcggtga tcgacatcgt cgaagagaac 1500
gggttctcag tcgacgaccg cgacgacctg tatcccgcgg ccggcgtgca ggtccatgac 1560
gccgacacca tcgtgctgcg gcgtagccgt ccgctgcaga tctcgtgga tggtcacgac 1620
gctaagcagg tgtggacgac cgctcgacg gtggacgagg cgctggccca actcgcgatg 1680
accgacacgg cgccggccgc ggcttctcgc gccagccgcg tcccgtgtc cgggatggcg 1740
ctaccggtcg tcagcgccaa gacggtgcag ctcaacgacg gcgggttggg gcgcacggtg 1800
cacttgccgg cccccaatgt cgcggggctg ctgagtgcgg ccggcgtgcc gctgttgcaa 1860
agcgaccacg tggtgcccg cgcgacggcc ccgatcgtcg aaggcatgca gatccaggtg 1920
acccgcaatc ggatcaagaa ggtcaccgag cggctgccgc tgccgccgaa cgcgctcgt 1980
gtcgaggacc cggagatgaa catgagccgg gaggtcgtcg aagaccggg ggttccgggg 2040
accaggatg tgacgttcgc ggtagctgag gtcaacggcg tcgagaccgg ccgtttgcc 2100
gtcgccaacg tcgtggtgac cccggccac gaagccgtgg tcgggtggg caccaagccc 2160
ggtaccgagg tgcccccggt gatcgacgga agcatctggg acgcgatcgc cggctgtgag 2220
gccggtggca actgggcgat caacaccggc aacgggtatt acggtggtgt gcagtttgac 2280
cagggcacct gggaggccaa cggcgggctg cggtatgcac cccgcgctga cctcgccacc 2340
cgcaagagc agatcgccgt tgccgaggtg acccgactgc gtcaaggttg gggcgccctg 2400
ccggtatgtg ctgcacgagc ggtgcgcgcg tga 2433

```

<210> 68

<211> 810

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv3407-Rv1733c-Rv2626c-RpfB

<400> 68

```

Met Arg Ala Thr Val Gly Leu Val Glu Ala Ile Gly Ile Arg Glu Leu
1           5           10           15
Arg Gln His Ala Ser Arg Tyr Leu Ala Arg Val Glu Ala Gly Glu Glu
          20           25           30
Leu Gly Val Thr Asn Lys Gly Arg Leu Val Ala Arg Leu Ile Pro Val
          35           40           45
Gln Ala Ala Glu Arg Ser Arg Glu Ala Leu Ile Glu Ser Gly Val Leu
          50           55           60

```

ES 2 925 950 T3

Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Pro	Gln	Asn	Leu	Leu	Asp	Val	Thr	Ala	Glu	Pro	65	70	75	80
Ala	Arg	Gly	Arg	Lys	Arg	Thr	Leu	Ser	Asp	Val	Leu	Asn	Glu	Met	Arg	85	90	95	
Asp	Glu	Gln	Glu	Phe	Met	Ile	Ala	Thr	Thr	Arg	Asp	Arg	Glu	Gly	Ala	100	105	110	
Thr	Met	Ile	Thr	Phe	Arg	Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Arg	Thr	Ile	Leu	Arg	115	120	125	
Val	Phe	Ser	Arg	Asn	Pro	Leu	Val	Arg	Gly	Thr	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	130	135	140	
Val	Val	Met	Leu	Leu	Ala	Val	Thr	Val	Ser	Leu	Leu	Thr	Ile	Pro	Phe	145	150	155	160
Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Gln	Asp	Ser	Arg	Ser	His	Val	Tyr	165	170	175	
Ala	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Arg	His	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr	Val	Ile	Asp	180	185	190	
His	Glu	Gly	Val	Ile	Asp	Ser	Asn	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	Ala	Pro	Pro	195	200	205	
Arg	Thr	Lys	Ile	Thr	Val	Pro	Ala	Arg	Trp	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Glu	210	215	220	
Arg	Ser	Gly	Glu	Val	Asn	Ala	Lys	Pro	Gly	Thr	Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	225	230	235	240
Val	Gly	Ile	Trp	Val	Asp	Ser	Ala	Gly	Gln	Leu	Val	Asp	Glu	Pro	Ala	245	250	255	
Pro	Pro	Ala	Arg	Ala	Ile	Ala	Asp	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	260	265	270	
Trp	Leu	Ser	Val	Ala	Ala	Val	Ala	Gly	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Thr	Arg	275	280	285	
Ala	Ile	Leu	Ile	Arg	Val	Arg	Asn	Ala	Ser	Trp	Gln	His	Asp	Ile	Asp	290	295	300	
Ser	Leu	Phe	Cys	Thr	Gln	Arg	Glu	Leu	Met	Thr	Thr	Ala	Arg	Asp	Ile	305	310	315	320
Met	Asn	Ala	Gly	Val	Thr	Cys	Val	Gly	Glu	His	Glu	Thr	Leu	Thr	Ala	325	330	335	
Ala	Ala	Gln	Tyr	Met	Arg	Glu	His	Asp	Ile	Gly	Ala	Leu	Pro	Ile	Cys	340	345	350	
Gly	Asp	Asp	Asp	Arg	Leu	His	Gly	Met	Leu	Thr	Asp	Arg	Asp	Ile	Val	355	360	365	
Ile	Lys	Gly	Leu	Ala	Ala	Gly	Leu	Asp	Pro	Asn	Thr	Ala	Thr	Ala	Gly	370	375	380	
Glu	Leu	Ala	Arg	Asp	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ala	Asn	Ala	Ser	Ile	385	390	395	400

ES 2 925 950 T3

Gln Glu Met Leu Asn Val Met Glu Glu His Gln Val Arg Arg Val Pro
 405 410 415
 Val Ile Ser Glu His Arg Leu Val Gly Ile Val Thr Glu Ala Asp Ile
 420 425 430
 Ala Arg His Leu Pro Glu His Ala Ile Val Gln Phe Val Lys Ala Ile
 435 440 445
 Cys Ser Pro Met Ala Leu Ala Ser Arg Gln Lys Gly Asp Thr Lys Phe
 450 455 460
 Ile Leu Asn Ala Lys Leu Ala Cys Lys Thr Val Thr Leu Thr Val Asp
 465 470 475 480
 Gly Thr Ala Met Arg Val Thr Thr Met Lys Ser Arg Val Ile Asp Ile
 485 490 495
 Val Glu Glu Asn Gly Phe Ser Val Asp Asp Arg Asp Asp Leu Tyr Pro
 500 505 510
 Ala Ala Gly Val Gln Val His Asp Ala Asp Thr Ile Val Leu Arg Arg
 515 520 525
 Ser Arg Pro Leu Gln Ile Ser Leu Asp Gly His Asp Ala Lys Gln Val
 530 535 540
 Trp Thr Thr Ala Ser Thr Val Asp Glu Ala Leu Ala Gln Leu Ala Met
 545 550 555 560
 Thr Asp Thr Ala Pro Ala Ala Ala Ser Arg Ala Ser Arg Val Pro Leu
 565 570 575
 Ser Gly Met Ala Leu Pro Val Val Ser Ala Lys Thr Val Gln Leu Asn
 580 585 590
 Asp Gly Gly Leu Val Arg Thr Val His Leu Pro Ala Pro Asn Val Ala
 595 600 605
 Gly Leu Leu Ser Ala Ala Gly Val Pro Leu Leu Gln Ser Asp His Val
 610 615 620
 Val Pro Ala Ala Thr Ala Pro Ile Val Glu Gly Met Gln Ile Gln Val
 625 630 635 640
 Thr Arg Asn Arg Ile Lys Lys Val Thr Glu Arg Leu Pro Leu Pro Pro
 645 650 655
 Asn Ala Arg Arg Val Glu Asp Pro Glu Met Asn Met Ser Arg Glu Val
 660 665 670
 Val Glu Asp Pro Gly Val Pro Gly Thr Gln Asp Val Thr Phe Ala Val
 675 680 685
 Ala Glu Val Asn Gly Val Glu Thr Gly Arg Leu Pro Val Ala Asn Val
 690 695 700
 Val Val Thr Pro Ala His Glu Ala Val Val Arg Val Gly Thr Lys Pro
 705 710 715 720
 Gly Thr Glu Val Pro Pro Val Ile Asp Gly Ser Ile Trp Asp Ala Ile
 725 730 735

ES 2 925 950 T3

Ala	Gly	Cys	Glu	Ala	Gly	Gly	Asn	Trp	Ala	Ile	Asn	Thr	Gly	Asn	Gly
			740					745					750		
Tyr	Tyr	Gly	Gly	Val	Gln	Phe	Asp	Gln	Gly	Thr	Trp	Glu	Ala	Asn	Gly
		755					760					765			
Gly	Leu	Arg	Tyr	Ala	Pro	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Thr	Arg	Glu	Glu	Gln
	770					775					780				
Ile	Ala	Val	Ala	Glu	Val	Thr	Arg	Leu	Arg	Gln	Gly	Trp	Gly	Ala	Trp
785					790					795					800
Pro	Val	Cys	Ala	Ala	Arg	Ala	Gly	Ala	Arg						
			805						810						

<210> 69

<211> 1761

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

5

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium Rv3407-Rv1733c-Rv2626c-RpfD

<400> 69

```

atgctgtgcga ctgtgggtct ggttgaggcg attggcattc gcgagctgcg ccaacatgcc 60
agccgttact tggctcgtgt cgaggcgggt gaagaactgg gcgtgacgaa taagggtcgt 120
ctggtcgccc gtctgattcc ggttcaggca gctgagcgtt ctgcgagggc gctgattgaa 180
tccggcgtcc tgatcccggc tcgccgtccg caaaacctgc tggacgtgac ggcggagcca 240
gctcgtggtc gcaaacgcac gctgtctgat gtcctgaacg aaatgcgcga cgagcaggaa 300
ttcatgattg cgactacccg tgatcgtgag ggcgcgacca tgatcacgtt ccgtctgcgt 360
ctgccgtgtc gcaccatttt gcgcgtgttt tcgcgtaacc cgctgggtccg cggtaccgac 420
cgtctggagg ccgttgtcat gctgctggcg gttaccgtga gcctgctgac gatcccattc 480
gcagcggcag ctggcacggc cgtccaagac agccgtagcc atgtgtatgc tcaccaggct 540
caaaccctgc acccggtac tgccactgtt atcgatcacg aaggcgtgat tgactccaat 600
accacggcaa cctccgcacc gcctcgcacc aagattacgg ttcctgcgcg ttgggtgggtg 660
aatggatttg aacgcagcgg cgaagttaat gccaaaccgg gtaccaaag cggtgaccgt 720
gtgggcatct gggtcgatag cgccggtcag ctggtcgacg agccggcacc gccagcgcgt 780
gcgatcgccg atgcggcgct ggctgccctg ggtctgtggc tgagcgtggc agcggtcgcc 840
ggtgcgttgc tggcgtgac gcgcgcaatt ctgatcccg ttcgcaatgc gagctggcag 900
cacgatattg atagcctgtt ttgcaccaa cgtgagctca tgaccacggc gcgtgatatc 960
atgaatgcgg gtgtcacctg tggtggcgag cacgaaacgt tgaccgcagc agcacagtac 1020
atgcgcgaac atgatatcgg cgcattgccg atttgcggcg acgatgatcg tctgcacggc 1080

```

ES 2 925 950 T3

```

atgctgaccg accgcgatat cgttatcaag ggtctggccg caggcttgga cccgaacacc 1140
gcgaccgccg gtgaactggc acgtgacagc atctattacg tcgacgcgaa cgccagcatt 1200
caagagatgc tgaacgtgat ggaagagcat cagggtgcgtc gtgtcccggg tatcagcgaa 1260
catcgtctgg ttggtatcgt taccgaagcc gacatcgcac gtcacctgcc ggagcacgcg 1320
attgttcagt tcgtgaaagc gatttgcagc ccgatggcgt tggcgtctcg tcaaaagggc 1380
gacacaaaaat ttattctaaa tgcaaagctt ttgctgggcc tgagcaccat tagcagcaaa 1440
gcggatgaca tcgactggga tgcgattgcg cagtgtgaga gcggtggcaa ttgggcagcg 1500
aataccggca atggcctgta cggcggctctg cagatctccc aggcgacgtg ggacagcaat 1560
ggtggcgtcg gcagcccgcc tgccgcgtcc ccacaacaac agatcgaggt ggcagataac 1620
attatgaaaa cgaggggtcc ggggtgcttg ccaaaatgct ccagctgcag ccagggtgac 1680
gcaccgctgg gcagcctgac ccacattctg acgttcctgg cagcggaaac cgggtggtgt 1740
agcggtagcc gcgatgactg a 1761

```

<210> 70

<211> 586

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv3407-Rv1733c-Rv2626c-RpfD

<400> 70

```

Met Arg Ala Thr Val Gly Leu Val Glu Ala Ile Gly Ile Arg Glu Leu
1           5           10           15

Arg Gln His Ala Ser Arg Tyr Leu Ala Arg Val Glu Ala Gly Glu Glu
20        25        30

Leu Gly Val Thr Asn Lys Gly Arg Leu Val Ala Arg Leu Ile Pro Val
35        40        45

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

Ile Pro Ala Arg Arg Pro Gln Asn Leu Leu Asp Val Thr Ala Glu Pro
65        70        75        80

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

Asp Glu Gln Glu Phe Met Ile Ala Thr Thr Arg Asp Arg Glu Gly Ala
100       105       110

Thr Met Ile Thr Phe Arg Leu Arg Leu Pro Cys Arg Thr Ile Leu Arg
115       120       125

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

Val Val Met Leu Leu Ala Val Thr Val Ser Leu Leu Thr Ile Pro Phe
145       150       155       160

```

ES 2 925 950 T3

Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Gln	Asp	Ser	Arg	Ser	His	Val	Tyr	165	170	175
Ala	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Arg	His	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr	Val	Ile	Asp	180	185	190
His	Glu	Gly	Val	Ile	Asp	Ser	Asn	Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	Ala	Pro	Pro	195	200	205
Arg	Thr	Lys	Ile	Thr	Val	Pro	Ala	Arg	Trp	Val	Val	Asn	Gly	Ile	Glu	210	215	220
Arg	Ser	Gly	Glu	Val	Asn	Ala	Lys	Pro	Gly	Thr	Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	225	230	235
Val	Gly	Ile	Trp	Val	Asp	Ser	Ala	Gly	Gln	Leu	Val	Asp	Glu	Pro	Ala	245	250	255
Pro	Pro	Ala	Arg	Ala	Ile	Ala	Asp	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	260	265	270
Trp	Leu	Ser	Val	Ala	Ala	Val	Ala	Gly	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Thr	Arg	275	280	285
Ala	Ile	Leu	Ile	Arg	Val	Arg	Asn	Ala	Ser	Trp	Gln	His	Asp	Ile	Asp	290	295	300
Ser	Leu	Phe	Cys	Thr	Gln	Arg	Glu	Leu	Met	Thr	Thr	Ala	Arg	Asp	Ile	305	310	315
Met	Asn	Ala	Gly	Val	Thr	Cys	Val	Gly	Glu	His	Glu	Thr	Leu	Thr	Ala	325	330	335
Ala	Ala	Gln	Tyr	Met	Arg	Glu	His	Asp	Ile	Gly	Ala	Leu	Pro	Ile	Cys	340	345	350
Gly	Asp	Asp	Asp	Arg	Leu	His	Gly	Met	Leu	Thr	Asp	Arg	Asp	Ile	Val	355	360	365
Ile	Lys	Gly	Leu	Ala	Ala	Gly	Leu	Asp	Pro	Asn	Thr	Ala	Thr	Ala	Gly	370	375	380
Glu	Leu	Ala	Arg	Asp	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ala	Asn	Ala	Ser	Ile	385	390	395
Gln	Glu	Met	Leu	Asn	Val	Met	Glu	Glu	His	Gln	Val	Arg	Arg	Val	Pro	405	410	415
Val	Ile	Ser	Glu	His	Arg	Leu	Val	Gly	Ile	Val	Thr	Glu	Ala	Asp	Ile	420	425	430
Ala	Arg	His	Leu	Pro	Glu	His	Ala	Ile	Val	Gln	Phe	Val	Lys	Ala	Ile	435	440	445
Cys	Ser	Pro	Met	Ala	Leu	Ala	Ser	Arg	Gln	Lys	Gly	Asp	Thr	Lys	Phe	450	455	460
Ile	Leu	Asn	Ala	Lys	Leu	Leu	Leu	Gly	Leu	Ser	Thr	Ile	Ser	Ser	Lys	465	470	475
Ala	Asp	Asp	Ile	Asp	Trp	Asp	Ala	Ile	Ala	Gln	Cys	Glu	Ser	Gly	Gly	485	490	495

ES 2 925 950 T3

Asn Trp Ala Ala Asn Thr Gly Asn Gly Leu Tyr Gly Gly Leu Gln Ile
500 505 510

Ser Gln Ala Thr Trp Asp Ser Asn Gly Gly Val Gly Ser Pro Ala Ala
515 520 525

Ala Ser Pro Gln Gln Gln Ile Glu Val Ala Asp Asn Ile Met Lys Thr
530 535 540

Gln Gly Pro Gly Ala Trp Pro Lys Cys Ser Ser Cys Ser Gln Gly Asp
545 550 555 560

Ala Pro Leu Gly Ser Leu Thr His Ile Leu Thr Phe Leu Ala Ala Glu
565 570 575

Thr Gly Gly Cys Ser Gly Ser Arg Asp Asp
580 585

<210> 71

<211> 2895

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium PPE51-Rv1733c-Rv2626c-RpFD

<400> 71

```

atggattttg cgctgctgcc gccggaagtg aacagcgcgc gcatgtatac cggcccgggc 60
gcgggcagcc tgctggcggc ggcgggcggc tgggatagcc tggcggcgga actggcgacc 120
accgcggaag cgtatggcag cgtgctgagc ggcctggcgg cgctgcattg gcgcggcccg 180
gcgggcgaaa gcatggcggt gaccgcggcg ccgtatatgt gctggctgta taccaccgcg 240
gaaaaaaccc agcagaccgc gattcaggcg cgcgcggcgg cgctggcggt tgaacaggcg 300
tatgcgatga ccctgccgcc gccggtggtg gcggcgaacc gcattcagct gctggcgctg 360
attgcgacca acttttttgg ccagaacacc gcggcgattg cggcgaccga agcgcagtat 420
gcggaaatgt gggcgcagga tgcgggcgcg atgtatggct atgcgaccgc gagcgcggcg 480
gcggcgctgc tgaccccggt tagcccgccg cgcagacca ccaaccggc gggcctgacc 540
gcgcaggcgg cggcggtgag ccaggcgacc gatccgctga gcctgctgat tgaaaccgtg 600
accaggcgc tgcaaggcgt gaccattccg agctttattc cggaagattt tacctttctg 660
gatgcgattt ttgcgggcta tgcgaccgtg ggcgtgacct aggatgtgga aagctttgtg 720
gcgggcacca ttggcgcgga aagcaacctg ggcctgctga acgtgggcga tgaaaacccg 780
gcggaagtga ccccgggcga ttttggcatt ggcgaactgg tgagcgcgac cagcccgggc 840
ggcggcgtga gcgcgagcgg cgcgggcggc gcggcgagcg tgggcaacac cgtgctggcg 900
agcgtgggcc gcgcgaacag cattggccag ctgagcgtgc cgccgagctg ggcggcgccg 960
agcaccgcc cggtgagcgc gctgagcccg gcgggcctga ccaccctgcc gggcaccgat 1020

```

ES 2 925 950 T3

```

gtggcggaac atggcatgcc gggcgtgccg ggcgtgccg tggcgcggg ccgcgcgagc 1080
ggcgtgctgc cgcgctatgg cgtgcgcctg accgtgatgg cgcatccgcc ggcgcggggc 1140
gaatttatga cagagcagca gtggaatttc gcgggtatcg aggcgcggc aagcgcaatc 1200
cagggaatg tcacgtccat tcattccctc cttgacgagg ggaagcagtc cctgaccaag 1260
ctcgcagcgg cctggggcgg tagcgggttc gaggcgtacc aggggtgtcca gcaaaaatgg 1320
gacgccacgg ctaccgagct gaacaacgcg ctgcagaacc tggcgcggaac gatcagcgaa 1380
gccggtcagg caatggcttc gaccgaaggc aacgtcactg ggatgttcgc agaattcatg 1440
attgcgacta cccgtgatcg tgagggcgcg accatgatca cgttcctct gcgctcgcg 1500
tgtcgacca ttttgcggt gttttcggt aaccgctgg tccgcggtac cgaccgtctg 1560
gaggcgttg tcatgctgct ggcggttacc gtgagcctgc tgacgatccc attcgcagcg 1620
gcagctggca cggccgtcca agacagccgt agccatgtgt atgctacca ggctcaaacc 1680
cgtcaccggt ctactgccac tgttatcgat cacgaaggcg tgattgactc caataccacg 1740
gcaacctccg caccgcctcg caccaagatt acggttcctg cgcgttggtt ggtgaatggt 1800
attgaacgca gcggcgaagt taatgccaaa ccgggtacca aaagcgggtga ccgtgtgggc 1860
atctgggtcg atagcgcgg tcagctggtc gacgagccgg caccgccagc gcgtgcgac 1920
gccgatgcgg cgctggctgc cctgggtctg tggctgagcg tggcagcggc cgccggtgcg 1980
ttgtggcgc tgacgcgcg aattctgatc cgcgttcgca atgcgagctg gcagcacgat 2040
attgatagcc tgttttgac ccaacgtgag ctcatgacca cggcgcggtga tatcatgaat 2100
gcgggtgtca cctgtgttg cgagcacgaa acgttgaccg cagcagcaca gtacatgcgc 2160
gaacatgata tcggcgcat gccgatttgc ggcgacgat atcgtctgca cggtatgctg 2220
accgaccgcg atatcgttat caagggctctg gccgcaggct tggaccgaa caccgcgacc 2280
gccggtgaac tggcacgtga cagcatctat tacgtcgacg cgaacgccag cattcaagag 2340
atgctgaacg tgatggaaga gcatcagggt cgtcgtgtcc cggttatcag cgaacatcgt 2400
ctggttggtg tcgttaccga agccgacatc gcacgtcacc tgccggagca cgcgattgtt 2460
cagttcgtga aagcgatttg cagcccgatg gcgttggcgt ctcgtcaaaa gggcgacaca 2520
aaatttattc taaatgcaa gcttttgctg ggcctgagca ccattagcag caaagcggat 2580
gacatcgact gggatgcgat tgcgcagtg gagagcggtg gcaattgggc agcgaatacc 2640
ggcaatggcc tgtacggcgg tctgcagatc tcccaggcga cgtgggacag caatggtggc 2700
gtcggcagcc cggctgccgc gtccccacaa caacagatcg aggtggcaga taacattatg 2760
aaaacgcagg gtccgggtgc ttggccaaaa tgctccagct gcagccaggg tgacgcaccg 2820
ctgggcagcc tgaccacat tctgacgttc ctggcagcgg aaaccggtgg ttgtagcgg 2880
agccgcgatg actga 2895

```

<210> 72

<211> 870

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: PPE51-Rv1733c-Rv2626c-RpfD

<400> 72

ES 2 925 950 T3

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

ES 2 925 950 T3

Leu Val Ser Ala Thr Ser Pro Gly Gly Gly Val Ser Ala Ser Gly Ala
 275 280 285
 Gly Gly Ala Ala Ser Val Gly Asn Thr Val Leu Ala Ser Val Gly Arg
 290 295 300
 Ala Asn Ser Ile Gly Gln Leu Ser Val Pro Pro Ser Trp Ala Ala Pro
 305 310 315 320
 Ser Thr Arg Pro Val Ser Ala Leu Ser Pro Ala Gly Leu Thr Thr Leu
 325 330 335
 Pro Gly Thr Asp Val Ala Glu His Gly Met Pro Gly Val Pro Gly Val
 340 345 350
 Pro Val Ala Ala Gly Arg Ala Ser Gly Val Leu Pro Arg Tyr Gly Val
 355 360 365
 Arg Leu Thr Val Met Ala His Pro Pro Ala Ala Gly Glu Phe Met Ile
 370 375 380
 Ala Thr Thr Arg Asp Arg Glu Gly Ala Thr Met Ile Thr Phe Arg Leu
 385 390 395 400
 Arg Leu Pro Cys Arg Thr Ile Leu Arg Val Phe Ser Arg Asn Pro Leu
 405 410 415
 Val Arg Gly Thr Asp Arg Leu Glu Ala Val Val Met Leu Leu Ala Val
 420 425 430
 Thr Val Ser Leu Leu Thr Ile Pro Phe Ala Ala Ala Gly Thr Ala
 435 440 445
 Val Gln Asp Ser Arg Ser His Val Tyr Ala His Gln Ala Gln Thr Arg
 450 455 460
 His Pro Ala Thr Ala Thr Val Ile Asp His Glu Gly Val Ile Asp Ser
 465 470 475 480
 Asn Thr Thr Ala Thr Ser Ala Pro Pro Arg Thr Lys Ile Thr Val Pro
 485 490 495
 Ala Arg Trp Val Val Asn Gly Ile Glu Arg Ser Gly Glu Val Asn Ala
 500 505 510
 Lys Pro Gly Thr Lys Ser Gly Asp Arg Val Gly Ile Trp Val Asp Ser
 515 520 525
 Ala Gly Gln Leu Val Asp Glu Pro Ala Pro Pro Ala Arg Ala Ile Ala
 530 535 540
 Asp Ala Ala Leu Ala Ala Leu Gly Leu Trp Leu Ser Val Ala Ala Val
 545 550 555 560
 Ala Gly Ala Leu Leu Ala Leu Thr Arg Ala Ile Leu Ile Arg Val Arg
 565 570 575
 Asn Ala Ser Trp Gln His Asp Ile Asp Ser Leu Phe Cys Thr Gln Arg
 580 585 590
 Glu Leu Met Thr Thr Ala Arg Asp Ile Met Asn Ala Gly Val Thr Cys
 595 600 605

ES 2 925 950 T3

Val Gly Glu His Glu Thr Leu Thr Ala Ala Ala Gln Tyr Met Arg Glu
610 615 620

His Asp Ile Gly Ala Leu Pro Ile Cys Gly Asp Asp Asp Arg Leu His
625 630 635 640

Gly Met Leu Thr Asp Arg Asp Ile Val Ile Lys Gly Leu Ala Ala Gly
645 650 655

Leu Asp Pro Asn Thr Ala Thr Ala Gly Glu Leu Ala Arg Asp Ser Ile
660 665 670

Tyr Tyr Val Asp Ala Asn Ala Ser Ile Gln Glu Met Leu Asn Val Met
675 680 685

Glu Glu His Gln Val Arg Arg Val Pro Val Ile Ser Glu His Arg Leu
690 695 700

Val Gly Ile Val Thr Glu Ala Asp Ile Ala Arg His Leu Pro Glu His
705 710 715 720

Ala Ile Val Gln Phe Val Lys Ala Ile Cys Ser Pro Met Ala Leu Ala
725 730 735

Ser Arg Gln Lys Gly Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Ala Lys Leu Leu
740 745 750

Leu Gly Leu Ser Thr Ile Ser Ser Lys Ala Asp Asp Ile Asp Trp Asp
755 760 765

Ala Ile Ala Gln Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala Asn Thr Gly
770 775 780

Asn Gly Leu Tyr Gly Gly Leu Gln Ile Ser Gln Ala Thr Trp Asp Ser
785 790 795 800

Asn Gly Gly Val Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln Gln Gln Ile
805 810 815

Glu Val Ala Asp Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly Ala Trp Pro
820 825 830

Lys Cys Ser Ser Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly Ser Leu Thr
835 840 845

His Ile Leu Thr Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys Ser Gly Ser
850 855 860

Arg Asp Asp Lys Met Lys
865 870

<210> 73

<211> 3567

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Mycobacterium PPE51-Rv1733c-Rv2626c-RpfB

<400> 73

atggattttg cgctgctgcc gccggaagtg aacagcgcgc gcatgtatac cgccccgggc 60

ES 2 925 950 T3

gcgggcagcc tgctggcggc ggccggcggc tgggtagacc tggcggcgga actggcgacc 120
 accgcggaag cgtatggcag cgtgctgagc ggcctggcgg cgctgcattg gcgcggcccg 180
 gcggcggaag gcatggcggt gaccgcggcg ccgtatatattg gctggctgta taccaccgcg 240
 gaaaaaaccc agcagaccgc gattcaggcg cgcgcgcgcg cgctggcggt tgaacaggcg 300
 tatgcgatga ccctgccgcc gccggtggtg gcggcgaacc gcattcagct gctggcgctg 360
 attgcgacca acttttttgg ccagaacacc gcggcgattg cggcgaccga agcgcagtat 420
 gcggaaatgt gggcgagga tgcggcgcg atgtatggct atgcgaccgc gagcgcgcg 480
 gcggcgctgc tgaccccggt tagcccgccg cgccagacca ccaaccggcg gggcctgacc 540
 gcgcaggcg cggcggtgag ccaggcgacc gatccgctga gcctgctgat tgaaccgctg 600
 acccaggcg tgcaggcgct gaccattccg agctttattc cggaagattt tacctttctg 660
 gatgcgattt ttgcgggcta tgcgaccgtg ggcgtgacct aggatgtgga aagctttgtg 720
 gcgggcacca ttggcgcgga aagcaacctg ggcctgctga acgtggcgga tgaatacccg 780
 gcggaagtga ccccgggcga ttttggcatt ggcgaactgg tgagcgcgac cagcccgggc 840
 ggcgcgctga gcgcgagcg cgccggcgcg gcggcgagcg tgggcaacac cgtgctggcg 900
 agcgtgggcc gcgcgaacag cattggccag ctgagcgtgc cgccgagctg ggcggcgccg 960
 agcaccgcc cggtgagcgc gctgagcccg gcgggcctga ccaccctgcc gggcaccgat 1020
 gtggcggaac atggcatgcc gggcgctgcc ggcgtgccgg tggcgcgggg ccgcgcgagc 1080
 ggcgtgctgc cgcgctatgg cgtgcgcctg accgtgatgg cgcatccgcc ggcggcgggc 1140
 gaatttatga cagagcagca gtggaatttc gcgggtatcg aggcgcggcg aagcgcaatc 1200
 cagggaatg tcacgtccat tcattccctc cttgacgagg ggaagcagtc cctgaccaag 1260
 ctgcgagcgc cctggggcgg tagcgggttcg gaggcgtacc aggggtgtcca gcaaaaatgg 1320
 gacgccacgg ctaccgagct gaacaacgcg ctgcagaacc tggcgcgggc gatcagcgaa 1380
 gccggtcagg caatggcttc gaccgaaggc aacgtcactg ggatgttcgc agaattcatg 1440
 attgcgacta cccgtgatcg tgagggcgcg accatgatca cgttccgtct gcgtctgccg 1500
 tgtcgcacca ttttgcgcgt gttttcgcgt aaccgcctgg tccgcggtac cgaccgtctg 1560
 gaggcggtt tcatgctgct ggcgggtacc gtgagcctgc tgacgatccc attcgcagcg 1620
 gcagctggca cgcccgctca agacagccgt agccatgtgt atgctcacca ggctcaaacc 1680
 cgtcaccgg ctactgccac tgttatcgat cacgaaggcg tgattgactc caataccacg 1740
 gcaacctccg caccgcctcg caccaagatt acggttcctg cgcggtgggt ggtgaatggt 1800
 attgaacgca gcggcggaag taatgccaaa ccgggtacca aaagcggtga ccgtgtgggc 1860
 atctgggtcg atagcgccgg tcagctggtc gacgagccgg caccgccagc gcgtgcgac 1920

ES 2 925 950 T3

```

gccgatgcgg cgctggctgc cctgggtctg tggctgagcg tggcagcggg cgccggtgcg 1980
ttgctggcgc tgacgcgcgc aattctgata cgcgttcgca atgcgagctg gcagcacgat 2040
attgatagcc tgttttgcac ccaacgtgag ctcatgacca cggcgcgtga tatcatgaat 2100
gcggtgtgca cctgtgttgg cgagcacgaa acgttgaccg cagcagcaca gtacatgcgc 2160
gaacatgata tcggcgcatt gccgatttgc ggcgacgatg atcgtctgca cggtatgctg 2220
accgaccgcg atatcggtat caagggtctg gccgcaggct tggacccgaa caccgcgacc 2280
gccggtgaac tggcacgtga cagcatctat tacgtcgacg cgaacgccag cattcaagag 2340
atgctgaacg tgatggaaga gcatcaggtg cgtcgtgtcc cggttatcag cgaacatcgt 2400
ctggttggtg tctgtaccga agccgacatc gcacgtcacc tgcgggagca cgcgattggt 2460
cagttcgtga aagcgatttg cagcccgatg gcgttgccgt ctcgtcaaaa gggcgacaca 2520
aaatttattc taaatgcaaa gcttgcattg aaaacggtga cgttgaccgt cgacggaacc 2580
gcgatgcggg tgaccacgat gaaatcgcg gtgatcgaca tcgtcgaaga gaacgggttc 2640
tcagtgcagc accgcgacga cctgtatccc gcggccggcg tgcaggcca tgacgccgac 2700
accatcgtgc tgcggcgtag ccgtccgctg cagatctcgc tggatggcca cgacgctaag 2760
cagggtgtga cgaccgcgtc gacgggtggc gaggcgctgg cccaactcgc gatgaccgac 2820
acggcgccgg ccgcggcttc tcgcgccagc cgcgtcccgc tgtccgggat ggcgctaccg 2880
gtcgtcagcg ccaagacggt gcagctcaac gacggcgggt tgggtgcgcac ggtgcacttg 2940
ccggccccc aatgtcgggg gctgctgagt gcggccggcg tgcgctggt gcaaagcgac 3000
cacgtggtgc ccgccgcgac ggccccgatc gtcgaaggca tgcagatcca ggtgaccgcg 3060
aatcggtatc agaaggtcac cgagcggctg ccgctgccgc cgaacgcgcg tcgtgtcgag 3120
gacccggaga tgaacatgag ccgggaggtc gtcgaagacc cgggggttcc ggggaccag 3180
gatgtgacgt tcgcggtagc tgaggtcaac ggcgtcgaga ccggccgttt gccgctcgcc 3240
aacgtcgtgg tgaccccgcc ccacgaagcc gtggtgcggg tgggcaccaa gcccggtacc 3300
gaggtgcccc cggatgatga cggaagcatc tgggacgga tcgccggctg tgaggccggt 3360
ggcaactggg cgatcaacac cggcaacggg tattacggtg gtgtgcagtt tgaccagggc 3420
acctgggagg ccaacggcgg gctgcggtat gaccccgcg ctgacctcgc caccgcgaa 3480
gagcagatcg ccgttgccga ggtgaccgga ctgcgtcaag gttggggcgc ctggccggtg 3540
tgtgctgcac gacgggtgc gcgctga 3567

```

<210> 74

<211> 1091

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: PPE51-Rv1733c-Rv2626c-RpfB

<400> 74

ES 2 925 950 T3

Met	Asp	Phe	Ala	Leu	Leu	Pro	Pro	Glu	Val	Asn	Ser	Ala	Arg	Met	Tyr	1	5	10	15
Thr	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly	Ser	Leu	Leu	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Trp	Asp	20	25	30	
Ser	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Ala	Thr	Thr	Ala	Glu	Ala	Tyr	Gly	Ser	Val	35	40	45	
Leu	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Leu	His	Trp	Arg	Gly	Pro	Ala	Ala	Glu	Ser	50	55	60	
Met	Ala	Val	Thr	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ile	Gly	Trp	Leu	Tyr	Thr	Thr	Ala	65	70	75	80
Glu	Lys	Thr	Gln	Gln	Thr	Ala	Ile	Gln	Ala	Arg	Ala	Ala	Ala	Leu	Ala	85	90	95	
Phe	Glu	Gln	Ala	Tyr	Ala	Met	Thr	Leu	Pro	Pro	Pro	Val	Val	Ala	Ala	100	105	110	
Asn	Arg	Ile	Gln	Leu	Leu	Ala	Leu	Ile	Ala	Thr	Asn	Phe	Phe	Gly	Gln	115	120	125	
Asn	Thr	Ala	Ala	Ile	Ala	Ala	Thr	Glu	Ala	Gln	Tyr	Ala	Glu	Met	Trp	130	135	140	
Ala	Gln	Asp	Ala	Ala	Ala	Met	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Thr	Ala	Ser	Ala	Ala	145	150	155	160
Ala	Ala	Leu	Leu	Thr	Pro	Phe	Ser	Pro	Pro	Arg	Gln	Thr	Thr	Asn	Pro	165	170	175	
Ala	Gly	Leu	Thr	Ala	Gln	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Gln	Ala	Thr	Asp	Pro	180	185	190	
Leu	Ser	Leu	Leu	Ile	Glu	Thr	Val	Thr	Gln	Ala	Leu	Gln	Ala	Leu	Thr	195	200	205	
Ile	Pro	Ser	Phe	Ile	Pro	Glu	Asp	Phe	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Ile	Phe	210	215	220	
Ala	Gly	Tyr	Ala	Thr	Val	Gly	Val	Thr	Gln	Asp	Val	Glu	Ser	Phe	Val	225	230	235	240
Ala	Gly	Thr	Ile	Gly	Ala	Glu	Ser	Asn	Leu	Gly	Leu	Leu	Asn	Val	Gly	245	250	255	
Asp	Glu	Asn	Pro	Ala	Glu	Val	Thr	Pro	Gly	Asp	Phe	Gly	Ile	Gly	Glu	260	265	270	
Leu	Val	Ser	Ala	Thr	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala	275	280	285	
Gly	Gly	Ala	Ala	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Val	Leu	Ala	Ser	Val	Gly	Arg	290	295	300	
Ala	Asn	Ser	Ile	Gly	Gln	Leu	Ser	Val	Pro	Pro	Ser	Trp	Ala	Ala	Pro	305	310	315	320

ES 2 925 950 T3

Ser Thr Arg Pro Val Ser Ala Leu Ser Pro Ala Gly Leu Thr Thr Leu
 325 330 335
 Pro Gly Thr Asp Val Ala Glu His Gly Met Pro Gly Val Pro Gly Val
 340 345 350
 Pro Val Ala Ala Gly Arg Ala Ser Gly Val Leu Pro Arg Tyr Gly Val
 355 360 365
 Arg Leu Thr Val Met Ala His Pro Pro Ala Ala Gly Glu Phe Met Ile
 370 375 380
 Ala Thr Thr Arg Asp Arg Glu Gly Ala Thr Met Ile Thr Phe Arg Leu
 385 390 395 400
 Arg Leu Pro Cys Arg Thr Ile Leu Arg Val Phe Ser Arg Asn Pro Leu
 405 410 415
 Val Arg Gly Thr Asp Arg Leu Glu Ala Val Val Met Leu Leu Ala Val
 420 425 430
 Thr Val Ser Leu Leu Thr Ile Pro Phe Ala Ala Ala Gly Thr Ala
 435 440 445
 Val Gln Asp Ser Arg Ser His Val Tyr Ala His Gln Ala Gln Thr Arg
 450 455 460
 His Pro Ala Thr Ala Thr Val Ile Asp His Glu Gly Val Ile Asp Ser
 465 470 475 480
 Asn Thr Thr Ala Thr Ser Ala Pro Pro Arg Thr Lys Ile Thr Val Pro
 485 490 495
 Ala Arg Trp Val Val Asn Gly Ile Glu Arg Ser Gly Glu Val Asn Ala
 500 505 510
 Lys Pro Gly Thr Lys Ser Gly Asp Arg Val Gly Ile Trp Val Asp Ser
 515 520 525
 Ala Gly Gln Leu Val Asp Glu Pro Ala Pro Pro Ala Arg Ala Ile Ala
 530 535 540
 Asp Ala Ala Leu Ala Ala Leu Gly Leu Trp Leu Ser Val Ala Ala Val
 545 550 555 560
 Ala Gly Ala Leu Leu Ala Leu Thr Arg Ala Ile Leu Ile Arg Val Arg
 565 570 575
 Asn Ala Ser Trp Gln His Asp Ile Asp Ser Leu Phe Cys Thr Gln Arg
 580 585 590
 Glu Leu Met Thr Thr Ala Arg Asp Ile Met Asn Ala Gly Val Thr Cys
 595 600 605
 Val Gly Glu His Glu Thr Leu Thr Ala Ala Ala Gln Tyr Met Arg Glu
 610 615 620
 His Asp Ile Gly Ala Leu Pro Ile Cys Gly Asp Asp Arg Leu His
 625 630 635 640
 Gly Met Leu Thr Asp Arg Asp Ile Val Ile Lys Gly Leu Ala Ala Gly
 645 650 655

ES 2 925 950 T3

Leu	Asp	Pro	Asn	Thr	Ala	Thr	Ala	Gly	Glu	Leu	Ala	Arg	Asp	Ser	Ile	
			660					665					670			
Tyr	Tyr	Val	Asp	Ala	Asn	Ala	Ser	Ile	Gln	Glu	Met	Leu	Asn	Val	Met	
		675					680					685				
Glu	Glu	His	Gln	Val	Arg	Arg	Val	Pro	Val	Ile	Ser	Glu	His	Arg	Leu	
	690					695					700					
Val	Gly	Ile	Val	Thr	Glu	Ala	Asp	Ile	Ala	Arg	His	Leu	Pro	Glu	His	
705					710					715					720	
Ala	Ile	Val	Gln	Phe	Val	Lys	Ala	Ile	Cys	Ser	Pro	Met	Ala	Leu	Ala	
			725						730					735		
Ser	Arg	Gln	Lys	Gly	Asp	Thr	Lys	Phe	Ile	Leu	Asn	Ala	Lys	Leu	Ala	
		740						745					750			
Cys	Lys	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Gly	Thr	Ala	Met	Arg	Val	Thr	
	755						760					765				
Thr	Met	Lys	Ser	Arg	Val	Ile	Asp	Ile	Val	Glu	Glu	Asn	Gly	Phe	Ser	
	770					775					780					
Val	Asp	Asp	Arg	Asp	Asp	Leu	Tyr	Pro	Ala	Ala	Gly	Val	Gln	Val	His	
785					790					795					800	
Asp	Ala	Asp	Thr	Ile	Val	Leu	Arg	Arg	Ser	Arg	Pro	Leu	Gln	Ile	Ser	
			805					810						815		
Leu	Asp	Gly	His	Asp	Ala	Lys	Gln	Val	Trp	Thr	Thr	Ala	Ser	Thr	Val	
		820					825						830			
Asp	Glu	Ala	Leu	Ala	Gln	Leu	Ala	Met	Thr	Asp	Thr	Ala	Pro	Ala	Ala	
	835						840					845				
Ala	Ser	Arg	Ala	Ser	Arg	Val	Pro	Leu	Ser	Gly	Met	Ala	Leu	Pro	Val	
	850					855					860					
Val	Ser	Ala	Lys	Thr	Val	Gln	Leu	Asn	Asp	Gly	Gly	Leu	Val	Arg	Thr	
865					870					875					880	
Val	His	Leu	Pro	Ala	Pro	Asn	Val	Ala	Gly	Leu	Leu	Ser	Ala	Ala	Gly	
			885						890					895		
Val	Pro	Leu	Leu	Gln	Ser	Asp	His	Val	Val	Pro	Ala	Ala	Thr	Ala	Pro	
		900						905					910			
Ile	Val	Glu	Gly	Met	Gln	Ile	Gln	Val	Thr	Arg	Asn	Arg	Ile	Lys	Lys	
	915						920					925				
Val	Thr	Glu	Arg	Leu	Pro	Leu	Pro	Pro	Asn	Ala	Arg	Arg	Val	Glu	Asp	
	930					935					940					
Pro	Glu	Met	Asn	Met	Ser	Arg	Glu	Val	Val	Glu	Asp	Pro	Gly	Val	Pro	
945					950					955					960	
Gly	Thr	Gln	Asp	Val	Thr	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Val	Asn	Gly	Val	Glu	
			965						970				975			
Thr	Gly	Arg	Leu	Pro	Val	Ala	Asn	Val	Val	Val	Thr	Pro	Ala	His	Glu	
			980					985					990			

ES 2 925 950 T3

Ala Val Val Arg Val Gly Thr Lys Pro Gly Thr Glu Val Pro Pro Val
995 1000 1005

Ile Asp Gly Ser Ile Trp Asp Ala Ile Ala Gly Cys Glu Ala Gly Gly
1010 1015 1020

Asn Trp Ala Ile Asn Thr Gly Asn Gly Tyr Tyr Gly Gly Val Gln Phe
1025 1030 1035 1040

Asp Gln Gly Thr Trp Glu Ala Asn Gly Gly Leu Arg Tyr Ala Pro Arg
1045 1050 1055

Ala Asp Leu Ala Thr Arg Glu Glu Gln Ile Ala Val Ala Glu Val Thr
1060 1065 1070

Arg Leu Arg Gln Gly Trp Gly Ala Trp Pro Val Cys Ala Ala Arg Ala
1075 1080 1085

Gly Ala Arg
1090

<210> 75

<211> 31

<212> DNA

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: 85B Para el cebador NdeI

<400> 75

atagatcata tgttagccg tcctggcctg c 31

<210> 76

<211> 31

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: 85B Rev EcoRI nostop primer

<400> 76

ttaagagaat tcgcccgcac ccagagagga t 31

<210> 77

<211> 32

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: ESAT-6 Para el cebador BamHI

<400> 77

aacgttgat ccatgacaga gcagcagtg aa 32

<210> 78

<211> 32

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador ESAT-6 Rev EcoRI ns

<400> 78

atactagaat tctgcaaca tcccagtgac gt 32

<210> 79

<211> 33

<212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: 1733 Para el cebador EcoRI
 <400> 79
 5 aactagaat tcatgattgc gactaccgt gat 33
 <210> 80
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: 1733 In1 Rev Xma primer
 <400> 80
 gatatacccg ggggcctcca gacggtcgt 30
 <210> 81
 15 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: 1733 Fuera para Xma primer
 20 <400> 81
 aacgaaccg ggtccaaga cagccgtagc c 31
 <210> 82
 <211> 31
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: 1733 Out Rev Xba primer
 <400> 82
 taagtatcta gaatcggcga tcgcacgc t 31
 30 <210> 83
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de Secuencia Artificial: 1733 In2 Para Xba primer
 <400> 83
 atagaatcta gacgcgcaat tctgatccgc gt 32
 <210> 84
 <211> 32
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de Secuencia Artificial: 1733 Rev ns SacI primer
 <400> 84
 45 agataagagc tcacgttggg tgcaaacag gc 32
 <210> 85
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: 2626 Para el cebador SacI

<400> 85
atagaagagc tcatgaccac ggcggtgat a 31

5 <210> 86
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: 2626 Rev HindIII ns primer

10 <400> 86
taaagaaagc ttgcattta gaataaattt tgtgtc 36

<210> 87
<211> 30
<212> ADN
15 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfD Para el cebador HindIII

<400> 87
taactaaagc tttgctggg cctgagcacc 30

20 <210> 88
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: RpfD Rev XhoI stop primer

25 <400> 88
atctaactga gctagtcac gcggctaccg ct 32

<210> 89
<211> 32
30 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: ESAT6 Para el cebador NdeI

35 <400> 89
taagatcatat gacagcag cagtgaatt tc 32

<210> 90
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Cebador ESAT-6 Rev EcoRI ns

<400> 90
atactagaat tctgcgaaca tccagtgac gt 32

45 <210> 91
<211> 1263
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Ag85B-ESAT6 con la secuencia señal de Ag85B

50 <400> 91

ES 2 925 950 T3

```

atgacagacg tgagccgaaa gattcgagct tggggacgcc gattgatgat cggcacggca 60
gcggtctgtag tccttccggg cctggtgggg cttgccggcg gagcggcaac cgcgggcgcg 120
ttctcccggc cggggctgcc ggtcgagtac ctgcaggtgc cgtcgccgtc gatgggccgc 180
gacatcaagg ttcagttcca gagcgtggg aacaactcac ctgcggttta tctgctcgac 240
ggcctgcgcg cccaagacga ctacaacggc tgggatatca acaccccggc gttcgagtgg 300
tactaccagt cgggactgtc gatagtcacg ccggtcggcg ggcagtcag cttctacagc 360
gactggtaca gcccggcctg cggtaaggct ggctgccaga cttacaagtg ggaaaccttc 420
ctgaccagcg agctgccga atggtgtcc gccaacaggg ccgtgaagcc caccggcagc 480
gctgcaatcg gcttgtcgat ggcggctcg tcggcaatga tcttggccgc ctaccacccc 540
cagcagttca tctacgccg ctgctgtcg gccctgtgg acccctctca ggggatgggg 600
cctagcctga tcggcctcg gatgggtgac gccggcggtt acaaggccgc agacatgtgg 660
ggtccctcga gtgaccggc atgggagcgc aacgacctc cgcagcagat cccaagctg 720
gtcgcaaaaca acacccggct atgggtttat tgcgggaacg gcaccccgaa cgagttgggc 780
ggtgccaaaca taccgcgca gttcttgag aacttcgttc gtagcagcaa cctgaagtcc 840
caggatgcgt acaacgccg ggcggggcac aacgccgtgt tcaacttccc gcccaacggc 900
    acgcacagct gggagtactg gggcgctcag ctcaacgcc tgaagggtga cctgcagagt 960
    tcgttaggcg ccggcatgac agagcagcag tggaatttcg cgggtatcga ggccgcggca 1020
    agcgcaatcc agggaaatgt caggtccatt cattccctcc ttgacgaggg gaagcagtcc 1080
    ctgaccaagc tcgcagcggc ctggggcggt agcggttcgg aggcgtacca ggggtgtccag 1140
    caaaaatggg acgccacggc taccgagctg aacaacgcgc tgcagaacct ggcgcggacg 1200
    atcagcgaag ccggtcaggc aatggcttcg accgaaggca acgtcactgg gatgttcgca 1260
    tga 1263

```

<210> 92

<211> 420

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Ag85B-ESAT6 (secuencia de señales Ag85B)

<400> 92

ES 2 925 950 T3

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

ES 2 925 950 T3

195	200	205
Gly Asp Ala Gly Gly Tyr Lys Ala Ala Asp Met Trp Gly Pro Ser Ser 210 215 220		
Asp Pro Ala Trp Glu Arg Asn Asp Pro Thr Gln Gln Ile Pro Lys Leu 225 230 235 240		
Val Ala Asn Asn Thr Arg Leu Trp Val Tyr Cys Gly Asn Gly Thr Pro 245 250 255		
Asn Glu Leu Gly Gly Ala Asn Ile Pro Ala Glu Phe Leu Glu Asn Phe 260 265 270		
Val Arg Ser Ser Asn Leu Lys Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Gly 275 280 285		
Gly His Asn Ala Val Phe Asn Phe Pro Pro Asn Gly Thr His Ser Trp 290 295 300		
Glu Tyr Trp Gly Ala Gln Leu Asn Ala Met Lys Gly Asp Leu Gln Ser 305 310 315 320		
Ser Leu Gly Ala Gly Met Thr Glu Gln Gln Trp Asn Phe Ala Gly Ile 325 330 335		
Glu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Gln Gly Asn Val Thr Ser Ile His Ser 340 345 350		
Leu Leu Asp Glu Gly Lys Gln Ser Leu Thr Lys Leu Ala Ala Ala Trp 355 360 365		
Gly Gly Ser Gly Ser Glu Ala Tyr Gln Gly Val Gln Gln Lys Trp Asp 370 375 380		
Ala Thr Ala Thr Glu Leu Asn Asn Ala Leu Gln Asn Leu Ala Arg Thr 385 390 395 400		
Ile Ser Glu Ala Gly Gln Ala Met Ala Ser Thr Glu Gly Asn Val Thr 405 410 415		
Gly Met Phe Ala 420		

<210> 93

<211> 1272

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Ag85B-ESAT6 con secuencia señal de lipoproteína de 19 kDa

<400> 93

```

atgaagcgtg gactgacggt cgcggtagcc ggagccgcca ttctggtcgc aggtctttcc 60
ggatgttcaa gcaacaagtc gactacagga agcggtgaga ccacgaccgc ggcaggtacc 120
acggcaagcc cgggccggcc ggggctgccg gtcaggtacc tgcaggtgcc gtcgccgtcg 180
atgggccgcg acatcaaggt tcagttccag agcggtgga acaactcacc tgcggtttat 240
ctgctcgacg gcctgcgcgc ccaagacgac tacaacggct gggatatcaa caccgccgcg 300

```


ES 2 925 950 T3

```

ttcgagtggg actaccagtc gggactgtcg atagtcatgc cggtcggcgg gcagtccagc 360
ttctacagcg actggtacag cccggcctgc ggtaaggctg gctgccagac ttacaagtgg 420
gaaaccttcc tgaccagcga gctgccgcaa tggttgtccg ccaacagggc cgtgaagccc 480
accggcagcg ctgcaatcgg cttgtcgatg gccggctcgt cggcaatgat cttggccgcc 540
taccaccccc agcagttcat ctacgccggc tcgctgtcgg ccctgctgga cccctctcag 600
gggatggggc ctagcctgat cggcctcgcg atgggtgacg ccggcggtta caaggccgca 660
gacatgtggg gtccctcgag tgaccgggca tgggagcgca acgaccctac gcagcagatc 720
cccaagctgg tcgcaaacia caccgggcta tgggtttatt gcgggaacgg caccccaac 780
gagttggggc gtgccaacat acccgccgag ttcttggaga acttcgttcg tagcagcaac 840
ctgaagttcc aggatgcgta caacgccgcg ggcgggcaca acgccgtgtt caacttcccg 900
cccaacggca cgcacagctg ggagtactgg ggcgctcagc tcaacgccat gaagggtgac 960
ctgcagagtt cgtaggcgc cggcatgaca gagcagcagt ggaatttcgc gggtatcgag 1020
gccgcggcaa gcgcaatcca gggaaatgac acgtccattc attccctcct tgacgagggg 1080
aagcagtcgc tgaccaagct cgcagcggcc tggggcggta gcggttcgga ggcgtaccag 1140
ggtgtccagc aaaaatggga cgccacggct accgagctga acaacgcgct gcagaacctg 1200
gcgcggacga tcagcgaagc cggtcaggca atggcttcga ccgaaggcaa cgtcactggg 1260
atgttcgcat ga 1272

```

<210> 94

<211> 423

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Ag85B-ESAT6 (secuencia señal de la lipoproteína de 19 kDa)

<400> 94

```

Met Lys Arg Gly Leu Thr Val Ala Val Ala Gly Ala Ala Ile Leu Val
1           5           10           15

Ala Gly Leu Ser Gly Cys Ser Ser Asn Lys Ser Thr Thr Gly Ser Gly
20           25           30

Glu Thr Thr Thr Ala Ala Gly Thr Thr Ala Ser Pro Gly Arg Pro Gly
35           40           45

Leu Pro Val Glu Tyr Leu Gln Val Pro Ser Pro Ser Met Gly Arg Asp
50           55           60

Ile Lys Val Gln Phe Gln Ser Gly Gly Asn Asn Ser Pro Ala Val Tyr
65           70           75           80

Leu Leu Asp Gly Leu Arg Ala Gln Asp Asp Tyr Asn Gly Trp Asp Ile
85           90           95

```

```

Asn Thr Pro Ala Phe Glu Trp Tyr Tyr Gln Ser Gly Leu Ser Ile Val
      100                      105                      110

Met Pro Val Gly Gly Gln Ser Ser Phe Tyr Ser Asp Trp Tyr Ser Pro
      115                      120                      125

Ala Cys Gly Lys Ala Gly Cys Gln Thr Tyr Lys Trp Glu Thr Phe Leu
      130                      135                      140

Thr Ser Glu Leu Pro Gln Trp Leu Ser Ala Asn Arg Ala Val Lys Pro
      145                      150                      155                      160

Thr Gly Ser Ala Ala Ile Gly Leu Ser Met Ala Gly Ser Ser Ala Met
      165                      170                      175

Ile Leu Ala Ala Tyr His Pro Gln Gln Phe Ile Tyr Ala Gly Ser Leu
      180                      185                      190

Ser Ala Leu Leu Asp Pro Ser Gln Gly Met Gly Pro Ser Leu Ile Gly
      195                      200                      205

Leu Ala Met Gly Asp Ala Gly Gly Tyr Lys Ala Ala Asp Met Trp Gly
      210                      215                      220

Pro Ser Ser Asp Pro Ala Trp Glu Arg Asn Asp Pro Thr Gln Gln Ile
      225                      230                      235                      240

Pro Lys Leu Val Ala Asn Asn Thr Arg Leu Trp Val Tyr Cys Gly Asn
      245                      250                      255

Gly Thr Pro Asn Glu Leu Gly Gly Ala Asn Ile Pro Ala Glu Phe Leu
      260                      265                      270

Glu Asn Phe Val Arg Ser Ser Asn Leu Lys Phe Gln Asp Ala Tyr Asn
      275                      280                      285

Ala Ala Gly Gly His Asn Ala Val Phe Asn Phe Pro Pro Asn Gly Thr
      290                      295                      300

His Ser Trp Glu Tyr Trp Gly Ala Gln Leu Asn Ala Met Lys Gly Asp
      305                      310                      315                      320

Leu Gln Ser Ser Leu Gly Ala Gly Met Thr Glu Gln Gln Trp Asn Phe
      325                      330                      335

Ala Gly Ile Glu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Gln Gly Asn Val Thr Ser
      340                      345                      350

Ile His Ser Leu Leu Asp Glu Gly Lys Gln Ser Leu Thr Lys Leu Ala
      355                      360                      365

Ala Ala Trp Gly Gly Ser Gly Ser Glu Ala Tyr Gln Gly Val Gln Gln
      370                      375                      380

Lys Trp Asp Ala Thr Ala Thr Glu Leu Asn Asn Ala Leu Gln Asn Leu
      385                      390                      395                      400

Ala Arg Thr Ile Ser Glu Ala Gly Gln Ala Met Ala Ser Thr Glu Gly
      405                      410                      415

Asn Val Thr Gly Met Phe Ala
      420

```

<210> 95

<211> 1020

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Rv2626c-RpfD con la secuencia señal Ag85B

<400> 95

ES 2 925 950 T3

```

atgacagacg tgagccgaaa gattcgagct tggggacgcc gattgatgat cggcacggca 60
gcggtctgtag tccttcggg cctggtggg cttgccggcg gagcggcaac cgcgggcgcg 120
ttctccatga ccaccgcacg cgacatcatg aacgcagggtg tgacctgtgt tggcgaacac 180
gagacgctaa ccgctgccgc tcaatacatg cgtgagcacg acatcggcgc gttgccgatc 240
tgccggggacg acgaccggct gcacggcatg ctcaccgacc gcgacattgt gatcaaaggc 300
ctggctgcgg gcctagacct gaataccgcc acggctggcg agttggcccg ggacagcatc 360
tactacgtcg atgcgaacgc aagcatccag gagatgctca acgtcatgga agaacatcag 420
gtccgccgtg ttccggtcat ctcagagcac cgcttggtcg gaatcgtcac cgaagccgac 480
atcgcccgac acctgcccga gcacgccatt gtgcagttcg tcaaggcaat ctgctcgccc 540
atggccctcg ccagcatgac accgggtttg cttactactg cgggtgctgg ccgaccacgt 600
gacaggtgcg ccaggtatgt atgcacgtg ttcacgaaa ccgccgttgt cgcgaccatg 660
tttgtcgcgt tgttgggtct gtccaccatc agctcgaaag ccgacgacat cgattgggac 720
gccatcgcgc aatgcgaatc cggcggcaat tgggcggcca acaccggtaa cgggttatac 780
ggtggtctgc agatcagcca ggcgacgtgg gattccaacg gtggtgtcgg gtcgccggcg 840
gccgcgagtc cccagcaaca gatcgaggtc gcagacaaca ttatgaaaac ccaaggcccg 900
ggtgcgtggc cgaatgtag ttctttagt caggagacg caccgctggg ctgctcacc 960
cacatcctga cgttcctcgc ggccgagact ggaggttgtt cggggagcag ggacgattag 1020

```

<210> 96

<211> 339

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv2626c-RpfD (secuencia de señales Ag85B)

<400> 96

```

Met Thr Asp Val Ser Arg Lys Ile Arg Ala Trp Gly Arg Arg Leu Met
1           5           10           15

Ile Gly Thr Ala Ala Ala Val Val Leu Pro Gly Leu Val Gly Leu Ala
          20           25           30

Gly Gly Ala Ala Thr Ala Gly Ala Phe Ser Met Thr Thr Ala Arg Asp

```

ES 2 925 950 T3

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

Arg Asp Asp

<210> 97

<211> 1029

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Proteína de fusión Rv2626c-RpfD con secuencia señal de lipoproteína de 19 kDa

<400> 97

ES 2 925 950 T3

```

atgaagcgtg gactgacggt cgcggttagcc ggagccgcca ttctggtcgc aggtctttcc 60
ggatgttcaa gcaacaagtc gactacagga agcggtgaga ccacgaccgc ggcaggtacc 120
acggcaagcc ccggcatgac caccgcacgc gacatcatga acgcaggtgt gacctgtgtt 180
ggcgaacacg agacgctaac cgctgccgct caatacatgc gtgagcacga catcggcgcg 240
ttgccgatct gcggggacga cgaccggctg caccgcatgc tcaccgaccg cgacattgtg 300
atcaaaggcc tggctgcggg cctagaccgc aataccgcca cggtggcgga gttggcccg 360
gacagcatct actacgtcga tgcgaacgca agcatccagg agatgctcaa cgatcatgaa 420
gaacatcagg tccgccgtgt tccggtcacg tcagagcacc gcttggtcgg aatcgtcacc 480
gaagccgaca tcgcccga cctgcccga cagccattg tgcagttcgt caaggcaatc 540
tgctcgccca tggccctcgc cagcatgaca ccgggtttgc ttactactgc ggggtgtggc 600
cgaccacgtg acaggtgcgc caggatcgta tgcacggtgt tcatcgaaac cgccgttgtc 660
gcgaccatgt ttgtcgcgtt gttgggtctg tccaccatca gctcgaaagc cgacgacatc 720
gattgggacg ccacgcgcga atgcgaatcc ggcggcaatt gggcgcccaa caccggtaac 780
gggttatcac gtgtctgca gatcagccag gcgacgtggg attccaacgg tgggtgtcgg 840
tcgccggcgg ccgcgagtc ccagcaacag atcgaggtcg cagacaacat tatgaaaacc 900
caaggcccggt gtgcgtggcc gaaatgtagt tctttagtc agggagacgc accgctgggc 960
tcgctcacc acatcctgac gttcctcgc gccgagactg gaggttggtc ggggagcagg 1020
gacgattag 1029

```

<210> 98

<211> 342

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Rv2626c-RpfD (secuencia señal de la lipoproteína de 19 kDa)

<400> 98

```

Met Lys Arg Gly Leu Thr Val Ala Val Ala Gly Ala Ala Ile Leu Val
1           5           10           15
Ala Gly Leu Ser Gly Cys Ser Ser Asn Lys Ser Thr Thr Gly Ser Gly
20           25           30
Glu Thr Thr Thr Ala Ala Gly Thr Thr Ala Ser Pro Gly Met Thr Thr
35           40           45
Ala Arg Asp Ile Met Asn Ala Gly Val Thr Cys Val Gly Glu His Glu

```

ES 2 925 950 T3

50	55	60
Thr Leu Thr Ala Ala Ala Gln Tyr Met Arg Glu His Asp Ile Gly Ala 65 70 75 80		
Leu Pro Ile Cys Gly Asp Asp Asp Arg Leu His Gly Met Leu Thr Asp 85 90 95		
Arg Asp Ile Val Ile Lys Gly Leu Ala Ala Gly Leu Asp Pro Asn Thr 100 105 110		
Ala Thr Ala Gly Glu Leu Ala Arg Asp Ser Ile Tyr Tyr Val Asp Ala 115 120 125		
Asn Ala Ser Ile Gln Glu Met Leu Asn Val Met Glu Glu His Gln Val 130 135 140		
Arg Arg Val Pro Val Ile Ser Glu His Arg Leu Val Gly Ile Val Thr 145 150 155 160		
Glu Ala Asp Ile Ala Arg His Leu Pro Glu His Ala Ile Val Gln Phe 165 170 175		
Val Lys Ala Ile Cys Ser Pro Met Ala Leu Ala Ser Met Thr Pro Gly 180 185 190		
Leu Leu Thr Thr Ala Gly Ala Gly Arg Pro Arg Asp Arg Cys Ala Arg 195 200 205		
Ile Val Cys Thr Val Phe Ile Glu Thr Ala Val Val Ala Thr Met Phe 210 215 220		
Val Ala Leu Leu Gly Leu Ser Thr Ile Ser Ser Lys Ala Asp Asp Ile 225 230 235 240		
Asp Trp Asp Ala Ile Ala Gln Cys Glu Ser Gly Gly Asn Trp Ala Ala 245 250 255		
Asn Thr Gly Asn Gly Leu Tyr Gly Gly Leu Gln Ile Ser Gln Ala Thr 260 265 270		
Trp Asp Ser Asn Gly Gly Val Gly Ser Pro Ala Ala Ala Ser Pro Gln 275 280 285		
Gln Gln Ile Glu Val Ala Asp Asn Ile Met Lys Thr Gln Gly Pro Gly 290 295 300		
Ala Trp Pro Lys Cys Ser Ser Cys Ser Gln Gly Asp Ala Pro Leu Gly 305 310 315 320		
Ser Leu Thr His Ile Leu Thr Phe Leu Ala Ala Glu Thr Gly Gly Cys 325 330 335		
Ser Gly Ser Arg Asp Asp 340		

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de:
5 ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD; o
 Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.
2. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la proteína de fusión comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.
3. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la proteína de fusión es:
10 ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD; o
 Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.
4. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la proteína de fusión es Ag85B-ESAT6-Rv1733c-Rv2626c-RpfD.
5. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 15 6. Un vector que codifica la proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1.
7. El vector de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el vector es el adenovirus 4, el adenovirus 5, el adenovirus de chimpancé 3, el adenovirus de chimpancé 63, el adenovirus de chimpancé 68, la vaccinia Ankara modificada (MVA), el virus de la parainfluenza modificado (PIV2) o el virus de la parainfluenza humana recombinante (rHPIV2).
8. Una célula que comprende un vector como el que se reivindica en la reivindicación 6.
- 20 9. Una composición que comprende al menos los cuatro antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) ESAT6, Rv1733c, Rv2626c y RpfD, en la que los al menos cuatro antígenos de Mtb están codificados por una única molécula de ácido nucleico dentro del mismo vector como proteína de fusión.
10. La composición de acuerdo con la reivindicación 9, en la que se suprime la primera y/o segunda región transmembrana de Rv1733c.
- 25 11. La composición de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende además el antígeno Ag85B Mtb.
12. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.
13. Una proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 para su uso en la provocación de una respuesta inmunitaria contra *Mycobacterium tuberculosis* en un mamífero.
30 *tuberculosis* en un mamífero.
14. Una proteína de fusión para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección *por Mycobacterium tuberculosis*, en la que la proteína de fusión es una proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

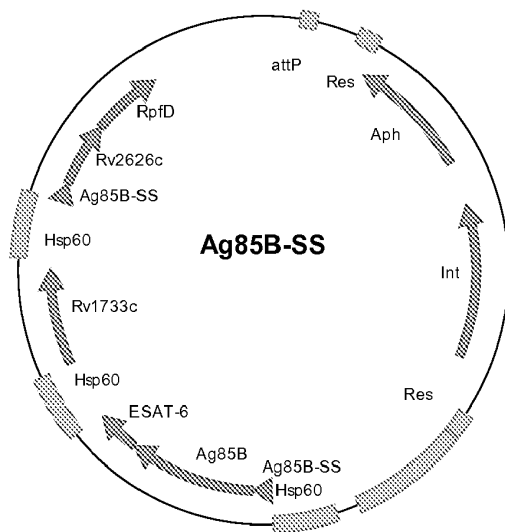


FIG. 1A

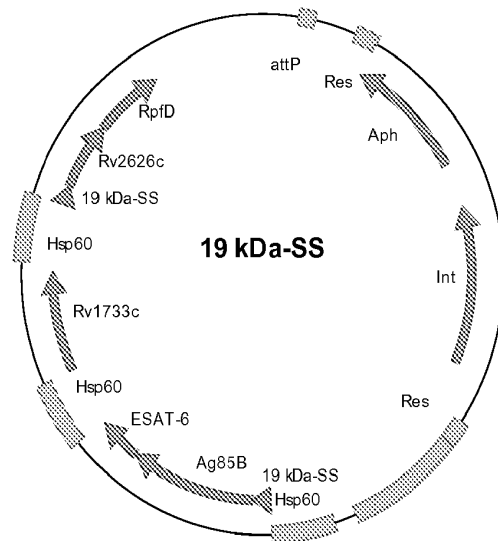


FIG. 1B

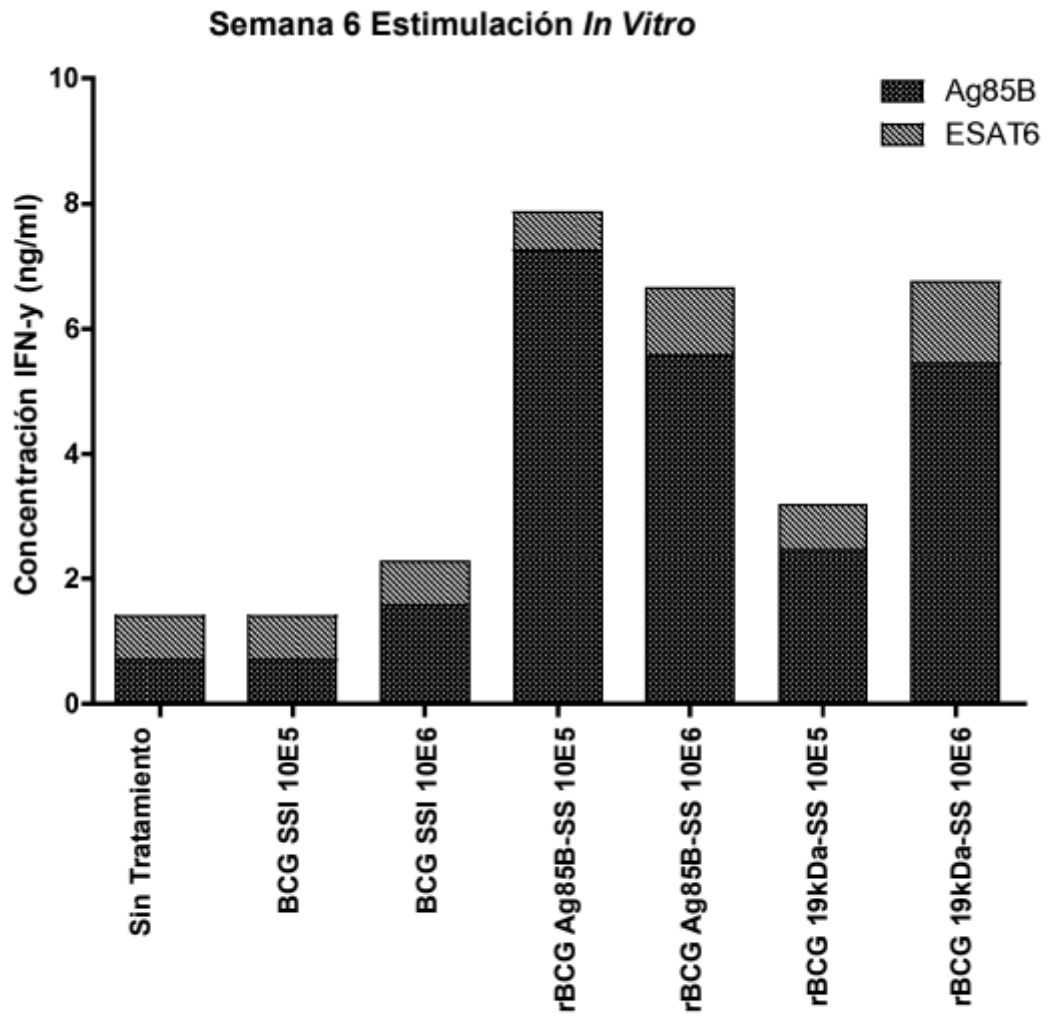


FIG. 2

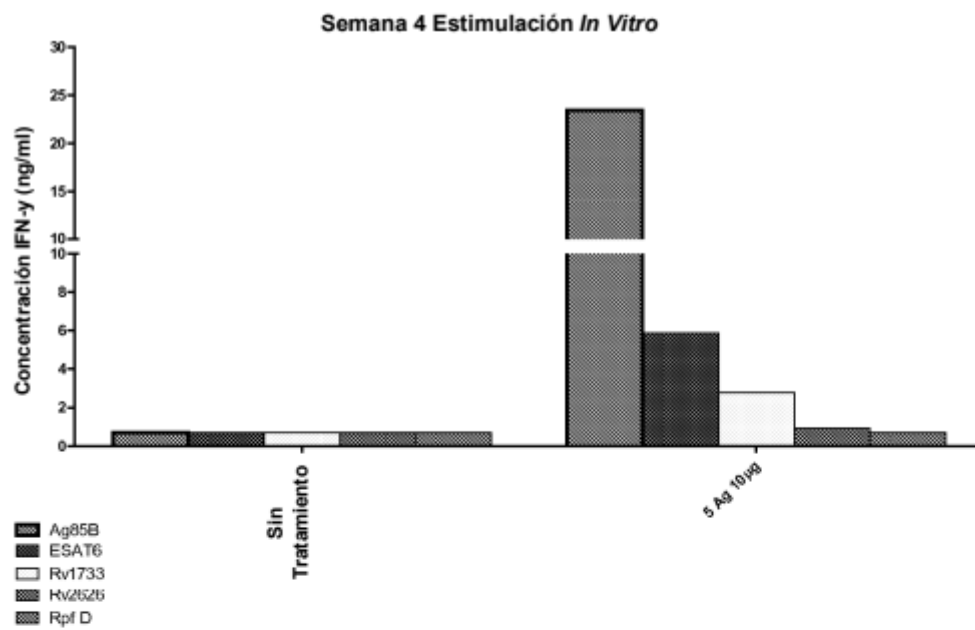


FIG. 3A

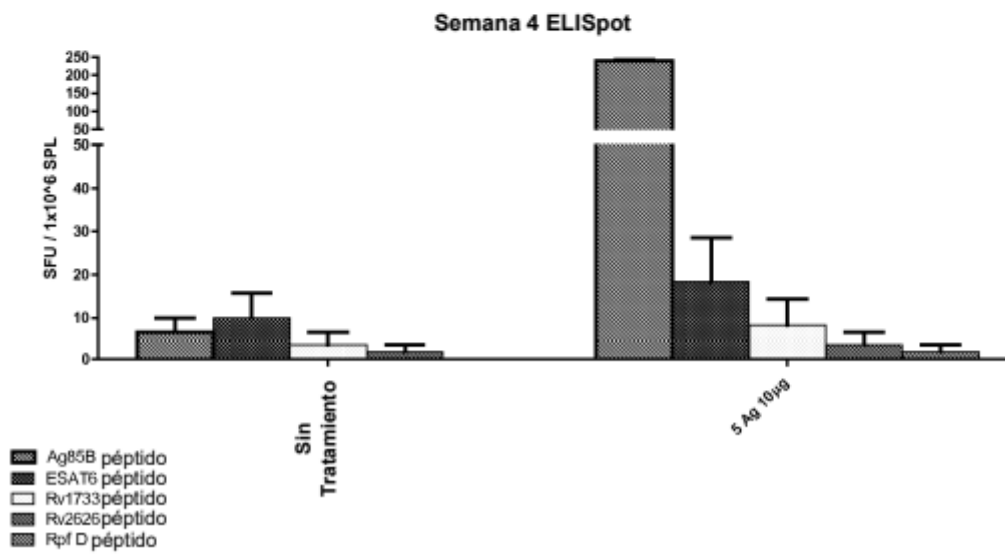
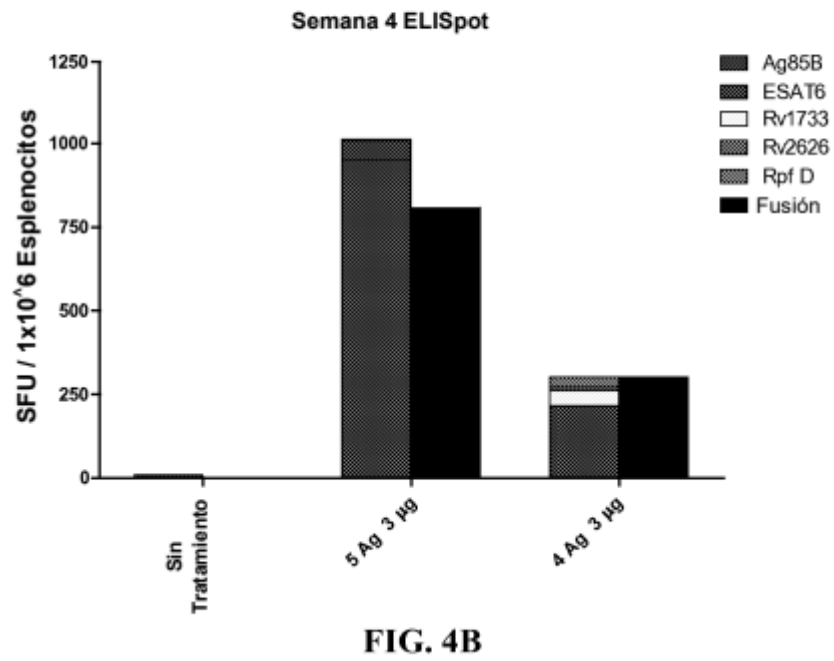
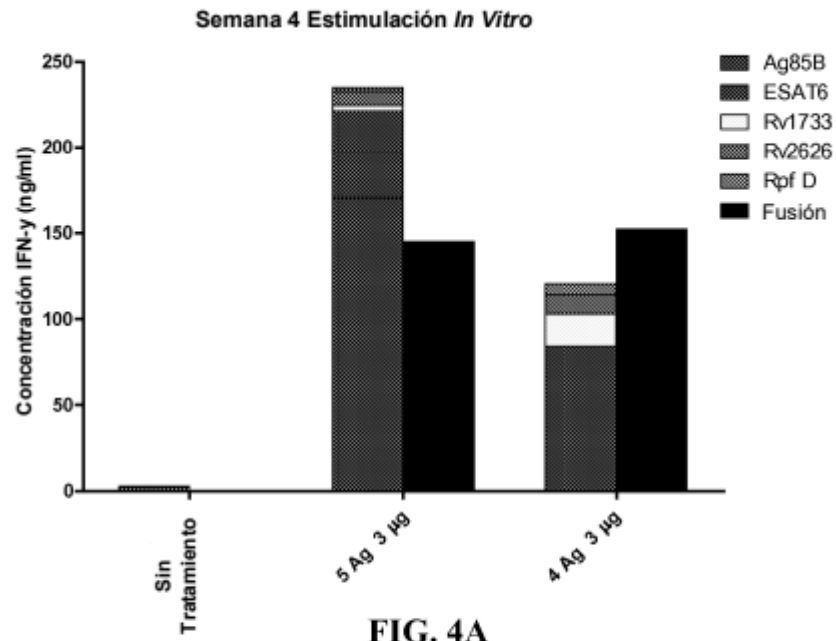


FIG. 3B



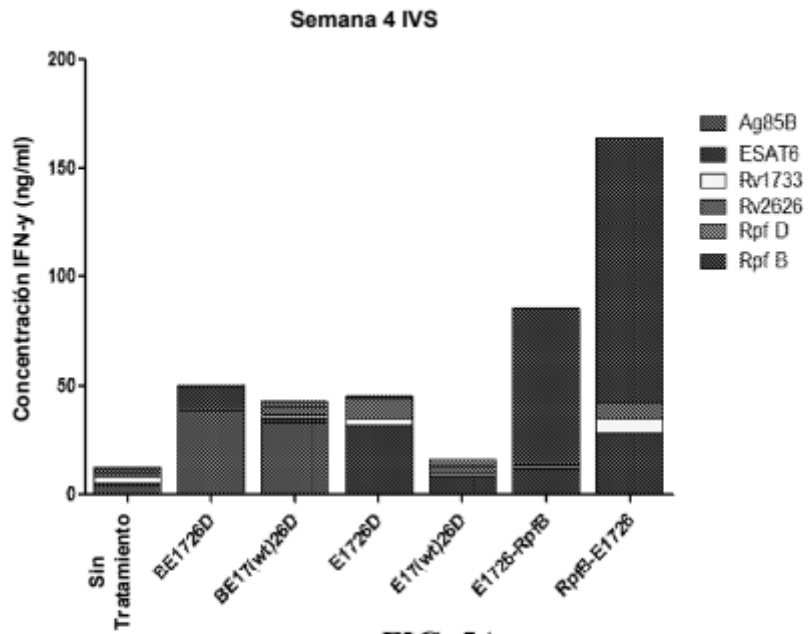


FIG. 5A

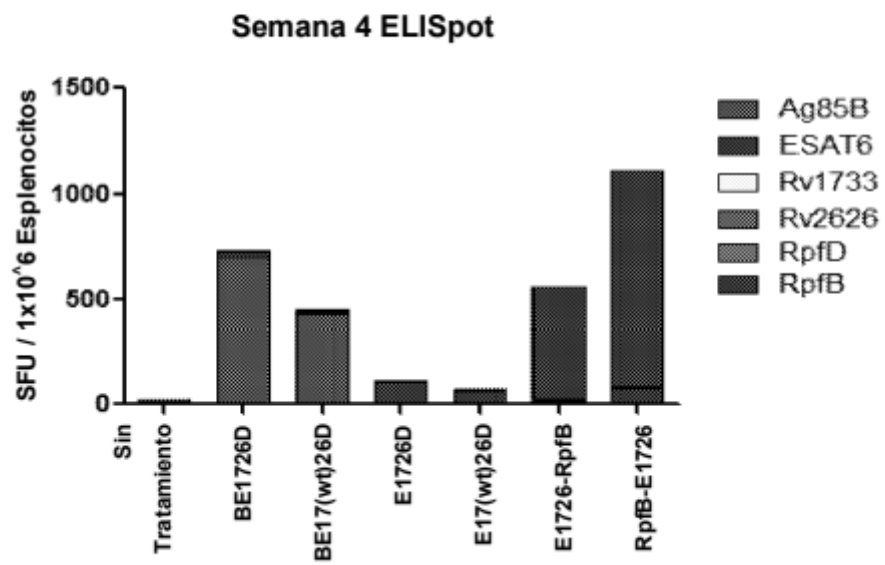


FIG. 5B

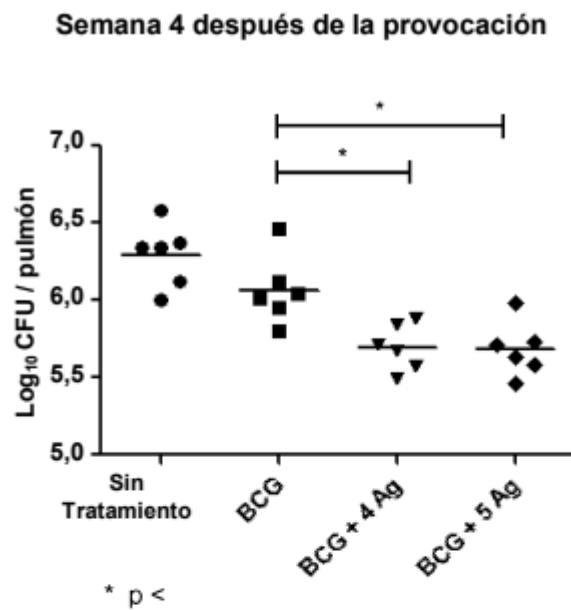


FIG. 6A

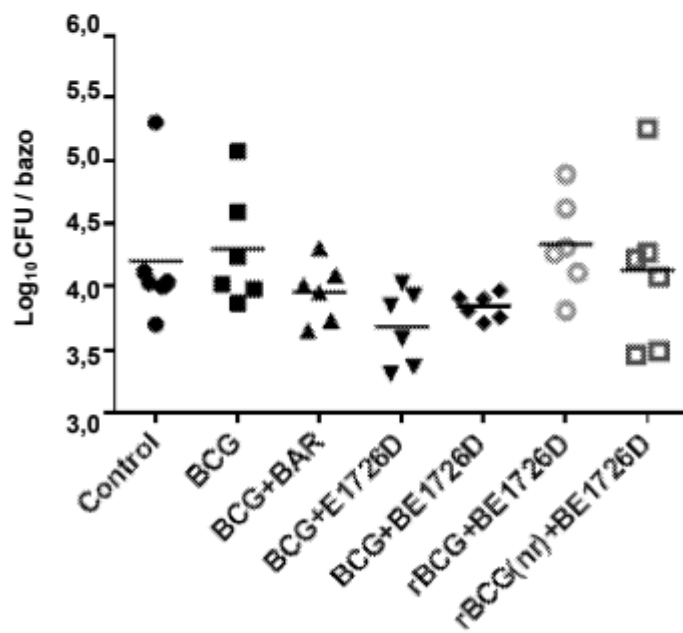


FIG. 6B