

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 015 251**

51 Int. Cl.:

C07K 14/025 (2006.01)
C12N 15/37 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2020** **PCT/CN2020/102601**
87 Fecha y número de publicación internacional: **28.01.2021** **WO21013071**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2020** **E 20843624 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2025** **EP 4001298**

54 Título: **Composición inmunogénica polivalente para el virus del papiloma humano**

30 Prioridad:

19.07.2019 CN 201910657255

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.04.2025

73 Titular/es:

SINOCELLTECH LTD (100.00%)
No.31 Kechuang 7th Street
Economic and Technological Development Zone
Beijing 100176, CN

72 Inventor/es:

XIE, LIANGZHI;
LUO, CHUNXIA;
ZHANG, WEI;
SUO, XIAOYAN;
PANG, LIN y
HU, PING

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

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

ES 3 015 251 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

Composición inmunogénica polivalente para el virus del papiloma humano

Campo técnico

La presente invención se refiere a la composición inmunogénica multivalente para prevenir enfermedades o infecciones relacionadas con el virus del papiloma humano (HPV) y usos de las mismas.

Antecedentes

El virus del papiloma (PV) pertenece a la familia *Papillomaviridae* y ocasiona papilomas en humanos, ganado, perros y conejos. Uno de sus miembros, el virus del papiloma humano (HPV), es un virus de ADN no envuelto. El genoma de este virus es un ADN circular cerrado de doble cadena, con un tamaño de alrededor de 7.2-8 kb, con 8 marcos de lectura abiertos, los cuales se pueden dividir en tres regiones de acuerdo con sus funciones: (1) región temprana (E), alrededor de 4.5 kb, que codifican para E1, E2, E4-E7, un total de 6 proteínas no estructurales relacionadas con la replicación viral, la transcripción y la transformación, (2) región tardía (L), alrededor de 2.5 kb, que codifica para la proteína de la cápside mayor L1 y la proteína de la cápside menor L2; (3) región larga reguladora (LCR), la cual se localiza entre el extremo de la región L y el inicio de la región E, es de alrededor de 800-900 pb y no codifica para ninguna proteína, funcionando como elementos de la expresión y replicación del ADN.

Las proteínas L1 y las proteínas L2 se sintetizan tarde en el ciclo de infección del HPV. La proteína L1 es la proteína mayor de la cápside y tiene un peso molecular de 55-60 kDa. La proteína L2 es la proteína menor de la cápside. 72 pentámeros de la proteína L1 forman la capa externa de la partícula icosaédrica del HPV (45-55 nm de diámetro), la cual encierra el ADN de cadena doble circular cerrado. La proteína L2 se encuentra en el lado interno de la proteína L1 (Structure of Small Virus-like Particles Assembled from the L1 Protein of Human Papillomavirus 16 Chen, X.S., R. L. Garcea, Mol. Cell. 5(3):557-567, 2000).

El ORF de la proteína L1, el gen más conservado en el genoma del PV se puede utilizar para identificar nuevos tipos del PV. Se identifica un nuevo tipo del PV si su genoma completo está clonado y su secuencia de ADN para el ORF de L1 difiere del tipo del PV más cercano conocido en más del 10%. Las homologías con diferencias de entre 2% y 10% se definen como diferentes subtipos, y diferencias menores a 2% se definen como variantes diferentes del mismo subtipo (E.-M. de Villiers et al. / Virology 324 (2004) 17-27).

En las etapas tardías de la infección por el HPV, las proteínas L1 recién sintetizadas en el citoplasma se transportan al núcleo de la queratina diferenciada terminalmente donde, junto con las proteínas L2, empaquetan el ADN genómico replicado del HPV para formar virus infecciosos (Nelson, L.M, et al. 2002. Nuclear import strategies of high risk HPV16 L1 major capsid protein. J. Biol. Chem. 277: 23958-23964). Esto sugiere que la importación nuclear de la proteína L1 desempeña un papel muy importante en la infección y producción del HPV. La capacidad del virus para entrar al núcleo está determinada por la señal de localización nuclear (NLS) en el C-terminal de la proteína L1 del HPV, la NLS se caracteriza por su abundancia de aminoácidos básicos (Garcia-Bustos, J., et al. 1991. Nuclear protein localization. Biochimica et Biophysica Acta 1071: 83-101).

15 tipos del HPV de alto riesgo (HR) pueden provocar cánceres de cuello uterino, ano, pene, vagina, vulva y orofaringe, entre los cuales el HPV-16 y el HPV-18 son, con diferencia, las causas más comunes de cáncer, representando aproximadamente 70% de los cánceres de cuello uterino, y los otros tipos del HPV-HR (tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82) causan el resto. El HPV-16 representa aproximadamente 95% de los cánceres de orofaringe (OPCs) positivos para el HPV. Los genotipos persistentes de bajo riesgo HPV-6 y HPV-11 causan la mayoría de las verrugas anogenitales y los papilomas respiratorios, pero rara vez se asocian con cánceres (Human Papillomavirus in Cervical Cancer and Oropharyngeal Cancer: One Cause, Two Diseases Tara A. Berman and John T. Schiller, PhD2 Cancer 2017;123:2219-29).

La proteína L1 se puede expresar de forma recombinante por sistemas de poxvirus, baculovirus o levadura y posteriormente autoensamblarse para formar partículas similares a los virus (VLP) que contienen aproximadamente 72 proteínas L1, similares a la cápside del virus. Las VLP no tienen ninguna indicación. Las VLP inducen anticuerpos neutralizantes en animales inoculados y protegen a los animales experimentales del ataque posterior por virus infecciosos. Por lo tanto, las VLP parecen ser un candidato excelente para las vacunas contra el virus del papiloma (Structure of Small Virus-like Particles Assembled from the L 1 Protein of Human Papillomavirus 16 Chen, X.S. , R. L. Garcea, Mol. Cell. 5(3):557-567, 2000).

CERVARIX® de Glaxo, una vacuna recombinante bivalente contra el HPV contiene proteína L1 recombinante del HPV del tipo 16 y proteína L1 recombinante del HPV del tipo 18. La proteína L1 se obtiene mediante la expresión de un sistema de vector de expresión de baculovirus recombinante en células de insectos de la polilla nocturna (*Trichoplusia ni*). La proteína L1 se autoensambla en partículas similares a los virus para la prevención del cáncer de cuello uterino, neoplasia intraepitelial cervical de grado 2 o 3 y adenocarcinoma in situ causado por los tipos 16 y 18 del HPV, y neoplasia intraepitelial cervical de grado 1 (oncogénica) en mujeres de 9-25 años (<https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM186981.pdf>).

GARDASIL® es una vacuna recombinante cuadrivalente contra el virus del papiloma humano (tipos 6, 11, 16 y 18) de Merck para la prevención del cáncer de cuello uterino, verrugas genitales (condiloma acuminado) y lesiones precancerosas o anormales proliferativas causadas por los tipos 6, 11, 16 y 18 del HPV en niñas y mujeres de 9-26 años de edad; y para la prevención del cáncer anal, verrugas genitales (condiloma acuminado) y lesiones precancerosas o anormales en el desarrollo causadas por los tipos 6, 11, 16 y 18 del HPV en niños y hombres de 9-26 años de edad (<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/gardasil>).

GARDASIL®9 es una vacuna contra el virus del papiloma humano recombinante de nueve valencias de Merck que contiene partículas similares a los virus de las proteínas L1 de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del HPV; la proteína L1 se produce mediante fermentación de *Saccharomyces cerevisiae* y se autoensambla en VLP. Se utiliza en niñas y mujeres de 9-45 años para la prevención del cáncer de cuello uterino, cáncer de vulva, cáncer de vagina y cáncer anal causados por los tipos 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del HPV, verrugas genitales (condiloma acuminado) causadas por los tipos 6 y 11 del HPV, y anomalías precancerosas o proliferativas causadas por los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del HPV; y en niños y hombres de 9-45 años para la prevención del cáncer anal causado por los tipos 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del HPV, verrugas genitales (condiloma acuminado) causadas por los tipos 6 y 11 del HPV y lesiones precancerosas o anormales en el desarrollo causadas por los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del HPV (<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/gardasil-9>).

Las instrucciones para GARDASIL®9 anunciaron que los tipos 16 y 18 del HPV son la causa de alrededor del 70% de los cánceres de cuello uterino, y el 20% restante de los casos se atribuyen a los tipos 31, 33, 45, 52 y 58, por lo que GARDASIL®9 previene el 90% de los cánceres de cuello uterino (<https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm426445.htm>).

La producción industrial de partículas similares a los virus es fundamental para el desarrollo de la vacuna contra el HPV. Los sistemas comunes para producir partículas similares a los virus se clasifican principalmente en el sistema de expresión eucariota y el sistema de expresión procariota.

Los sistemas de expresión eucariote comúnmente utilizados incluyen sistemas de expresión de poxvirus, sistemas de expresión de baculovirus de insectos y sistemas de expresión de levadura. La proteína L1 del HPV expresada en sistemas de expresión eucariote se puede ensamblar espontáneamente en partículas similares a los virus ya que su conformación natural está menos alterada, pero su rendimiento es bajo. La proteína L1 del HPV expresada en sistemas de expresión procariote, principalmente sistemas de expresión de *E. coli*, tiene un alto rendimiento, pero principalmente en forma de cuerpos de inclusión, esta forma de proteína no se puede purificar fácilmente, por lo que el proceso de producción es complicado.

Por lo tanto, todavía existe la necesidad de obtener altos rendimientos de partículas similares a los virus del HPV, para así obtener vacunas multivalentes contra el HPV para la prevención de amplio espectro de enfermedades o infecciones relacionadas con el HPV, incluyendo las causadas por los tipos del HPV que actualmente no están cubiertos por las vacunas disponibles comercialmente. Luxembourg, A. *et al.* (2015) Human Vaccines & immunotherapies, vol.11, no. 6, 1313-1322 y WO 01/97840 divulgan composiciones inmunogénicas del HPV.

Sumario

La presente invención proporciona una composición inmunogénica del VPH para uso en la prevención de enfermedades o infecciones relacionadas con el VPH, que comprende la proteína quimérica L1 del VPH de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58 del VPH, la proteína L1 del VPH del tipo 33 y la proteína L1 de VPH del tipo 59, en la que dicha proteína quimérica L1 del VPH de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58 del VPH se muestra en SEQ ID No: 3, SEQ ID No: 16, SEQ ID No: 29, SEQ ID No: 42, SEQ ID No: 55, SEQ ID No: 71, SEQ ID No: 84, SEQ ID No: 97, SEQ ID No: 110, SEQ ID No: 123, SEQ ID No: 136 y SEQ ID No: 149, respectivamente, y la proteína L1 del VPH del tipo 33 y la proteína L1 del VPH del tipo 59 se muestran en SEQ ID No: 66 y SEQ ID No: 160, respectivamente.

Descripción breve de las figuras

Figura 1A: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 6: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1B: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 11: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1C: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 16: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1D: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 18: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1E: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 31: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1F: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 33. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

- 5 Figura 1G: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 35: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1H: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 39: 59C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

- 10 Figura 1I: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 45: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1J: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 51: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación del lisado.

Figura 1K: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 52: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado tras la centrifugación del lisado.

- 15 Figura 1L: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 56: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado tras la centrifugación del lisado.

Figura 1M: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 58: 33C. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado tras la centrifugación del lisado.

- 20 Figura 1N: Expresión de la proteína L1 de L1 del HPV 59. M: Marcador; L: lisado celular; E-S: sobrenadante recolectado tras la centrifugación del lisado.

Figura 2A: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 6: 33C.

Figura 2B: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 11: 33C.

Figura 2C: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 16: 33C.

Figura 2D: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 18: 33C.

- 25 Figura 2E: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 31: 33C.

Figura 2F: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 33.

Figura 2G: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 35: 33C.

Figura 2H: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 39: 59C.

Figura 2I: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 45: 33C.

- 30 Figura 2J: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 51: 33C.

Figura 2K: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 52: 33C.

Figura 2L: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 56: 33C.

Figura 2M: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 58: 33C.

Figura 2N: Microscopía electrónica de transmisión de partículas similares a los virus de L1 del HPV 59.

- 35 Figura 3: Títulos neutralizantes del pseudovirus en ratones inmunizados con composiciones de 14 tipos del HPV de partículas similares a los virus. Número de ratones, N=10. GMT: Título medio geométrico.

Figura 4: Expresión de L1 del HPV 16 truncada en el C-terminal (1-474). M: Marcador; L: lisados celulares; E-S: sobrenadante recolectado después de la centrifugación de los lisados.

Descripción detallada

- 40 La invención está definida por las reivindicaciones adjuntas

En un aspecto, la presente divulgación proporciona una composición inmunogénica multivalente para prevenir enfermedades o infecciones relacionadas con el virus del papiloma. En un aspecto de la divulgación, el virus

del papiloma puede ser el virus del papiloma humano. En otro aspecto de la divulgación, el virus del papiloma puede ser el virus del papiloma canino o el virus del papiloma del conejo.

5 En un aspecto de la divulgación, se proporciona una composición inmunogénica multivalente del VPH para uso en la prevención de enfermedades o infecciones relacionadas con el VPH, que comprende: partículas similares a los virus del VPH ensambladas a partir de proteínas L1 de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del VPH; y una o más partículas similares a los virus del VPH ensambladas a partir de proteínas L1 de otros tipos patogénicos del VPH.

10 En un aspecto de la divulgación, dicha proteína L1 de cada tipo del VPH puede ser una proteína L1 de origen natural, o una proteína L1 de origen no natural, o una proteína quimérica L1 del VPH. En una realización, dichas partículas similares a los virus del VPH se pueden ensamblar a partir de un único tipo de proteína L1 del VPH para formar partículas similares a los virus del VPH monovalentes, o se pueden ensamblar a partir de múltiples tipos de proteínas L1 del VPH para formar partículas similares a los virus del VPH multivalentes.

En un aspecto de la divulgación, dichos uno o más tipos patogénicos del HPV se seleccionan de los tipos 35, 39, 51, 56 y 59 del HPV.

15 En un aspecto de la divulgación, al menos una de dichas partículas similares a los virus del HPV es una partícula quimérica similar a los virus del HPV, dicha partícula quimérica similar a virus del HPV comprende una o más proteínas quiméricas L1 del HPV; dicha proteína quimérica L1 del HPV comprende, desde su orientación del N-terminal al C-terminal: a. un fragmento N-terminal derivado de la proteína L1 del primer tipo de virus del papiloma, en el que dicha proteína L1 del primer tipo del virus del papiloma se selecciona de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 o 58 del VPH, dicho fragmento N-terminal mantiene la inmunogenicidad de la proteína L1 del tipo del VPH correspondiente; y b. un fragmento C-terminal derivado de la proteína L1 del segundo tipo del virus del papiloma, dicha proteína L1 del segundo tipo de virus del papiloma tiene un mejor nivel de expresión y solubilidad en comparación con las proteínas L1 de otros tipos; en el que la proteína quimérica L1 de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 o 58 del HPV tiene la inmunogenicidad de la proteína L1 del tipo del HPV correspondiente.

En un aspecto de la divulgación, dicha partícula quimérica similar al virus del HPV se puede ensamblar a partir de un único tipo de proteínas quiméricas L1 del HPV para formar partículas similares a los virus del HPV monovalentes, o se puede ensamblar a partir de múltiples tipos de proteínas quiméricas L1 del HPV para formar partículas similares a los virus del HPV multivalentes.

30 En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento C-terminal y fragmento N-terminal se pueden combinar libremente según sea necesario. En una realización, la proteína quimérica L1 del HPV puede comprender uno o una pluralidad de fragmentos C-terminales. Dicha pluralidad de fragmentos C-terminales puede ser la misma o diferente.

35 En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal es un fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia natural de dicha proteína L1 del primer tipo del virus del papiloma en cualquier posición de aminoácido dentro de su región $\alpha 5$, y un fragmento que tiene al menos 98% de identidad con el mismo; dicho fragmento C-terminal es un fragmento obtenido truncando el N-terminal de la secuencia natural de la proteína L1 del segundo tipo del virus del papiloma en cualquier posición de aminoácido dentro de su región $\alpha 5$ y variantes funcionales resultantes de mutaciones, deleciones y/o adiciones adicionales al fragmento.

40 En otro aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal tiene al menos 98.5%, 99%, 99.5% o 100% de identidad con un fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia natural de dicha proteína L1 del primer tipo del virus del papiloma en cualquier posición de aminoácido dentro de su región $\alpha 5$.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento C-terminal comprende una o una pluralidad de secuencias de localización nuclear.

45 En un aspecto de la divulgación, dicha proteína L1 del segundo tipo del virus del papiloma se selecciona de proteínas L1 de los tipos 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 22, 26, 28, 31, 32, 33, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 60, 63, 66, 68, 73 u 82 del HPV.

Preferiblemente, dicha proteína L1 del segundo tipo de virus del papiloma se selecciona de proteínas L1 de los tipos 16, 28, 33, 59 o 68 del VPH.

50 Más preferiblemente, dicha proteína L1 del segundo tipo del virus del papiloma se selecciona de la proteína L1 del HPV del Tipo 33 o HPV del tipo 59.

55 En un aspecto de la divulgación, dicha proteína L1 del segundo tipo del virus del papiloma es una proteína L1 del VPH del tipo 33, dicho fragmento C-terminal es SEQ ID No: 2; o un fragmento que tiene una longitud de m1 aminoácidos, preferiblemente un fragmento que cubre los aminoácidos en la posición 1-m1 de SEQ ID No: 2; en el que m1 es un entero de 8-26; o dicho fragmento C-terminal es SEQ ID No: 135; o un fragmento que tiene

una longitud de m2 aminoácidos, preferiblemente un fragmento que cubre los aminoácidos en la posición 1-m2 de SEQ ID No: 135; en el que m2 es un entero de 13-31.

El fragmento C-terminal de la proteína L1 del VPH del tipo 33 tiene una secuencia de localización nuclear o el fragmento C-terminal de la proteína L1 del VPH del tipo 33 tiene dos secuencias de localización nuclear. Las secuencias de aminoácidos con el aminoácido No: 7-8 (KR) y las secuencias de aminoácidos con el aminoácido No: 20-23 (KRKK) de SEQ ID No: 2 son secuencias de localización nuclear de los fragmentos C-terminales de la proteína L1 del VPH del tipo 33.

En un aspecto de la divulgación, dicha proteína L1 del segundo tipo del virus del papiloma es la proteína L1 del VPH del tipo 59, dicho fragmento C-terminal es SEQ ID No: 13; o un fragmento que tiene una longitud de n aminoácidos, que cubre preferiblemente los aminoácidos en la posición 1-n de SEQ ID No: 13; en el que n es un entero de 16-38.

El fragmento C-terminal de la proteína L1 del VPH del tipo 59 tiene una secuencia de localización nuclear o el fragmento C-terminal de la proteína L1 del VPH del tipo 59 tiene dos secuencias de localización nuclear. La proteína quimérica L1 del HPV comprende uno o una pluralidad de fragmentos C-terminales de la proteína L1 del HPV del tipo 59. Dicha pluralidad de fragmentos C-terminales de la proteína L1 del HPV del tipo 59 pueden ser iguales o diferentes. La secuencia de aminoácidos (RKR) de la posición 14 a 16 de SEQ ID No: 13 y la secuencia de aminoácidos (KRVKRRK) de la posición 28 a 34 de SEQ ID No: 13 son las secuencias de localización nuclear del fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV del tipo 59.

En un aspecto de la divulgación, dicha proteína quimérica L1 del HPV comprende tanto un fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV del tipo 33 como un fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV del tipo 59

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 6 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia que se muestra en SEQ ID No: 1 en cualquier sitio de aminoácidos dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 11 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 14 en cualquier sitio de aminoácidos dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 16 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 27 en cualquier sitio de aminoácidos dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 18 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 40 en cualquier sitio de aminoácidos dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 31 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 53 en cualquier sitio de aminoácidos dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 35 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 69 en cualquier sitio de aminoácido dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 39 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 82 en cualquier sitio de aminoácido dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 45 tiene un 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 95 en cualquier sitio de aminoácidos dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 51 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 108 en cualquier sitio de aminoácidos dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 52 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 121 en cualquier sitio de aminoácido dentro de su región alfa 5.

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 56 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 134 en cualquier sitio de aminoácido dentro de su región alfa 5; y

En un aspecto de la divulgación, dicho fragmento N-terminal de dicha proteína L1 del HPV del tipo 58 tiene 98%, 98.5%, 99%, 99.5%, 99% o 100% de identidad con el fragmento obtenido truncando el C-terminal de la secuencia mostrada en SEQ ID No: 147 en cualquier sitio de aminoácido dentro de su región alfa 5.

5 El C-terminal de dicho fragmento N-terminal puede estar conectado al N-terminal de dicho fragmento C-terminal directamente o a través de un enlazador.

10 El enlazador no afecta la inmunogenicidad de dicho fragmento N-terminal y no afecta el nivel de expresión o la solubilidad de la proteína. En una realización, dicho fragmento N-terminal y dicho fragmento C-terminal están conectados a través de un enlazador que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos. En una realización, el enlazador es una secuencia artificial o, el enlazador es una secuencia que se produce de forma natural en la proteína L1 del HPV. El enlazador puede ser una secuencia parcial de la proteína L1 del HPV del tipo 33 o, el enlazador puede ser una secuencia parcial de la proteína L1 del HPV del tipo 59.

15 En un aspecto, dentro del intervalo de más o menos 4 posiciones de aminoácidos del punto de conexión cuando el C-terminal de dicho fragmento N-terminal está conectado al N-terminal de dicho fragmento C-terminal, se presenta la siguiente secuencia continua de aminoácidos: RKFL; preferiblemente, dentro del intervalo de más o menos 6 posiciones de aminoácidos del punto de conexión, se presenta la siguiente secuencia continua de aminoácidos: LGRKFL.

20 En el contexto de la invención, las proteínas quiméricas L1 del HPV de los tipos de los HPV quiméricos 6, 11, 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58 como se muestra en SEQ ID No: 3, SEQ ID No: 16, SEQ ID No: 29, SEQ ID No: 42, SEQ ID No: 55, SEQ ID No: 71, SEQ ID No: 84, SEQ ID No: 97, SEQ ID No: 110, SEQ ID No: 123, SEQ ID No: 136 y SEQ ID No: 149, respectivamente; y la proteína L1 del VPH del tipo 33 y la proteína L1 del VPH del tipo 59, como se muestra en SEQ ID No: 66 y SEQ ID No: 160, respectivamente, se utilizan para prevenir enfermedades o infecciones relacionadas con el VPH.

25 En un aspecto, al menos una de dichas partículas similares a los virus del HPV está compuesta de un único tipo de proteína quimérica L1 del HPV, preferiblemente está compuesta de dicho tipo único de proteína quimérica L1 del HPV que tiene la misma secuencia de aminoácidos.

En un aspecto, la partícula quimérica similar al virus del HPV es el icosaedro que comprende 72 pentámeros de dicha proteína quimérica L1 del HPV. En una realización, la partícula similar al virus del HPV ha formado correctamente enlaces disulfuro y, por lo tanto, tiene una buena conformación natural. En un aspecto, las partículas quiméricas similares al virus del HPV se autoensamblan en un sistema de expresión *in vivo*.

30 En una realización, dicha composición inmunogénica multivalente del HPV comprende adicionalmente un portador fisiológicamente aceptable y, opcionalmente, un adyuvante. En una realización, el adyuvante comprende uno o más de sal de aluminio, derivado de lípido A e ISCOM.

En una realización, dicho adyuvante es un adyuvante de fosfato de aluminio.

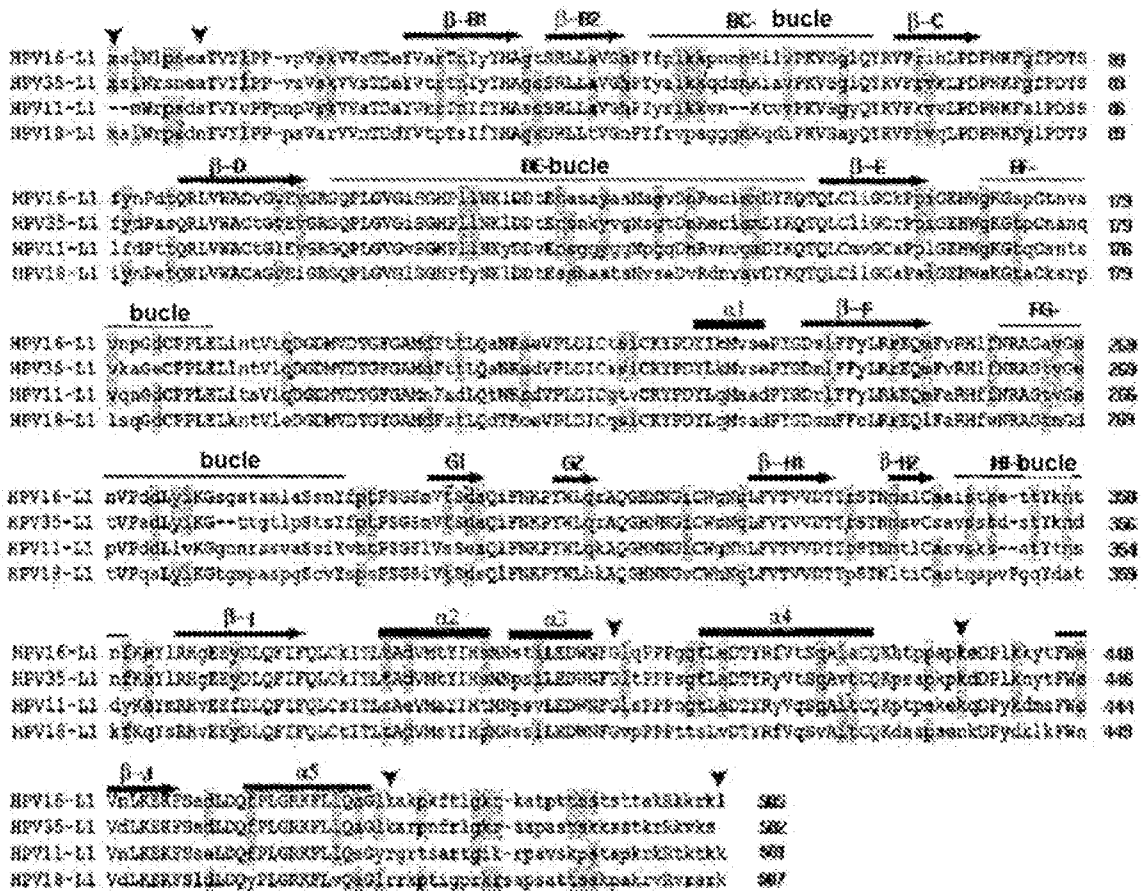
35 En una realización, la presente invención proporciona la composición inmunogénica multivalente del HPV como se define en las reivindicaciones para uso en la prevención de enfermedades o infecciones relacionadas con el HPV.

Las proteínas L1 del virus del papiloma expresadas por sistemas de expresión eucariontes pueden ensamblarse espontáneamente en partículas similares a los virus, pero el bajo nivel de expresión las hace no adecuadas para la producción en masa.

40 Las secuencias de las proteínas L1 de cada tipo del HPV se pueden obtener fácilmente de <https://www.uniprot.org>. Para un tipo del HPV dado, la proteína L1 se puede derivar de diferentes cepas, por lo que la secuencia de aminoácidos de la misma puede tener múltiples versiones, cualquier versión de la secuencia natural se puede utilizar en la presente invención. Es posible que la secuencia de la proteína L1 del HPV de un tipo determinado utilizada durante la concepción y el diseño de la presente invención pueda diferir de la secuencia utilizada en los siguientes ejemplos, pero dichas diferencias no afectan las decisiones y conclusiones de los inventores.

50 Los expertos en la técnica aceptan generalmente que el C-terminal de la proteína L1 no contiene un epítipo antigénico neutralizante principal y, por lo tanto, se han realizado intentos para aumentar la expresión truncando el C-terminal de la proteína L1 del HPV, por ejemplo, la patente de US US6361778B1 de Glaxo, en la cual el C-terminal de la proteína L1 del HPV6 está truncado en 1-34 aminoácidos, preferiblemente 26 aminoácidos, establece que el rendimiento de las VLP aumenta muchas veces, preferiblemente al menos 10 veces, y en particular por alrededor de 10 hasta 100 veces. Inspirados por esto, los inventores intentaron trincar el C-terminal de la proteína L1 del HPV 16 en 31 aminoácidos y denominaron a la proteína truncada como L1 del HPV 16 (1-474). La proteína tiene un alto nivel de expresión, pero una solubilidad pobre, y es difícil de extraer y purificar (véase el Ejemplo Comparativo).

- La baja solubilidad de la proteína debido a este truncamiento puede ser causada por la delección de la secuencia de localización nuclear ubicada en el C-terminal, pero la presente invención no está vinculada a esta especulación. Durante la investigación y la producción, el inventor descubrió que la proteína L1 del HPV del tipo 16, la proteína L1 del HPV del tipo 28, la proteína L1 del HPV del tipo 33, la proteína L1 del HPV del tipo 59 y la proteína L1 del HPV del tipo 68 tienen mejores niveles de expresión y solubilidad que otros tipos de proteínas L1 del HPV. Inspirados por el descubrimiento, los inventores reemplazaron el C-terminal de tipos específicos de proteínas L1 del HPV que son menos extraíbles o menos solubles con el C-terminal de la proteína L1 de tipos específicos del HPV que tienen mejores niveles de expresión y solubilidad. Es decir, los inventores han construido una proteína quimérica: que comprende, en la orientación del N-terminal al C-terminal, un fragmento N-terminal derivado de la proteína L1 del primer tipo del virus del papiloma (por ejemplo, la proteína L1 del HPV), la cual proporciona la inmunogenicidad del primer tipo de virus del papiloma (por ejemplo, HPV), y un fragmento C-terminal derivado de la proteína L1 del segundo tipo del virus del papiloma (por ejemplo, la proteína L1 del HPV), la cual proporciona las características de mejores niveles de expresión y solubilidad. Estos dos fragmentos se pueden conectar directamente o a través de un enlazador.
- Se determina la longitud del fragmento N-terminal de la proteína L1 del HPV adecuada para mantener la inmunogenicidad de la proteína L1 del primer tipo y asegurar la formación de la VLP. Los siguientes reportes se relacionan con estudios de epítopes de tipos comunes del HPV.
- Sunanda Baidya et al. reportaron que los epítopes de la proteína L1 48EEYDLQFIFQLCKITLTA65, 45RHGEEYDLQFIFQLCKITLTA65, 63LPDPNKF69, 79PETQRLVWAC88, 36PVPQGQYDA43, 77YNPETQRLVWAC88, 188DTGYGAMD195, 36PVPQGQYDATK45, 45KQDIPKVSAYQYRVFRV61, 130RDNVSVYDYKQTQLCI144 y 49YSRHVEEYDLQFIF62 se pueden utilizar como herramientas para diseñar vacunas contra el VPH 16 y 18 (véase Epitope design of L1 protein for vaccine production against Human Papilloma Virus types 16 and 18, Bioinformation 13(3): 86-93 March 2017).
- Katharina Slupetzky et al. reportaron que las regiones cercanas a los aa 282-286 y 351-355 del HPV-16 contribuyen a los epítopes de neutralización y que este último es el sitio inmunodominante (véase Chimeric papilloma virus-like particle expressing a foreign epitope on capsid surface loops, Journal of General Virology (2001), 82, 2799-2804).
- Brooke Bishop et al. prepararon las siguientes tres variantes de las proteínas L1 del HPV 11, 16, 18 y 35: delección de 9 aminoácidos en su N-terminal, delección de $\alpha 4$ (que corresponde a los residuos de aminoácidos 404-436 del HPV 16) y delección de 31 aminoácidos en su C-terminal respectivamente, y reportaron que las dos primeras no se podían ensamblar en VLP, pero este fenómeno no se ha reportado en la última (Crystal Structures of Four Types of Human Papillomavirus L1 Capsid Proteins UNDERSTANDING THE SPECIFICITY OF NEUTRALIZING MONOCLONAL ANTIBODIES, The Journal of Biological Chemistry, 282, 31803-31811). Cada una de las hélices α , las hojas β plegadas y la región de bucle de cada tipo de proteína L1 del HPV se pueden determinar convenientemente mediante un software de análisis de secuencias que se utiliza habitualmente en el campo. En el que las regiones de hélice α contienen la región $\alpha 1$, la región $\alpha 2$, la región $\alpha 3$, la región $\alpha 4$ y la región $\alpha 5$.



Los inventores realizaron alineamientos de secuencias de proteínas L1 de 14 tipos del HPV (tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59) y posteriormente realizaron una predicción de estructura secundaria de acuerdo con la literatura citada anteriormente (Crystal Structures of Four Types of Human Papillomavirus L1 Capsid Proteins UNDERSTANDING THE SPECIFICITY OF NEUTRALIZING MONOCLONAL ANTIBODIES, The Journal of Biological Chemistry, 282,31803-31811), cuyos resultados se muestran a continuación, donde la parte entre las flechas que apuntan hacia abajo corresponde a las regiones que se habían eliminado para preparar las variantes en esa literatura.

		S-61	S-62	SC	
HPV16-1-1	---NNKNSDSTVYVPPPMPSKVSATDAVYTRKPIFYAGSSSRLLAGCHPTYSIKKA-----				54
HPV11-1-1	---NNKNSDSTVYVPPPMPSKVSATDAVYTRKPIFYAGSSSRLLAGCHPTYSIKKP-----				54
HPV32-1-1	NSVWNSSEATVYLP-PVPSKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLITVGHPTYSIKRTSSGN				59
HPV59-1-1	NSVWNSSEATVYLP-PVPSKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLLAGCHPTYSIKSP---NN				57
HPV33-1-1	NSVWNSSEATVYLP-PVPSKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLLAGCHPTYSIKRP---TN				57
HPV31-1-1	NSLWNSSEATVYLP-PVPSKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLITVGHPTYSIKS---DN				57
HPV16-1-1	NSLWNSSEATVYLP-PVPSKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLLAGCHPTYSIKKP---NN				57
HPV33-1-1	NSLWNSSEATVYLP-PVPSKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLLAGCHPTYSIKKO---DS				57
HPV31-1-1	NSLWRTSDSKVYLP-PAPVSHITNTKCTITRTGITYAGSSRLITLGHPTVTPFR-----T				55
HPV58-1-1	NATWNSSEKVTLP-PVPSKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLLAGCHPTYSVTK-----D				55
HPV59-1-1	NALWNSDSEKVTLP-PDPAKVNTHDVTYRTGITYAGSSRLITVGHPTVTKV---GW---KG				56
HPV59-1-1	NALWNSDSEKVTLP-PDPAKSVYTDIETVRKSDIETTAGSSRLITVGHPTVTKV---FR---GG				56
HPV16-1-1	NALWNSDSEKVTLP-PDPAKVNTHDVTYRTGITYAGSSRLITVGHPTVTKV---PA---GG				56
HPV43-1-1	NALWNSDSEKVTLP-PDPAKVNTHDVTYRTGITYAGSSRLITVGHPTVTKVYPS---GA				57
	bucle	S-6	S-6		
HPV16-1-1	-AKTYVPEKVSAGQVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGLEVGAGDPLQNG				113
HPV11-1-1	-AKTYVPEKVSAGQVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGLEVGAGDPLQNG				113
HPV32-1-1	GKRVLYPKVSGQGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGLEVGAGDPLQNG				119
HPV58-1-1	GKRVLYPKVSGQGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGLEVGAGDPLQNG				117
HPV33-1-1	AKRLLYPKVSGQGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGLEVGAGDPLQNG				117
HPV31-1-1	PKKTYVPEKVSAGQVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGLEVGAGDPLQNG				117
HPV16-1-1	-NKLLYPKVSGQGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				116
HPV33-1-1	-AKLAVPEKVSAGQVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				116
HPV51-1-1	STRALPEKVSAGQGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				115
HPV40-1-1	NKTNLYPKVSATGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLGAG				119
HPV38-1-1	GKRGDLPKVSATGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				116
HPV50-1-1	NGRGDLPKVSATGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				116
HPV18-1-1	GKRGDLPKVSATGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				116
HPV46-1-1	GKRGDLPKVSATGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				117
	DE-bucle	S-4	EF		
HPV16-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				170
HPV11-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				170
HPV32-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				177
HPV58-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				177
HPV33-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				177
HPV31-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				177
HPV16-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				176
HPV33-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				176
HPV31-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				176
HPV58-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				175
HPV33-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				175
HPV39-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				175
HPV16-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				176
HPV43-1-1	VSCHPFLAKTGVYVPRILPDPKRFPLPSSIPDPTTDELVWACTGVGVGAGDPLQNG				177
	bucle				
HPV16-1-1	NTVYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				232
HPV11-1-1	NTVYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				233
HPV32-1-1	NTVYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				239
HPV58-1-1	NSVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				236
HPV33-1-1	NAAVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				236
HPV31-1-1	NSVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYP				237
HPV16-1-1	NSVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				236
HPV33-1-1	NSVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				236
HPV39-1-1	NTVYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				235
HPV58-1-1	STGVYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				235
HPV33-1-1	NSVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				235
HPV59-1-1	FTVYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				236
HPV18-1-1	NSVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				236
HPV40-1-1	NSVLYVQGDPPFLALITVYVQGDGNNVDTGFGANNFALGTNRSDVPLDICTCTYKYPYLQ				236

HPV16-L1	KVDEPTDGLFFFLRKKQRPYKHLFNRAGANGENVPDGLVIGDS---GRTANLASSKTFPT	294
HPV35-L1	KVSPFGKRLFFFLRPPANFVHHLFNRAGTGGGVPFARLYIKGT---I---GRLPTGYPTPT	292
HPV31-L1	KGADTYGKRPVFLAKNGDFPARHTYKGLNVDGGLFPHGTYIKGDD-NGRDFLESTYSAT	294
HPV58-L1	KGADATCGGNWPTLRPEGLFARHTYNRAGTGGTTPAFVLYIGDS---AGREPPPGGVVAT	290
HPV39-L1	KGADTYGKRPVFLAKNGDFPARHTYKGLNVDGGLFPAGLYIKGT---DIRAMPQGVVCPG	293
HPV59-L1	KGADATGDSWPTFLRKKQSPFARHTYKGLNVDGGLFESLYIKGT---GIRKMPSSVLESFS	294
HPV18-L1	KGADTYGKRPVFLRPPGKFAKHPWNRAGTGGTVPGLYIKGT---GRRASPQGVVCPG	294
HPV45-L1	KGADTYGKRPVFLAKNGDFPARHTYKGLNVDGGLFVPLLYIKGTANNGEIPGSCVFSFS	287

HPV6-L1	PSGDIYNSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---TSS	348
HPV11-L1	PSGDIYNSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---KSA	349
HPV32-L1	PSGQNVTSGLNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---KDS	357
HPV58-L1	PSGDIYNSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---KSG	352
HPV33-L1	PSGQNVTSGLNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---GDS	352
HPV31-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---SDY	354
HPV10-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---SST	353
HPV35-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---GDS	351
HPV51-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---VSP	353
HPV30-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---GLS	351
HPV59-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---ESSLP	353
HPV50-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---SST	354
HPV19-L1	PSGQNVTSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---GDS	354
HPV45-L1	PSGDIYNSRGLFNRKPYWLRAGQGNNGICWNGQLFYTVDTTRSTNLTLCASV---VPR	357

HPV6-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	408
HPV11-L1	LYNSGVNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	409
HPV32-L1	LYRNDNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	417
HPV58-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	412
HPV33-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	412
HPV31-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	414
HPV10-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	413
HPV35-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	411
HPV51-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	413
HPV30-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	411
HPV59-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	413
HPV50-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	414
HPV19-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	414
HPV45-L1	LYNDGNYNMRHETTLQGLFPLGLCSITLSAEVMAIIRHMPVSLDMMGLDPPNGLT	417

HPV6-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	468
HPV11-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	469
HPV32-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	477
HPV58-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	472
HPV33-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	472
HPV31-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	474
HPV10-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	473
HPV35-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	471
HPV51-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	473
HPV30-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	471
HPV59-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	473
HPV50-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	474
HPV19-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	474
HPV45-L1	LEDTYRPPVSGAITCQKTPFERFQDPYKNSPFWYHLEKPSADLDGPPLEGKFLQAG	477

HPV6-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	500
HPV11-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	501
HPV32-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	503
HPV58-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	499
HPV33-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	499
HPV31-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	504
HPV10-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	502
HPV35-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	502
HPV51-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	504
HPV30-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	499
HPV59-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	503
HPV50-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	506
HPV19-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	507
HPV45-L1	YRGSNIRTKGVKAFYSGASAPKRRKATK---	510

Además de los métodos utilizados por los inventores para alineamientos de secuencias, el software de predicción de estructura secundaria de proteínas que se puede utilizar para la predicción incluye, pero no se limita a:

1. JPred: <http://www.compbio.dundee.ac.uk/jpred/index.html>
- 5 2. ProtPredicct: <http://predictprotein.org>
3. PsiPred: <http://bioinfcs.ucl.ac.uk/psipred>
4. SCRATCH-1D: <http://download.igb.uci.edu>
5. Nnpredict: <http://www.cmpharm.ucsf.edu/~nomi/nnpredict>
6. Predictprotein: <http://www.embl-heidelberg.de/predictprotein/SOPMA> <http://www.ibcp.fr/predict.html>
- 10 7. SSPRED: http://www.embl-heidelberg.de/sspred/ssprd_info.html.

En un aspecto de la presente divulgación, los inventores determinaron la longitud del fragmento N-terminal derivado de la proteína L1 del primer tipo del HPV de la siguiente manera: la secuencia natural de la proteína L1 se trunca dentro de su región $\alpha 5$ y regiones cercanas a la misma, con la secuencia desde su N-terminal hasta el C-terminal recién generado dentro de la región $\alpha 5$ retenida. Tal secuencia truncada asegura que tenga la inmunogenicidad del primer tipo y sea capaz de formar VLP.

El fragmento N-terminal de la proteína L1 del HPV derivada del primer tipo se puede modificar adicionalmente siempre que conserve la inmunogenicidad del primer tipo y sea capaz de formar VLP.

La longitud del fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV derivada del segundo tipo se determina de la siguiente manera: la secuencia natural de la proteína L1 se trunca dentro de su región $\alpha 5$ y regiones cercanas a la misma, posteriormente se retiene la secuencia desde el N-terminal recién generado dentro de su región $\alpha 5$ hasta el C-terminal. Dicha secuencia truncada no tiene el epítoto antigénico neutralizante principal de modo que no interfiere con la inmunogenicidad de la proteína quimérica resultante.

El fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV derivada del segundo tipo puede mutarse, eliminarse y/o agregarse adicionalmente, preferiblemente reteniendo al menos una de sus secuencias de localización nuclear. Yang et al. predijeron las secuencias de localización nuclear de 107 subtipos del HPV (Yang et al. Predicting the nuclear localization signals of 107 types of HPV L1 proteins by bioinformatic analysis *Geno. Prot. Bioinfo.* Vol. 4 No. 1 2006). Las secuencias de localización nuclear de cada tipo de proteína L1 del HPV se pueden determinar de manera conveniente mediante un software de análisis de secuencias comúnmente utilizado en el campo.

La conexión descrita anteriormente del fragmento N-terminal con el fragmento C-terminal ocurre en el C-terminal recién generado del primero y en el N-terminal recién generado del segundo. Esta puede ser una conexión directa o una conexión a través de un enlazador. El sitio donde ocurre la conexión se define como la coordenada de origen, el lado N-terminal del origen se considera como menos mientras que el lado C-terminal como más.

A continuación, se muestra la secuencia de aminoácidos 453-469 de la proteína L1 del HPV6 y las secuencias correspondientes de las proteínas L1 de otros tipos del HPV. Estas secuencias se superponen con su región $\alpha 5$ respectivamente. Se puede observar que estas secuencias son muy similares. Los números entre paréntesis indican las posiciones del último residuo de aminoácido de las secuencias enlistadas, donde para el HPV del tipo 45, 26 aminoácidos adicionales están presentes en el N-terminal de la proteína L1 de algunas cepas del HPV del tipo 45, mientras que en el N-terminal de la proteína L1 de otras cepas del HPV del tipo 45, dichos 26 aminoácidos adicionales no están presentes, por lo tanto, el número se indica como (478) + 26.

HPV6 ELDQYPLGRKFLLQSGY (469)

HPVL11 ELDQFPLGRKFLLQSGY (470)

HPV16 DLDQFPLGRKFLLQAGL (474)

45 HPV18 DLDQYPLGRKFLVQAGL (475)

HPV31 DLDQFPLGRKFLLQAGY (475)

HPV35 DLDQFPLGRKFLLQAGL (472)

HPV39 ELDQFPLGRKFLLQARV (474)

HPV45 DLDQYPLGRKFLVQAGL (478)+26

HPV51 DLDQFALGRKFLLQVGV (474)

HPV52 DLDQFPLGRKFLLQAGL (478)

HPV56 DLDQFPLGRKFLLMQLGTRS (474)

HPV58 DLDQFPLGRKFLLQSGL (473)

5 HPV33

DLDQFPLGRKFLLQAGL (473) KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK en el que KR en las posiciones 480-481 y KRKK en las posiciones 493-496 son secuencias de localización nuclear.

HPV59

10 DLDQFPLGRKFLLQLGA (475) RPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK, en el que RKR en las posiciones 484-486 y KR VKRRK en las posiciones 498-504 son secuencias de localización nuclear.

En un aspecto de la presente divulgación, los inventores han completado sustituciones del C-terminal de las proteínas L1 entre diferentes tipos del HPV aprovechando la similitud de secuencia de la región $\alpha 5$ y las regiones cercanas entre los tipos del HPV.

15 Lo más preferiblemente, los inventores han observado que la proteína L1 de cada tipo del HPV tiene un tetrapéptido RKFL o, más ventajosamente, un hexapéptido LGRKFL, en una posición similar. Los inventores han explotado hábilmente esta secuencia altamente conservada para localizar el punto de conexión de la proteína quimérica en cualquier posición de aminoácido dentro de este oligopéptido. Por una parte, la secuencia que comienza en el N-terminal de la proteína quimérica hasta RKFL o LGRKFL es idéntica a la secuencia del fragmento N-terminal derivado de la proteína L1 del primer tipo, mientras que, por otra parte, la secuencia que comienza de RKFL o LGRKFL hasta el C-terminal de la proteína quimérica es idéntica a la secuencia del fragmento C-terminal derivado de la proteína L1 del segundo tipo.

La proteína quimérica así producida mantiene un alto grado de similitud con la proteína L1 natural del HPV, y se puede esperar que tenga un buen rendimiento en la producción e incluso en procedimientos médicos o profilácticos posteriores.

25 Será comprensible para los expertos en la técnica que existan diferentes cepas con diferentes secuencias naturales de un tipo del HPV dado.

30 Será comprensible para los expertos en la técnica que debido al alto grado de similitud entre la proteína L1 de diferentes tipos del HPV, si, durante la construcción de las proteínas quiméricas, el fragmento N-terminal derivado de la proteína L1 del primer tipo se extiende por más residuos de aminoácidos hacia el C-terminal, o el fragmento C-terminal derivado de la proteína L1 del segundo tipo de virus del HPV se extiende por más residuos de aminoácidos hacia el N-terminal, también es posible formar proteínas quiméricas que sean estructuralmente idénticas a la presente invención debido a aminoácidos idénticos o similares en los sitios correspondientes.

35 Las variantes de las proteínas quiméricas se pueden formar por mutaciones, deleciones y/o adiciones de residuos de aminoácidos. Es probable que estas variantes tengan la inmunogenicidad de la proteína L1 del primer tipo, puedan formar VLP y tengan un buen rendimiento y solubilidad.

Los efectos benéficos de la invención

40 Los sistemas de expresión comúnmente utilizados para producir partículas similares a los virus se clasifican en sistemas de expresión eucarionte y sistemas de expresión procarionte. Las proteínas L del virus del papiloma expresadas por los sistemas de expresión eucarionte se pueden ensamblar espontáneamente en partículas similares a los virus, pero tienen la desventaja de un bajo nivel de expresión, por lo que no son adecuadas para la producción en masa.

45 La proteína L del virus del papiloma expresada por el sistema de expresión procarionte requiere procesamiento *in vitro* para obtener partículas similares a los virus debido a que a menudo se destruye su conformación natural, y tiene un bajo rendimiento, siendo difícil de utilizar en la industrialización.

50 La presente invención modifica el C-terminal de la proteína L del virus del papiloma (por ejemplo, el virus del papiloma humano), por ejemplo, reemplazándolo con el fragmento del C-terminal de la proteína L1 del HPV del tipo 16, la proteína L1 del HPV del tipo 28, la proteína L1 del HPV del tipo 33, la proteína L1 del HPV del tipo 59 o la proteína L1 del HPV del tipo 68, por lo que se puede utilizar en sistemas de expresión (por ejemplo, células hospederas, por ejemplo, células de insectos) para mejorar el nivel de expresión y la solubilidad de la proteína L del virus del papiloma en sistemas de expresión (por ejemplo, células hospederas, por ejemplo,

células de insectos). Esto se puede utilizar para la producción en masa de vacunas, como las vacunas contra el HPV.

Los inventores encontraron que la proteína L1 del HPV del tipo 16, la proteína L1 del HPV del tipo 28, la proteína L1 del HPV del tipo 33, la proteína L1 del HPV del tipo 59 y la proteína L1 del HPV del tipo 68 tienen un nivel de expresión aumentado y una solubilidad aumentada en comparación con las proteínas L1 de otros tipos del HPV, y se descubrió que dicho nivel de expresión de proteína aumentado y dicha solubilidad aumentada dependen de la secuencia C-terminal de dicha proteína L1 del HPV. Entre 107 proteínas L1 del tipo del HPV, la mayoría de ellas tienen secuencias de localización nuclear en el C-terminal, y las secuencias C-terminales tienen algunas similitudes.

Para las proteínas L del virus del papiloma que actualmente son inexpresables, tienen un nivel de expresión muy bajo o son insolubles después de la expresión, el reemplazo de sus fragmentos C-terminales con fragmentos C-terminales de la proteína L1 del HPV del tipo 16, la proteína L1 del HPV del tipo 28, la proteína L1 del HPV del tipo 33, la proteína L1 del HPV del tipo 59 o la proteína L1 del HPV del tipo 68 hace posible la expresión soluble y la purificación posterior. Esta estrategia se puede utilizar para la producción en masa de vacunas polivalentes (por ejemplo, vacunas contra el HPV), lo que hace posible proporcionar una protección más completa contra una amplia gama de infecciones por el virus del papiloma, especialmente el HPV.

Es necesario aumentar el nivel de expresión y la solubilidad de la proteína L1 del HPV en células de insectos para fines de producción en masa. Además, las partículas similares a los virus ensambladas por la proteína L del HPV carecen de una buena conformación en células de levadura debido a la incapacidad de formar enlaces disulfuro correctamente.

Para las proteínas L1 del HPV que se expresan de forma deficiente y son insolubles en células de insectos, se puede lograr un aumento significativo en el nivel de expresión y la solubilidad después de la modificación de su fragmento C-terminal en el fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV del tipo 33 o 59, por lo que se podrían utilizar para la producción en masa de vacunas contra el HPV.

Para las proteínas L1 del HPV que se expresan mejor y son más solubles en células de insectos en comparación con las proteínas L1 de otros tipos del HPV, tal como la proteína del HPV del tipo 16, la proteína L1 del HPV Tipo 28, la proteína L1 del HPV del tipo 68, etc., existe la necesidad de mejorar aún más el nivel de expresión y la solubilidad con la finalidad de lograr la producción en masa de vacunas. En la presente invención, por ejemplo, después de modificar el fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV del tipo 16 con el fragmento C-terminal de la proteína L1 del HPV del tipo 33, se mejoran el nivel de expresión y la solubilidad de la proteína quimérica modificada del HPV del tipo 16, lo cual favorece la producción en masa de vacunas contra el HPV.

En resumen, las proteínas quiméricas L1 del HPV mostraron un nivel de expresión y una solubilidad mucho más altos en células de insectos en comparación con la proteína L1 del HPV no modificada. Se puede utilizar para la producción en masa de vacunas contra el HPV. Además, las proteínas quiméricas L1 del HPV pueden formar correctamente enlaces disulfuro y, por lo tanto, ensamblarse en partículas similares a los virus del HPV con buenas conformaciones en células de insectos. Esto puede mejorar la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus del HPV y desencadenar mejores respuestas inmunes.

La vacuna multivalente de la presente invención se puede utilizar para prevenir enfermedades o infecciones relacionadas con una amplia gama del HPV, incluyendo aquellos tipos del HPV que actualmente no se pueden prevenir.

Definición

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen los significados que normalmente entiende una persona con conocimientos ordinarios en la técnica a la cual pertenece la invención. Para facilitar la comprensión de la presente invención, los siguientes términos se citan a continuación por su significado ordinario.

Cuando se utilizan en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un/una, uno", "otro, otra" y "dicho/el, la" incluyen las designaciones plurales de los objetos a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A menos que se indique expresamente lo contrario, los términos "incluye/comprende/tiene", "por ejemplo", etc. pretenden transmitir inclusión en lugar de limitación.

El término "inmunogenicidad" se refiere a la capacidad de una sustancia, por ejemplo, una proteína o un péptido, para desencadenar una respuesta inmune, es decir, la capacidad de desencadenar la producción de anticuerpos, en particular la capacidad de desencadenar una respuesta humoral o mediada por células.

El término "anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina que se une a un antígeno. Los anticuerpos pueden ser mezclas policlonales o monoclonales. Los anticuerpos pueden ser inmunoglobulinas intactas de origen natural o de origen recombinante o pueden ser porciones inmunorreactivas de inmunoglobulinas

intactas. Los anticuerpos pueden estar presentes en una variedad de formas que incluyen, por ejemplo, Fv, Fab', F(ab')₂ y como cadenas sencillas.

El término "antigenicidad" se refiere a la capacidad de una sustancia, por ejemplo, una proteína o un péptido, para desencadenar la producción de anticuerpos que se unen específicamente a él.

5 El término "epítipo" incluye cualquier agrupamiento de determinantes proteicos que se une específicamente a un anticuerpo o receptor de células T. Los determinantes de epítipo consisten típicamente en grupos de superficie químicamente activos (por ejemplo, aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, o combinaciones de los mismos) de la molécula y típicamente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas.

10 Los términos "subtipo" o "tipo" se utilizan indistintamente en la presente memoria para referirse a la variante genética del virus que permite que el sistema inmune lo reconozca como un antígeno distinto de un tipo a otro. Por ejemplo, el HPV 16 es inmunológicamente distinguible del HPV 33.

15 El término "proteína L1 del HPV", tal como se utiliza en la presente memoria, el término "HPV" y "virus del papiloma humano" se refieren a virus de ADN de cadena doble sin envoltura de la familia del virus del papiloma. Sus genomas son circulares y son de aproximadamente de 8 pares de kilobases. La mayoría de los HPVs codifican para ocho proteínas principales, seis en la región "temprana" (E1-E2) y dos en la región "tardía" (L1 (proteína mayor de la cápside) y L2 (proteína menor de la cápside)). Se han identificado más de 120 tipos de HPV y están etiquetados con números (por ejemplo, HPV-16, HPV-18, etc.).

20 El término "HPV" o "virus del HPV" se refiere a los virus del papiloma de la familia *Papillomaviridae*, los cuales son virus de ADN sin envoltura con un genoma de ADN circular cerrado de doble cadena de aproximadamente 8 kb de tamaño que generalmente se clasifica en tres regiones: (i) la región temprana (E), la cual contiene seis marcos de lectura abiertos E1, E2, E4-E7, que codifican para proteínas no estructurales relacionadas con la replicación, transcripción y transformación viral, así como marcos de lectura abiertos E3 y E8; (ii) la región tardía (L), que contiene marcos de lectura que codifican para la proteína mayor de la cápside L1 y la proteína menor de la cápside L2; y (iii) la región reguladora larga (LCR), que no codifica para ninguna proteína pero tiene el origen de replicación y múltiples sitios de unión de factores de transcripción.

25 Los términos "proteína L1 del HPV" y "proteína L2 del HPV" se refieren a proteínas codificadas por la región tardía (L) del gen del HPV y sintetizadas en una fase tardía del ciclo de infección del HPV. La proteína L2 es la proteína menor de la cápside. 72 pentámeros de L1 forman la capa externa de las partículas icosaédricas del HPV, la cual encierra el microcromosoma de ADN de cadena doble circular cerrado.

30 El término "partícula similar a los virus" se refiere a una partícula hueca que contiene una o una pluralidad de proteínas estructurales de un virus, sin ácidos nucleicos virales.

35 El "pseudovirus del HPV" es un modelo ideal para la neutralización *in vitro* del HPV, aprovechando la propiedad de encapsulación de ácidos nucleicos no específicos de la VLP del HPV. El pseudovirus del HPV se forma envolviendo ADN libre o introduciendo un plásmido exógeno en una VLP compuesta de L1 y L2 del HPV expresadas intracelularmente.

40 El "ensayo de neutralización del pseudovirus" es un método para evaluar la actividad neutralizante de los anticuerpos. Después de la incubación del suero animal inmunizado con una cierta cantidad de pseudovirus y posteriormente la infección de las células, la cantidad de células disminuye cuando los anticuerpos neutralizantes del suero aumentan, mostrando una correlación negativa lineal en un cierto intervalo. Por lo tanto, la actividad neutralizante de los anticuerpos en suero se puede evaluar midiendo los cambios en las cantidades de células.

45 El término "fragmento del mismo" o "variante del mismo" se refiere a una delección, inserción y/o sustitución de la secuencia de nucleótidos o aminoácidos de la presente invención. Preferiblemente, el fragmento o variante del polipéptido proporcionado por la presente invención es capaz de desencadenar la respuesta inmune humoral y/o celular en animales o seres humanos.

50 El término "quimérico" significa que las secuencias de polipéptidos o nucleótidos derivados de diferentes moléculas parentales están conectadas entre sí por -CO-NH- o enlaces fosfodiéster 3', 5', respectivamente. Preferiblemente, no están espaciadas por secuencias de enlace adicionales, sino que son directamente adyacentes entre sí.

El término "truncamiento" se refiere a la eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos del N- y/o C-terminal de un polipéptido o a la delección de uno o más aminoácidos del interior de un polipéptido.

55 El término "secuencia de localización nuclear" se refiere a una secuencia de aminoácidos que dirige a la proteína hacia el núcleo. En algunas proteínas L1 del HPV, dos agrupamientos estrechos de residuos básicos (es decir, secuencias de localización nuclear) (por ejemplo, uno es KRKR, KRKK, KRKRK, KRKKRK,

KRVKRRK, etc. y el otro es KR, RKR, KRK, etc.) tienen una región espaciadora de 10-14 aminoácidos entre ellos. Los agrupamientos de residuos básicos anteriores pertenecen a secuencias de localización nuclear. En algunas otras proteínas L1 del HPV, la secuencia de localización nuclear es un agrupamiento estrecho de residuos básicos formado por argininas y/o lisinas. Las secuencias de localización nuclear incluyen, pero no se limitan a, ejemplos de agrupamientos de residuos básicos como los descritos anteriormente. Véase Jun Yang et al, Predicting the Nuclear Localization Signals of 107 Types of HPV L1 Proteins by Bioinformatic Analysis, Genomics, Proteomics & Bioinformatics Volume 4, Issue 1, 2006, Pages 34-41.

El término "variante funcional" se refiere a una versión de un polipéptido o una proteína que conserva las actividades o características deseadas después del truncamiento, mutación, delección y/o adición.

La "identidad de secuencia" entre dos secuencias de polipéptidos o ácidos nucleicos indica el número de residuos idénticos entre dichas secuencias como un porcentaje del número total de residuos, y se calcula con base en el tamaño de la molécula más pequeña de las comparadas. Al calcular el porcentaje de identidad, las secuencias que se comparan se emparejan de tal manera que se produzca la máxima coincidencia entre las secuencias, y las posiciones vacantes (si están presentes) en la coincidencia se resuelven mediante un algoritmo específico. Los métodos de programas informáticos preferibles para determinar la identidad entre dos secuencias incluyen, pero no se limitan a, paquetes informáticos de GCG que incluyen GAP, BLASTP, BLASTN y FASTA (Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215: 403-410). Los programas anteriores están disponibles públicamente en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) y otras fuentes. El conocido algoritmo Smith Waterman también se puede utilizar para determinar la identidad.

Los aminoácidos no críticos se pueden sustituir de forma conservada sin afectar la función normal de la proteína. La sustitución conservada significa reemplazar aminoácidos con aminoácidos química o funcionalmente similares. Las tablas para sustituciones conservadas que proporcionan aminoácidos similares son bien conocidas en la técnica. A modo de ejemplo, en algunas realizaciones, los grupos de aminoácidos proporcionados en las Tablas 1-3 se consideran sustituciones conservadas entre sí.

Tabla 1. En algunas realizaciones, los grupos seleccionados de aminoácidos que se consideran como sustituciones conservadas entre sí

Residuos ácidos	D y E
Residuos básicos	K, R y H
Residuos hidrofílicos sin carga	S, T, N y Q
Residuos alifáticos sin carga	G, A, V, L e I
Residuos no polares sin carga	C, M y P
Residuos aromáticos	F, Y y W

Tabla 2. En algunas realizaciones, otros grupos seleccionados de aminoácidos que se consideran como sustituciones conservadas entre sí

Grupo 1	A, S y T
Grupo 2	D y E
Grupo 3	N y Q
Grupo 4	R y K
Grupo 5	I, L y M
Grupo 6	F, Y, y W

Tabla 3. En algunas realizaciones, otros grupos seleccionados de aminoácidos que se consideran como sustituciones conservadas entre sí.

Grupo A	A y G
Grupo B	D y E

Grupo C	N y Q
Grupo D	R, K y H
Grupo E	I, L, M y V
Grupo F	F, Y, y W
Grupo G	S y T
Grupo H	C y M

El término "aminoácidos" se refiere a los veinte aminoácidos comunes que se encuentran naturalmente. Los aminoácidos que se encuentran naturalmente incluyen alanina (Ala; A), arginina (Arg; R), asparagina (Asn; N), ácido aspártico (Asp; D), cisteína (Cys; C), ácido glutámico (Glu; E), glutamina (Gln; Q), glicina (Gly; G), histidina (His; H), isoleucina (Ile; I), leucina (Leu; L), lisina (Lys; K), metionina (Met; M), fenilalanina (Phe; F), prolina (Pro; P), serina (Ser; S), treonina (Thr; T), triptófano (Trp; W), tirosina (Tyr; Y) y valina (Val; V).

Tal como se utiliza en la presente memoria, un "portador fisiológicamente aceptable" no es tóxico para las células o los mamíferos en la dosis y la concentración utilizadas. Por lo general, es una solución acuosa de pH amortiguado, cuyos ejemplos no limitantes incluyen amortiguadores; antioxidantes; oligopéptidos; proteínas; polímeros hidrofílicos; aminoácidos; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos; agentes quelantes; alcoholes de azúcar; contraiones formadores de sales como el sodio; y/o agentes tensioactivos no iónicos.

El término "adyuvante" se refiere a un compuesto o una mezcla que mejora las respuestas inmunes. En particular, una vacuna puede comprender un adyuvante. Los adyuvantes para uso en la presente invención pueden incluir, pero no se limitan a, uno o una pluralidad de los siguientes: composiciones adyuvantes que contienen minerales, adyuvantes de emulsión en aceite, formulaciones adyuvantes de saponina, derivados de bacterias o microbios.

El término "vector" se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de proliferar otro ácido nucleico conectado a este. El término incluye vectores como estructuras de ácido nucleico auto replicantes y como vectores integrados en el genoma de células hospederas en las cuales se ha introducido el vector. Ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de ácidos nucleicos a los cuales dichos vectores están conectados operativamente.

El término "célula hospedera" se refiere a una célula en la cual se ha introducido un ácido nucleico exógeno, así como a la progenie de dicha célula. Las células hospederas incluyen "transformantes" (o "células transformadas"), "transfectantes" (o "células transfectadas") o "infectantes" (o "células infectadas"), cada una de las cuales incluye células primarias transformadas, transfectadas o infectadas y la progenie derivada de ellas. Dicha progenie puede no ser idéntica a las células parentales en términos de contenido de ácido nucleico y puede contener mutaciones.

La cantidad de administración es preferiblemente una "cantidad profilácticamente eficaz" (en la presente memoria, la profilaxis se puede considerar como tratamiento y las dos se pueden utilizar indistintamente), lo cual es suficiente para mostrar un beneficio para el individuo.

Ejemplos

Ejemplo 1. Construcción de genes quiméricos

Ejemplo 1.1: Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV6 sustituido con el C-terminal de L1 del HPV33

1.1.1 Construcción de pFB-HPV6 L1 como la plantilla

El gen L1 del HPV6 con los sitios de escisión de KpnI y XbaI en ambos extremos de las secuencias sintetizadas fue sintetizado por Thermo Fisher [anteriormente Invitrogen (Shanghai) Trading Co.], su secuencia se muestra en SEQ ID NO: 5. El plásmido pcDNA3-HPV6-L1 que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica para el aminoácido 1-500 de L1 del HPV6 se obtuvo ligando el fragmento del gen sintetizado con el vector pcDNA3 (distribuidor: Thermo Fisher) y sitios de escisión de KpnI y XbaI.

El plásmido pcDNA3-HPV6-L1 obtenido se sometió a una doble digestión enzimática con KpnI y XbaI para obtener un fragmento del gen de L1 del HPV6 (1-500). A continuación, el fragmento se ligó con el vector pFastBac™1 doblemente digerido con KpnI/XbaI (distribuidor: Thermo Fisher) para obtener un vector de varilla que contenía el fragmento del gen de L1 del HPV6 (1-500), denominado pFB-HPV6 L1.

1.1.2 Construcción de pFB-HPV33 L1 como la plantilla

El gen L1 del HPV33 con los sitios de escisión de KpnI y XbaI en ambos extremos de las secuencias sintetizadas fue sintetizado por Thermo Fisher [anteriormente Invitrogen (Shanghai) Trading Co.], su secuencia se muestra como SEQ ID NO: 6. El plásmido pcDNA3-HPV33-L1 que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica para los aminoácidos 1-499 de L1 del HPV33 se obtuvo ligando el fragmento del gen sintetizado con el vector pcDNA3 (distribuidor: Thermo Fisher) en los sitios de escisión de KpnI y XbaI.

El plásmido pcDNA3-HPV33-L1 se sometió a una doble digestión enzimática con KpnI y XbaI para obtener un fragmento del gen L1 del HPV33 (1-499). A continuación, el fragmento se ligó al vector pFastBac™1 doblemente digerido con KpnI y XbaI (distribuidor: Thermo Fisher) para obtener un vector de varilla que contenía el fragmento del gen L1 del HPV33 (1-499), denominado pFB-HPV33 L1.

1.1.3 Construcción de pFB-HPV6 L1: 33C

El gen quimérico del C-terminal de L1 del HPV6 sustituido con el C-terminal de L1 del HPV33: el plásmido recombinante construido pFB-HPV6 L1 se utilizó como la plantilla del gen para amplificar un fragmento del gen de 1426 pb utilizando los cebadores F1 y R1, la secuencia del cebador F1 se muestra en SEQ ID No: 7 y R1 se muestra en SEQ ID No: 8.

Este fragmento del gen contiene un fragmento que codifica para los aminoácidos 1-469 de L1 del HPV6, 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para los aminoácidos 474-499 de L1 del HPV33, y un fragmento del sitio de digestión de KpnI (GGTAC[^]C), la secuencia amplificada se muestra en SEQ ID No: 9.

Parámetros de amplificación por PCR: pre desnaturalización a 94 °C durante 5 min; desnaturalización a 98 °C durante 10 s, hibridación a 69 °C durante 15 s, 1 kb/1 min a 72 °C, durante 30 ciclos; extensión a 72 °C durante 5 min; finalización a 16 °C.

El plásmido recombinante pFB-HPV33 L1 se utilizó como la plantilla del gen para amplificar un fragmento del gen de 101 pb de longitud utilizando los cebadores F2 y R2, la secuencia del cebador de F2 se muestra en SEQ ID No: 10 y la secuencia del cebador de R2 se muestra en SEQ ID No: 11.

Este fragmento del gen contiene un fragmento del gen que codifica para 26 aminoácidos del C-terminal (474-499) de L1 del HPV33, una base de 10 pb que se superpone con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de los aminoácidos 1-469 de L1 del HPV6 y el sitio de digestión XbaI (T[^]CTAGA), la secuencia amplificada se muestra en SEQ ID No: 12

Parámetros de amplificación por PCR: pre desnaturalización a 94 °C durante 5 min; desnaturalización a 98°C durante 10 s, hibridación a 69°C durante 15 s, 1 kb/1 min a 72°C, durante 30 ciclos; extensión a 72°C durante 5 min; finalización a 16°C.

Secuencias de ligación por PCR:

Los cebadores de ligación fueron F1 y R2, y los fragmentos amplificados utilizando los cebadores anteriores (fragmentos amplificados de F1 y R1, fragmentos amplificados de F2 y R2) se utilizaron como templados.

Parámetros de ligación por PCR: pre desnaturalización a 94°C durante 5 min; desnaturalización a 98°C durante 10 s, hibridación a 52°C durante 15 s, 72°C durante 1 kb/1 min, durante 5 ciclos; desnaturalización a 98 °C durante 10 s, hibridación a 68 °C durante 15 s, 72 °C durante 1 kb/1 min, durante 25 ciclos; extensión a 72 °C durante 5 min; finalización a 16 °C.

El resultado final fue SEQ ID NO: 4, una secuencia de nucleótidos que codifica para los aminoácidos 1-469 de L1 del HPV6 y 26 aminoácidos C-terminales de L1 del HPV33 (aa 474-499), con sitios de escisión de KpnI y XbaI en ambos extremos (en adelante denominada como secuencia de ligación).

El plásmido recombinante pFB-HPV6 L1: 33C se obtuvo mediante la doble digestión del vector pFastBac™1 y el fragmento de secuencia de ligación con las enzimas KpnI+XbaI y clonando la secuencia de ligación en el vector pFastBac™1 para obtener pFB-HPV6 L1: 33C, el cual es un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV6 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33.

Ejemplo 1.2 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV11 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 2 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.3 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV16 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33

El método y el procedimiento experimental fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 3 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.4. Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV18 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33

5 El método y el procedimiento experimental fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 4 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.5 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV31 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33

10 El método y el procedimiento experimental fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 5 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.6 Construcción del gen L1 del HPV33

1.6.1 Preparación del gen PFB-HPV33L1

15 El gen L1 del HPV33 con los sitios de escisión de KpnI y XbaI en ambos extremos de las secuencias sintetizadas fue sintetizado por Thermo Fisher [anteriormente Invitrogen (Shanghai) Trading Co.], su secuencia se muestra en SEQ ID No: 68. El plásmido pcDNA3-HPV33-L1 que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica para los aminoácidos 1-499 de L1 del HPV33 se obtuvo ligando el fragmento del gen sintetizado con el vector pcDNA3 (distribuidor: Thermo Fisher) en los sitios de escisión de KpnI y XbaI.

20 El plásmido pcDNA3-HPV33-L1 obtenido se sometió a una doble digestión enzimática con KpnI y XbaI para obtener un fragmento del gen de L1 del HPV33 (1-499). A continuación, el fragmento se ligó con el vector pFastBac™1 doblemente digerido con KpnI/XbaI (distribuidor: Thermo Fisher) para obtener un vector de varilla que contenía el fragmento del gen de L1 del HPV33 (1-499), denominado pFB-HPV33 L1.

Ejemplo 1.7 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV35 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33

25 Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 7 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.8 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV39 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV59

1.8.1 Construcción de pFB-HPV39 L1 utilizado como la plantilla

30 El gen L1 del HPV39 con los sitios de escisión de KpnI y XbaI en ambos extremos de las secuencias sintetizadas fue sintetizado por Thermo Fisher [anteriormente Invitrogen (Shanghai) Trading Co.], su secuencia se muestra como SEQ ID NO: 86. El plásmido pcDNA3-HPV39-L1 que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica para los aminoácidos 1-505 de L1 del HPV39 se obtuvo ligando el fragmento del gen sintetizado con el vector pcDNA3 (distribuidor: Thermo Fisher) en los sitios de escisión de KpnI y XbaI.

35 El plásmido pcDNA3-HPV39-L1 fue sometido a doble digestión con KpnI y XbaI para obtener un fragmento del gen de L1 del HPV39 (1-505). El fragmento se ligó posteriormente al vector pFastBac™1 doblemente digerido con KpnI y XbaI (distribuidor: Thermo Fisher) para obtener un vector de varilla que contenía el fragmento del gen L1 del HPV39 (1-505), denominado pFB-HPV39 L1.

1.8.2 Construcción de pFB-HPV59 L1 como la plantilla

40 El gen L1 del HPV59 con los sitios de escisión de KpnI y XbaI en ambos extremos de las secuencias sintetizadas fue sintetizado por Thermo Fisher [anteriormente Invitrogen (Shanghai) Trading Co.], su secuencia se muestra como SEQ ID NO: 87. El plásmido pcDNA3-HPV59-L1 que contiene una secuencia de nucleótidos que codifica para los aminoácidos 1-508 de L1 del HPV59 se obtuvo ligando el fragmento del gen sintetizado con el vector pcDNA3 (distribuidor: Thermo Fisher) en los sitios de escisión de KpnI y XbaI.

45 El plásmido pcDNA3-HPV59-L1 se sometió a una doble digestión con KpnI y XbaI para obtener un fragmento del gen L1 del HPV59 (1-508). A continuación, el fragmento se ligó al vector pFastBac™1 doblemente digerido con KpnI y XbaI (distribuidor: Thermo Fisher) para obtener un vector de varilla que contenía el fragmento del gen L1 del HPV59 (1-508), denominado pFB-HPV59 L1.

1.8.3 Construcción de pFB-HPV39 L1: 59C

50 El gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV39 sustituido con el C-terminal de L1 del HPV59: El plásmido recombinante construido pFB-HPV39 L1 se utilizó como la plantilla del gen para amplificar un fragmento del

gen de 1428 pb utilizando los cebadores F1 y R1, la secuencia del cebador F1 se muestra en SEQ ID No: 88 y la secuencia del cebador R1 se muestra en SEQ ID No: 89.

Este fragmento contiene un fragmento que codifica para los aminoácidos 1-469 de L1 del HPV39, una superposición de 12 bases con un fragmento que codifica para los aminoácidos 471-508 de L1 del HPV59 y un segmento del sitio de digestión de KpnI (GGTAC[^]C), la secuencia amplificada se muestra en SEQ ID No: 90.

Parámetros de amplificación por PCR: pre desnaturalización a 94 °C durante 5 min; desnaturalización a 98 °C durante 10 s, hibridación a 69 °C durante 15 s, 1 kb/1 min a 72 °C, durante 30 ciclos; extensión a 72 °C durante 5 min; finalización a 16 °C.

El plásmido recombinante pFB-HPV59 L1 se utilizó como la plantilla del gen para amplificar un fragmento del gen de 139 pb de longitud utilizando los cebadores F2 y R2. La secuencia del cebador F2 se muestra en SEQ ID No: 91 y R2 se muestra en SEQ ID No: 92.

Este fragmento del gen contiene un fragmento de gen que codifica para 38 aminoácidos C-terminales de L1 del HPV59 (aa 471-508), una base de 12 pb que se superpone con el fragmento del gen que codifica para los aminoácidos 1-469 de L1 del HPV39 y el sitio de digestión XbaI (T[^]CTAGA), y la secuencia amplificada se muestra en SEQ ID No: 93.

Parámetros de amplificación por PCR: pre desnaturalización a 94 °C durante 5 min; desnaturalización a 98 °C durante 10 s, hibridación a 69 °C durante 15 s, 1 kb/1 min a 72 °C durante 30 ciclos; extensión a 72 °C durante 5 min; finalización a 16 °C.

Secuencia de ligación por PCR

Los cebadores de ligación fueron F1 y R2, y los fragmentos amplificados utilizando los cebadores anteriores (fragmentos amplificados por F1 y R1, fragmentos amplificados por F2 y R2) se utilizaron como templados.

Parámetros de ligación por PCR: pre desnaturalización a 94 °C durante 5 min; desnaturalización a 98 °C durante 10 s, hibridación a 52 °C durante 15 s, 72 °C durante 1 kb/1 min, durante 5 ciclos; desnaturalización a 98 °C durante 10 s, hibridación a 68 °C durante 15 s, 72 °C durante 1 kb/1 min, durante 25 ciclos; extensión a 72 °C durante 5 min; finalización a 16 °C.

El resultado final fue SEQ ID NO: 85, una secuencia de nucleótidos que codifica para los aminoácidos 1-469 de L1 del HPV39 y 38 aminoácidos C-terminales de L1 del HPV59 (471-508) con sitios de escisión de las enzimas KpnI y XbaI en ambos extremos (en adelante denominada secuencia de ligación).

El plásmido recombinante pFB-HPV39 L1: 59C se obtuvo mediante la doble digestión del vector pFastBacTM1 y el fragmento de secuencia de ligación con las enzimas KpnI+XbaI y la secuencia de ligación se clonó en el vector pFastBacTM1 para obtener pFB-HPV39 L1: 59C, el cual es un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV39 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV59.

Ejemplo 1.9 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV45 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 9 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.10 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV51 sustituido por el C-terminal de L1 de HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 10 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.11 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV52 sustituido por el C-terminal de L1 de HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 11 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.12 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV56 sustituido por el C-terminal de L1 de HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 12 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.13 Construcción de un gen quimérico con el C-terminal de L1 del HPV58 sustituido por el C-terminal de L1 del HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 1.1, véase el Apéndice 13 para las secuencias relevantes.

Ejemplo 1.14 Construcción del gen L1 del HPV59

Ejemplo 1.14.1 Preparación del gen pFB-HPV59 L1

- 5 El gen L1 del HPV59 con los sitios de escisión de KpnI y XbaI en ambos extremos de las secuencias sintetizadas fue sintetizado por Thermo Fisher [anteriormente Invitrogen (Shanghai) Trading Co.], su secuencia se muestra en SEQ ID No: 162. El plásmido pcDNA3-HPV59-L1 que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica para los aminoácidos 1-508 de L1 del HPV59 se obtuvo ligando el fragmento del gen sintetizado con el vector pcDNA3 (distribuidor: Thermo Fisher) en los sitios de escisión de KpnI y XbaI.
- 10 El plásmido pcDNA3-HPV59-L1 obtenido se sometió a una doble digestión enzimática con KpnI y XbaI para obtener un fragmento del gen de L1 del HPV59 (1-508). A continuación, el fragmento se ligó con el vector pFastBac™1 doblemente digerido con KpnI / XbaI (distribuidor: Thermo Fisher) para obtener un vector de varilla que contenía el fragmento del gen L1 del HPV59 (1-508), denominado pFB-HPV59 L1.

Ejemplo 2. Embalaje del baculovirus recombinante

Ejemplo 2.1: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV6: 33C

- 15 El plásmido recombinante de pFB-HPV6 L1: 33C construido en el Ejemplo 1 se identificó y se secuenció como correcto, y se transformó en células competentes de bacterias DH10Bac (kit Bac-to-Bac®, adquirido de Thermo Fisher), se incubó a 37°C para proliferación y se incubó en una placa plana para cultivo en estrías. Se seleccionaron colonias blancas, se incubaron durante la noche. Se recolectó el cultivo bacteriano y se extrajo el ADN del baculovirus recombinante utilizando el método de lisis alcalina.

El ADN del baculovirus recombinante se transfectó en células de insecto SF9 utilizando un reactivo de transfección catiónico (adquirido de Sino Biological) para empaquetar las cepas virulentas del baculovirus recombinante. El procedimiento fue el siguiente:

- 25 a. Se inocularon células SF9 en fase logarítmica en placas a una densidad de 0.6×10^6 células/placa. La placa inoculada con células SF9 se dejó a temperatura ambiente durante 2 horas para que las células se adhirieran a la pared de la placa.
- b. Se añadieron 20 µL de ADN del plásmido Bacmid extraído a 200 µL de medio de Grace (sin suero, sin aditivos, adquirido de Gibco) y se mezcló e invirtió 5 veces.
- 30 c. Se añadieron gota a gota 25 µL de 0.2x TF1 (reactivo de transfección, adquirido de Sino Biological) a 200 µL de medio de Grace y se mezcló suavemente.
- d. Se mezcló b y c. Se incubaron a temperatura ambiente durante 15-45 min.
- e. Durante la incubación del ADN con cellfectin (adquirido de Sino Biological), se descartó el sobrenadante celular y se añadieron 0.8 mL de medio de Grace (libre de aditivos séricos) a la placa.
- f. Se añadió gota a gota a la placa la mezcla incubada de ADN y reactivo de transfección de d.
- 35 g. Se incubó a 27 °C durante 2 h.
- h. Se descartó el medio de cultivo celular y se añadieron 2.5 mL de medio de crecimiento completo/placa (SCD6 SF + FBS al 10%) (SCD6 SF se adquirió de Sino Biological, FBS se adquirió de Gibco).
- i. Se realizó el cultivo a 27 °C durante 7 días y se observó si se producía la infección viral.

- 40 El sobrenadante del virus se recolectó después de observar lesiones visibles en las células transfectadas, típicamente después de 7-11 días de cultivo. El sobrenadante viral, es decir, la cepa del virus de la generación P1 de L1 del HPV6: 33C se recolecta asépticamente con una pipeta. Las células SF9, a una densidad de 2×10^6 células/mL, se infectaron utilizando la cepa del virus de la generación P1 de L1 del HPV6: 33C en una proporción de 1:50 (V/V), se cultivaron a 27 °C durante 3 días y se centrifugaron a $1000 \text{ g} \pm 200 \text{ g}$ durante 10 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante del virus recolectado era el virus de la generación P2 y se
- 45 podía utilizar para infectar las células hospederas y la producción.

Ejemplo 2.2: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV11: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.3: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV16: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.4: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV 18: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.5: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV31: 33C

5 Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.6: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.7: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV35: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

10 **Ejemplo 2.8: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV39: 59C**

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.9: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV45: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.10: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV45: 33C

15 Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.11: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV52: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.12: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV56: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales son los mismos que los del Ejemplo 2.1.

20 **Ejemplo 2.13: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV58: 33C**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 2.14: Embalaje del baculovirus recombinante de L1 del HPV31

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que los del Ejemplo 2.1.

Ejemplo 3. Expresión de proteínas o proteínas quiméricas

25 **Ejemplo 3.1: Expresión de L1 del HPV6: 33C**

Se infectaron células High Five con baculovirus que contenía el gen recombinante L1 del HPV6: 33C obtenido en el Ejemplo 2 en una proporción de 1:200 (V/V), y el precipitado celular se recolectó por centrifugación a 1000 g $\pm$ 100 g a temperatura ambiente. Las células se rompieron mediante sonicación a baja temperatura durante 3 min, se centrifugaron a >10,000 g durante 10 min y el sobrenadante se recolectó para SDS-PAGE. Carril1: Marcador (el marcador es una mezcla de 7 proteínas purificadas con pesos moleculares que van desde 14.4 kDa hasta 116 kDa, producida por Thermo Scientific); Carril 2: lisado celular; Carril 3: sobrenadante del lisado recolectado por centrifugación.

30

El resultado se muestra en la Figura 1A. La proteína L1 del HPV6: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

35

Ejemplo 3.2: Expresión y producción de L1 del HPV11: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1B. La proteína L1 del HPV11: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de >100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

40

Ejemplo 3.3: Expresión y producción de L1 del HPV 16: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1C. La proteína L1 del HPV 16: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

5 Ejemplo 3.4: Expresión y producción de L1 del HPV18: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1D. La proteína L1 del HPV18: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

10 Ejemplo 3.5: Expresión y producción de L1 del HPV31: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1E. La proteína L1 del HPV31: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

15 Ejemplo 3.6: Expresión y producción de L1 del HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1F. La proteína L1 del HPV33 L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para la producción en masa.

20 Ejemplo 3.7: Expresión y producción de L1 del HPV L1: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1G. La proteína L1 del HPV35 L1: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para la producción en masa.

25 Ejemplo 3.8: Expresión y producción de L1 del HPV39: 59C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1H. La proteína L1 del HPV39: 59C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para la producción en masa.

30 Ejemplo 3.9: Expresión y producción de L1 del HPV45: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1I. La proteína L1 del HPV45: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para la producción en masa.

35 Ejemplo 3.10: Expresión y producción de L1 del HPV51: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1J. La proteína L1 del HPV51: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

40 Ejemplo 3.11: Expresión y producción de L1 del HPV52: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1K. La proteína L1 del HPV52: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

45 Ejemplo 3.12: Expresión y producción de L1 del HPV56: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1L. La proteína L1 del HPV56: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para producción en masa.

5 **Ejemplo 3.13: Expresión y producción de L1 del HPV58: 33C**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1M. La proteína L1 del HPV58: 33C L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para la producción en masa.

10 **Ejemplo 3.14: Expresión y producción de L1 del HPV59**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 3.1.

El resultado se muestra en la Figura 1N. La proteína L1 del HPV59 L1 preparada por este método tiene un rendimiento de > 100 mg/L y un tamaño de proteína de aproximadamente 56 KD, la cual se puede utilizar para la producción en masa.

15 **Ejemplo 4. Preparación de partículas similares a los virus purificadas**

Ejemplo 4.1: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV6: 33C purificadas

Las partículas similares a los virus de L1 del HPV6: 33C se purificaron mediante un método de cromatografía de dos pasos, es decir, el método HS-MMA, se purificó el sobrenadante recolectado en el Ejemplo 3 y, finalmente, se obtuvieron partículas similares a los virus de alta pureza.

20 **Cromatografía de primer paso:**

Medio: se utilizó el medio de intercambio catiónico fuerte POROS® 50 HS producido por Thermo Fisher.

Volumen del medio: 150 mL de volumen del medio, 30 mL/min de caudal lineal.

Condiciones de cromatografía: amortiguador de equilibrio (pH 6.2, la concentración de sal es 50 mM de fosfato, 0.5 M de NaCl); amortiguador de lavado (la concentración de sal es 50 mM de fosfato, 0.75 M de NaCl, pH 6.2).

25 **La columna de cromatografía se equilibró primero con 5 CV de amortiguador de equilibrio y luego se cargó la muestra. Después de la carga, la columna se eluyó con 5 CV de amortiguador de equilibrio y amortiguador de lavado, respectivamente, para eliminar las impurezas de proteína.**

Condiciones de elución: se utilizó un amortiguador de fosfato de 50 mM que contenía 50 mM de clorhidrato de arginina, pH 6.2, con una concentración de sal de elución de 1.25 M de NaCl.

30 **Cromatografía de segundo paso.**

Medio: se utilizó medio de intercambio iónico MMA producido por Bestchrom (Shanghai) Biosciences Co., Ltd.

Volumen del medio: el volumen del medio es de 150 mL, mientras que el caudal lineal es de 30 mL/min.

35 **Condiciones de cromatografía: amortiguador de equilibrio : 50 mM de PB, 1.25 M de NaCl, pH 6.2. La columna de cromatografía se equilibró primero con amortiguador de equilibrio de 4 CV y posteriormente se cargó la muestra. Después de la carga, las impurezas de la proteína se enjuagaron con amortiguador de equilibrio de 5 CV y posteriormente la proteína diana se eluyó con amortiguador de elución y se recolectó.**

Condiciones de elución: 100 mM de NaAC, 150 mM de NaCl, 0.01% de Tween 80, pH 4.5.

Ejemplo 4.2: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV: 33C purificadas

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

40 **Ejemplo 4.3: Purificación y preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV 16: 33C**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.4: Purificación y preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV18: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.5: Purificación y preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV31: 33C.

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.6: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV33 purificadas

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

5 **Ejemplo 4.7: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV35: 33C purificadas**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.8: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV39: 59C purificadas

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.9: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV45: 33C purificadas

10 Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.10: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV51: 33C purificadas

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.11: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV52: 33C purificadas

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

15 **Ejemplo 4.12: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV56: 33C purificadas**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.13: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV58: 33C purificadas

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 4.14: Preparación de partículas similares a los virus de L1 del HPV59 purificadas

20 Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 4.1.

Ejemplo 5: Observación morfológica de las partículas similares a los virus

Ejemplo 5.1: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV6: 33C

25 Se tomó una muestra de 10 µL para microscopía electrónica de transmisión. La muestra se fijó sobre una rejilla de cobre revestida de carbono durante 2 min, el líquido restante se absorbió con papel de filtro y posteriormente se tiñó dos veces con ácido fosfotúngstico (Beijing Electron Microscopy China Technology Co., Ltd., concentración al 2%, pH 6.5) durante 30 segundos cada vez, la solución de tinción restante se absorbió con papel de filtro, se dejó secar la muestra y posteriormente se realizó la observación con microscopía electrónica de transmisión. El microscopio electrónico de transmisión (Marca: Hitachi, Modelo No: H-7650) fue de 80 KV con un aumento de 80,000x.

30 La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2A. Como se puede observar en la Figura 2A, la L1 del HPV6: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.2: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV11: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

35 La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2B. Como se puede observar en la Figura 2B, la L1 del HPV11: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme, con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.3: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV16: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

40 La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2C. Como se puede observar en la Figura 2C, la L1 del HPV 16: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.4: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV18: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2D. Como se puede observar en la Figura 2D, la L1 del HPV18: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.5: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV31: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2E. Como se puede observar en la Figura 2E, la L1 del HPV31: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.6: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV33

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación mediante microscopía electrónica se muestra en la Figura 2F. Como se puede observar en la Figura 2F, la L1 del HPV33 modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.7: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV35: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación mediante microscopía electrónica se muestra en la Figura 2G. Como se puede observar en la Figura 2G, la L1 del HPV35: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.8: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV39: 59C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2H. Como se puede observar en la Figura 2H, la L1 del HPV39: 59C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.9: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV45: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2I. Como se puede observar en la Figura 2I, la L1 del HPV45: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.10: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV51: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2J. Como se puede observar en la Figura 2J, la L1 del HPV51: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.11: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV52: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación mediante microscopía electrónica se muestra en la Figura 2K. Como se puede observar en la Figura 2K, la L1 del HPV52: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.12: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV56: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2L. Como se puede observar en la Figura 2L, la L1 del HPV56: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.13: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV58: 33C

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2M. Como se puede observar en la Figura 2M, la L1 del HPV58: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 5.14: Observación morfológica de las partículas similares a los virus de L1 del HPV59

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 5.1.

La observación por microscopía electrónica se muestra en la Figura 2N. Como se puede observar en la Figura 2N, la L1 del HPV59: 33C modificada en el C-terminal puede formar partículas similares a los virus de tamaño uniforme con un diámetro promedio de aproximadamente 60 nm.

Ejemplo 6: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus en animales

Ejemplo 6.1: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV6: 33C en animales

6.1.1 Modelado de células neutralizantes de pseudovirus

Dado que el HPV es difícil de cultivar *in vitro* y tiene una fuerte especificidad por el hospedero, es difícil reproducirlo en organismos distintos de los humanos, por lo que existe una falta de modelos animales adecuados. Por lo tanto, existe la necesidad de establecer modelos experimentales de neutralización *in vitro* adecuados y efectivos para la evaluación de la inmunoprotección de la vacuna.

El pseudovirus del HPV es un modelo ideal para la neutralización *in vitro* del HPV: gracias a la característica de las VLP del HPV de encapsular ácidos nucleicos de forma no específica, el pseudovirus del HPV se puede formar a partir de las VLPs, compuestas de L1 y L2 del HPV expresadas en células, encapsulando ADN libre o introduciendo plásmido exógeno.

La inmunogenicidad de muestras de suero animal inmunizado se analizó mediante un ensayo de neutralización del pseudovirus. El animal inmunizado con partículas similares a los virus del HPV6 puede producir anticuerpos neutralizantes contra el HPV6 que pueden neutralizar el pseudovirus del HPV6. Cuando el suero animal inmunizado se incubó con una cierta cantidad del pseudovirus y posteriormente infecta células, el número de células capaces de expresar fluorescencia de GFP disminuye cuando los anticuerpos de neutralización en el suero aumentan, mostrando una correlación negativa lineal en un cierto intervalo, por lo que la actividad neutralizante de los anticuerpos en el suero se puede evaluar detectando el cambio en el número de células que expresan GFP.

Método de construcción del pseudovirus: El plásmido HPV6 pCMV3-3-HPV6 L1+L2 (La secuencia de L1 era de Uniprot P69898, la secuencia de L2 era de Uniprot Q84297) (adquirido de Sino Biological) y el plásmido fluorescente (PSEU-GFP Spark, adquirido de Sino Biological) se cotransfectaron en células adherentes 293FT (adquiridas de Thermo Fisher). Los métodos específicos se refieren a la literatura publicada (Pastrana D V, Buck C B, Pang Y S, Thompson C D, Castle P E, FitzGerald P C, Kjaer S K, Lowy D R, Schiller J T. Reactivity of human sera in a sensitive, high-throughput pseudovirus-based papilloma virus neutralization assay for HPV16 and HPV18. [J] Virology 2004,321:205-216.). El sobrenadante del pseudovirus se recolectó y se dividió en alícuotas, y se almacenó en un refrigerador a -80 °C para el almacenamiento.

6.1.2 Evaluación inmunoprotectora de partículas similares a los virus de L1 del HPV6: 33C en animales

Procedimientos de inmunización en ratones:

Las partículas similares a los virus de L1 del HPV6: 33C se absorbieron en adyuvante de fosfato de aluminio, se mezclaron y se utilizaron para inmunizar ratones a una dosis de 0.15 µg/200 µL por ratón, 10 ratones en total. Los ratones se inmunizaron con las muestras diluidas los días 0, 7 y 21, y los ratones de control se inmunizaron con suero en blanco. Se recolectó sangre de los ojos de los ratones el día 28 y se aislaron los sueros para el ensayo de títulos de neutralización del pseudovirus.

Ensayo de EC50 de ratones:

El suero murino se inactivó a 56 °C durante 30 minutos, se centrifugó a 6000 g, 5 min, y se recolectó el sobrenadante para el ensayo. 4-8 horas antes del ensayo, se inocularon células 293FT a una densidad de 15,000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C en una incubadora de CO₂ con CO₂ al 5%. El suero murino post inmune y el suero de control en blanco se diluyeron en serie con medios neutralizantes respectivamente, posteriormente se mezclaron con el pseudovirus del HPV6 preparado en 6.1 en una proporción de volumen de 1:1, se incubaron a 2-8 °C durante 1 hora, posteriormente se agregaron 100

μL/pocillo de la mezcla a células 293FT, las cuales se habían inoculado con 4-8 horas de anticipación. Cada muestra se repitió y se utilizó un grupo de control de suero en blanco, un grupo de control positivo de pseudovirus y un grupo de control negativo de pseudovirus. Las células infectadas por pseudovirus se incubaron a 37 °C en una incubadora de CO₂ con CO₂ al 5% durante 62-96 horas, se fotografió mediante escaneo de fluorescencia y se contó en un analizador ELISPOT (No. de modelo: S6 Universal-V Analyzer, Fabricante: CTL). Sobre la base de la inhibición de la neutralización de cada muestra de suero murino, se calculó la dilución máxima del suero con una inhibición de la neutralización del 50% para cada muestra de suero murino de acuerdo con el método de Reed-Muench, es decir, la dilución de eficacia media EC₅₀.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV6 se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. EC₅₀ del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT ± SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 6	4948±1831

Notas:

1. número de animales, N = 10.

2. GMT (título medio geométrico): título medio geométrico.

3. SEM (error estándar de la media): error estándar.

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV6: 33C tienen buena inmunogenicidad y pueden producir anticuerpos neutralizantes con títulos altos en animales, las cuales se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir infecciones por el HPV.

Ejemplo 6.2: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV11: 33C en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia L1 fue de Uniprot P04012 y la secuencia L2 fue de Uniprot P04013.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV11 se detallan en la Tabla 5.

Tabla 5. EC₅₀ del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT ± SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 11	15024±8400

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV11: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para la prevención de la infección por HPV.

Ejemplo 6.3: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV16: 33C en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P03101 y la secuencia de L2 era de Uniprot P03107.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV16 se detallan en la Tabla 6.

Tabla 6. EC₅₀ del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT±SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 16	32449±7224

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV 16: 33C tienen buena inmunogenicidad y pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales, las cuales se pueden utilizar para preparar una vacuna para la prevención de la infección por HPV.

Ejemplo 6.4: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV 18: 33C en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot Q80B70 y la secuencia de L2 era de Uniprot P06793.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV18 se detallan en la Tabla 7.

10 Tabla 7. EC50 del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 18	18480 $\pm$ 4051

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV18: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

15 **Ejemplo 6.5: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV31: 33C en animales**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P17388 y la secuencia de L2 era de Uniprot P17389.

20 Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV31 se detallan en la Tabla 8.

Tabla 8. EC50 del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 31	5210 $\pm$ 1147

25 Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV31: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

Ejemplo 6.6: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV33 en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P06416 y la secuencia de L2 era de Uniprot P06418.

30 Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV33 se detallan en la Tabla 9.

Tabla 9. EC50 del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 33	4666 $\pm$ 1555

35 Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV33 tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

Ejemplo 6.7: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV35: 33C en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P27232 y la secuencia de L2 era de Uniprot P27234.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV35 se detallan en la Tabla 10.

- 5 Tabla 10. EC50 del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 35	2993 $\pm$ 1448

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV35: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

- 10 **Ejemplo 6.8: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV39: 59C en animales**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P24838 y la secuencia de L2 era de Uniprot P24839.

- 15 Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV39 se detallan en la Tabla 11.

Tabla 11. EC50 del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 39	25526 $\pm$ 5857

- 20 Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV39: 59C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

Ejemplo 6.9: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV45: 33C en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P36741 y la secuencia de L2 era de Uniprot P36761.

- 25 Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV45 se detallan en la Tabla 12.

Tabla 12. EC50 del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 45	755 $\pm$ 935

- 30 Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus HPV45 L1: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

Ejemplo 6.10: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV51: 33C en animales

- 35 Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P26536 y la secuencia de L2 era de Uniprot P26539.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV51 se detallan en la Tabla 13.

Tabla 13. EC50 del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 51	5528±1572

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV51: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

5 **Ejemplo 6.11: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV52: 33C en animales**

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot Q05138 y la secuencia de L2 era de Uniprot F8S4U2.

10 Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV52 se detallan en la Tabla 14.

Tabla 14. EC₅₀ del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT ± SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 52	19019±8604

15 Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV52: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

Ejemplo 6.12: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV56: 33C en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P36743 y la secuencia de L2 era de Uniprot P36765.

20 Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV56 se detallan en la Tabla 15.

Tabla 15. EC₅₀ del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT ± SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 56	2497±612

25 Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV56: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para prevenir la infección por HPV.

Ejemplo 6.13: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV58: 33C en animales

30 Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot P26535 y la secuencia de L2 era de Uniprot B6ZB12.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV58 se detallan en la Tabla 16.

Tabla 16. EC₅₀ del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT ± SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 58	19939±8459

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV58: 33C tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para la prevención de la infección por HPV.

Ejemplo 6.14: Evaluación de la inmunogenicidad de las partículas similares a los virus de L1 del HPV59 en animales

Los métodos y procedimientos experimentales fueron los mismos que en el Ejemplo 6.1. La secuencia de L1 era de Uniprot Q81971 y la secuencia de L2 era de Uniprot Q81970.

Los resultados del ensayo de titulación de la neutralización del pseudovirus sérico del HPV59 se detallan en la Tabla 17.

10 Tabla 17. EC₅₀ del ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones (GMT $\pm$ SEM)

Tipo del HPV	Valor de EC ₅₀
Tipo 59	1344 $\pm$ 335

Los resultados de la evaluación anterior muestran que las partículas similares a los virus de L1 del HPV59 tienen buena inmunogenicidad, pueden producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se pueden utilizar para preparar una vacuna para la prevención de la infección por HPV.

Ejemplo 6.15: Evaluación de inmunogenicidad de la composición inmunogénica 14-valente de partículas similares a los virus en ratones

Procedimientos de inmunización en ratones:

Una muestra consistió en las partículas similares a los virus mencionadas anteriormente de 14 tipos (tipos del HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59) que se diluyeron con adyuvante de fosfato de aluminio de manera estéril (por ejemplo, los tipos del HPV que eran de 20 μ g/mL en la muestra, se diluyeron 80 veces a 0.5 μ g/mL, siendo la concentración de otros tipos del HPV en las muestras de diferente proporción que varió en consecuencia), se utilizaron 200 μ L de la muestra de partículas similares a los virus diluida para inmunizar a cada ratón, y las dosis se muestran en la Tabla 18. Se dividieron ratones Balb/c hembra de grado SPF de 6-8 semanas de edad en grupos de 10 ratones en cada grupo (grupo experimental y grupo de control), y se inmunizaron con las muestras diluidas en los días 0, 7 y 21 respectivamente, y los ratones de control se inmunizaron con suero en blanco. Se recolectó sangre de los ojos de los ratones en el día 28 y se aislaron los sueros para el ensayo de títulos de neutralización del pseudovirus.

Tabla 18. Dosis de cada tipo del HPV en la composición inmunogénica para la inmunización en cada ratón (μ g)

Tipo del HPV	6	11	16	18	31	33	45	52	58	35	39	51	56	59
Dosis	0.15	0.2	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

30 Ensayo de titulación de la neutralización del suero en ratones inmunizados mediante ensayo de neutralización del pseudovirus:

El suero murino se inactivó a 56 °C durante 30 minutos, se centrifugó a 6000 g, 5 minutos, y se recolectó el sobrenadante para el ensayo. 4-8 horas antes del ensayo, se inocularon células 293FT a una densidad de 15,000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C en una incubadora de CO₂ con CO₂ al 5%. El suero murino inmunizado y el suero de control en blanco se diluyeron en serie con medios neutralizantes respectivamente, posteriormente se mezclaron con las muestras diluidas de 14 tipos del pseudovirus (los 14 tipos del pseudovirus del HPV son los de los tipos del HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59, preparados en los Ejemplos 6.1-6.14) en una proporción de volumen de 1:1, se incubaron a 2-8°C durante 1 h, posteriormente se agregaron 100 μ L/pocillo de la mezcla a células 293FT, las cuales se habían inoculado durante 4-8 h de antemano. Cada muestra se repitió; y se utilizó el grupo de control de suero en blanco, el grupo de control positivo del pseudovirus y el grupo de control negativo del pseudovirus. Las células infectadas por pseudovirus se incubaron a 37 °C en una incubadora de CO₂ con CO₂ al 5% durante 62-96 h, se fotografió mediante escaneo de fluorescencia y se contó en un analizador ELISPOT (No. de modelo: S6 Universal-V Analyzer, Fabricante: CTL). Sobre la base de la inhibición de neutralización de cada muestra de suero murino, se calculó la dilución máxima del suero con una inhibición de neutralización del 50% para cada muestra de

sueros murino de acuerdo con el método de Reed-Muench, es decir, la dilución de eficacia media EC50. Los resultados se muestran en la Figura 3.

Como se muestra en la Figura 3, la composición inmunogénica 14-valente de partículas similares a los virus puede producir títulos altos de anticuerpos neutralizantes en animales y se puede utilizar para preparar una vacuna para la prevención de la infección por HPV.

Ejemplo comparativo 1: Expresión de L1 del HPV16 truncada en el C-terminal (aa 1-474)

Los inventores intentaron truncar el C-terminal de L1 del HPV16 en 31 aminoácidos y lo denominaron L1 del HPV16 (1-474) (SEQ ID NO: 27). Sin embargo, en el estudio se encontró que la proteína L1 del HPV16 (1-474) truncada estaba altamente expresada, pero tiene muy poca solubilidad y es difícil de extraer y purificar; los resultados detallados de la expresión y la extracción se muestran en la Figura 4.

Apéndice 1

Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 6

SEQ ID No: 1	0601 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 6 aa 1-469 MWRPSDSTVYVPPNPVSKVVATDAYVTRTNIFYHASSSRL LAVGHPYFSIKRA NKT VVPK VSGYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVGRG QPLGVGVSGHPFLNKYDDVENS GSGGNPGQDNRVNVGMDYKQTQLCMVGCA PPLGEHWGKGKQCTNTPVQAGDCPPELITSVIQDGDMDVDTGFGAMNFADLQT NKSDVPIDICGTTCKYPDY LQMAADPYGDRLFFFLRKEQMFARHFFNRAGEVG EPVPDTLIIKGSGNRTSVGSSIVNTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQKAQGHNNGI CWGNQLFVTVVDTRSTNMTLCASVTTSSTYTNSDYKEYMRHVEEYDLQFIFQ LCSITLSAEVMAYIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLED TYRYVQSQAITCQKP TPEKEKPDYPYKNLSFWEVNLKEKFSSSELDQYPLGRKFLLQSGY
SEQ ID No: 2	0602 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 3	0603 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 6 MWRPSDSTVYVPPNPVSKVVATDAYVTRTNIFYHASSSRL LAVGHPYFSIKRA NKT VVPK VSGYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVGRG QPLGVGVSGHPFLNKYDDVENS GSGGNPGQDNRVNVGMDYKQTQLCMVGCA PPLGEHWGKGKQCTNTPVQAGDCPPELITSVIQDGDMDVDTGFGAMNFADLQT NKSDVPIDICGTTCKYPDY LQMAADPYGDRLFFFLRKEQMFARHFFNRAGEVG EPVPDTLIIKGSGNRTSVGSSIVNTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQKAQGHNNGI CWGNQLFVTVVDTRSTNMTLCASVTTSSTYTNSDYKEYMRHVEEYDLQFIFQ LCSITLSAEVMAYIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLED TYRYVQSQAITCQKP TPEKEKPDYPYKNLSFWEVNLKEKFSSSELDQYPLGRKFLLQSGYKAKPKLKRAA

	PTSTRITSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 4	0604 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 6 ATGTGGAGAGCATCTGGACAGCACAGTGTATGTGGCTCTCTCAAAACCTGTGAGCAAGGTGGTGGGTACAGA TGCTTATGTGACCAGGACCAACATCTCTTACCATGGCTCTCTCAAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACACCCATA CTTCAGCATCAAGAGGGCTAACAAGACAGTGGTGCACAAAGGTGTCTGGCTACCAATACAGGGTGTTCAGG TGGTGTCTGGCTGACCTCAACAAGTTTGGCTTGGCTGACTCTCTCTGTGTGACCTAACCACTCAGAGACTGG TGTGTGCTTGTACTGGATTGGAGGTGGTCAAGGTACAACTACTGGGATTTGGGAGTGTGTGGACACCTATT CTGAACAATATATGATGATGTGGAGAACTCTTGGCTCTGGAGGCAACCTCTGGACACAGACAACAGGGTGAATG TGGGTATGGACTACAGCAGACCCAACTTTGTATGGTGGCTGTGGCCCTCCACTGGGAGAACACTGGGGC AAGGGCAAGTAGTGTACCAACACACCTGTCCAGGCTGGAGACTGTCTCTCAATTGGAAGTGAATACCTCTGT GATTCAGGATGGAGATATGGTGGACAAAGGCTTTGGAGCTATGAATTTGCTGACCTCCAAACCAACAAGT CTGATGTGCCAATTGACATCTGGGGACCACTTGTAAATACCTTGACTAAGCTCCAAATGGCTGCTGACCTAT ATGGAGACAGACTGTTCTTCTTCTCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGGACAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGA GAGGTGGGAGAACTGTCTCTGACACCTGATTATCAAGGGCTCTGGCAACAGGACCTCTGTGGGCTCCAG CATCTATGTGAACACACCACTTGGCTCTCTGGGTCTCTGAGGCTCAACTTTCAACAAGCCATACCTGCT CTAAAAGGCTCAAGGACACACAATGGCACTGTGTGGGGCAACCAACTTTTGTGACAGTGGTGGACACCA CTAGGAGCACCAGATGACCTGTGTGGCTCTGTGGACCACTCCAGCACTACACCAACTCTGACTACAGG GAATATATGAAGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAAATCATCTTCAACTTTGTAGCATCACTGTCTGTCT GAGGTGATGCTTACATCCACACAATGAACCATGTGTGTGGAGGACTGGAACTTTGGACTGACCTCTCT TCCAAATGGCACTTGGAGGACACTACAGATATGTCCAGAGCAAGGCTATCACTTGTGAGAGGCAACAC CTGAGAGGAGAGAGCTGACCTATACAGGAACCTGTCTCTGGAGAGGTGAACCTGAAAGAGAAAGTCTCT TCTGAAGCTGGACCAATACCTACTGGGCAAGAACTTCTGTCTCAACTGTGCTACAAAGGCAAGGCAAACT GAAAGAGGCTGCTCAACCTAGCAACAGGACTCTCTGTCCAAAGAGGAGAGAGGTAAGTAAAGTAA
SEQ ID No: 5	0605 Gen sintético de L1 del HPV6

	atgggtaccATGTGGAGAGCCATCTGACAGGCACAGTCTATGTGCTCTCTCCAAATCCTGTGAGGAAGGTGGTGGC TACAGATGCTATGTGACCAGGACCAACATCTTCTACCATGCTCCCTCCAGCAGACTGCTGCTGTGGGAC ACCCATACTTCAGCATCAAGAGGGCTAACAAAGACAGTGGTGGCCAAAGGTGTCTGGCTACCAATACAGGGTG TTCAAGGTGGTGGCTGGCTGAGCCAAACAATTTGGCTGTGCTGACTCTCTCTCTTTTGGACCAACCAOCCAG AGACTGGTGTGGCTTTTACTGGATTGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGAGTGTCTGGAC ACCCATTCTGAACAATAATGATGATGTGGAGAACTCTGGCTCTGGAGGCACCTCTGGACAAGACAACAGG GTGAATGTGGGATGGATACAAAGCAGAGCCAACTTTGTATGTGAGGTGTGTCTCTCTCACTGGGAGAACAA CTGGGGCAAGGGCAAGCAGTGTACCAACACCTGTCTAGGCTGGAGACTGTCTCTCATTTGGAACTGATTA CTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGAACCTTGTGTAACTTCAAAACC AACAACTGTGTGTGTGCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAATACCTTGACTACCTCAAAATGGCTGT GACCATATGGAGACAGACTGTCTCTCTCTGGAGGAAGGAACAGATTTTGTCCAGACACTTCTTCAACAG GGCTGGAGAGGTGGAGAACTGTGTCTGACACCTGTATTATCAAGGGGTCTGTGCAACAGGACTCTGTGG GCTCCAGCATCTATGTGAACACACCATCTGGCTCTCTGTGTCTCTGTGAGGCTCAACCTTCAACAGCCAT ACTGGCTTCAAAAGGCTCAAGGACACAACAAATGGCATCTGTGTGGGCAACCAACTTTTGTGACAGTGGTG GAGATCAACAGGAGCAACCAATATGACCTGTGTGTCTGTGTGACCACTTCAGCAOCTACACCAACTGTGA CTACAAGGAATATATGAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCACTTCTGTCCAACTTTGTAGCATCAOCT GTCTGTGAGGTGATGGCTTACATCTACACAATGAACCATCTGTGTGTGGAGGACTGGAACTTTGGACTGA GCCCTCTCTCAAAATGGCACTTGGAGGACAOCTACAGATATGTGTAGAGGCTAGGCTATCACTGTGTCAAG CCAACACCTGAGAGAGGAGAAAGCTTACCTATACAAGAACTTGTCTCTGTGGAGGTGAACCTTGAAGAGA AGTTCTCTGTGAACCTGGACCAATACCCACTGGGCAGGAAGTTCTGTCTCAATCTGACTACAGGGGCAGG TCCAGCATCAGGACAGGAGTGAAGAGACTGTCTGTGAGCAAGGCATCTGTGTGCCCAAGAGGAAAGAGG CTAAGACCAAGAGGTAA
SEQ ID No: 6	0606 Gen sintético de L1 del HPV33 atgggtaccATGAGTGTGTGGAGATCACTGAGGCTACAGTCTACCTGGCTCTGTGTGTGTGAGCAAGGTGGTG AGAACAGATGAATATGTGAATCAGGACCAAGCACTACTACTATGCTGGCTGTAGAGACTGTGGCTGTGG

	ACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCTCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGGCAAAAGTGTCTGGACTCC AATACAGGGTGTTCAGGGTGGAGACTGECTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTGAGAACCTCTTTTACAAAC CTGACACCTAGAGACTGGGTGGGCTTTGTGGGATTGGAGATTGGCTAGGGGCAAAACCACTGGGAGTGGG CATCTCTGGACACCACTGCTGAACAAGTTTGTATGACACAGAGACAGGCAACAATACCTGGACAACTTG GAGCAGACAAACAGGGAGTCTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTGCTGCTGGGTGTAAAGCT CTAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGGCTCTGCCAATGACTGTCTCTCAAT GGAACTGATAAACACCATCTATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAAGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CTCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGGGCAATTGACATCTTGGCAGCACTGTAAATAGCTGACTTACCTGA AATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCTCTGTCTCTCTCTGAGGAGGGGAACAGATGTTTGTGAGACACT TCTTCAACAAGGGTGGGACCTTGGGAGAGGCTGTGGCTGTATGACCTCTACATCAAGGGCTCTGGGACCTACA GGCTAGCATCCAGTCTTGTGCTCTCTTTCACAACCATCTGGCAGTATGGTGACCTGTGAGAGCCAACCTTTC AACAGGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCAAGGTGTGTGT GACAGTGGTGGACACCAACAGGAGCAACAATATGACCTTGTGTACCAAGGTGACCTCTGACAGCACTTACA AGAAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAAATTTGTGTCCAACTTTGT AAGGTGACCTCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCTATGATATGAACCTTACATCTTGGAGGACTGTCA GTTTGGACTGACACCTCTCTCATCTGGCTCTCTCCAAAGACACCTACAGGTTTGTGACCAAGCCAGGCTATCAC TTGTACAGAGACAGTGGCTTCCAAAGGAGAGGGAGGACTCACCTGGGCAATACACCTTGTGGGAGGTGGAC CTBAAAGAGAAAGTTCTCTGTGACCTGTGACCAAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCTGTCTCAAGCAGGACT GAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGGCCCAACCAAGCACCAGGACCTCTCTGTCTCAAGGAAAGAAAG GTGAAGAAAGTAAAGatgag.etc
SEQ ID No: 7	0607 L1 F1 del HPV6 CTTGGTACCATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGT
SEQ ID No: 8	0608 L1 R1 del HPV6 GCTTGGCTTTGTAGCCAGATTGGAGCAAGAACTTCC
SEQ ID No: 9	0609 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV6

CTTGTTACCT¹⁹

ATGTTGAGACCAICTGACAGCACAGTCTAIGTGAATCTTCYAAACCTTGTAACCAAGTGT

GTGGCTACAGATGCTATGTGACTAGGACCAACATCTTCTACCATGCTTCTCCAGCAGA

CTGCTGGCTGTGGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAGGGCTAACAAGACAGTGGTGCCA

AAGGTGCTGGCTACCAATACAGGTGTTCAGGGTGGTGTGCTGCTGACTTAAACAAGTTT

GCCCTGCTGACTCTCTGCTGTGTGACCCAACCACTAGAGACTGGTGTGGGCTGTACT

GGATTGAGGTGCTGCTAGGGGACAACTCTGGAGTGGTGGTGTCTGTGACACCTATCTGT

AACAATAATGATGATGTGGAGAATCTGGCTCTGGGAGCAACCTTGGACAAGACAACAGG

CTGAATGTGGGATGGCTACAAAGCAGACCCAACCTTCTATGGTGGCTGTGGCTCTCA

CTGGGAGAACACTGGGGCAAGGGCAAGCAGTGTACCAACACATCTGTCTAAGCTGTAGAC

TGTCTTCCATGGAACTGATTAACCTGTGTGATTAGGGATGGAGATATGGTGGACACAGG

TTTGAGCTATGAACCTTGTGACCTTCAAACCAACAAGTCTGATGTGTCAATTGACATC

TGTGGACCACTTGTAAATACCTGTACCTCTCAAAATGGCTGTGCTGACTCATATGGAGAC

AGACTGTCTCTCTCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGGCCAGACACTTCTTCAACAGGGCT

GGAGAGGTGGGAGAACCTGTGCTGTACACCTTGATTATCAAGGGCTCTGGCAACAGGACC

ICTGTGGGCTCCAGCATCTAIGTGAACACACCATCTGGCTGCTGTGGTCTCTGAGGCT

CAACTTTTCAACAAAGCTATACTGGCTTCAAAAGGCTTAAAGATACAAACAATGGCATCTGT

TGGGSCAACCAACTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAAGAGCACTAATATGACTGT

TGTGCTCTGTGACCACTTCCAGCACCTACACCAACTCTGACTACAAGGAATATATGAGG

CATGTGGAGGAATATGACCTTCAATTCATCTTCAACTTGTAGCAACACCTGTGTGCT

GAGGTGATGGCTTACATTCACACAATGAATCTTCTGTGTGGAGGACTTGAACCTTGTGA

CTGAGCTCTTCCAAATGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTGACAGAGCAAGCT

ATCACTGTGAGAAAGCAACACTGTGAAGGAGAACTGTACCTATACAAGAACCTGTCT

TTCTGGGAGGTGAACCTGAAGAGAGAGTCTCTCTGAAGTGGACCAATACCTCACTGGGC

AGCAAGTCTCTGCTTCAATCTGGCTACCTAAAGCCAAGC²⁰

	[1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI [2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV6 aa 1-469 [3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No: 10	0610 L1 F2 del HPV6 ATCTGGCTACAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 11	0611 L1 R2 del HPV6 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCTCTTGGC
SEQ ID No: 12	0612 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV6 ATCTGGCTAC¹⁰ AAAGCCAAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCAGCCAGCACCAGG AUCTCTCTTGCCAAAGAGGAAAGAAAGGTAAGAAAG¹⁰TAA ATCTAGAG¹⁰CAG [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV6 aa 1-469 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 13	0613 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRE

Apéndice 2: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 11

SEQ ID No:	1101 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 11 aa 1-470
14	MWRPSDSTVYVPPPNPVSKVVATDAYVKRTNIFYHASSSRL LAVGHPYYSIKK VNKTVVPKVSGYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVGR GQPLGVGVSGHPLLNKYDDVENS GGYGGNPGQDN RVNVGMDYKQTQLCMV GCAPPLGEHWGKG TQCSNTSVQNGDCPPELITSVIQD GDMVDTGFGAMNFAD LQTNKSDVPLDICGTVCKYPDYLQMAADPYGDRLFFYL RKEQMFARHFFNRA GTVGEPVPDDLLVKGGNNRSSVASSIYVHTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQKAQ GHNNGICWGNHLFVTVDTRSTNMTLCASVSKSATYTNSDYKEYMRHV EEF DLQFIFQLCSITLSAEVMAYIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLED TYRYVQSQ AITCQKPTPEKEKQDPYKDMSFWEVNLKEKFSSSELDQFPLGRKFLLQSGY
SEQ ID No:	1102 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499
15	KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No:	1103 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 11
16	MWRPSDSTVYVPPPNPVSKVVATDAYVKRTNIFYHASSSRL LAVGHPYYSIKK VNKTVVPKVSGYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVGR GQPLGVGVSGHPLLNKYDDVENS GGYGGNPGQDN RVNVGMDYKQTQLCMV GCAPPLGEHWGKG TQCSNTSVQNGDCPPELITSVIQD GDMVDTGFGAMNFAD LQTNKSDVPLDICGTVCKYPDYLQMAADPYGDRLFFYL RKEQMFARHFFNRA GTVGEPVPDDLLVKGGNNRSSVASSIYVHTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQKAQ GHNNGICWGNHLFVTVDTRSTNMTLCASVSKSATYTNSDYKEYMRHV EEF DLQFIFQLCSITLSAEVMAYIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLED TYRYVQSQ AITCQKPTPEKEKQDPYKDMSFWEVNLKEKFSSSELDQFPLGRKFLLQSGYKAKP

	KLKRAAPTSTRITSSAKRKKVKK
SEQ ID No:	1104 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 11
17	AATGTGGAGACCATCTGACACACACAGBTTATATGTGCTTCCTCCAAACCTGTGAGCAAGGTGGTGGCTACAGA TGGCTAATGTGAGAGGAGACCAACATCTTCLACCATGGCTGCTCCAGCAAGACTGCTGGTGTGGGACACCCAT ACTACAGCATCAAGAAGGTGACACAAGACAGTGGTTCCTAAAGGTGTCTGTGCTACCAATACAGGTGTTTCAAG GGTGGTGTCTGCTGACCCAAAGCAAGTTTGGCTTGGCTGACCTCTGCTGTTTACCCAAATCAAGCAGAGACT GGGTGGGCTGTGCTGCTGATGGAGGTGGGCAAGGGGACAAACCCTGGGAGTGGGAGTGTCTGGACACCCA CTGCTGACACAAATATGATGATGTGTGAGAACTGTGGAGGCTATGGAGGCAAGCCCTGGACAAGACAACAGG TGAATGTGGGAGTGGACTACAGGAGACCCAACTTTGTATGGTGGGCTGTGCTCTCCACTGGGAGAACAC TGGGGCAAGGGCAAGCCAGTGTAGCAACATCTGTGTCAGCAATGGAGACTGTCTTCATGTGGAACTGATTAC CTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGAACCTTGTCTGACCTCCAAACCA ACAAGTCTGATGTGCACTGGACATCTGTGGCACAGTGTGTAAATACCTGACTACCTCCAAAGGGCTGT GACCCATATGGAGACAGACTGTTCTTCTACCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGGCAGACACTTCTTCAACAG GGTGGCACAGTGGTACAACTGTGGCTGATGACCTGCTGTGTGAAGGAGGCCAACAACAGGCTCTCTGTGT CATCCAGCATCTATGTGCATACACCATCTGGCTCCCTGGTGTGCTCTGAGGCTCAACTTTCAACAAGCCAT ACTGGCTCCAAAAGGCTCAAGGACACAAACAATGGCATCTGTGGGGCAAGCCACTGTTTGTGACAGTGGTG GACACTACAGGAGCACCAATATGACCTGTGTGCTCTGTGAGCAAGTCTGGCACCTACACCAACTGTGA CTACAAAGGAATATATGAGGCAATGTGAGGAGTTTGACCTCCAACTTCATCTTCAACTTTGAGCAATCCCT GCTCTCTGAGGTGATGGCTTACATTCACACAAGGAATCATCTGTGTGTGGAGGATGGAACTTTGGATGA GGCTCTCTCCAAATGGGACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTCCAGAGCCAGGCTATTACTTGTCTGAGAG CCAACTACTGAGAAGGAGAGAGCAGGACCATACAGGATATGATTTCTGGGAAGTGAACCTTGAAGAGAG AGTTCTGCTGTGAAGTGGACCAAGTTTCCACTGGGCAAGGAAGTTCTGCTCCAACTGTGCTACAAAGGCAAGC CAAAACTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCAACAGGACCTTCTCTGCAAGAGGAAGAAAGGTGAAGAGGA AA
SEQ ID No:	1105 Gen sintético de L1 del HPV11

18	ctggggaaccatgttgagagaccatcttgacagcacagttctatgttgccctccctcccaaaccttgtgagcaagggtgggtggc TACAGATGTCCTATCTGAAAGAGGACCAACATCTTCTTCACTTCCTCTCAGCAGACTGCTGCTGTGTGGAC AOUALACTTACAGCATCAAGAAAGUUGAACAAGACAGTGGTGGCAGAGGTGTCTGGCTACCAATACAGGGT GTTCAGGTGGTGGCTGGCTTGACCCAAACAAGTTTGGCTTGCTTGACTCTCCCTGTGTGACTCAAGCACCEA GAGACTGGTGGTGGCTGTGACTGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAAACCACTGGGAGTGGGAGTGTCTGGA CAUCCACTGCTGAACAAAATATGATGATGTGAGAACTTGGAGGCTATGGAGGCAACCTTGAGACAAGACA ACAGGTGAAATGTGGGATGGACTACAAAGCAGACCCAACCTTGTATGGTGGCTGTGGCTCTCCACTGGGA GAACACTGGGGCAAGGGCACCCAGTGTAGCAACACCTCTGTCCAGAAATGAGAGACTGTCTCCATTGGAAC GATTACCTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGCTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGAACCTTGCTGACCTCCA AACCACAAGTCTGATGTGGCTGGACACTTGTGGTACAGTGTGTAAATACCTTGACTACCTCCAAATGG CTGCTGACCCATATGGAGACAGACTGTCTTCTTACTTGAAGGAAGGAACAGATGTTTGGCAGACATTTCTTCA ACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAACCTGTGCTGTGACTGCTGGTGAAGGGAGGCACAACAGGTCTCTC TGTGGCATCCAGCATCTATGTGCTATACACCACTTGGCTCCCTGGTGTCTCTGAGGCTCAACTTTTCAACAA GGCATACTGGCTCTCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTTTGGGCAACCAACCTGTTTGTGACAG TGGTGGAGACCACCAGGAGCACCAATATGACCTGTGGGCTCTGTGTGAGCAAGTCTGACACCTACACCAAC TCTGACTACAAAGGAATATATGAGGCATGTGGAGGAGTTTGACCTCCAAATCACTTCCAACTTTGTAGCATC ACCTCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACATCTACACCAATGAACCCATCTGTGTGTGGAGACTGGAACCTTGG ACTGAGGCTCTCTCCAAATGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATAATGTCAGAGGCCAGGCTATCACTTGTCT AGAAAGCTAACACTGTGAGAAGGAGAAAGCAGGACCATACAAAGGATATGAGTTTCTGGGAGGTGAAACCTGAA AGAGAAGTCTCTCTGTGAACCTGGACCAAGTTTCACTGGGCAGGAAGTTCTCTCCAAATCTGGCTACAGGG GCAGGACTCTGTCTCAGGACAGGCAATCAAGAGACTCTCTGTGAGGTAAAGCAAGCACAGCCCCAAGAGGAA GAGGACCAAGACCAAGAAGTAA <i>Schlegels</i>
SEQ ID No: 19	1106 Gen sintético de L1 del HPV33 ctggggaaccatgagtggtggagaccatctgagggctacagttctacctggcctctctgtgctgtgtgagcaagggtgggtg AGCACAGATGAATATGTGAGCAGGAACAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGG

[illegible]

22

CTTGGTACT^[1]

ATGTGGAGACGATCTTACAGCACAGTCTAATGTGCTTCCTCCAAACCTGTGAGCAAGSTGGTGGCTACAGA
TTCTTATGTTAAGAGGACCAACACTTCTACTATGCTCTCTCCAGCAGACGCTGGTGTGGACACCCAT
ACTACAGCATCAAGAAAGTTGAACAAGACAGTGGTCCAAAGCTGTCTGGCTACCAATACAGGGTGTTCAA
TTTGTGTGTGCTTGTGACCAACAAGTTGGCTTGGCTGACCTTCTCTGTCTT/4CCTCAATCACTAGAGACT
GGTTTGGGCTCTGTACTGGATTGGAGGTGGGCAAGTGGACAAACCACCTGGGAGTGGGAGTGTCTGGACACCA
CTGCTGACCAAAATATGATGATGTGTGAGAACTCTGGAGGCTATGGAGGCAACCTTGGACAAAGCAACAGGG
TTAAATGTGGGATGGACTACAAACACACTTAACTTTGTATGCTGGGCTGTGGCTCTCTTACCTGGAGAACAC
TGGTCAAGGGCACCCACTGTAGCAACACCTTGTCTCAGAATGGAGACTTCTCTCCATTGTAAGTGAATTAC
CTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGAACCTTGTGACCTCCAAACCA
ACAAGTCTGATGTGCTACTGGACATCTGTGGACAGTGTGTAAATACCTGTGACTACCTCCAAATGGCTGCT
GACCTATATGGAGACAGACTGTCTCTTACTGAGGAAGGACAGATGTTTGGCAGGACCTTCTTCAACAG
GGCTGGCACAGTGGGAGAACTGTGCTGTATGACCTGTGGTGAAGGGAGGCAACAACAGGTGCTCTGTGG
CATTCAGGATCTATGTGCTATACCTATGTGCTTCCCTGGTGTCTCTTGGAGGCTCAACTTTCAACAAGCCAT
ACTGGCTTCAAAAGGCTCAAGGAGCAACAAGATGGCATCTGTTGGGGCAACTACTGTTTGTGACGTGGTG
GACACTACCAAGTAGCAGCAATATGACCTGTGTGCTCTGTGAGCAAGTCTGGCAGCTACACCAACTCTGA
CTACAAAGGAATATATGAGGCAAGTGGAGGAGTTTGAATCTCAATTAATCTTCCAACTTTGTAGCAATCACTT
GTCTGTGAGGTCATGGCTTACATCAACACAAATGAAGCTATTTGTGTGGAGGACTGGAACTTTGGACTGA
GGCTCTCTCAAAATGGCACTTTGGAGGACACCTACAGATATGTCCAGAGCCAGGCTATCACTTTTCAGAAAG
CCAAGACCTTGAAGAAGGACAAAGCAGGACCTACAAAGGATATGAGTTTGTGGGAGGTTAACTTGAAGAGA
AGTTCTGCTTGAAGTGGAGCAGTTTGCCTGGGACGGAAGTTCTCTTCAATCTGTGCTACT^[2]AAAGGCAAA

ET^[3]

[1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI

[2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV11 aa 1-470

	[3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No: 23	1110 L1 F2 del HPV11 ATCTGGCTACAAAGCCAAAGCCAAAAC TGAAAAGGG
SEQ ID No: 24	1111 L1 R2 del HPV11 CTGTCTAGATT TACTTCTTACCTTCTTCCCTTGGC
SEQ ID No: 25	1112 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV11 ATCTGGCTAC^[1] AAAGCCAAAGCCAAAAC TGAAAAGGGCTTCTTCAAGCTAGCTCCAGG ACTTCTCTCTCTCAAGAGGAGGAAGGTGAGGAAAT^[2] TAA ACTAGG^[3]ICAG. [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV11 aa 1-470 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 26	1113 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVRKRKSSRK

Apéndice 3: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 16

SEQ ID No: 27	1601 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 16 aa 1-474 MSLWLPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHYPYFPIKK PNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLPDPNKFGEFDTSFYNPDTQRLVWACVGVEVG RGQPLGVGISGHPLLNLDDTENASAYAANAGVDNRECISMDYKQTQLCLIGC KPPIGEHWGKGSPCTNVAVNPGDCPPLELINTVIQDGDMDVTGFGAMDFTTLQ ANKSEVPLDICTSICKYPDYIKMVSEPYGDSLFFYLRRREQMFVRHLENRAGAVG ENVPDDLIIKSGSGSTANLASSNYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQGHNN GICWGNQLFVTVDTTTRSTNMSLCAAISTSETTYKNTNFKEYLRHGEEYDLQFI FQLCKITLTADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGGTLEDTYRFVTSQAIAACQ KHTPPAPKEDPLKKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGL
SEQ ID No: 28	1602 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 29	1603 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 16 MSLWLPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHYPYFPIKK PNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLPDPNKFGEFDTSFYNPDTQRLVWACVGVEVG RGQPLGVGISGHPLLNLDDTENASAYAANAGVDNRECISMDYKQTQLCLIGC KPPIGEHWGKGSPCTNVAVNPGDCPPLELINTVIQDGDMDVTGFGAMDFTTLQ ANKSEVPLDICTSICKYPDYIKMVSEPYGDSLFFYLRRREQMFVRHLENRAGAVG ENVPDDLIIKSGSGSTANLASSNYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQGHNN GICWGNQLFVTVDTTTRSTNMSLCAAISTSETTYKNTNFKEYLRHGEEYDLQFI FQLCKITLTADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGGTLEDTYRFVTSQAIAACQ KHTPPAPKEDPLKKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGLKAKPKLKR

	AAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 1604	Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 16 30 ATGAGTCTGTGGCTGCACTCTGAGGCTACAGCTTACCTGGCTCTGTGCTGTGAGCAAGGTGGTGAAGCAC AGATGAATATGTTGGCAAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGCACCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACACG CATACTTTTCAATCAAGAAGCCAAACAACAACAAGATTCTGGTGCCAAGGCTGTCTGGACTCCAATACAGG GTGTTCAAGGATCACTGCTGACCCAAACAAGTTGGCTTTCCAGACACTCTTCTACAACCTTGACACC CAGAGAGTGGTGTGGGCTTTTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGATCTCTCG GACACCCACTGCTGAACAACCTGGATGACACAGAGAATGCCCTTGCCCTATGCTGCCAATGCTGGAGTGGAC AACAGGGAGTGTATAGTATGGACTACAAGCAGACCAACTTTGCTGTATTGGCTGTAAAGCTCCAATTGG AGAACACTGGGGCAAGGGCAGGCCATCTAACCAATGTGGCTGTGAACCTGGAGACTGTCTCCATTGGAACT TGATAAACACAGTGAATCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTACCACCTTC GAAGCCACCAAGTGTGAGGTGGCAGTGGACATCTGTACCAGCATCTGTAAATACCCCTGACTACATGAAGAT GGGTCTGAACCAATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAGATGTTTGTGAGACACCTGTT CAACAGGCTGTGAGCAGTGGTAGAGATATGTGGCTGATTAACCTCTACATCAAGGGCTCTGGTAGTACAGCC AACTTGGCATCAACCACTACTTTCCAACACCATCTGGCCATATGGTGAACCTCTGATGGCCAGATTTCTAACT AAGCATACTGGCTCCAAGGGCTCAAGGACACACAAATGGCATCTGTGGGGCAACCAACTTTTGTGAC AGTGTGGACACCAAGGAGCACCATATGAGTCTGTGTGCTGCCATCAGCACCTCTGAGACCACTACA AGAACACCAACTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACCTCCAATTCACTCCAACCTTGT AAGATTACCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCTACAGTATGAACAGCAACATCTGGAGGACGGAA CTTTGGACTCAACCTCTCTGTGAGGCACCTTGGAGGACACCTACAGGTTGTGACCAAGCCAGGCTATTGC CTGTGAGAAACACACACCTCTGCCCCAAAGGAGGACCACTGAAAAAATACACCTTCTGGGAGGTGAACC TGAAAGAGAAAGTTCTCTGCTGACCTGGACAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCTCTCTCAAGCAGGACTG AAAGCCAAGCCAAAACGTGAAAAGGGCTGGCCCAACCAAGCACCAGGACCTCTCTGTGCAAGAGGAAGAAAG TGAAAGAAATAAA
SEQ ID No: 1605	Gen sintético de L1 del HPV16

[illegible]

	ACACCCATACCTTCAGCATCAAGGACCCAAACCAATGACCAAGAAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCC AATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCTGACCCAAACAACTTTGGCTTTCCTGACACCCTCTTCTACAAAC CTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGTTCGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGTGACAAACACTGGGAGTGGT CATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGTATGACACAGAGACAGGCAACAAATATCCTGGACAACTTG GAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGTAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGGGCTGTAAGGCT CCAAACAGGAGAAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTATCCAAATGCTGCCCCCTGCCAATGACTGTCTCCATT GGAACTGTATAAACACCATCATTTGAGGATGGAGATATGGTGTACACAACTCTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAAATGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAATACCTGACTACCTGA AAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTCTCTCTCTGAGGAGGGAAACAGATGTTTGTGASACACT TCTTCAACAGGGCTGGCACCCCTGGGAGAGGCTCTGTGCTGATGACCTCTACATCAAAGGCTCTGGCAACCACA GCCAGCATCCAGTGCCTGCTCTCTTTCACACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGAGAGCCAACCTTTC AACAAAGCCATACTGGCTCAAAAGGGCTCAAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCAGGTGTTTGT GACAGTGGTGGAACACCAACAGGAGCAATATATGACCTGTGTACCAAGGTGACCTCTGACAGCACTTACA AGGATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTTCAATTTGTGTTCCAACTTTGT AAGGTGACCTCTGACAGCAGAGGGGATGACCTACATCTCATGCTATGAACCTGACATCTGGAGGACTGGCA GTTTGGACTGACACCTCTCTCACTGCTCTCTTCCAAGACACCTACAGGTTTGTGAGCAGCCAGGCTATCAC TTGTCAAGAGACATTTCTTCAAAGGAGCAAGGAGGACCTACTGGGCAATACACCTTCTGTGAGGTGAT CTGAAAGAGAAAGTCTCTGCTGACCTGGACCACTTTCACCTGGGCAAGGAAGTCTCTGCTTCAAGCAGGACT GAAAGCCAAAGCAAAAGTGAAAGGGCTGGCCCAAGCAAGCAGGAGCTCTGTGCAAGAGGAAGAAAG GTGAAGAAGTAAAGggga
SEQ ID No: 33	1607 L1 F1 del HPV16 CTTGGTACCATGAGTCTGTGGCTGCCATCTGAGG
SEQ ID No: 34	1608 L1 R1 del HPV16 GCTTGGCTTTCAGTCTGCTTGGAGCAGGAACTTCC
SEQ ID No:	1609 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV16

35

CTTGCTAC[1]

ATGAGTCCTTGGCTGGCACTGAGGCTACAGTCTACCTGGCTCTCTGGTGGCTGTCAGGCAAGCTGGTGAGGAC
AGATBAATATCTGCAAGGACCAACATCTACTACTATGCTGGCACTAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACACC
CATACCTTCCAATCAAGAAGCCAAACAAACAAGATTCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCCAAATACAGG
GTTCTCAGGATTTACTTGGCTGACCTAAACAAGTCTGGCTTCTCTGACACTTCTCTCTACAACTTACACT
CAGAGACTGGTCTGGCTTGGCTTGGCTTGGGAGTGGAGGTGGGCAAGGGTACAACTCTGGAGTGGGCACTCTG
GACACTCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAAATGGCTCTGGCTATGCTGGCAATGCTGGAGTGGAC
AACAGGTAGTGTATCAGTATGGACTACAGGAGAGCTCAACTTGGCTGATTGGCTGGTAAGCTTCAATGG
AGAACACTGGGGCAAGGGCAGGCCAATGACCAATGGGCTGTGAACCTGGAGACTGCTCTCAATGGAAC
TGATAAACACACTGATTCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTGGAGCTATGGACTTCACCACTCTC
CAAGCTAACAGTCTGAGGTGCCAATGGACATCTGTACCAAGCATCTGTAAATACCTGACTACATCAAGAT
GGTGTCTGAACCATATGGAGACTCTCTGGCTCTCTACCTGAGGAGGGAAACAGATGTTTGTGGAGACCTGTGT
CAACAGGCTCTGTAGCAGTGGGAGAGAAATGTGCTGTATGACTCTTACATCAAGGGCTTGGCAAGCACAGTC
AACCTGGCATCCAGCAACTACTTGGCAACACCAATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGATGCCAGATTTTAAAC
AAGCTATCTGGCTCTCAAGGGCTCAAGGACACAACTGGCACTCTTGGGGCAACCAACTTTTGTGAC
ATTGGTGGACACTCACAGGAGTACCAATATGAGTCTGTGTGCTGGCATCAGCACCTCTGAGACCACTTACA
AGAAGCTCAACTTCAAGGATATCTGAGGATGGAGAGGAAATAGGACCTTCAATTTATCTTCAACTTTGT
AAGATTAATCTTACAGGAGATGTGATGACTTACATCTACAGTATGAACAGCACCACTTGGAGGACTGGAA
CTTGGACTTCAACTCTCTCTGGAGGCACCTTGGAGGACACTTACAGGTTTGTGGACCAAGTCAGGTATTGC
CTGTGAGAAACACACACTCTGTGTCTTCAAGGAGCAGTCACTGAAAAAATACACTCTCTGGGAGGTGAACC
TGAAGAGAGTCTCTGTGACCTGGACCACTTCTCACTGGGCAGGAAGTCTGTCTTCAAGCAGGACTGT
 BAAAGCTAAGCT[2]

[1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI

[2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV16 aa 1-474

	[3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No: 36	1610 L1 F2 del HPV16 AGCAGGACTGAAAAGCCAAAGCCAAAACCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 37	1611 L1 R2 del HPV15 CTGTCTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No: 38	1612 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV16 AGCAGGACTG^[1] <u>AAAAGTCAAGTCAAAATGAAAAGGGTTCCTCAACGCTACTAGG</u> ACCTTCTCTGCCAAGAGGAAGAAGCTGAAGAAAG^[2]TAA AACTAGA^[3]CAG [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV16 aa 1-474 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 39	1613 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508 LQLGAPKFTIGPRERAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

Apéndice 4: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 18

SEQ ID No: 40	1801 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 18 aa 1-470 MALWRPSDNTVYLLPPPSVARVVNTDDYVTRTSIFYHAGSSRLLTVGNPYFRVP AGGGNKQDIPKVSAYQYRVFRVQLPDPNKFGLPDTSIYNPETQRLVWACAGVE IGRGQPLGVQLSGHPFYNKLLDTESSHAATSNVSEDVRDNVSVVDYKQTQLCILG CAPAIGEHWAKGTACKSRPLSQGDCPPELKNVTYLEDGDMVDTGYGAMDFST LQDTKCEVPLDICQSICKYPDYLMQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWNRAG TMGDTVPPQSLYIKGTGMRASPGSCVYSPSPSGSIVTSDSQLFNKPYWLHKAQGH NNGVCWHNQLFVTVDTRSTNLTICASTQSPVPGQYDATKFKQYSRHVEEYD LQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSILEDWNFGVPPPPPTSLVDTYRFVQSVAIT CQKDAAPAENKDPYDKLKFVNVDLKEKFSLLDQYPLGRKFL
SEQ ID No: 41	1802 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 42	1803 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 18 MALWRPSDNTVYLLPPPSVARVVNTDDYVTRTSIFYHAGSSRLLTVGNPYFRVP AGGGNKQDIPKVSAYQYRVFRVQLPDPNKFGLPDTSIYNPETQRLVWACAGVE IGRGQPLGVQLSGHPFYNKLLDTESSHAATSNVSEDVRDNVSVVDYKQTQLCILG CAPAIGEHWAKGTACKSRPLSQGDCPPELKNVTYLEDGDMVDTGYGAMDFST LQDTKCEVPLDICQSICKYPDYLMQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWNRAG TMGDTVPPQSLYIKGTGMRASPGSCVYSPSPSGSIVTSDSQLFNKPYWLHKAQGH NNGVCWHNQLFVTVDTRSTNLTICASTQSPVPGQYDATKFKQYSRHVEEYD LQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSILEDWNFGVPPPPPTSLVDTYRFVQSVAIT CQKDAAPAENKDPYDKLKFVNVDLKEKFSLLDQYPLGRKFLKAKPKLKRAA

	FTSTRTSSAKRKKVEK
SEQ ID No: 43	1804 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 18 ATGGCCCTCTGGAGACCTATCGATAAACAAGTGACTTGGCCCLACCCAGCGTGGCTGGGTGGTGAACAC AAAGTACTACGTCACACAGAACCTAATCTTCTACACGCTCGGTCTAGCCGCTGCTGACCTGGGCAAC CCTACTTCCGCTGCCCCGCGCGCGGGAAGAAACAAGACATCCCCAAAGTCAGCGCTATCAGTACCGG GTGTTCCGCTGCAATGCTCTATCCCAACAAGTTGGGCTGGCCGACACCTCTATCTACAACTCCGAGATC CAGAGGCTGGTCTGGGCTTGGCTCGGCTCGAGATCGGGAGGGGCCAACCCTGGGCTGGGCTTCTCTGG CCACCTCTTCTACAAACAAGCTGGACGATACCGAGTCCAGCTACGCAAGCAACAGCAAGCTCTCTCAAGATG TGGCGATAAAGCTCAAGCTGGACTACAAACAACCTCAACCTGCTGCTCTGGGATGCTCAACCTGCTATGCT GAGCATTTGGGCAAGGGGACCTCTGCAAGAGGAGGCTCTGAGCTCAAGGGGACTGCTACCTCTGGAGT TGAAGAAATACCTGCTGAGGAGCGCGACATGGTGGACACCGCTACCGCGCTATGGATTTCTCCACCTCT CAGGACACCAAGTGGGAAAGTGGCTCTGACATCTGCTCAAGCATCTGCAAGTACCTGACTACCTCCAGAT GAGCGCGGACCTCTAGGCGACAGCATGTTCTCTGTCTCAGAAAGGAAACAATTGTTGGCCCGCCACTTCTG CAACTGGCTGGCTGCAATGGTGGATACAGTCTCTCTAGAGCTTGTACATCAGGGGACCTGAAATGAGGCT AGCTCTGGCTGCTGCTACAGCTCAAGCTCTCTGGGAGCATGCTCAAGGAGATAGCTCACTCTGAA CAAGCTCTACTGGCTCCACAAAGCTCAAGGCTCAATAACGGGGTGTGTTGGCACAACAGCTGTTGCTGA CTCTCTGGGACACAACTAGGCTACAAACCTGACTATCTGGGCTAGGACCTCAAGCTCTCTCTGGGCTAG TAGGACCTCACAAAGTTCAACAATACCTCTGGGAGCTGGAGAGTACGAGCTCCAATTCTATCTCTCAACT CTGCACTCACTACCTCTACCTGGGAGCTGAAAGCTACATCCATCCATCCATCCATCCATCCATCCATCCAT GAATTCTGGGCTGGCTACCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT CACATGCTCAAGGAGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT GACCTGAAAGAGAAATTCTAGCTGGATCTGGACCACTACCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT AAAACCTGAAAGAGGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT A

SEQ ID No:	1805 Gen sintético de L1 del HPV18
44	ctgggtaccATGGGXXCTCTGGAGAGCAATCCGATAACACAGTGTACTTGGCCCCACCCAGCGTGGCCGGGTGGT GACACAGAGGACTACGTCATCAGAACTTAAATCTTCTACACGCGCGGTCTAGTGGGCTGTGTGACCGTGG GGAAACCTCTACTTTCGGCGTGGCTGGCGGCGCGGGAACAAACAAAGACATCCCAAAAGTCAGCGCTATCAG TACCGGGTGTTCGGCGTCCAACCTGCCCGATCCCAACAAGTTCGGCGTGGCGGACACCTCCATCTACAACCC GAGACCTAGAGGCTGGTCTGGGCTTGGCGTGGCGTGGAGATCGGGAGGGGCTCAACCTTGGGCTGGGGT TGTCTGGCCACCCCTTCTACAAAGCTGGACGATACGAGTCCAGCCACGCAAGCAACCAAGCTCTCC GAAGATGTGGCGGATAACGTCAGCGTGGACTACAACCAAGCTAACTGTGCATCCTGGGATGGCGACCCCG CATCGCGGAGCATTGGGCAAGGGGACCTGCTGCAAGAGCAGGGCTCTGAGCCAAAGGGACTGTCCACCC CTGGAGTTGAAGAATAACCTGTCTGGAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTACGGCGCTATGGATTCTTC CACCTTCCAGGACACCAAGTGGGAAGTGGCCCTCGACATCTGCCAAAGCATCTGCAAGTACCCCGACTACC TCCAGATGAGCGCCGACCCCTACGGCGACAGCATGTCTCTGTCTCAGAAAGGGAACAAATGTTCGCCCGC CACCTCTGGAAACCGGGCCGGCACAATGGGGAGATACAGTCCCGCCAGAGGCTGTACATCAAGGGGACCGGAA TGAGGGCCAGCTCCGGGTCTGTGTCTACAGGCCAAAGCCCTCCGGGAGCATGTGCAAGGCTATAGCCAA CTCTCAACAAGCCCTACTGGCTCCACAAGGCCAAGGGCCACAATAACGGGGTGTGTGTGGCACAACCAAGCT GTTCGTGACCTGTGTGGACACAACCAAGGTCCACAACCTGACATCTGTGCGGAGCACCTAAAGCCCGTGT CCGGCTAGTATGAGGCCACAAAGTTTAAACAATACTCTCGGACGTGGAAAGAGTACGACCTCCAATTCATC TTCCAACTCTGCACCATCACCTTCACCGCGGACGTGATGAGCTACATCCACTCCATGAACTCTTCATCGTG GAAGACTGGAAATTGGGGTGTCCACCTCCCTACCACTTCTCTGTGGACACTACAGATTCTGTGCAGAG CGTGGTCATCACATGCTAGAAAGAGCGCGCGCCCGCGAGAACAAAGACCCATACGACAAACTGAAATTC TGGAACTTCGACCTGAAAGAGAAATTCAGCTTGGATCTGGAGCAGTACCCATTGGGCAGGAAGTTCCTGT GGAAAGCTGGCTCAGGAGAAACCAACAATCGGGCCAGGAAGAGGAGGGCCCTCAGCGCAACCAACAGC AGCAAGCCCGCAAAAAGGGTCAGAGTGAAGGGCACTCAAAATAAAatgagata
SEQ ID No:	1806 Gen sintético de L1 del HPV33
45	ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCTCTCTGTGCTGTGAGCAAGGTGGT

	AGCACAGATGAATATGTBAGCAGGACACATCTACTACTATGCTGGCTTCAGCAGACTBCTGCTGTGTGGH ACACCCATACTTCAGCATCAAGAAGCCAAACCAATGCCAAGAAACTGGCTGGHGCCAAAGGTGTCTGGACTCT AATACAGGGTGTTCAGGGTGGACTTGCCTBACCAAAACAAATTTGGCTTTCTGACACCTCCTCTACAAAC CTGACACCCAGAGACTGTGTGTGGCTTTGTGTGGATTTGGAGATTGGCAGGGACAAACACTGGGAGTGG CATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCCAACAATAACCTGGACAACTGT GAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAACAGACCCAACTTTGTCTGCTGGGCTGTAAAGCTT CCAACAGGAGAACTTGGGGCAAGGGAGTGGCTTTTAACTAATGCTTCCCTTCCAAATGACTGTCTCCACTT GGAGCTGATAAAGACCATCATTTGAGGATGGAGATATGCTGGACACAGGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CTCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTGTATAATACCTTGACTACTTGA AAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCTCTGTCTTTCTTCTGAGGAAGGGAACAGATGTTTTTGAGACACT TCTTCAACAGGCTTGGCACCCTGGCTAGAGGCTGTGCTTGAATGCTCTACATCAAGGGCTCTGGCACCACA GCCAGCATCTAGTCTCTGCTTCTTTCCAACACCACTGGCAGTATGGTGAATCTCTGAGAGCCAACTTTTC AACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTGGGGCAACCAAGGTGTGTGT GACAGTGTGTGACCCATCCAGGAGCACCATAATGACCTGTGTGTAACCCAGCTGACCTTGAACAGCACTTACA AGAAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAAGGCATGTGGAGGAATATGACCTTCAATTTGTGTTCACCTTTGT AAGGTGACCTTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACCTTGACATCTTGAGGAGCTGGCA GTTTGGACTGACACCTTCTCATCTGTCTCTCTCCAAGACATCTACAGGTTTGTGATCAGCTAGGCTATCAC TTGTCAAGAGACAGTGTCTTCCAAGGAGAAAGGAGGACCCACTGGGCAAAATACACCTTCTGGGAGGTGGAC CTGAAGAGAGAAATTTCTGTGCTGACCTGGACCAATTTCCACTGGGCAAGGAATTTCTGCTTCAAGCAGGACT GAAAGCCAAGCCAAAATGAAAAGGGCTGGCCCAACCAAGCACCAAGGACCTCTCTGTCCAAGAGGAAGAAG GTGAAGAACTTAAAGTgagetc
SEQ ID No:	1807 L1 F1 del HPV18
46	C'TTGGTACCATGGCCCTCTGGAGACCATCCGATA
SEQ ID No:	1808 L1 R1 del HPV18
47	GCTTGGCTTTGAGGAACTTCCTGCCCAATGGGTAC

SEQ ID No: 1809 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV18

48

CTTGGTACCT^[1]

ATGGCCCTCTGTGGAGACCATCGATAAACACAGTGTACTTGGCCCTCAGCTTAGCTTGGCCCGGGTGGTGAACAC

AAAGGACACAGCTACCTAGAACTTCAATTTCTTACCACGCGCGGTTCAGGCGGCTTGTGACCTGTGGCAAGC

CTTACTTCGGGTGGCCCGCTGGCGGGCGTAACAACAAGACATCCCTAAGTCAGCGCTATCAGTACCTG

GTGTTCGCGTTCAACTTGCCTGATCCAAACAAGTGTGGCTTGGCGGACATCCCATCTACAACCTCGAGAC

CAGAGGCTGTCTTGGGCTTCCCTCGCGTTCAGATCTGGAGGGGCTAAAGCTTGGGCTTGGGCTGTGCTGG

CCACGCTTCTTAACAACCTGTGACGATACCTGAGTTCAGGCTACGAGCAACAGCAACCTTCCGAGAGATG

TTCGCGGATAACCTCAGCTGTGTACTACAAACAACCTCAACCTGTGGATCTGGGATGCGACCTGGCATCGC

GAGCATTTGGGCTAAAGGAGACCTCTGCAAGAGGAGGCGCTTAGCTAAAGGGGACTGTTCACCTCTGGACT

TGAAGAATACCTGTCTGAGGAGCGCGGACATGTTGGACACCTGCTACGGCGCTATGGATTCTCTACCTTC

CAGGACACCAAGTGCBAAGTGCCTCTGACATCTGCCAAAGTATCTGCAAGTACCGGACTAAGTCCAGAT

GAGCGCTGACCTCTACGGGACAGCAAGTCTTCTGTCTCAGAAAGGGAACAATGTTCGCGCGGCACTTCTG

GAACCGGGCCCGCACAATGGGAGATACAGTCTCTCAGAGCTGTACATCAAGGGGACCGGAATGAGGGCT

AGCTCTGGGTCTGCGTCTACAGCTCAAGCTCTCTGGGAGCACTCTCACAAGGATAGCGAAGCTCTTCAA

CAAGCCCTACTGCTCTCCACAAGCTCAAGGTCACAATAACGGGTGTGTGTGGCACAAGCAAGCTGTCTCTTA

CTGTGTGGACACAACCTAGGTTCACAACCTGACCATCTGCGCCAGCACCCCAAAGCTCGTGGCCGCGCAG

TACGACGACAGAAAGTTCACAACAATAGCTCTGTCACGCTGGAAGAGTACGACTTCAATTAATCTTCCAAGT

CTTCACCATTAACCTTACCTGACAGCTGATGAGCTACATCTACTCATGAAGCTCTCTATCTGTGAAGACTT

GAATTTCGGGCTTCCACCTACCTCTACCTCTCTGTGTGACACTTACAGATTCTGTGAGAGGCTGGCCAT

CACATGCGCAGAAAGAGCGCGCGCTCTCGGAGAACAAAGAGCTATACGACAAACTGAAATCTCGGAACGTC

GAGCTCAAGAGAGAAATTCAGCTTGGATCTGGACCACTACCTATTGGGCAAGGAAGTCTCTTAAAGCCAG

C^[2]

[1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI

[2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV18 aa 1-470

	[3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No: 49	1810 L1 F2 del HPV18 GAAGTTCCTCAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 50	1811 L1 R2 del HPV18 CTGICTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No: 51	1812 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV18 GAAGTTCCTC ^[3] <u>AAAGCTAAGCTAAAACCTGAAAAGTTCCTCTTCACCTAGCACTAGG</u> <u>ACCTCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAGAAG^[2]TAAATTAGAT^[1]CAG</u> [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV18 aa 1-470 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 52	1813 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 39 aa 471-508 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

Apéndice 5: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 31

SEQ ID No:	3101 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 31 aa 1-475
53	MSLWRPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSARLLTVGHPYYSIPK SDNPKKIVVPKVSGLQYRVFRVRLPDENKFGFPDTSFYNPETQRLVWACVGLE VGRGQPLGVGISGHPLLNKFDDTENSRYAGGPGTDNRECISMDYKQTQLCLL GCKPPIGEHWGKGSPCSNNAITPGDCPPELKNSVIQDGDMDVDTGFGAMDFTA LQDTKSNVPLDICNSICKYPDYLMVAEPYGDTLFFYLRRBEQMFVRHFFNRSQT VGESVPTDLYIKGSGSTATLANSTYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWMQRAQGH NNGICWGNQLFVTVVDTRSTNMSVCAAIANSDDTFKSSNFKEYLRHGEEFDL QFIFQLCKITLSADIMTYIHSMNPAILEDWNFGLTTPPSGSLEDYRFVTSQAITC QKSAPQKPKEDPFKDYVFEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGY
SEQ ID No:	3102 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499
54	KAKPKLKRAAPTSTRSSAKRKKVKK
SEQ ID No:	3103 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 31
55	MSLWRPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSARLLTVGHPYYSIPK SDNPKKIVVPKVSGLQYRVFRVRLPDENKFGFPDTSFYNPETQRLVWACVGLE VGRGQPLGVGISGHPLLNKFDDTENSRYAGGPGTDNRECISMDYKQTQLCLL GCKPPIGEHWGKGSPCSNNAITPGDCPPELKNSVIQDGDMDVDTGFGAMDFTA LQDTKSNVPLDICNSICKYPDYLMVAEPYGDTLFFYLRRBEQMFVRHFFNRSQT VGESVPTDLYIKGSGSTATLANSTYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWMQRAQGH NNGICWGNQLFVTVVDTRSTNMSVCAAIANSDDTFKSSNFKEYLRHGEEFDL QFIFQLCKITLSADIMTYIHSMNPAILEDWNFGLTTPPSGSLEDYRFVTSQAITC QKSAPQKPKEDPFKDYVFEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGYKAKPKLK

	RAAPTSTRITSSAKRKKVKK
SEQ ID No:	3104 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 31
56	ATGAGCCTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGGTACCTGCCCCCGTGTCTGTGAGCAAGGTGGTGAGGAC CGACGAGTACGTGACCAGGACCAACATCTACCAACAGGCTAGTCCCAAGGCTGCTGACCTTGGGTCACCT CCTACTACAGCATGCCCAAGAGCGACAAACCCCAAGAGATCGTGGTGCCCAAGGTGAGCGGCTCTGCACTAC AAGGTGTTCAGGGTGAGGCTGGCCGACCCCAACAAATTCGGCTTCCTGACACAGCTCTTACAACCCGGA GACCCAGAGGCTGGTGTTGGGCTGGGCTGGGCTGGAGGTGGGAGGGGCAAGGCCCTGGGCTGGGCTATC AGCGGCCACCCCTGTGTGAACAAGTTCGACGACACCGAGAACAGCAACAGGTACCGCGCGGCCCGGCA CTGACAACAGGGAGTGTCTCAATGATGACTACAAGCAGAGCCAGCTGTGCTCTCTGGGCTGCAAGGCCCTC ATCGCCGAGCACTGGGGCAAGGGCAGCGCTCTGAGCAACAACGCCATCACTCCGGGCACTGCTCCCTCT GGAGCTGAAGAACAGCGTGATTCAGGACGGCGACATGGTGACACCGGCTTCGGCGGCTATGGACTTCACC GCCCTGCAGGACACCAAGAGCAAGGTGGCTCTGGACATCTGCAACAGCATCTGCAAGTACCCGCACTACCT GAAGATGGTGGCCGAGCTCTAGCGCGACACCTGTTCTCTCACTGAGGAGGGAGCAGATGTTCTGGTGGG ACTTCTCAACAGGAGGGGCACTGTGGGCGAGAGCGGTGCTTACCGACCTGTACATCAAGGGCAGCGGCG CAGTGGCACTCTGGGCAACAGCAGCTACTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT TCTCAACAGCCCTACTGGATGCGAGAGGGCTTGGGCGACAAACAAGGCTATCTGCTGGGCGCAACAGGCTG TTCTGAGCTGTGGTGGACACCAACAGGAGGACCTCAATATGATGCTGTGGGCTGCTCTCTCTCTCTCTCTCT CACTTCAAGAGCAGCACTTCAAGGAGTACTTGAAGCACCGCGAGGAGTTCGACCTGCAGTTCATCTCTCT AGCTGTGCAAGATACCTTGAGGCGCGACATCATGAGCTACATCCAGAGCATGAACCTCGGCTATCTGTGAG GACTGGAACTTGGGCTGACTACCCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT GGCTATCAGCTGGCAGAGTCTGGGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT AGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCGGACCTGGACCACTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT GCTGCTTACAAAGCTCAAGCAAACTGAAAAGGGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT GGAAGAAAGGTGAAGAAGTAAA

SEQ ID No:	3105 Gen sintético de L1 del HPV31
57	atgggtaacATGAACCTGTGGAGGCCAGCGAAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGT GAGCAACGACBAGTAACGTGACCAGGACCAAZATCTACFACCAACGCTGGCAAGGCCAGGCTGCTGACCTG GGCCACCCCTACTACAGCACTCCCAAGAGCGACAACCCCAAGAAAGATCGTGTGCTCAAGGTGAGCGGCT GCAGTACAGGGTGTTCAGGGTGAGGCTGCCCGACCCCAACAAGTTCCGCTTCCCGACACCAGTTTCTACA ACCCCTGAGACCCAGAGGCTGGGTGTGGGCTTGGCTGGGCTTGGAGGTGGGCAGCGGCTAAGCCCTGGGGCT GGGCATCAGCGGCCACCCCTGCTGAACAAGTTGGACGACACCGAGAACAGCAACAGGTACGCCCGCGGC CCCGGCACCGACAACAGGAGTGCTATCAGCATGGAUTACAAGCAGACCCAGCTGTGCTGCTGGCTGCA AGCCCCCATCGGGGAGCACTGGGGCAAGGGCAGCCCTGCCAGCAACAACGCCATCAGCCCCGGGACTG CCCCCTTGGAGCTGAAGAACAGCTGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTTGGGGGCCATGG ACTTCACCGCCCTGCAGGACACCAAGAGCAACCTGCCCTGGACATCTGCAACAGCATCTGCAAGTACCC GACTACCTGAAGATGGTGGCGAGCCCTACGGCGACACCCCTGCTCTTACCTGAGGAGGGAGCAGATGTT CGTGAGGCACCTTCTCAACAGBAGCGGCAACGTTGGGGAGAGGCTGCCCCACGACCTGTACATCAAGGCCA GGGGCAGCACCGCTACCCCTGGCAACACGACCTACTTCCCACTCCCAAGCGGAGCATGGTGACCAGCGAC GGCCAGATCTTCAACAGCCCTACTGGATGCAAGAGGGCCAGGGCTACAACAACCGCATCTGCTGGGGCA ACGAGCTGTTCGTGACCGTGGTGGACACCACTAGGAGCACTAACATGAGCTGTGTGCCCGCCATCGCTAAC AGCGACACCACCTTCAAGAGCAGCAACTTCAAGGAGTACCTGAGGCAAGCGAGGAGGTTGACCTGCAAGT CATCTTCAGCTGTGCAAGATCACCTGAGCGCGACATCATGACCTACATCCACAGCAAGAACCCCGCA TCCTGGAGGACTGGAACTTCGGGCTGACCACTCCCCCAAGCGGCAAGCTGGAGGATACCTACAGGTTGCTG AACAGCCAGGCCATCACTGCCAGAAGTCGGCCGCCAGAAGCCCAAGGAGGACCCCTTCAAGGACTACGT GTCTGGGAGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTGAGCGCCGACCTGGACCTAGTTCCCTTGGGCAAGGAGTTCC TGCTGCAGGCGGGCTACAGGCTCAGGCTCAAGTTCAAGGCCGGCAAGAGGAGCGCTCCCTAGCGGCAAGCA CACCACCCCGCAAGAGGAAGAAAGCCAAAGAAGTAAaetagaata
SEQ ID No:	3106 Gen sintético de L1 del HPV33

58	ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGATCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGGCTCTGTTCTCTGTTGAGCAAGGTGGTGG AGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGG ACACCCATCTTCAGCATCAAGAACTCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGGCAAAGGTGTCTGGACTTC AATACAGGGGTTCAGGGTGGAGCTGCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTTGACACTCTCTTCTACAACC CTGACACTCTAGAGACTGGTGTGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGATTAATCACTGGGAGTGGG CATCTCTGGACACCCACTGCTGAAACAAGTTTGTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACTCTGGACAACTTG GAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAAGCAGACCTAACTTTGTTCTGCTGGGCTGTAAAGCT CCAAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGGCTCTGCCAATGACTGTCTCCATT GGAACTGATAAACACCATTATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CTCTCCAAGCCAACAAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGGACTTGTAAATACCTGACTACTCTGA AAATGAECTCTGAACCATATGGAGACTCTCTGTCTCTCTCTTGAGGAGGGGAACAGATGTTTGTGAGACACT TCTTCAACAGGGCTGGCACTCTGGGAGAGGCTGTGGCTGTATGACTCTACATCAAGGGCTCTGGCAGCAC GCCAGCATCCAGTCTCTGGCTCTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACTCTGTGAGAGCCAACCTTTC AACAAGCCATACTGGCTTCCAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGCCAACAGGTGTTTGT GACAGTGTGGACACCACTAAGGAGCAACAATATGACCTTGTGTACCTAAGGTGACTCTGTGACAGCACTTACA AGAAAGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTGTGGTCTCAACTTTGT AAGGTGACCTTGACAGCAGAGGTGATGACTTACATCCATGCTATGAACCTTGACATCTTGGAGGACTGGCA GTGTGGACTGTACACCTCTCTATCTGCTTCCCTCCAAGACACTACAGGTTGTGTGACAGCCAGGCTATCAC TTGTGAGAAGACAGTGGCTTCAAGGAGAAAGGAGGACCTCACTGGGCAAAATACACTTCTTGGAGGTGGAC CTGAAGAGAAAGTTCTTGTCTGACCTGGACCAAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCTGTCTCCAAGCAGGACT GAAAGCCAAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCAACCAAGCAAGGAGGCTCTCTGCCAAGAGGAAGAAG GTGAAGAAAGTAAAGctgagctc
SEQ ID No:	3107 L1 F1 del HPV31
59	CTTGGTACCATGAGCCTGTGGAGGCCCAGCGAG
SEQ ID No:	3108 L1 R1 del HPV31

60	GCTTGGCTTTGTAGCCGGCCTGCAGCAGGAACTTCCTG
SEQ ID No:	3109 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV31
61	<u>CTTGGCTACCT^[1]</u> <u>ATGAGCTCTGTGGAGGCCAGCGAAGGCCACTGCTGTAAGTGGCCCTGTTGGCCGTGAGCAAGGTGGTGGAGCAC</u> <u>CGACGAGTACGTGACCAAGGACCAACATCTATACCAAGGCTGGCAGTGGCAAGGCTGCTGACCTTGGGCCACC</u> <u>GCTACTACAGCATCTCTAAGAGCGACASCTCTAAGAAGATCTTGGTGGCCAAAGGTGAGCTGGCTTGCAGTAC</u> <u>AAGGCTTTCAGGGTGGAGGCTGGCTGGACCTCAACAAGTTCGGCTTCCCGACACCAAGCTTCTACAACCCGGA</u> <u>GACCCAGAGGCTGGTGTGGGCTTGGTGGGCTGTGAGGTGGCCAGGGGCTAGCCCTTGGGCTTGGGATC</u> <u>AGCGGCACCTCTTCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGCAACAGCAACAGGTAACCGCGGCTTGGCA</u> <u>CCGACAACAGGGAGTGCAATCAAGATGGACACAAAGCAGACCCAGCTGTGCTTGTGGGCTTGCAGGCTCCCT</u> <u>ATCTGGCAGCAGTGGGGCAAGGGCAGCTCTTGCAGCAACAAGGCCATCACCCCTGGCGACTGGCTCTCTCT</u> <u>GGAGCTGAAGAACAGCGTGATTCAGGAGGCGACATGGTGGACACCGGCTTGGGGCCATGGACTTCACG</u> <u>GTCTTGCAGGACACCAAGAGCAAGTGGATCTTGGACATCTGCAACAGCATTTGCAAGTACCCGACTACCT</u> <u>GAAGATGGTGGCCAGCTTACTGGGACACCTGTGTTCTTTTACCTGAGGAGGGGAGCAGATGTTCTGTGAGGC</u> <u>ACTTCTTCAACAGGAGCGGCACCTGTGGCGAGAGCGTGGCTACCGACCTGTGACATCAAGGGCAGCGGCAG</u> <u>CACCGCCACCTTGGCCAAACAGCACTTACTTCTCACTCTCAGCGGAGCAATGTGACTAGTGAACGCTCAGA</u> <u>TCTTCAACAAGCCCTACTGGATGCAGAGGGCTTAGGGCCACAAACAACGGCATCTGCTGGGGCAACTAGCTG</u> <u>TGTGTGACCTTGGTGGACATCACCAGGAGCACCACATGAGCCTTGGGCTCCCATGTCACCAACAGCGACAC</u> <u>CACCTTCAAGAGCAGCAACTTCAAGGAGTACCTGGAGGCACCGCGAGGAGCTTGACCTGCACTTCAATCTTC</u> <u>AGCTGTGCAAGATCACCTGAGCGCGGACATCATGACCTACATCCACAGCATGAACCTCGGCATCTGGAG</u> <u>GACTGGAACTTCGGCTTGACCACTCTCTCAGCGGCAGTCTGGAGGAGACTTACAGGTTCGTGACCAAGCCA</u> <u>GGCCATCACCTGCCAGAAAGTCTGCCCTCTCAGAAGCCCAAGGAGGACCTTCAAGGACTACGTGTTTGGGG</u> <u>AGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCGGACCTGGACCAAGTTCCTTGGGCAAGGAAGTTCCTGCTGGAG</u> <u>GTCGGCTACCTAAAGCCAAAGC^[1]</u> [1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI

	[2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV31 aa 1-475 [3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-489
SEQ ID No: 62	3110 L1 F2 del HPV31 GGCCGGCTACAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAAGG
SEQ ID No: 63	3111 L1 R2 del HPV31 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCTTGGCAGAG
SEQ ID No: 64	3112 Secuencia amplificada2 de L1 del HPV31 <u>GGCCGGCTAC</u>^[1] AAAGCCAAGCCAAAACCT/AAAAGGCTTGGCCCAACCTAGTACCAGG ACCTCTCTTGGCAAGAGGAAGAAGGTGAAGGAAG^[2] TAA ATCTAGAA^[3]CAG [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV31 aa 1-475 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-489 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 65	3113 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-505 LQLGARPEPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

Apéndice 6: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 33

SEQ ID No: 66	3301 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 MSVWRPSEATVYLLPPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYAGSSRLLAVGHPYFSIKN PTNAKKLLVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKFQFPDTSFYNPDTQRLVWACVGLEI GRGQPLGVGISGHPLLNKFDDTETGNKYPGQPGADNRECLSM DYKQTQLCLLG CKPPTGEHWGKGVACTNAAPANDCPPLELINTHIEDGDMVDTGFGCMDFKTLQ ANKSDVPIDICGSTCKYPDY LKMTSEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFENRAGTLG EAVPDDLVIKSGTTASIQSSAFFPTPSGSMVTSESQLFNKP YWLQRAQGHNNGI CWGNQVFVTVVDTTSTNMTLCTQVTS DSTYKNENFKEYIRHVEEYDLQFVFQ LCKVTLTAEVMTYIHAMNPDILEDWQFGLTPPPSASLQD TYRFVTSQAITCQKT VPPKEKEDPLGKYTFWEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGLKAKPKLKRAA PTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 67	3302 La secuencia de nucleótidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 ATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCTCTGTGCTGTGAGCAAGGTGGTGAAGCA AGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTGCAACAGACTGCTGGCTGTGGGACACC CATACTTCAGCATCAAGAACTCAACCAATGCCAAGAACTGTGTGGTGGCAAGGTGTCTGGACTTCAATAAC AGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCTGACCCAAACAAGTTGGCTTTCTGACACCTGCTTCTACAAACCTGAC ACCCAGAGACTGGTGTGGCTTGTGTGGATTTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCACTC TGGACACCCACTGCTGACCAAGTTGTATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCTGAGCAACCTGGAGCA GACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGGCTGTAAAGCTCCAAC AGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGTTGTACCAATGCTGCCCCTGCCAATGACTGTCTCCATGGGAAC TGATAAACACCACTAATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGACCTTC

	CAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATFGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAATACCTTACTACCTGAAAAI GACCTCTGAACCTATATGGAGACTTCCCTTCTTCTTCTTCCCTGAGGAGGGAACAGATGTTTGTGAGACACTTCTT CAACAGGCTTGGACCTCTGGGAGAGGCTGTGCTGTGATGACCTTACATCAAGGGCTCTGGCACTCACAAGCA GCATCCAGTCCCTCTGCTTCTTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAACCTCTGAGAGCCAACTTTTCAACA AGGCATACCTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACA GTGGTGGACACCAAGGAGCACCAATATGACCTCTGTGACCTGAGGTGACCTCTGACAGCACCTACAGAA TGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATAFGACCTCCAATTGTGTGTCCAACCTTGTAAAGG TGACCTGACAGCAGAGGTGATGACCTATCTATGCTATGAACCTGACATCTTGGAGGACTGGCACTT GGACTGACACCTTCCCTCATCTGCTTCTTCCAAGACACCTACAGGTTTGTGACCTAGCCAGGCTATCACTTGT CAGAAGACAGTGGCTCCAAAGGAGAAAGGAGGACCCACTGGGCAAAATACACCTTCTGGGAGGTTGACCTGA AAGAGAACTTCTTCTGACCTGGACCACTTTTCACTGGGCAAGGAAGTTCTCTCTCAAGCAGGACTGAAA GGCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCAACCAAGCACCTAGGACCTCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGA AGAAAGTAAA
SEQ ID No: 68	3303 Gen sintetico de L1 del HPV33 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAAGTCTACCTGCCCTCTGTGCTTGTGAGGCAAGGTGGTG AGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGG ACACTCATACTTCAGCATCAAGAACCCAAACCAATGCCAAGAAACTGCTGCTGCCAAAGTGTCTGGACTCC AATACAGGGTGTTCAAGGTGAGACTGGCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTCTCTGACACCTCTCTCTCAACAAC CTGACACCCAGAGACTGGTGTGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGG CACTCTCTGGACACCTCTGCTGAACAAGTTTGAAGACACAGAGACAGGCAACAATACTCCCTGGACAACTTG GAGCAGACAACAGGGAAGTGTGTGAGTATGGAATTACAAGCAGACCCAACCTTGTCTGCTGGGCTGTAAAGCT CCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTGTGACTCAATGCTGCCCTTGGCAATGACTGTCTCCATT GGAACTGATAAACACCATCATTAAGGATGGAGATATGGTGGACACAAGGCTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CCTCTCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATFGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAATACCTTGACTACCTGA

	AAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACAGATGTTTGTGAGACACT TCTTCAACAGGGCTGGCACCCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATCAAGGGCTCTGGCACCACA GCCAGCATCCAGTCCCTCTGCCCTCTTTCCTCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGAGAGCCAACTTTTC AACAAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCAAGGTGTTGT GACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCTGTGTACCCAGGTGACCTCTGACAGCACCTACA AGAATGAGAACCTCAAGGAAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTTGTGTTCCAACCTTTGT AAGGTGACCTTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACCTTGACATCTTGGAGGACTGGCA GTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGGTTTGTGACCAGCCAGGCTATCAC TTGTCAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGCAAATACACCTTCTGGGAGGTGGAC CTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTCCACTGGGCAGGAAGTCTCTGCTCCAAGCAGGACT GAAAGCCAAGCCAAAAC TGAAAAGGGCTGCCCAACCAGCACCAGGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAG GTGAAGAAGTAAAstegagetc
--	---

Apéndice 7: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 35

SEQ ID No: 69	3501 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 35 aa 1-472 MSLWRSNEATVYLPPVSVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSSRLLAVGHPYYAIK KQDSNKIAVPKVSGLQYRVFRVKLPDPNKFPGPDTSFYDPASQRLVWACTGVE VGRGQPLGVGISGHPLLNLDDTENS NK YVGN SGT DN REC IS MDY KQTQLCLI GCRPPIGEHWGKGTPCNANQVKAGECPPELLNTVLQDGDMDVTGFGAMDFT TLQANKSDVPLDICSSICKYPDY LKMVSEPYGDMLFFYL RREQMFVRHLFNRA GTVGETVPADLYIKGTTGTL PSTSYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQGHN NGICWSNQLFVTVD TTRSTNMSVCSAVSSSDSTYKNDNFKEYLRHGEEYDLQ FIFQLCKITLTADVMTYIHS MNPSILEDWNFGLTPPPSGTLED TYRYVTSQAVTC QKPSAPKPKDDPLKNYTFWEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGL
SEQ ID No: 70	3502 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499 KAKPKLKRAAPTSTR TSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 71	3503 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 35 MSLWRSNEATVYLPPVSVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSSRLLAVGHPYYAIK KQDSNKIAVPKVSGLQYRVFRVKLPDPNKFPGPDTSFYDPASQRLVWACTGVE VGRGQPLGVGISGHPLLNLDDTENS NK YVGN SGT DN REC IS MDY KQTQLCLI GCRPPIGEHWGKGTPCNANQVKAGECPPELLNTVLQDGDMDVTGFGAMDFT TLQANKSDVPLDICSSICKYPDY LKMVSEPYGDMLFFYL RREQMFVRHLFNRA GTVGETVPADLYIKGTTGTL PSTSYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQGHN NGICWSNQLFVTVD TTRSTNMSVCSAVSSSDSTYKNDNFKEYLRHGEEYDLQ FIFQLCKITLTADVMTYIHS MNPSILEDWNFGLTPPPSGTLED TYRYVTSQAVTC QKPSAPKPKDDPLKNYTFWEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGLKAKPKLK

	RAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 72	3504 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 35 ATGAGTCTGTGGAGGAAGCAATGAGGCTACAGTCTACCTGGCTCCTGTGTCTGTGAGCAARFTGGTGAACAC AGATGAATATGTGACAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGGTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACACC CATACTATGCCATCAAGAAGTAGGACAGCAACAAGATTCCTGTCCTCAAAAGGTGTCTGGACTCCAAACACAGG GTGTTCAGGGTGAAGCTGGCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTTGACACCTCTCTCATGACCTCTGGCAGC CAGAGACTGGTGTGGGCTTTTACTGGAGTGAAGTGGGCAGGGGACAACTACTGGAGTGGGCATCTCTG GACACCTACTGCTGAACAACCTGGATGACACAGAGAACAGCAACAAATATGTGGTCAACTCTGGACAGAA CAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTCTCTGATGGCTGTAGACCTTCAATTG GAGAACTCTGGGCAAGGGCACACCACTGTAAATGGCAACCAAGGTGAAGGTGGAGAGTGGCTCTCATTTGGA ACTGCTGAACACAGTCTCCAAAGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTACCAACCC TCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCTGTCCAGCACTGTAAATACCTTGACTACCTGAAA ATGGTGTCTGAACCATATGGAGATATGCTGTCTTCTACCTGAGGAGGGAAACAGATGTTGTGTAGACACCT GTTCAACAGGCTGGGACAGTGGGAGAGACAGTGGCTGCTGACCTTACATCAAGGGCAACACAGGCACTC TGCCAAAGCACTCTACTTTCCAACCACTCTGGCAGTATGGTGACCTCTGATGCCAGATTTTCAACCAAGC CATACTGGCTTCAAAGGGCTCAAAGGAGACAACAATGGCATCTGTGGAGCAACCAACTTTTTGTGACACTG GTGGACACCAACAGGAGCAACAATATGAGTGTGTGTCTGTGTGTCTTCTGTGACAGCACTTACAAGAA TGACAACTTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACTTCAAACTGATCTCTCAACTTGTGAAGA TTAACCCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAACCAAGCATCTTGGAGGACTGGAACCTT GGAGTGACACCTCTCTCACTGTGGCACTTGGAGGACACCTACAGATATGTGACCAAGCCAGGCTGTGACTTG TCAGAAAGCCATCTGCTTCAAAGCCAAAGGATGACCCACTGAAAAACTACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGA AAGAGAAGTCTCTCTGTGACCTGGACAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTCTCTGTCTCAAGCAGGACTGAAA GCCAAGCCAAACTGAAAAAGGGCTGCTTCAAGCAGCAACAGGACCTCTCTGCTCAAGAGGAAGAAGGTGA AGAACTAAA

SEQ ID No:	3505 Gen sintetico de L1 del HPV35
73	ctgggtaacATGAGTCTGTGGAGGAGCAATGAGGCTACAGTCTACCTGCCCTCTGTGTTCTGTGAGCTAAGGTGGT GAGCACAGATGAATATGTGAACGAGGACCAACAPCTACTAATCATGCTGGCTGCCAGCAGACTGCTGGCTGTGG GACACCCATACATATGCCATCAAGAAGCAGGACAGCAACAAGATTGCTGTGCCAAAGGTGTTCTGGACTCCAA TACAGGGTGTTCAGGGTGAAATGCTGTGACCAACAAGTTTGGCTTTCTGACACCTCTCTCTATGACCTT GCTAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTACTGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGATCAACACATGGGAGTGGCA TCTCTGGACACCCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAACAGCAACAATATGTGGGGAACCTCTGGC ACAGACAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGATTTGGCTGTAGACCTCC AATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGCACACCAATGTAAATGCCAACCAGGTGAAGGCTTGGAGAGTGTCTCCA TTGGAACTGCTGAACACAGTGTCTCAAGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTGGAGCTATGGACTTCAC CACCTGCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGTCCTGTGACATCTGTTCCAGCATCTGTAAATACCTTGACTACCT GAAAATGTTGTTCTGAACCAATATGGAGATATGCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAGATGTTTGTGAGAC ACCTGTTCACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAGACAGTGGCTGCTGACCTCTACATCAAGGGCACCCACAGGC ACCTTGCCAAGCACTGCTACTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGCTGAACCTCTGATGCCCAGATTTTCAAC AAAGCATACTGGCTCCAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTGGAGCAATCAACTTTTGTGAC AGTGTGTGACACCACTAGTAGCAACAATATGAGTGTGTGTTCTGCTGTGTCTCTCTGTGACAGCACCTACA AGAATGACAACCTTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGGAATATGACCTCCAAATTCATCTTCCAACCTTGT AAGATTAATCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAACCAAGCATTTTGGAGGACTGGAA CTTTGGACTGACACCTCTCCATCTGGCACCTTGGAGGAACCTACAGATATGTGACCAAGCCAGGCTGTGA CTGTGCAGAAAGCATCTGCCCAAGGCAAGGATGACCTACTGAAAAACTACACCTTTTGGAGGTTGGAC CTGAAAGAGAAATCTCTGCTGACCTGGACCTAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCTGCTCCAAGCAGTACT GAAAGCCAGACCAAACTTCAGATTTGGTAAGAGGGCTGCTCTGCCAGCACCTAGCAAGAAATCTAGCACCC AAGAGGAGGAAGGTGAAGAGCTAAAGagagctc

SEQ ID No:	3506 Gen sintético de L1 del HPV33
74	ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCTCTCTGTGCTGTGAGCAAGGTGGTG AGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCTCAGCAGACTGCTGGCTGTGTG ACACCTATACTTCAGCATCAAGAACCCTAACCAATGCCAAGAAACCTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCC AATACAAGGTGTTTCAGGGTGAGACTGCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTGTGACACCTCTCTTCTACAACC CTGACACCCAGAGACTGCTGTGGCTTTGTGTGGATGTGAGATTGGCAGGGGACAACCAATGGGAGTGGG CACTCTGGGAAGCTACCTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCCAACAAATACCTTGAGCAAGCTG GAGCAGACAACAGGGAGTGTGTGAGTATGGACTACAAAGCAGACCCAACTTTGTGTGCTGGGCTGTAAAGCT CCAACAGGAGAACACTGGGCAAGGGAGTGGCTGTGTACCAATGCTGTCTCTGTCAATGAGTGTCTCTCAAT GGAACTGATAAACACCATCATTTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CCTTCCAAGCTAACAAAGTCTGATGTGCCAATGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAATACTTGACTACTTGA AAATGACCTCTGAACCATATGGAGACCTCTCTCTCTCTCTCTCTGAGGAGGGGAACAGATGTGTGTGAGACACT TCTTCAACAGGCTGGCACCTTGGGAGAGGCTGTGCTGTATGAACTCTACATCAAGGGCTGTGGCACCA GCCAGCATCCAGTCTCTGCTCTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAACCTCTGAGAGCCAACTTTC AACAACTCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGAACCAACAATGGCATCTGTGGGGCAACAGGTGTGTGT GACAGTGGTGGACACACAGGAGCAACAAATGATCTGTGTGCTCAGGTGACCTGTGACAGCACTTACA AGAAAGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAAATTTGTGTTCCAACTTTGT AAGGTGACCTTACAGCAGAGGTGATGAGCTACATCTCATGAACTCTGACATCTGGAGGACCTGGCA GTTTGGACTGACACCTCTCTCACTGTGCTCTCTTCCAAGACACCTACAGGTTTGTGACCAAGCCAGGCTATCAG TTGTCAATAGACAGTGGCTCTAAAGGAGAAAGGAGGACCCACTGGGCAATACACCTCTCTGGAGGTGTGAC CTGAAAGAGAAATTTCTGTGCTGACCTGACACCACTTCTCACTGGGCAGGAAGTTCTCTGCTTCCAAGCAGGACT GAAAGCTCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGGCCCAACCAAGCACCAGGAGCTCTCTTGTCCAAAGAGGAAGAG GTGAAGTAAAGTAAAGTGAAGT
SEQ ID No:	3507 L1 F1 del HPV35
75	CTTGGTACCATGAGTCTGTGGAGGAGCAATGAGG

SEQ ID No:	3508 L1 R1 del HPV35
76	GCTTGGCTTTCAGTCCTGCTTGGAGCAGGAACTTCC
SEQ ID No:	3509 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV35
77	<u>CTTGGTACCT</u> ATGAGCTCTGTGGAGGAGCAATGAGCTACAGTCTACCTGGCTTCTGTGTCCTGTAGCAAGGTGGTGAGCAC AGATGAATATGTGACCAAGGACTTACATCTACTACTCAATGTGGCTTCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACAC CATACATATGCCATCAAGAAGCAGGACAGCAACAAGATTGCTGTGGCTAAAGGTGCTGTGACTTCAATACAGT GTGTTCAAGGGTGAAACTGGCTGACCTCAAAACAAGTTTGGCTTCTGTGACACTCTCTCTATGATCTGGCAAG CAGAGACTGATGTGGCTTGTACTGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCATCTCTG GACACCCACTGCTGAACAAACTGGATGACACAGAGAACAGCAACAATATGTGGGCAACCTGGGCACAGA CAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAAGCAGACTCAACTTCTCTGATTTGGCTGTAGACTTCCAATTG GATGAACACTGGGGCAAGGGCACACCATGTAAATGCTAACCAGGTGAAGGCTGGAGATGTCTCTCAATGGG ACTGCTGAACACAGTGTCTCAAGATGGAGATAAGTGGACACAGGCTTTGGGACTTGGACTTCAACCACT TCGAAGCCAACAAGCTGATGTGGTCACTGGACATCTGTTCAGCACTGTAAATACCTGACTTACTTGA ATGGTGTCTGAACCATATGGAGATATCTGTCTCTCTACCTGAGGAGGGGAACAGATGTTTGGAGACACCT GTCTAACAGGCTTGGCACAGTGGAGAGATAGTGGCTCTGTGACTCTACATCAAGGGCACACAGGCACTT TGCCAAGCACCCTCTACTTTCACACCACTCTGGCAGTATGGTGACCTCTGGTGGTCAAGATTTCAACAAGC CATACTGGCTTCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTGGAGCAACCAACTTTTGTGGACAGTG GTGGACACCACAGGAGCACCAATATGACTGTGTCTCTCTGTGTGTCTCTCTGTGACAGCACCTACAAGAA TGACAACCTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTGTGAAG TTACCTTGACAGCAGATGTGATGACCTACATTCACAGTATGAACCTCAAGCATCTTGGAGGACTTGAACCTT GGACTGACACCTCTCTCTCTGTGGCACTTGGAGGACACCTACAGATATGTGACAGCAAGGCTGTGACTTG TCAGAAGCCATCTGGCTCAAGCCAAAGGATGACTCACTGAAAAACCTACACCTTCTGGGAGGTGGACTGA AAGAGAGTCTCTGTGCTGACCTGGACCACTTCCACTGGGCAGGAAGTCTCTGCTCCAAACAGGACTGTAA AGTCAAGCT

	[1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI [2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV35 aa 1-472 [3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No: 78	3510 L1 F2 del HPV35 AGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAC TGAAAAGGG
SEQ ID No: 79	3511 L1 R2 del HPV35 CTGICTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCTCTTGG
SEQ ID No: 80	3512 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV35 AGCAGGACTG¹ AAAGCCAAGCCAAAAC TGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG ACCTCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAA² TAA ATCTAGA³CAG [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV35 aa 1-472 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 81	3513 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

Apéndice 8: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 39

SEQ ID No:	3901 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 39 aa 1-469
82	MAMWRSSDSMVYLPSPSVAKVVNTDDYVTRTGIIYYAGSSRLLTVGHPYFKV GMNGGRKQDIPKVSAYQYRVFRVTLDPNKFSPDASLYNPETQRLVWACVGV EVGRGQPLGVGISGHPLYNRQDDTENSFSSSTTNKDSRDNVSVDYKQTQLCHG CVPAIGEHWGKGKACKPNNVSTGDCPPLELVNTPIEDGDMIDTGYGAMDFGAL QETKSEVPLDICQSICKYPDYLOMSADVYGDSMFFCLRREQLFARHFWNRGGM VGDAIPAQLYIKGTDIRANPGSSVYCPSPSGSMVTSDSQLFNKPYWLHKAQGHN NGICWHNQLFLTVVDTRSTNFTLSTSISSIPSTYDPSKFKEYTRHVEEYDLQFI FQLCTVTLTTDVMSYIHTMNSSILDNWNFAVAPPPSASLVDTRYLQSAAITCQ KDAPAPEKKDPYDGLKFWNVDLREKFSLELDQFPLGRKFL
SEQ ID No:	3902 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508
83	LQLGARPKFTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK
SEQ ID No:	3903 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 39
84	MAMWRSSDSMVYLPSPSVAKVVNTDDYVTRTGIIYYAGSSRLLTVGHPYFKV GMNGGRKQDIPKVSAYQYRVFRVTLDPNKFSPDASLYNPETQRLVWACVGV EVGRGQPLGVGISGHPLYNRQDDTENSFSSSTTNKDSRDNVSVDYKQTQLCHG CVPAIGEHWGKGKACKPNNVSTGDCPPLELVNTPIEDGDMIDTGYGAMDFGAL QETKSEVPLDICQSICKYPDYLOMSADVYGDSMFFCLRREQLFARHFWNRGGM VGDAIPAQLYIKGTDIRANPGSSVYCPSPSGSMVTSDSQLFNKPYWLHKAQGHN NGICWHNQLFLTVVDTRSTNFTLSTSISSIPSTYDPSKFKEYTRHVEEYDLQFI FQLCTVTLTTDVMSYIHTMNSSILDNWNFAVAPPPSASLVDTRYLQSAAITCQ KDAPAPEKKDPYDGLKFWNVDLREKFSLELDQFPLGRKFL.LQLGARPKFTIGPR

	KRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK
SEQ ID No:	3904 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 39
85	ATGGCTATGTGGAGGTCCTCTGACAGTATGGTCTACCTACCTCTCTCTATCTGGGCTAAAGTGGTGAACACA GATGACTATGTGAACAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGACACCE ATACTTCAAGGTGGGATGAAATGAGGACAGGAAGCAGGACATCCCAAAGGTGCTGCTTACCAATACAGG GTGTTCAGGGTGACCTTGCTGACCCAAACAGTTTCAGCATTCCTGATGCTCTCTCTACAACTCTGAGACC CAGATGACTGGTGTGGCTTTGTGTGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCATCTCTG GACACCTACTCTACAAACAGACAGGATGACACAGAGAACAGTCCATPTTCCAGTACCACCAACAAGGACAG CAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAAGCAGACCCAACTTTGTATCAATTGGCTGTGTGCTGTGCAATTGGAG AACACTGGGGCAAGGGCAAGGCTTGTAAAGCCAAACAATGTGAGGACAGGAGACTGTCTCTCCATTGGAAT GGTGAACACACCAATTGAGGATGGAGATGTGATGACACAGGCTATGGAGCTATGGACTTTGGAGCCCTCC AAGAGACCAAGTCTGAGGTGGCACTGGACATCTGTGAGAGCATCTGTAAATACCTGACTACCTCCASATG AGTGGCTGATGTCTATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTGCTGAGGAGGGGAACAACCTTTTGGCCAGACACTTCTGG AACAGGGGAGGGATGGTGGGAGATGCCATCTGTGCCAACTCTACATCAAGGGGACAGACATCAGGGCTA ACCTTGGCTCCTCTGTCTACTGTCCAAAGCCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGACAGCCAACTTTTCAACA AGCTATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATGGGTATCTGTTGGGCACAACCAACTTTTCTGTACA GTGGTGGACACCAACAGGAGCACCAACTTCACCTTGAGCACCAAGCATTTGAGTCCAGCATCCCAAGCACCTA TGACCCAAAGCAAGTTCAAAGGAATACACCAAGGCATGTGGAGGAATAAGACCTGCAATTCACTTCCAACTT GTACTGTGACCTTGACACAGATGTGATGAGTTACATCCACACAATGAACCTTCAGCATCTTGGACAACTGG AACCTTGGCTGTGGCTCTCTCTCCATGTGGCTCCCTGGTGGACACCTACAGATACCTTCCAACTGTGTGCTATC ACTTGTGAGAAGGATGCCCTTGCCCTGAGAAAGAAAGGAACCATATGATGGACTGAAGTTCTGGAATGTGGA CTTGAGGGAGAAAGTCTCTCTTGGAACTGGACAGTTTCCACTGGGACAGGAAGTCTCTGTCCAACTTGGAG CCAGACCAAAAGCCAACTATTGGATCAAGGAAGAGAGGCTGCTCCCTGCCCCAAACAGGACACCAAGGCCAAA GAGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAGGTAAA

SEQ ID No:	3905 Gen sintético de L1 del HPV39
86	ctgggtaccatggctatgtgtggagggtccctctgacacatatttggtctacctggcctccctccacatctgttggcttaagggttggtg aacacagatgac/tatgtgaccaggacagggcatttactactatgcttggctccagcagactgttgacagtggg acacccatacttcaagggtgggcatgaaatggaggcaggaaagcaggacatcccacaaaggctgtctggcctaccaa tacaggggtgttcagggttgacctctgcttgacccaacaaagttcagcatcccttgatgcttccctctacaaac/tc gagaaacctagagacttggtgtgggctttgtgtgggagttggagggtgggcaggggacaaaccttgggagtgggca tctctggacacccactctacaacagacagatgacacagagaacagcccatctctccaggaccaccaacaag gactagcaggacaaatgtgtctgttgacttacaaggcagacccaactttgtatctattggctgtgtggcctggcat tggagaaacactggggcacaaggccacggcttgttaagccaaacaatgtgagcagacagagactgtctctccattg gaactgttgaaacacaccaatttgaggatggagatattgattgacacaggttatggagctatgactttggagc ccctccaaagagaccaaggtctgagggtggcactggacatctgttcagagcattctgttaaataccctgactacctcc aaatgagtgctgattgttctatggagacagttatgttcttctgtctgaggaggggaaacaactttttgcccagacact tctggaacacgggaggggattgggtgggagatgcccattcccttgccc/aactctacatcaagggttacagacatccag ggctaaccctggcctgtctgtcttactgtgccaagcccatctggcaggtatgggtgacctctgacagccaaacttct caacaagccatcttggctgacacaaggctcaaggcacaacaatggcattctgttggccacaaaccaacttttcc tgaacattgttgacac/cac/agggagc/accaacttcaaccttgagcaccagcattgagttccagcattcccaggc acctatgacctcaagcaagttcaaggaaatcacaccaggcatgttgagggaatatgacctcaattcatcttcca actttgtactgtgaccttgaccacagatgtgatgagttacatccacacaattgaacttcagcatcttgagaca actggaaacttttgcgtggctccctgctccatctgcttccctgggtggacacctacagat/ccttccaattctgctg ccat/cactttgtcagaaggatggccctg/ccttgagaaagaaaggaccatattgatggactgaagttctggaat gtggacctgagggagaaagttctccttggaaactggaccagttttccactgggcagggaagttcctgctccaaagc cagggtgaggagagacc/aaccttggacaaaggaaagaa/cacttgcctgtcagcaccttccctctctgttggcca ccaaacacaaaggaggaaagagggtgagc/aagttaaAutogagata

SEQ ID No:	3996 Gen sintetico de L1 del HPV59
87	ctgggtaccATGGCTCTTGTGGAGCTGCTCTGACAAACAAGGTCTAOCCTGCCTCCTCTATCTGTGGCTAAAGGTGGTG AGCACAGATGAATATGPGACCCAGGACCAGCACTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGG ACACCCATACTTCAAGGTGCCAAAGGGAGGCCAATGGCAGACAGGATGTGCCAAAGGTGTGTGCTTACCAAT ACAGGGTGTTCAGGGTGAACTGCTGACCCAAACAAGTTGGACTGCTGACAAACACAGTCTATGACCCA AACAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTGTGTGGAGTGGAGATGGCAGGGGACAAOCTACTGGGAGTGGGAC TGCTGGACACCCACTCTACAACAACTGGATGACACAGAGAACCTCATGTGGCATCTGCTGGAGACAC AAAGGACACCAAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACCTTGTATCATTTGGCTGTGTGCTGCTGC CATTGGAGAACACTGGACCAAGGGCAGAGCTGTGAAGCCAACCCACAGTGGTCCAGGGAGACTGTCTCCAT TGGAACCTGATAAACAACCAATTTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGGACTTCAA ACTGCTCCAAGACACAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTGACAGGATCTGTGAAATACCTTGACTACC TCCAAATGAGTGTCTGATGCCATGGAGACAGTATGTCTTCTGTCTGAGGAGGGAAACAGGTGTGTGCCAGA CACTTCTGGACACAAGGTCTGGCACAATGGGAGACCAACTCTCTGAGTCCCTTACATCAAGGGCACAGACT CAGGGCTAACCTTGGCTCTTACTCTTACAGCCCAAGCCATCTGGCTCTGTGGTGGACTCTTGACAGCTAACT TTTCAACAAGCTTACTTGGCTGACACAAGGCTCAAGGACTGAAACAATGGCATCTGTTGGCACAAACCACTT TCTTGACAATGTGGACACCAACAGGAGCAACCAACTGTCTGTGTGTGGCAAGCACCACCTCCAGCATCCA AATGCTTACACACCAACTCTCTCAAGGAATATGCCAGGCATGTGGAGGAGTTTGACCTCCAATTCATCTT CAACTTGTAAAGATACCTTGACCACAGAGGTGATGAGTTACATCCACAATATGAACACCACCAATCTTGA GGACTGGAACTTGGAGTGACACCTCTTCCAACAGGCTCCCTGGTGGACAACCTACAGGTTGTCTAGTGTGC TGCTGTGACTTGTGAGAAAGACACAGCCCTCTCTGTGAAGCAGGACCCATATGACAAACTGAAGTTGTGGC CTGTGGACCTGAAGAGAGGTCTCTGCTGACTTGGACCTAGTTTCTACTGGGACAGGAAGTTCTCTGTCCAA CTTGGAGCCAGAACCAAGCCAAACCATTTGGACCAAGGAAGAGGGCTGCTCTGTGTCTCAAGTACACACCAA GCCCAAACAGGGTGAAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAAGTAAAGctgaggtg
SEQ ID No:	3907 L1 F1 del HPV39

88	CTTGGTACCATGGCTATGTGGAGGTCCTCTGACAGTAT
SEQ ID No:	3908 L1 R1 del HPV39
89	TCCAAGTTGGAGCAGGAACTTCCTGCCCAGTGGAAACT
SEQ ID No:	3909 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV39
90	CTTGGTACC⁶² <u>ATGECTATGTGGAGGTCCTCTGACAGTATGCTTACTTGGCTTCCTCTATCTGTGGCTAACGCTGTGAACACA</u> <u>GATGACTATGTGACCAAGACAGGCATCTACTACTATGCTTGGCTTCAGCAGACTGTGTACACTGGGACACCTC</u> <u>ATACTTCAAGGTGGGTATGAATGTAGGCAAGAAACAGGACATCCCAAAGTGTGTGTCTACTACTAATACAGG</u> <u>GTGTTCAGGGTGACCTTGGCTGACCTAAACAAGTTCAGCATTCCTGATGCTCTCTTACAACTCTGAGACT</u> <u>CAGAGACTGGTGTGGCTCTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCTACTGGGAGTGGGCATCTCTG</u> <u>GACACTTACTTACAAACAGACAGGATGACACAGAGAACAGCTTCTTCAGGCACTACAAACAAGGACAG</u> <u>CAGGACAAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCTAACTTGTATCATTGGCTGTGTGCTTGGCTATGGAG</u> <u>AACACTGGGCAAGGGCAAGGCTTCTTAAGCTAAACAATGTGAGTACAGGAGACGTGTCTCTCATTTGGAAC</u> <u>GGTAAACACACCAATGTGAGGATGGAGATAAGATTTACACAGGCTATGGACCTATGGACTTTGGAGGCTCTC</u> <u>AAGAGACCAAGTGTGAGGTGGCTACTGGACATCTGTGAGAGCATCTGTAAATACCTTGACTACCTCCAAATG</u> <u>AGTCTGTATGTCTATGTGAGACATATGTTCTCTCTGTCTCAGGAAGGGAACAACTTTTGTGAGACACTTCTGG</u> <u>AACAGGGGAAGGATGGTGGGAGATGCTCATCTCTGGCTAACTTTACATCAAGGGTACAGACATCAAGGCTA</u> <u>AGCTTGGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT</u> <u>AGGCATACTGGCTGACAAAGGCTCAAGGACACAAACAATGGCATCTGTGTGGCACAACCAACTTTCTCTGACA</u> <u>GTGGTGGACACCACTAGGAGCCTCAACTTCACTCTGAGCACCAGCATTTAGTCCAGCATCCCAAGCACCTA</u> <u>TGAUCTAAGCAAGTGTAAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTTCAATTTATCTTCCAACTTT</u> <u>GTACTGTGACTTGAACACAAATGTGATGATTTATCTTACACAAATGAATTCAGCATCTCTGACAACTG</u> <u>AACTTGGCTGTGGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT</u> <u>ACTTGTACAGAAAGGATGCCCTTGGCTGTGAGAAGAAAGGACTCATATGATGGACTGAAGTCTGTGAATGTGGA</u> <u>CTCTAGGAGAGAAGTGTCTCTTGGTAACTTGTACTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT</u>

	CTCCAACTTGGAA^[1] [1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI [2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV39 aa 1-469 [3]: 12 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV59 aa 471-508
SEQ ID No: 91	3910 L1 F2 del HPV39 AGGAAGTTCCTGCTCCAACCTTGGAGCCAGACCAAAGC
SEQ ID No: 92	3911 L1 R2 del HPV39 CTGTCTAGATTIACTTCCTGCTGGACTTCCTCCTCTTCAC
SEQ ID No: 93	3912 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV39 AGGAAGTTCCT^[1] CTCCAACTTGGAGCCAGACCAAAGCCACCATTGGATCCAAGGAAGAGGGCTGCCCTTGCCTCAACCAGCA CACCAAGCCCAAGAGGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAAGGAAG^[2] TAA ATCTAGAT^[3]CAG [1]: 12 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV39 aa 1-469 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 38 aminoácidos de L1 del HPV59 aa 471-508 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 94	3913 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499 EAKPKLERAAPTSTRTSSAKRKKVKK

Apéndice 9: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 45

SEQ ID No:	4501 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 45 aa 1-473
95	MALWRPSDSTVYLP PPSVARVVNTDDYVSRTSIFYHAGSSRLLTVG NPYFRVVP SGAGNKQAVPKVSAYQYRVFRVALPDPNKFGLPDSTIYNPETQRLVWACVGM EIGRGQPLGIGLSGHPFYNKLLDDTESAHAATAVITQDVRDNVSV DYKQTQLCIL GCVPAIGEHWAKGTLCKPAQLQPGDCPPLELKNTHIEDGDMVDTGYGAMDFST LQDTKCEVPLDICQSICKYPDY LQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWNRAG VMGDTVPTDLYIKGTSANMRETPGSCVYSPSPSGSITTSDSQLFNKPYWLHKAQ GHNNGICWHNQLFVTVVD TTRSTNLTLCASTQNVPVNTYDPTKFKHYSRHVEE YDLQFIFQLCTITLTAEVMSYIHS MNSSILENWNFGVPPPPPTTSLVD TYRFVQSV AVTCQKDTTPPEKQDPYDKLKFWTVDLKEKFSSDL DQYPLGRKFLVQAGL
SEQ ID No:	4502 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499
96	KAKPKLKRAAPTSTR TSSAKRKKVKK
SEQ ID No:	4503 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 46
97	MALWRPSDSTVYLP PPSVARVVNTDDYVSRTSIFYHAGSSRLLTVG NPYFRVVP SGAGNKQAVPKVSAYQYRVFRVALPDPNKFGLPDSTIYNPETQRLVWACVGM EIGRGQPLGIGLSGHPFYNKLLDDTESAHAATAVITQDVRDNVSV DYKQTQLCIL GCVPAIGEHWAKGTLCKPAQLQPGDCPPLELKNTHIEDGDMVDTGYGAMDFST LQDTKCEVPLDICQSICKYPDY LQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWNRAG VMGDTVPTDLYIKGTSANMRETPGSCVYSPSPSGSITTSDSQLFNKPYWLHKAQ GHNNGICWHNQLFVTVVD TTRSTNLTLCASTQNVPVNTYDPTKFKHYSRHVEE YDLQFIFQLCTITLTAEVMSYIHS MNSSILENWNFGVPPPPPTTSLVD TYRFVQSV AVTCQKDTTPPEKQDPYDKLKFWTVDLKEKFSSDL DQYPLGRKFLVQAGLKA

	KPKLKRAAPTSTRTSSAERKKVKE
SEQ ID No:	4504 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 45
98	ATGGCTCTGTGGAGACCACTGACAGCACASTCTACCTGCCCTCCTCCATCTGTGGCAAGGGTGGTGAACAC AGATGACTATGTGAGCAGGACCAACCACTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGCAACC CATACTTCAGGCTGTGTGCCAAGTGGACCAAGCAACAAGCAGGTTGTGGCAAGGGTGTGTGCTTACCAATAC AGGGTGTTCAGGGTGGCTCTGGCTGACCAACAAGTTGGACTGGCTGACAGCACAATCTACAACCTGA GACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGGATGAGATGGCAGGGGACAACTACTGGGCATTGGACTGT CTGGACACCTATTCTACAACAACCTGGATGACACAGAGTGTGCTATGCTGACAGCAGTGAATTACCCAG GATGTGAGGGACAAATGTTCTGTGGACTACAAGCAGAGCCAACTTGTATCTGGGCTGTGTGCTGGCAAT GGAGAACTACGGCTTAAAGGCACTCTGTGTAAAGCTCTCAACTCAACTGGAGACATGTCCTCAATTGGA ACTGAAAAACACCATCTATTGAGGATGGAGATAAGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGGACTCAGCACCC TCCAAGACACCAAGTGTGAGGTGCCACTGGACATCTGTGAGAGCATCTGTAAATACCCCTACTACCTCCAA ATGAGTGTGACCCATATGGAGACAGTATGTCTCTGTGTGAGGAGGGGAACCACTTTTGGCAGACACTTC TGGAAACAGGGCTGGAGTGATGGAGACACAGTGGCAACAGACCTCTACATCAAGGGGCACTCTGCCAATAT GAGGGAGACACTGGCTCCTGTGTGTACAGCCCAAGGCACTGTGGCAGCATCACTACCTCTGACAGCCAAC TTTTCACAAGCCATACTGGCTGCCAAGGGCTCAAGGACACACCAATGGCATCTGTTGGCACAACCAACTT TTTGTGACAGTGGTGGACACCAACAGGAGCACTAACCTGACCTCTGTGTGCCAGCAACCCAGAACCTGTGCC AAACACCTATGACCAACCAAGTTCAAGCACTACAGCAGGCAATGTGGAGGAATATGACCTCCAAATTCATCT TCCAACCTTGTACCATCACTCTGACAGCAGAGGTGATGAGTTACATCCACAGTATGAACCTCAACCACTTGG AGAACTGGAACTTTGGAGTGCCTCCTCCTCAACCACTTCCTGTGGTGGACACCTACAGTTTGTCCAGTCTG TGGCTGTGACTGTTCAGAAGGACACTACACTCTCTGAGGAAGCAGGACCAATATGACAACTGGAAGTCTGG ACAGTGGAACTGAAAGGAGAGTCTCTCTGACCTGGACCAATACCCACTGGGAGGGAAGTTCTGTGGTCCA GGCTGTATCTAAAGCCAAGCCAAAACGTGAAAAGGGTGTGCTCAACCTAGCACCAGGACCTTCTGTGGCAAG AGGAAGAAGTTGAAGAATTAAA

SEQ ID No:	4505 Gen sintético de L1 del HPV45
99	ctgggtaacATGGCTCTGTGGAGACCATGTGACAGCACAGTCTACCTGCCCTCCTCCATCTGTGGCAAGGGTGGTG AACACAGATGACTATGTGAGCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACCTGCTGACAGTGGG CAACCCATACCTTCAGGGTGGTGCCAAAGTGGAGCAGGCCAACAAAGCAGGCTGTGCCAAAGGTGCTGCCCTACC AATACAAGGTGTTTCAGGGTGGCTCTGCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCTGACAGCACCATCTACAAE CCTGAGACCCAGAGACTGGTGTGGCTTTGTGTGGGATGGAGATTGGCAAGGGACAACCACCTGGGCATTG GACTGTCTGGACAACCAATCTACAAACAACTGGATGACACAGAGTCTGCCCATGCTGCCACAGCAGTGATT ACCEAGGATGTGAGGGACAATGTGTCTGTGAGCTACAAGCAGACCCAACTTTGTATCCTGGGGCTGTGTGGC TGGCATTGGAGAACACTGGGCTAAGGGCACCTGTGTAAAGCTGCCCCAACTCCAACCTGGAGACTGTGCTC CAATTGGAACTGAAAAACACCTATCATTTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGGACTTC AGCACCTCTCAAGACACCAAGTGTGAGGTGCCACTGGACATCTGTTCAGAGCATCTGTAAATACCTGACTA CCTCCAAATGAGTGGCTGACCCATATGGAGACAGTATGTTTCTCTGTGAGGAGGGAAACAACITTTGGCCAG ACACTTCTGGAACAGGGCTGGAGTGAATGGAGACACAGTGGCAACAGAACCTCTACATCAAGGGCACTCTG CCAATATGAGGGAGACACCTGGCTCTGTGTCTACAGGCCAAAGCCATCTGGGAGCATCACCACCTGTGAC AGCCAACTTTCAACAAGCCATACCTGGCTGCACAAAGGCTCAAGGACACAAACAATGGCATCTGTGGGCACAA CCAACITTTTGTGACAGTGGTGGACACCAACAGGAGCACCAACCTGACCCCTGTGTGCCAGCACCCAGGAAC CTGTGCCAAACACTTATGAGCCAACTAAGTTCAAGCACTACAGCAGGCATGTGGAGGAATATGACTCCAA TTCATCTGCCAACTTGTACCAATACCTTGACAGCAGAGGTGATGATTAATCCACAGTATGAACTCAGC ATCTTGGAGAACTGGAACTTTGGAGTGGCTCCCTCCCAACCACTTCCCTGGTGGACACCTACAGGTGTGTC CAGTCTGTGGCTGTGACTTGTGAGAAGGACACCACACCTCCTGAGAAAGCAGGACCCATATGACAAACTGAA GTCTTGGACAGTGGACTTGAAAGAGAGTTCTCTGTGTGACCTGGATCAATACCTCACTGGGCAGGAAGTTCC TGGTCCAGGCTGGACTGAGGAGGAGACCAACCATTGGACCAAGGAAGAGACCTGCTGCCAGCACCCAGCAC AGCCAGCAGAACCTGCCAAGAGGGTGAGGATTAAGAGCAAGAAGTAAA ctgagata
SEQ ID No:	4506 Gen sintético de L1 del HPV33

[illegible]

102	GCTTGGCTTTCAGTCCAGCCTGGACCAGGAAC
SEQ ID No:	4509 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV45
103	<u>CTTGGTACC</u>^[1] ATGGCTCTGAGGAGACCAATCTGACAGCAGATCTTACCTGGCTCCCTGCACTGTGTGGCAAGGGTGGTGAACAC ATATGACTATGTGACCAAGACCAGGATCTTTTACCTATGCTGGCTCCAGCAGACTGGCTACAGTGGGCAACT CATATTCAGGTTGGTCTCAAGTGGAGCCAGGCAACAAGTAGGCTGTGGCAAGGTTCTGGCTTACTCAATAC AGGGTGTTCAGGTTGGCTCTGGCTGAGCCAAACAAGTTTGGACTGGCTGACAGCACTCACTACAACTTGA GACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGGTGGGGATGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGCATTGGACTGT CTGGACACCCATCTACAACAACTGGATGACACAGAGCTTCCCACTGTCCACAGCACTGATTACTCAG GATGTGAGGACAAATGTTTGTGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATCTTGGGCTGTGTGGCTTCCATC GGAGAACACTGGGCTAAGGGGACCTTGGTGAAGCCCTCCCAACTCCAACTGGAGACCTCTCTCCATTTGA ACTGAAAAACCACTCATTTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGGACTTCAACACCT TCCAAGACACCAAGTGTGAGGTTCCACTGGACATCTGTGAGGATCTGTAAATACCTTGACTACCTTCAA ATGAGTCTGACCTATATGGAGACAGTATCTCTCTCTGTGTGAGGAGGGAAACAACCTTTTGGCAGACACTTC TTGAACAGGGCTGGAGTGAAGGAGACACAGTCCCAAGAGACCTTTACATCAAGGGCACCTCTTCCAAATAT GAGGAGAGACACTGGCTCTGTGTCTACAGCCCAAGGCACTTGGCAGCATCACTACCTCTGACAGCCAAAC TTTTCAACAAGCTATCTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGCACAACCAACTT TTTTGTGACATTTGTGGACACCACTAGGAGCACCAAGCTGACTCTGTGTGCTCAGACCCAGAACCTCTGTGCT AAACACCTATGAGCCCACTCAAGTTCAAGCACACAGCAGGCACTGTGGAGGAAATATGACTTCAATTCATCT TCCAACCTTTGTACCATTACCTGACAGCAGAGGTGATGAGTTACATCCACAGTATGAACCTCAGCATCTTGG AGAACTGGAACTTGGAGTGGCTCTCTCCCAAGCAGCTCTCTGGTGGACACCTACAAGTTGTTCAGTCTG TGGCTGTGACTGTCAAGAGGACACCAACCTCTGAGAAAGCAGGACCCATATGACAAACTGAAGTTCTGG ACAGTGGACCTGAAAGAGAACTTTCTCTTACTGGAGCTAATACCACTGGGCAAGGAGTCTCTGGTCA GCTGTGACTGGTAAAGCCAAGC^[1] [1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI

	[2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV45 aa 1-478 [3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No: 104	4510 L1 F2 del HPV45 GGCTGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 105	4511 L1 R2 del HPV45 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTCTCTTGGC
SEQ ID No: 106	4512 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV45 <u>GGCTGGACTG^[1]</u> <u>AAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG^[2]TAAATCTAGA^[3]CAG</u> [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV45 aa 1-478 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 107	4513 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVRKRKSSRK

Apéndice 10: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 51

SEQ ID No: 108	5101 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 51 aa 1-474 MALWRTNDSKVYLPPAPVSRIVNTEEYITRTGIYYYAGSSRLITLGHYPYFPIPKTS TRAAIPKVSFAFYRVFRVQLPDPNKFGLPDPNLYNPDTDRLVWGCVGVEVGRG QPLGVGLSGHPLFNKYDDTENSRIANGNAQQDVRDNTSVDNKQTQLCHGCAPP IGEHWGIGTTCKNTPVPPGDCPPLELVSSVIQDGDMDTGFGAMDFAALQATKS DVPLDISQSVCKYPDYLKMSADTYGNSMFFHLRREQIFARHYYNKLVGVGEDI PNDYYIKGSGNGRDPYESYIYSATPSGSMITSDSQIFNKPYWLHRAQGHNNGICW NNQLFITCVDTTTRSTNLTISTATAAVSPTFTPSNFKQYIRHGEEYELQFIFQLCKIT LTTEVMAYLHTMDPTILEQWNFGLTLPPSASLEDAYRFVRNAATSCQKDTPPQ AKPDPLAKYKFWDVDLKERFSLDLQFALGRKFLLQVGV
SEQ ID No: 109	5102 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499 KAKPKLKRAAPTSTRITSSAKRKEVKK
SEQ ID No: 110	5103 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 51 MALWRTNDSKVYLPPAPVSRIVNTEEYITRTGIYYYAGSSRLITLGHYPYFPIPKTS TRAAIPKVSFAFYRVFRVQLPDPNKFGLPDPNLYNPDTDRLVWGCVGVEVGRG QPLGVGLSGHPLFNKYDDTENSRIANGNAQQDVRDNTSVDNKQTQLCHGCAPP IGEHWGIGTTCKNTPVPPGDCPPLELVSSVIQDGDMDTGFGAMDFAALQATKS DVPLDISQSVCKYPDYLKMSADTYGNSMFFHLRREQIFARHYYNKLVGVGEDI PNDYYIKGSGNGRDPYESYIYSATPSGSMITSDSQIFNKPYWLHRAQGHNNGICW NNQLFITCVDTTTRSTNLTISTATAAVSPTFTPSNFKQYIRHGEEYELQFIFQLCKIT LTTEVMAYLHTMDPTILEQWNFGLTLPPSASLEDAYRFVRNAATSCQKDTPPQ AKPDPLAKYKFWDVDLKERFSLDLQFALGRKFLLQVGVKAKPKLKRAAPTST

	RTSSAKRKKVKK
SEQ ID No:	5104 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 51
III	ATGGCTCTGTGGAGGACCAATGACAGCAAGGCTACCTGCCCTGCTGCCCCCTGTGGAGCAAGATTGTGAACAC AGAGGAATACATCAACAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTTCAGCAGACTGATTACCCCTGGGACATCC CATACTTTCCTAATCCCAAAGACCAGCAACAGGGCTGCCATGCCAAAGGTGTCCTCCCTTCCAATACAGGGTGG TTTAGGGTCCAACCTCCCTGACUCAAACAAGTTTGGACTGGCTGACUCAAACCTCACAACCTTGACACAGA CAGACTGGTGTGGGGCTGTGTGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACACCCTGGGAGTGGGACTGTCTGGGA CACCCACTGTTCACAAATATGATGACACAGAGAACAGCAGGATGGCCAAATGGCAATGCCCAACAGGATGT GAGGGACAACACCTCTGTGGACAACAGCAGACUCAAACCTTTGTATCATTTGGCTGTGCCCTCCCAATTGGAG AACACTGGGGCATTGGCACCCTTGTAGAACACACCTGTGGCTCCCTGGAGACTGTCTCCATTTGGAACCTG GTGTCTCTGTGTGATTCAGGATGGAGATATGATTGACACAGGGCTTTGGAGCTATGGACTTGTGTGCCCTCCAA GGCACCAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCAGCCAGTCTGTGTGTAAATACCTTGACTACCTGAAAATGAG TGCTGACACCTATGGCAACAGATGTCTTCTTCCACTGAGGAGGGGAACAGATTTTGGCCAGACACTACTATTA ACAAACTGGTGGAGTGGGAGAGGACATCCCAAATGACTACTACATCAAGGGCTCTGGCAATGGCAGGGA CCCAATGGAGTCTACAPCTACTTGGCAGACCAATCTGGCAGTATGATTACCTCTGACAGCTAGATTTTCAA CAAGCCATACTGGGTGCACAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTGTGGAACAACCAACTTTTCATCA CTTGTGTGGACACCAACAGGAGCACCAACCTGACCATCAGCAGAGCCAAAGCAGCAAGTGAAGCCCAACCTTC ACACCAAGCAACTTCAAGCAATACATCAGACATGGAGAGGAATATGAACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTGG TAAGATTACCTGACCAACAGAGGTGATGGCTTAACCTGCACACAATGGACCCCAACCATCTTGGAACAGTGGGA ACTTGGACTGACCTGGCTCCATCTGGCTCTTGGAGGATGCTACAGGTTTGTGAGGAATGCTGGCACTT CCTGTCCAGAAAGGACACACTTCCATAGGCTAAGCCTGATCCACTGGCTAAATACAACTTCTGGATGTGGAT CTGAAAGAGAGGTTCTCCCTGGACCTGGACAGTGTGGCTGGGCAGGAAGTTCTGTCTCCAAAGTGGGAGT CAAGGCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCAACAGCACAGGACCTCTCTGTCCAAGAGGAAGAAAG GTGAAGGAAGTAAA

SEQ ID No:	5105 Gen sintético de L1 del HPV51
112	ctgggtaccATGGGCTCTGTGGAGGACCAAATGACAGCAAGGTCLACCTGGCTCCCTGCCOCTGTGAGCAGGATGGT GAAACACAGAGGAATACATCACACAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACIGATTAACCTGG GACACCEATACTTTCCATCCCAAAGACDAGCACCAGGECTGGCATCCCAAAGGTGTCTGCCCTTCCAATAC AGGGTGTTCAGGGTCCAACTTCCCTGAGCCAAACAAGTTTGGACTGGCTGAGCCAAAGCTCTACAAACCTGA CACAGACAGACTGGTGTGGGCTCTGTGGGATGGAGGTGGGACGGGACAAACCTGGGAATGGGAATG TCTGGACACCCACTGTTCAACAATATGATGACACAGAGAACAGCAGGATTGGCAATGGCAATGCCAACA GGATGTGAGGGACAAACACTCTGTGGACAAACAAGCAGACCCAACTTTGTATCATGGCTGTGGCCCTCCAA TTGGAGAACACTGGGGCATGGGACCACTGTGTAAGAACACACCTGTGCCCTCTGGAGACTGTCTCCATIG GAACGGGTGTCTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTTGTGCT CTCCAGGCCACTAAGTGTGATGTGCCACTGGACATCAGCCAGTCTGTGTGTAAATACCTGCACTAOCGAA AATGAGTGTCTGACACCTATGGCAACAGTATGTTCTCCACCTGAGGAGGGGAACAGATTTTGGCAGACACT ACTACAAACAACCTGGTGGGAGTGGGAGAGGACATTCCTAAATGACTATACATTAAGGGCTTTGGCAATGG CAGGGACCCAAATGAGTCTACATCTACTCTGTACAGCATCTGGCAGTATGATTACCTCTGACAGCCAGAT TTTCAACAAGCCATACCTGGCTGCACAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTGGGAACAACCAACTTT TCATTACTTGTGTGGACACCACCTAGGAGGACCAACCTGATCCATCAGGCACAGCCACAGCAGCAGTGGGCCA ACCTTCACACCAAGCAACTTCAAGCAATATATCAGACATGGAGAGGAATATGAACCTCAAAATCATCTTCCA ACTTTGTAAAGATTACCTGACCCACAGAGGTGATGGCTTACCTGGACACAATGGACCAACCATCTTGGAAC AGTGGAACTTTGGACTGACCCCTGGCTCCATCTGCCCTCTGGAGGATGGCTACAGGTTTGTGAGGAATGCTG CCACTTCCCTGTCAGAAAGGACACACCTTCCACAGGCTAAGGCTGACCCACTGGCTAAATACAAAGTGTGGGAT GTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCCCTGGACCTGGACCAAGTTTGGCCCTGGGCAAGGAAGTTCTCTCCAAAGT GGGAGTCCAGAGGAAGCCAAAGACCTGGACCTGAAAGACCTGGCTCCCTGTGGCTCCCTCTCTCTCTCTCTC TGCCAAGAGGAAGAGGGTGAAGAGTAAATcagagtc

SEQ ID No:	5106 Gen sintético de L1 del HPV33
113	ctgggtaccATGACTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACACTTTACCTGCTTCCCTGTGCTGTGAGCAAGGTGGTG AGCACAGATGAAATATGFGAGCAGGACCAGCACTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGAGCTGCTGGCTGTGGG ACACCTTACTTTCAGCAACAAGAACTCAAACAATGCCAAGAAACCTGCTGGTCCAAAGCTTCTTGGACTTC AATACAGGGTGTTCAGGCTGAGACTGCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTGACACCTCTCTCTACAATC CTGACACCCAGAGACTGGGTGTGGCTTTGTGTGGCATGGAGATGGCAGGGGACAACTACTGGGAGTGGG CAATCTTGGACACCTACTGCTGAACAAGTTTGATGACTACAGAGACAGGCCAACAATACCTTGGACAACTTG GAGCAGACAACAGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGGCTGGCTGTAAAGCT CCAACAAGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCTGCCAATGACTGTCTCTCAAT GGAACTGATAAACAACCAATCATGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CCCTTCAAGCCAACAAGCTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAATACCTGACTACCTGA AAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTCTCTCTCTGAGGAGGGAACAGATGTTTGTGAGACACT TCTTCAACAGGGCTGGCACTCTGGAGAGGGCTGTGCTGATGACCTTACATCAAGGGCTGTGGCAACCACA GCCAGCATCCAGTCTCTGCTCTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAACCTCTGAGAGCCAACCTTTC AACAAGCCAFACTGGCTCCAAAGGGCTCAAAGACACAACAATGGCACTGTGTGGGGCAACAGGCTTTTGT GACAGTGGTGGACACCAAGGAGCAACAATATGACTCTGTGTATCCAGGTTACCTCTGACAGCACTTACA AGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTTGTGTTCCAACCTTGT AAGGTGACCTTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACTCTGACATCTTGGAGGACTTGGCA GTTTGGACTGACACTTCTCCATCTGCTCTCTTCCAAGACACCTACAGTTTGTGACCAAGCCAGGCTATCTAC TTGTCAGAGACAGTGTCTCCAAGGAGAGGAGGACCTCACTGGGCAAAATACACTTCTTGGGAGGTGGAC CTGAAAGAGAGTCTCTCTGACCTGACCAAGTCTTCCACTGGGCAAGGAAGTCTCTGCTCCAAGCAAGTACT GAAAGCCAGGCCAAAAGTGAAGAGGGCTTCCCAATCAGCAACAGGACTTCTCTGCCAAGAGGAAGAAAG GTGAAGAAGTAAActgagctc
SEQ ID No:	5107 L1 F1 del HPV51
114	CTTGGTACCATGGCTCTGTGGAGGACCAATGACA

SEQ ID No:	5108 L1 R1 del HPV51
115	GCTTGGCTTTGACTCCCACTTGGAGCAGGAAC
SEQ ID No:	5109 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV51
116	<u>CTTGGTACCT</u> <u>ATGGCTCTGTGGAGGACCAATGACAAGCAAGGCTTACCTGCTCTGCTCTGTGGAGCAGGATTGTGAACAC</u> <u>AGAGGAATACATCACCAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGGAGACTGATTACCTGGGACACT</u> <u>CATACTTTCGAATCCCAAAGACAGGACCAAGGCTGCTCATCCCAAAGGTGTCTGCTTCCAATACAGGGTG</u> <u>TTACAGGGTCCAACTTCTGACCCAAACAAGTTGGACTGCTGAGCCAAACCTCTACAACCTTGACACAGA</u> <u>CAGACTGTGTGGGGCTGTGTGGGAGTGGAGGTGGCCAGGGGACAACCTACTGGGAGTGGGACTGTCTGGA</u> <u>CACCCACTGTTCACCAAAATATGATGACACAGAGAACAGGACGATTGCCAATGGCAATGCCAACACAGGATGT</u> <u>GAGGACACAACACTCTGTGGGACAAACAAGCAGACCAACTTBTATCAATGGCTGTGGCTGCTCCAAATGGAG</u> <u>AACACTGGGGCATTGGCACCACCTTGTAAAGAACACACCTGTGGCTCTCTGGAGACTGTCTTCATTGGAACTG</u> <u>GTGTCCTTGTGATTCAGGATGGAGATATGATGACACAGGCTTGGAGCTATGGACTTGTGCTCTCTCAA</u> <u>GTCACTCAAGTCTGATGTGGCTACTGGGACATCAGCCAGTCTGTGTGTAATACCTGTACTACTTGAATAATGAG</u> <u>TGCTGACACCTATGGCAACAGTATGTTCTTCCACCTGAGGAGGGGAACAGATTTTGGCAGACACTACTACA</u> <u>ACAAACCTGGTGGGAGTGGGAGAGGACATCCCAAATGACTACTACATCAAGGGCTCTGGCAATGGCAAGGA</u> <u>CCCAATGGAGTCTTACATCTACTCTCCACACTATCTGGCAGTATGATTACTTGTACAGCCAGATTTTCAA</u> <u>CAAGCCATACCTGGCTGCAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTGGGAACAACCAACTTTTCATCA</u> <u>CTTGTGTGGACACCACGAGGAGCACCACCTGACCATCAGGACAGCCACAGGAGCAGTGAGGCTCAACTTT</u> <u>ACACTAAGCAACTTCAAGCAATACATCAGACATGGAGAGGAATATGAACCTCCAATTCATCTCTCAACTTGT</u> <u>TAAGATTACCTGACCACAGAGGTGAPGGCTTACCTGCACACAAAGGACCCAAACCACTTGGAAACAGTGGG</u> <u>ACTTTGGACTGACCTGTGCTCTATCTGCTCTCTTGGAGGATGCTTACAGGTTTGTGAGGAATGCTGCCAGCT</u> <u>CCTGTTCAGAAAGTACACACTCCACAGGCTAAGCTTGACCTCACTGGCTAAATACAAATCTTGGGATGTGGAC</u> <u>CTGAAAGAGAGGTTCTCCCTGGACCTGGACCACTTGGCTTGGGACAGGAAGTTCCTGCTCCAAGTGGGAGT</u> <u>CTAAAGCTAAGCT</u>

	[1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI [2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV51 aa 1-474 [3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No:	5110 L1 F2 del HPV51
117	AGTGGGAGTCAAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGG
SEQ ID No:	5111 L1 R2 del HPV51
118	CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No:	5112 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV51
119	<u>AGTGGGAGT¹⁹</u> <u>AAAGCCAAGTCAAAGCTGAAAAGGGTGGCTCCAAATCAGCACTAGG</u> <u>ACCTCTCTGGCTAAGAGGAAGGAAGGTGAAGAAG¹⁹ TAA ATCTAGA¹⁹CAG</u> [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV51 aa 1-474 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 28 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No:	5113 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-505
120	LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

Apéndice 11: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 52

SEQ ID No: 121	5201 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 52 aa 1-478 MSVWRPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYAGSSRLLTVGHPYFSIKN TSSGNGKKVLVPKVSGLQYRVFRIKLDPNKFGEFDTSFYNPETQRLVWACTGL EIGRGQPLGVGISGHPLLNFDDTETSNNKYAGKPGIDNRECLSM DYKQTQLCIL GCKPPIGEHWGKGTPCNNNSGNPGDCPPLQLINSVIQDGDMDVDTGFGCMTDENT LQASKSDVPIDICSSVCKYPDYLQMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFNRAQT LGDPVPGDLYIQGSNSGNTATVQSSAFFPTPSGSMVTSESQLFNKPYWLQRAQG HNNGICWGNQLFVTVDTTTRSTNMTLCAEVKKESTYKNENFKEYLRHGEFFDL QFIFQLCKITLTADVMTYIHKMDATILEDWQFGLTPPPSASLEDYRFVTSTAIT CQKNTPPKGKEDPLKDYMFEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGL
SEQ ID No: 122	5202 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 123	5203 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 52 MSVWRPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYAGSSRLLTVGHPYFSIKN TSSGNGKKVLVPKVSGLQYRVFRIKLDPNKFGEFDTSFYNPETQRLVWACTGL EIGRGQPLGVGISGHPLLNFDDTETSNNKYAGKPGIDNRECLSM DYKQTQLCIL GCKPPIGEHWGKGTPCNNNSGNPGDCPPLQLINSVIQDGDMDVDTGFGCMTDENT LQASKSDVPIDICSSVCKYPDYLQMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFNRAQT LGDPVPGDLYIQGSNSGNTATVQSSAFFPTPSGSMVTSESQLFNKPYWLQRAQG HNNGICWGNQLFVTVDTTTRSTNMTLCAEVKKESTYKNENFKEYLRHGEFFDL QFIFQLCKITLTADVMTYIHKMDATILEDWQFGLTPPPSASLEDYRFVTSTAIT CQKNTPPKGKEDPLKDYMFEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGLKAKPK

	LKRAAPTSTRTSSAKRKVKK
SEQ ID No: 124	5204 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 52 ATGAGCGTGTGGAGGCCCAACGAGGCCAAGGTGTACCTGGCCCCCTGCCCCGTGAGCAAGGTGGTGAACAT CGACGAGTACGTGAGCAGGACAGCATCTACTACTAGGCTGGCAAGCAGCAGGCTGCTGACCGTGGGCCAAT CCTACTTCAGCATCAAGAACAACAGCAGCGGCAACCGCAAGAAAGTTCCTGGTGGCCAAGGTGAGCGGCCCT GGAGTACAGGGTGTTCAGGATCAAGCTGGCCGAGCCCAACAAGTTGGGCTTCCCGACACCAAGCTTCTACA AATCCGAGACTCAGAGGCTGGTGTGGGCTGCACCGGCTGGAGATCGCAGGGGCCAGCCCTGGGGCT GGGCATCAGCGGCCAATCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAACCAAGTACGCCCGCAAG CCCCGCATCGACAACAGGGAGTGCTTGAGCATGGACTACAAAGCAGATCCAGCTGTGCATCTTGGGCTGCAA GCCCCCATCGGCCAGCACTGGGGCAAGGGCAATCCCTGCAACAACAACAGCGGCATCCCGGGGACTGC CCCCCCCCGAGCTGATCAACAGCGTATCCAGGAAGGGCAGATGGTGGACATCGGGCTTGGGCTCATGGA CTTCAACACCTGCAGGCCAGCAAGAGCGAGGTGCCATCGACATCTGCAGCAGCGTGTGCAGTACCCCG ACTACCTGCAGATGGCCAGCGAGCCCTACGCGGACAGCTTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGTAGCAGATGTTT GTGAGGCACTTCTCAACAGGGCCGGGACCTGGGGCACTCCGTGGCCGGGAGCTGTACATCCAGGGCAG CAACAGCGGCAACACCGGCCACCTGCAGAGCAGGGCCCTTCTTCCCAAGCCCAGCGGCAGCATGGTGACCA GGGAGAGTCATCTGTTTAAACAAGCTCTACTGGCTGCAGAGGGCTCAGGGCTACAACAAGGCATCTGCTG GGGCAATCAGCTGTTTGTGACCTGGTGGACACACCAAGGAGCAACAACATGATCCCTGTGCTCGAGGTGA AGAAGGAGAGCACTACAAGAAATGAAGATTCAGGAGATCTGAGGCACGGCGAGGAGTTGACCTGCA GTTGATCTTCCAGCTGTGCAAGATCACTCTGACCGCGACGTGATGACCTACATCCACAAGATGGACGCCA CCATCTGGAGGACTGGCAATTCGCTGATGACCTCCCTCCAGCGCCAGCTCTGAGGCACTCTACAATGTTCT GTGACCGAGCAATGCCATGACCTGCCAGAGAGAACATCCCTCCCAAGGGCAAGGAGGACCCCTGAAAGGACT ACATGTTCTGGGAGGTGAGCTGAAGGAGAAATTCAGTGGCGACCTGGAGCACTTCCCTGCGGAGGAAG TTCTGTGCAAGCGGCCCTGAAGGCCAAGCCAAACTGAAAGGGCTGCCCCAATAGCACTAGGACCTC CTCTGCCAAGAGGAGAAAGAGGTGAGAAATAAA

SEQ ID No:	5205 Gen sintético de L1 del HPV52
125	ctgggtaccATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGT GAGGCACCGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCCGCAGCAGCAGGCTGCTGACCGTG GGTCACCCCTACTTCAGCATCAAGAACACAGCAGCGGCCAACGGCAAGAAGGTGCTGGTGCCCAAGGTGA GGCGCCTGCAATACAGGGTGTTCAGGATCAAGCTGCCCCGACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGC TCTACAACCTCCGAGACCCAGAGGCTGGTGTGGCCCTGCACTGGGCTGGAGATCGGCAGGGGCCAGGCCCT GGGGGTGGGCATCAGCGGCCACCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAAGCAACAAGTACGCC GGCAAGCTCGGCATCGACAACAGGGAGTCCCTGAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCATCTCTGG GTGCAAGCCCCCTATCGGCCGAGTACTGGGGCAAGGGCACCCCCTGCAACAACAACAGCGGCCAACCCCGG CGACTGCCCCCTCTGCAGCTGATCAACAGCGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTTGGGT GGATGGACTTCAACACCTTCAGGCCAGCAAGAGCGACGTGCCCATCGACATCTGCAGCAGCGTGTGCAAG TACCCGACTACCTGCAGATGGCCAGGAGGCCCTAGCGCGACAGCCTGTCTTCTTCTGAGGAGGGAGCA GATGTTCTGTGAGGCACCTCTTCAACAGGGCCGGCACCCCTGGGCGACCCCTGTCCTGGCGCACTGTACATCC AGGGCAGCAACAGCGCCAACACCGCTACCGTGCAGAGCAAGCGCTTCTTCCCAACCCCAAGCGGCAGCATG GTGACCAAGCGAAGGCCAGCTGTTCACAAGGCCCTACTGGCTGCAGAGGGGCCAAGGCCACACAACAGGCA TCTGCTGGGGCAACCAGCTGTCTGTGACCGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACATGACCCCTGTGCGCC GAGGTGAAGAAGGAGAGGCACCTACAGAAGAGAACTTCAAGGAGTACCTGAGGCACGGCGAGGAGTTCG AOCCTGCAATTATCTTCAGCTGTGCAAGATACCTTGAACCGCGACCTGATGACCTACATCCACAAGATG GACGCCACCATCCTGGAGGACTGGCAGTTCGGCCTGACCCCCCCCCCAGCGCTAGCCTGGAGGACACCTA CAGGTTCTGTGACCAGCACCGCCATCAGCTGCCAGAAGAACACCCCCCAAGGGCAAGGAGGACCCCTG AAGGACTACATGTTCTGGGAGGTGGACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCTGGACCAAGTTCCTCCCTGGG CAGGAAGTTCCTGCTGCAGGCCTGGCTGCAAGGCCAGGCCAAGCTGAAGAGGCCCGCCAGCAGCCCCC AGGACCAGCACCAAGAAGAAGAGGTGAAGAGGTAAAutgagete
SEQ ID No:	5206 Gen sintético de L1 del HPV33

126	cgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCTTCTGTGCTTGTGAGCAAGGTGTG AGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGG ACACCCATATTCAGCATCAAGAACTCAACCAATGCCAAGAAATGCTGGTGCCTAAAGGTGTGTGGACATCC AATACAGGGGTGTTCAGGGGTGABACTGCTGACCTAAACAAATTTGGCTTCTGTGACACCTGCTTCTAAACCT CTGACACCCAGAGACTGGTGTGGCTTTGTGTGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACTACTGGGAGTGGG CATCTGTGGACACCCATGCTGAATAAATTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCTTGGACAACTTG GAGGAGACAAACAGGGAGTGTGTGAGTATGGACTTAAAGCAGAGCCCAACTTTGTGTGGCTGTGTAAGGCT CCAAACAGGAGAACTACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTATCAATGCTGCTTGGCAATGACTGTCTCTCATT CGAACTGATAAACACCATCATTTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CCCTTCAAGTCAACAAATTTGATGTGCCAATTTGATATCTGTGGCAGTACTTGTAAATACCTTGAATACCTGA AAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTGCTCTCTTCTTCTTCTGAGGAGGGAAACAGATGTTTGTGAGACACT TCTTCAACAGGGCTGGCACCCTGGGAGAGGGCTGTGGCTGATGACCTCTTACATCAAGGGCTTGGCTGCCACA GCCAGCATGCACTCTCTGCTTCTTTTCCAAACACCATCTGGCAGTATGGTGAACCTCTGAGAGCCAACCTTTC AACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACAGGCTGTTGT GACATGTGGTGGACACCTAACAGGAGCACAAATATGACCTTGTGTACCCAGGTGACCTCTGACAGCACCTACA AGAATGAGAACCTCAAGGAATATATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTTGTGTTCACACTTGT AAGGTGACCTTGACAGCAGAGGCTGATGAACCTACATCCATGCTATGAACCTGACATCTTGGAGGAGCTGGCA GTTTGTGACAGACACCTGCTCACTGTGCTTCTCAAGACACCTACAGGCTTGTGACCAAGCCAAAGCCTAAC TTGTGAGAAAGACAGTGTCTTCAAGGAGAAAGGAGGACCCACTGGGCAAAATACACCTTCTGGGAGGTGGAC CTGAAAGAGAAAGTCTGTGCTGACCTGAGACCACTTTCCACTGGGCAAGGAAGTCTGCTCCAAAGCAGGACT GAAAGCCAAAGCCAAATCTGAAAAGGGCTTGGCCAACTAGCACCCAGGACCTCTCTGCAAGAGGAAGAAAG GTGAAGAAATAAActagagc
SEQ ID No:	5207 L1 F1 del HPV52
127	CTTGGTACCATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGG
SEQ ID No:	5208 L1 R1 del HPV52

128	GCTTGGCTTTTCAGGCCGGCCTGCAGCAGGAACCTC
SEQ ID No:	5209 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV52
129	<u>CTTGGTACCG</u> ATGAGCGTGTGGAGGCTCAGCGAGGCTACCTTCTACCTGCCCCCTGTCCTCTTAGGTAAGGTGTTCAGGAC CGACGAGTACGTGAGCAGGACCAAGCATCTACTACTACGCGCGCAGTACGAGGCTGCTGACCGTGGGCCACC CCCTACTTCAGCATCAAGAACACCAACCAACGCAACCGCAAGAAAGGTCTGGTGGCCCAAGGTGAGCGGCTT GGAGTACAGGGGTGTTCAGTATCAAGCTGCTCGGACCTCAACAAGTGTGGCTTCTCTGACACCACTTCTTAC ATCTCGAGACCCAGAGGCTGTGTTCGGGCTGTCACCGGCTGTGACATCGGCAGGAGCCAGCCCTGTGGGCTT GGGCATCAGCGGGCACCCCTGTGTGAACAAGTTCGACGACATCGAGACCAAGCAACAAGTACGCCGGCAAG CTCTGGCATCGACAACAGGGACTTGGCTTACGATGGACTTACAAGTAGACCTAGCTTGTGCATCTTGGTCTGCAA GGCTCTCATCTGGGCAACACTGTGGTAAAGGGTACCCCTGTCAACAACAACAGCGGCATCTCTGGGCTCTGC CCCCCTGCACTGATCAACAGCGTGATCCAGGACGGGACATGGTGGACACAGGCTTGGGCTGATGGA CTTCAACACCTTCAGGGCAGCAAGAGCGACGTGGCTATCGACATCTGCAAGCGGTGTGCAAGTACCTCT ACTACTGTCAGATGGCCAGCGAGCTTACGGCGACAGCCGTTCTCTCTCTGAGGAGGGAGCAGATGTTT GTGAGGCACTTCTTCAACAGGCGCGACCTTGGCGGACCCGCTGCGCCGCGACCTTACATCCAGGCGAG CAACACCGGCAACAGCGCCACGTGCAAGGCAACCGCTTCTTCTGCGACCTGAGCTGGAGGATGGGTGCTA GGGAGAGGCCAGCTGTTCACAACAGCCCTACTGGCTGCGAGAGGGGCCAGGGGCACAACAACCGCATCTGCTG GGGCAACCTAGCTGTGTGTACCTGTGTGACACTACCAAGGAGCACCACAATGACCTGTGCGCTGAGGTGA AGAAGGAGAGGCCACCAAGAGAGGAGAGATTAAGGAGTACTTGAAGCTACGCTGAGGAGTGTGAGCTTCA GTTCATCTTCCAGCTGTGTCAAGATCACCTGACCGCGGACGTGATGACCTACATCTACAAGATGGACGCCA CAATCTGGAGGACTGGCAGTTCGGCTGACCCCTCCCTCAGGCGCAGGCTTGGAGGACACCTACAGGTTC GTGACCAGCACCGCATCACTTGGCAGAAGAACACCCCTCCCAAGGGCAAGGAGGAGCCCTCTGAAGGACT ACATGTCTGGAGCTCGACTGAAGGACAAGTTCAGCGCCGACCTGGACCAATTCCTCTGGGCAAGGAG TTCCTGCTGCAAGGCCGCGCTGTAAAGGCCAAGCT

	[2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV52 aa 1-478 [3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No: 130	5210 L1 F2 del HPV52 GGCCGGCCTGAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 131	5211 L1 R2 del HPV52 CTGCTAGATTACTTCTTACCTTCTTCTCTTGG
SEQ ID No: 132	5212 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV52 GGCCGGCCTG^[1] AAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCAACTAGCACCAGG ACCTCCTCTGCCAAGAAGGAAGAAGGTGAAGAA^[2]TAAATCTAGATCAG [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV52 aa 1-478 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 133	5213 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVERRKSSRK

Apéndice 12: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 56

SEQ ID No: 134	5601 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 56 aa 1-467 MATWRPSENKVYLPPTPVSKVVATDSYVKRTSIFYHAGSSRLLAVGHPYYSVT KDNTKTNIPKVSAYQYRVFRVRLPDPNKFGLPDTNIYNPDQERLVWACVGLEV GRGQPLGAGLSGHPLFNRLDDTESSNLANNNVIEDSRDNISVDGKQTQLCIVGC TPAMGEHWTKGAVCKSTQVTTGDCPPLALINTPIEDGDMIDTGFGAMDFKVLQ ESKAEVPLDIVQSTCKYPDYLKMSADAYGDSMWFYLRREQLFARHYFNKAGK VGETIPAELYLKGSNGREPPSSVYVATPSGSMITSEAQLFNKPYWLQRAQGHN NGICWGNQLFVTVVDTRSTNMTISTATEQLSKYDARKINQYLRHVEEYELQF VFQLCKITLSAEVMAYLHNMNANLLEDWNIGLSPPVATSLEDKYRYVRSTAITC QREQPPTTEKQDPLAKYKFWVDVNLQDSFSTDLDQFPLGRKFL
SEQ ID No: 135	5602 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 469-499 LQAGLKAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 136	5603 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 56 MATWRPSENKVYLPPTPVSKVVATDSYVKRTSIFYHAGSSRLLAVGHPYYSVT KDNTKTNIPKVSAYQYRVFRVRLPDPNKFGLPDTNIYNPDQERLVWACVGLEV GRGQPLGAGLSGHPLFNRLDDTESSNLANNNVIEDSRDNISVDGKQTQLCIVGC TPAMGEHWTKGAVCKSTQVTTGDCPPLALINTPIEDGDMIDTGFGAMDFKVLQ ESKAEVPLDIVQSTCKYPDYLKMSADAYGDSMWFYLRREQLFARHYFNKAGK VGETIPAELYLKGSNGREPPSSVYVATPSGSMITSEAQLFNKPYWLQRAQGHN NGICWGNQLFVTVVDTRSTNMTISTATEQLSKYDARKINQYLRHVEEYELQF VFQLCKITLSAEVMAYLHNMNANLLEDWNIGLSPPVATSLEDKYRYVRSTAITC QREQPPTTEKQDPLAKYKFWVDVNLQDSFSTDLDQFPLGRKFL LQAGLKAKPKLK

	RAAPTSTRITSSAEREKKVEK
SEQ ID No: 137	5604 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 56 ATGGCTACCTGGAGACCATCTGGAGAACAAAGGTCCTACCTGCTCCCAACACCTGTGGACCAAGGTGGGTAC AGACTCCCTAATGGAAGAGGACCAGCATCTTTCTACCTATGCTGGCTTCCAGTAGACCTGTGGGTGTGGGACACCT CATACTACTCTTTGACCAAGGACAAACACTAAGATCCAACATCCCAAGGTTTGTGGCTACCAATACAGGTTG TTCAAGGGTGAGACTGCTGACCCAAACAAGTTTGGACGTGCTGACACCAACATCTACCAACCTTGACACGGA GAGACTGGTGTGGCTTTGTGTGGATTTGGAGCTGGGACAGGGGACAAACACTGGGAGCAGGACTCTCTGGA CACCCACTGTTCAACAGACTGGATGACACAGAGTCCAGCAACCTGGCTAACACAAATGTGATTGAGGACAG CAGGGACAAACATCTCTGTGGATGGCAAGCAGACCCCAACTTTGTATTGTGGCTGTACTCTGTCTAAGGGAG AACACTGGACCAAGGGAGGACTGTGTAAGAGTACCTAGGTGACTACAGGAGACTCTCTCCACTGGCTGTG ATAAACACACCAATTGGAGATGGAGATATGATTACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTCAAGGTGCTCCA AGAGAGCAAGGGCTGAGGTGCTGCTGGACATTTGTCAGAGGCACTTTGTAAATACCTGACTGCTGAAAATGA GTGCTGATGCTATGGAGACAGTATGTGTTCTACCTGAGGAGGGAACAACCTTTTGGCAGACACTACTTC AACAGGCTGGCAAGGTGGGAGAGACCAATCTCTGCTGAACCTACCTGAAAGGCAATGTCAGGGAAC CTGCTCCATGCTCTGTGTATGTGCTGACCATCTCTGGAGTATGATTACTCTGAGGCTCAACTTTCAACAA GCCAAGCTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACCAACAATGGCACTGTGTGGGGCAACCAACTTTTGTGACAG TGGTGGACACCAAGGAGCACTAATATGACCATCAGCACAGCCACAGAACAACTTAGCAATATGATGT CAGGAAGATAAATCAATACCTGAGGCTATGTGGAGGAATATGAACCTCAATTTGTGTCCAACCTTTGTAGA TTACCTGTGTGCTGAGGTGATGGCTTACCTGCACAAATATGAATGGCAACCTTTTGGAGGACTGGAACATG GACTGAGCCTCTCTGTGGCTACCTCTTGAGGACAAATACAGATATGTGAGGAGCACAGCCATCACTGT CAGAGGGAACAACCTTCCAAACAGAGAAACAGGACCCACTGCTAAATACAGTCTGGGATCTGAACCTCC AAGACTCTCTCAGCACAGACCTGATCAGTTTCCACTGGGACAGGAAGTTCTCTGCTCAAGCAGGACTGAAA GCCAAGTCAAAACTCAAAAGGCTGCTCCCAACCAAGCAGGACCTGCTCTGCTCAAGAGGAAGCAAGGTGA AGAAGTAAA

SEQ ID No:	5605 Gen sintético de L1 del HPV56
138	ctgggtaacATGGCTACCTGGAGACCATCTGAGAAACAAGCTCTACCTGCTTCAACACCTGTGAGCAAGGTGGT GGCTACAGACTCCATATGTGAAGAGGACCAAGCACTCTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGG GACACCCATACTACTCTGTGACCAAGGACAACACCAAGACCAACATCCCAAAGGTGTGTGCTTACCAATAC AGGCTGTTCAGGCTTGAAGATTGCTGACCEAAACAAGTTTGTACTGCTGATACCAACATCTACAACCTGA CCAGGAGAGACTGGTGTGGCTTCTGTGGATTGGAGGTGGCAGGGGACAACTACTGGGAGCAGGACTTG CTTGGATACCCACTGTCTAACAGACTGGGTGALACAGATILCAGCAACCTTGGCTAACAAACAATGTGATTGA GGACAGCAGGGACAACATCTCTGTGGATGGCAAGCAGACCCAACTTGTATTGTGGGCTGTACTCTCTCTA TGGGAGAACTACTGGACCAAGGGAGCAGTGTGTAAAGAGCACCCAGTTGACCACAGGAGACTGTCTCCACT GGCTTGTATAAACACACCAATTGAAGATGGAGATATGATTACACAGGCTTGGAGCTATGGACTTCAAGG TGCTCCAAGAGAGCAAGGCTGAGGTGCCACTGGACATGTCCAGAGCACTTGTAATAATACCTTGACTACCTG AAAATGAGTGTCTGATGCTATGGAGACAGTATGTGGTTCTACCTGAGGAGGGGAACAACCTTTTGGCAGACA CTACTTCAACAGGGCTGGCAAGGTGGGAGAGACCATCTCTGCTGAACCTCTAUCTGAAGGACAGCAATGGCA GGGAACCTGCTCCATCTCTGTCTATGTGGCTACACCATCTGGCAGTAIGATTACCTCTGAGGCTCAACTTT TCAACAAGCCATACTGGCTTCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTTTTGGGCAACCAACTTTT GTGACAATGGTGGACTACCAACAGGACCAATATGAUCATTAGCNCAGCCACAGAACAACTTAGCAAT ATGATGCCAGGAAGATAAACCATACTGATGGCATGTGGAGGAATATGAACTCCAATTGTGTTTCAACTT TGTAAGATACCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACCTGCACAATATGAAATGCCAACCTGTGGAGGACTG GAACATGGACTGAGCCCTCTGTGGCTACCTCTTGGAGGACAAATACAGATATGTGAGGAGCAGGCCA TCACTTGTGAGAGGGAACAACCTCCAACAGAGAGAGGAGGAGCTCACTGGCTAAATACAAAGTTCTGGGATGTG AACTTCCAAGACTCTCTCAGCACAGACTGGACCAAGTTTCCACTGGGCTGGGAAGTTCTGTGATGCAACTTGG CACCAAGGAGCAAGGCTGCTGTGGCTACCAAGCAAGAGAGGCTTGGCCCAAGCAGCACTAGCACACTGCT AAGAGGAAGAGAGGTAAACctgagctc
SEQ ID No:	5606 Gen sintético de L1 del HPV33
139	ctgggtaccATGAAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCTTCTGTGCTGTGTGAGCAAGGTGGT

	AGCACAGATGAAATATGTGAGCAGGACCAGCACTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGG ACACCCATACTTCAAGCATTAAGAACCACCAACCAATGCCAAGAAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCC AATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACAGCTCTTCTACAAATC CTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAAACACAGGGAGTGGG CATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGGATGACACAGAGACAAGCAACAATACCTTGGACAACTTG GAGCAGACAAACAGGAGGTGCTCTAGTATGGAATACAAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGGGCTGTAAAGCTT CCAAACAGGAGAAACACTGGGGCCAAAGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCTGCCAAATGACTGTCTCCATTT GGAACTGATAAACAACCATCATTTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTGTATGGACTTCAAGA CCCTCCAAACCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGGCACTTGTAAATACCTTGACTACCTGA AAATGACCTCTGGAGCCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTCTAGGAGGGAACAGATGTTTGTGAGACACT TCTTCAACAGGGCTGGCACCCTGGGAGAGGCTGTGCTGATGACCTTACATCAAGGGCTGTGGCACCACA GGCAGCAACCAAGTCTGTGCTTCTTCCAACCAATCTGGCAGTATGGTGAAGTGTGAGAGGCAACCTTTTC AACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACAGGGTGTGTG GACAGTGGTGGACACCAACAGGAGCACCAATATGACCCCTGTGTAACCAAGCTGACCTGTGACAGCACTAC AGAAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCAATGTGGAGGAATATGACCTCCAAATTTGTTTCCAACTTTGT AAGGTGACCTTGACAGCAGAGGATGATGACCTACATCCATGCTATGAAACCTGACATCTGGAGGACTGGCA GTTTGGGACTGACAGCTCTCTCATCTGCTGCTCTCAAGACACCTACAGGTTTGTGAGCAAGCCAGGCTATCAC TTGTGAGAGACATGCTCTCAAAAGGAGAGGAGGAGGACCTGAGCAAAATACACCTTTCTGGAGGATGGAC CTGAAAGAGAGATCTCTGCTGACCTGGACCACTTCCACTGGGCAAGGAAGTTCCTGCTCCAGGAGGACT GAAAGCCAAAGCCAAACTGAAAGGGCTGCTCCAAACAGCACCAGGACCTCTCTGCCAAGAGGAAGAAG GTGAAGAAGTAAActgagctc
SEQ ID No:	5607 L1 F1 del HPV56
140	CTTGGTACCATGGCTACCTGGAGACCATCTGAG
SEQ ID No:	5608 L1 R1 del HPV56
141	CTGCTTGGAGCAGGAACCTCCAGCCAGTGG

SEQ ID No:	5809 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV56
142	<u>CTTGCTACG^[1]</u> <u>ATGGCTACTTGGAGAGCAATCTGAGAACAAAGGCTTACCTGCCCTCAACACTTGGAGGAAAGTGGTGGCTAG</u> <u>AGACTCCTATGTGAAGAGGACCAGCATCTTCTAACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGGTGTGGGACACC</u> <u>CATACTACTTGTGACCAAGGACAACACGAAAGCTCAACATCCAAAGGTTGTGCTACCAATACAGGCTG</u> <u>TTCAAGGTTGAGACTGCTGACCTCAACAACAAGTTGGACATCCCTGACACCAACATCTACAACTGACACGGA</u> <u>GAGACTGGTGTGGGCTTTGTGTGGGATTGGAGGTGGGACGGGACAACTACTGGGAGCAAGGACTGTGTGGA</u> <u>CACCTCACTGTTCAACAGACTGGAATGACACAGAGTCTACCAACTTGGCTAACCAACAAGTGTGATTAAGTACAG</u> <u>CAGGGACAACATCTCTGGGATGGCAAGCAGACCCAACTTGTATCTGGGGCTGACCTCTGCTATGGGAG</u> <u>AACACTGGACCAAGGGAGGAGTCTTTTAAGAGCAGCTCAGGTGACCACAGGAGACTCTCTCTCACTGGCTCTG</u> <u>ATAAACACACCAATGAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTGGAGCTATGGACTTCAAGGTGCTCTA</u> <u>AGAGAGCAAGGCTGAGGTGCCACTGGACATTTGCTAGAGCACTTGAAATACCTGACTACCTGAAAAAGA</u> <u>GTGCTGATGCTATGGAGACAGTAATGTGGTCTACCTGAGGAGGGAACAACCTTTTGGCAGACACTACTTC</u> <u>AACAGGGCTGGCAAGGTGGGAGAGACTATCTTCTGTAACCTTACTTGAAGGACAGCAATGGCAGGGAAC</u> <u>CTGCTTCATCTCTGCTATGGGCTACATCAATGGGACTATGATTACCTCTGAGGGCTCAACTTTTCAACA</u> <u>GCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCAACTTTTGTGACAG</u> <u>TGGTGGACACCACTAGGAGCACTAATATGATCAATAGCACAGCCACAAACAACTTAGCAAAATATGATGC</u> <u>CAGGAAGATAAACCATACTGAGGCATGTGGAGGAATATGAACCTCAATTGGTGTTCACCTTGTGAAGA</u> <u>TTACCGCTGCTGCTGAGGTGATGGCTTACCTGCACAATATGAATGCCAACCTGTTGGAGGACTTGAACATGT</u> <u>GACTGAGGCTCTCTGTGGCTACCTCTTGGAGGACAAATACAGATACTGAGGAGCACAGGCTTACCTTGT</u> <u>CAGAGGGGAACAACCTCCAAACAGAGAGAGCAGGACCTACTGGCTAAATACAAAGTTCTGGGATGTGAACCTCC</u> <u>AAGACTCCTTACAGACAGACCTGGACCAATCTTCACTGGGACAGGAAGCTCTCTCTTCCAAGCAG^[2]</u> [1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI [2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV56 aa 1-467

	[3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 469-499
SEQ ID No: 143	5610 L1 F2 del HPV56 GAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCC
SEQ ID No: 144	5611 L1 R2 del HPV56 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No: 145	5612 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV56 <u>GAAGTTCCTG</u>^[1] <u>CTCTAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAATGAAAAAGGCTGCTTCAACGAGTACCAAGTACTTCTTGG</u> <u>CCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA ATTAGA^[3] CAG [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV56 aa 1-467 [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 31 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 469-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No: 146	5613 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508 LQLGARPKEFTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

Apéndice 13: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 58

SEQ ID No:	5801 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 58 aa 1-473
147	MSVWRPSEATVYLPVPVSKVSTDEYVSRTSIYYAGSSRLLAVGNPYFSIKS PNNKKVLVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKFPGPDTSFYNPDTQRLVWACVGLE IGRQQPLGVGVSGHPYLNKFDDTETSNRYPAPGSDNRECLSM DYKQTQLCLI GCKPPTGEHWGKGVACNNNAATDCPPELFNSHEDGDMVDTGFGCMDFGTL QANKSDVPIDICNSTCKYPDYLKMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFENRAGKL GEAVPDDLVIKSGSGNTAVIQSSAFFPTPSGSIVTSESQLFNKPYWLQRAQGHNN GICWGNQLFVTVVDTTTRSTNMTLCTEVTKEGTYKNDNFKEYVRHVEEYDLQF VFQLCKITLTAEIMTYIHTMDSNILEDWQFGLTPPPSASLQD TYRFVTSQAITCQ KTAPPKEKEDPLNKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQSGL
SEQ ID No:	5802 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 33 aa 474-499
148	KAKPKLKR APTSTRSSAKRKKVKK
SEQ ID No:	5803 Secuencia de aminoácidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 58
149	MSVWRPSEATVYLPVPVSKVSTDEYVSRTSIYYAGSSRLLAVGNPYFSIKS PNNKKVLVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKFPGPDTSFYNPDTQRLVWACVGLE IGRQQPLGVGVSGHPYLNKFDDTETSNRYPAPGSDNRECLSM DYKQTQLCLI GCKPPTGEHWGKGVACNNNAATDCPPELFNSHEDGDMVDTGFGCMDFGTL QANKSDVPIDICNSTCKYPDYLKMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFENRAGKL GEAVPDDLVIKSGSGNTAVIQSSAFFPTPSGSIVTSESQLFNKPYWLQRAQGHNN GICWGNQLFVTVVDTTTRSTNMTLCTEVTKEGTYKNDNFKEYVRHVEEYDLQF VFQLCKITLTAEIMTYIHTMDSNILEDWQFGLTPPPSASLQD TYRFVTSQAITCQ KTAPPKEKEDPLNKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQSGLKAKPKLKR

	AAPTSTRTSSAKRKKVKE
SEQ ID No: 150	5804 Secuencia de nucleótidos de la proteína quimérica L1 del HPV del tipo 58 ATGAGCGTGTGGAGGCCAGTGAGGCCACCTGTACCTGCCGCCCGTGCCTGTGAGCAAGGTGTGTGAGCAC CGACGAGTACGTGAGCAGGAGCCAGCATCTACTACTACGCCGGCAGCAGCAGGCTGCTGGCCGTGGGCAAC CCTTACTTCAGCAACAAGAGGCCCAACAACAACAAGAAGGCTGCTGGTGCCTAAGGTGAGCGGCTGTGAGTAA CAGGTGTTCAGGGTGAGGCTGCCCGACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCGGACACAGCTTCTACAACTCCG ACACCCAGAGGCTGGTGTGGGCTGGCTGGGCTGGGAGATCGGCAGGGGCCAGCCCTGGGGGTGGGGGT GAGCGGCAATCTTACTGAAACAATTCGACGACATCTAGACAGCAACAGGTACCTCGGCTAGCCCGCC AGCGACAACAGGGAGTGGCTGAGCATGACTACAAGCAGATCCAGCTGTGCTTATCGGCTGCCAGCCCTC CCACCGGGGAGCCACTGGGGCAAGGGCTGTGGCTGCCAACAACAACCGCCGCCACCGACTGGCCCTCCCTG GAGCTGTTCACAGCATCATGTAGGACGGGACATGGTGTACACCGGCTTCGGCTGCATGGACTTGGCAC CCTGCAGGCAACAAGAGGAGCTGTGGCTATGACATCTGCAACAGCAGCTGTAAATACCCCGACTACCTGA AGATGGCCAGCGAGCCCTACGGGACAGCTGTCTCTCTCTGAGGAGGGAGCAGATGTTCGTGAGGCAC TCTTCAACAGGGCCGGCAAGCTGGGCGAAGGCTGTGCCGAGGACTGTACATCAAGGGCAGCGGCAACA CCGGCGTGATCCAGAGCAGGCTCTCTTCCCAACCCCAAGCGGCAGCAGCTGTGACCAAGCGAGGCCAGCTG TTCACAAGCCCTACTGGCTGCAGAGGGCCAGGGCCACAACAACCGCATCTGTGTGGGCAACCAAGCTGTT CGTGACCTGTGTGGACACCAAGGAGGAGCCCAACATGACCTGTGACCGAGGTGACCAAGGAGGGCAAC TACAAGAAAGACAACCTTCAAGGAGTATGTGAGGCACTGTGAGGAGTACCTACCTGAGTTCGAGTTCGAGCT GTGCAAGATCAACCTGACCGGCGAGATCATGACCTACATCCACACCATGGACAGCAACATCTGGAGGACT GGCAGTTCGGCTGACCTCCCTCCAGCGCCAGGCTGCAGGACACTTACAGGTTCGTGACAGCCAGGCT ATCAGCTGCCAGAGAGCCGCCCCCAAGGAGAGGAGGAGCCCGTGAACAAGTACACCTTCTGGGAGG TGAACCTGAAGGAGAAATTCAGGCTGACCTGAGTACTTCCCTGGGCAAGGAACTCTCTGTCAGAGG GGCTGAAAGCCAGCTCAAACTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGGACTCTCTGCAAGAGGA AGAAGGTGAAGAAATTA

[illegible]

152	ctgggtaccatgagttgtgtggagaccatctgagggctacagctcaccctgcttctgtgtgcttgtgagccaaggtgggt agcacagatgaaatgtgtgagcaggaccagcatctactactatgctgtgtccagcagactgcttggctgtgggt acacccatacttcagcatcaagaaacccaacaaatgccaaagaaactgcttgggtggcaaggtgtcttggacttc aatacaggggtgttcaggggtgagactgctgacccaaacaaagtgtggctttgttgcacactgtttctacaaac ctgacacccagagactgggtgtgggcttgtgtggcattggagattggcaggggacacacacctgggagtggt catctctgggacacccactgctgaaacaagttgattgacacagaaacagccaaacaaataccctggacaaacctg gagcagaaacacagggagtgtctgagtatggactacaaagcagaccacactttgtctgtgtggctgtgaagcct ccaacagggagaaacactgggggcaagggagtggtctgtgaccaaagctgcccctggccaatgactgttctccatt ggaaactgataaacactatcatctgaggaatggagatattgtgtgacacacaggtctttggctgtatggacttcaaga ccctccaaagccacacaaagtctgattgtgcaatggacatctgtgtgacgacttctgaaataccctgactacctga aaatgagctctgaaactatattgtagactcctgtttcttttcttcttgcagcaggggaacagadttttgtgagacact tcttcaacagggctgggcacccctgggagagggctgtggctgattgacctctacatcaagggctctgtggcaccaca ggcagcatccagtcctctggcttctttccaaacaccatctggcagtatgggtgacctctgagagccaaacttttc aacaagccatactggctccaaagggctcaaggacacaacaatggcatctgtttggggcaaccaggtgtttgt gacagtggtggacaccacccaggagcaccacaaatattgacctctgtgacccaggtgacctctgacagccacctaca agaaatgagaacttcaagggaatacatcagacatgtggaggaatafgacctccaatttgtgttccaaactttgt aaggtgacctctgacagcagaggtgattgacctatccatggctatgaaccttgacatcttggagagacttgcca gtttggactgactgactctctctatctgcttctccaagacacctacaggtttgtgacacagccaggttatcac ttgtcagaagacagtggttccaaaggaagagggagggacccactgggcaaatacaccttctgtggaggtggac ctgaaagagagagttctctgtgacctggaccagtttccactggcaggaagttctgctccaagcagggact gaaagccaaagccaaaactgaaagggctgtgcccacccagcaaccaggaccttcttgcacaaaggaagaaag gtgaatgaagttaaactgagtc
SEQ ID No:	5807 L1 F1 del HPV58
153	CTTGGTACCATGAGCGTGTGGAGGCCCCAGCGAGG
SEQ ID No:	5808 L1 R1 del HPV58

154	GCTTGGCTTTTCAGGCCGCTCTGCAGCAGGAACTTCC
SEQ ID No:	5809 Secuencia amplificada 1 de L1 del HPV58
155	<u>CTTGGTACCT^[1]</u> <u>ATTAGCTGTGTGGAGGCTCCAGCGTAGGGCACTGTGTACCTTCCTCTGTGCTTGTGACCAAGGTGTTGAGCAC</u> <u>CGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCGGCAGCAGCAGGCTTCTGCCCCGTGGGCAAC</u> <u>CTCTACTTTAGCTATCAAGAGCTCTCAACAACAACAAGAAAGTGGTGGTGGCTAAGGTGAATCTGTCTGCAGTA</u> <u>CAGGTGTTCAGGGTGAAGCTTCTCTACCTCAACAAGTGTGGCTTCCCCGACACCAAGCTTCTACAACCTCTG</u> <u>ACACCCAGAGGCTTGGTGTGGGCTTGGTGGGCTTGGAGATCGGCAGCGGCTCAGCCCTTGGGCTTGGGCTT</u> <u>GAGCGGCTACCTCTACTTGAACAAGTGTGACGACACCGAGACAGCAACAGGTACCTCCCTCAGCGCGGC</u> <u>AGCGACAACAGGTAATGCTTGAAGCATGGACTACAAACAGACCCAGCTGTGGCTGATCGCTGTGAAGCCCTC</u> <u>CCACTGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCTTGGCTTGGCAACAACAAGCTTCTCTGTCACCGATCTGGCTCCCTCTG</u> <u>GAGCTGTTCAACAGCATCATCHAGGACCGCGACATGGTGGACACCGGCTTCGGCTGCATGGACTTCGGCAC</u> <u>CTTGTAGGCTCAACAAGAGAGGACCTGTCTATCTACATCTGGCAACAGCACCTTGCAGGATCTCCGACTACCTTA</u> <u>AGAAGGCCAGCGAGGCTTACGGCGACAGCTGTCTCTCTCTGAGGAGGGAGCAGATGTCTGTGAGGCCAC</u> <u>TTCTTCAACAGGGCTGGCAAGCTGGGGGAGGGCTTGGCGGACGACCTGTACATCAAGTGCAGCGGCAACA</u> <u>CCGCTGTGATCCAGAGCAGCTGTCTCTCTCACCTCCAGCGGCAGCATCTGTGACCAAGCGAGAGCCAGCTG</u> <u>TTCAACAAGCTCTACTGGCTGCAGAGGGCCAGGGCCACAACAACGGCATCTGCTGGGGCAACCAAGCTGTT</u> <u>CTTGACCGTGGTGGACACCACCAAGGAGCACCAACATGACCTGTGGCACCAAGGTGACCAAGGAGGGCAGC</u> <u>TACAAGAACTACAACTTCAAGGAGTACTGTGAGGCACCTGGAGAGAGTACGACTTACAGTTCGTGTTTCAGCT</u> <u>GTGCAAGATCACCTGACCGCGAGATCATGACCTACATCCACACCATGGACAGCAACATCTGTGAGGACT</u> <u>GGCAGTTGGGCTTGAAGCCCTCCCTCAGCGGCAAGCTTGCAGGACACCTTACAGGTTCTGTGACCAAGGCTC</u> <u>ATCAGCTGTCTAGAAGACCTGCTCCCTCAAGGAGAAGGAGGACCTCTGAACAAGTACACCTTCTGGGAGG</u> <u>TGAACCTGAAGGAGAACTTCAAGTCCGACCTTGACCAAGTCTCTCTGGGCAAGGAGTCTGTGTGCAGAGC</u> <u>GGCTGTCTAAAGCCAAGC^[1]</u> [1]: Sitio de escisión enzimática de KpnI

	[2]: El fragmento del gen que codifica para L1 del HPV58 aa 1-473. [3]: 10 bases superpuestas con el fragmento del gen que codifica para L1 del HPV33 aa 474-499
SEQ ID No:	5810 L1 F2 del HPV58
156	GAGCGGCCTGAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGG
SEQ ID No:	5811 L1 R2 del HPV58
157	CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCTCTTGG
SEQ ID No:	5812 Secuencia amplificada 2 de L1 del HPV58
158	<u>GAGCGGCCTG</u>⁽¹⁾ <u>AAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCTCTAAACAGCACAAG</u> <u>ACTTCTCTTCTCAAGAAGGAAGGTAAGAAGG⁽²⁾TAAATCTAGA⁽³⁾CAG</u> [1]: 10 pb superpuestas con el fragmento del gen que codifica para el C-terminal de L1 del HPV58 aa 1-473. [2]: El fragmento del gen que codifica para el C-terminal de 26 aminoácidos de L1 del HPV33 aa 474-499 [3]: Sitio de escisión enzimática de XbaI
SEQ ID No:	5813 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 aa 471-508
159	LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

Apéndice 14: Listado de secuencias - proteína quimérica L1 del virus del papiloma humano del tipo 59

SEQ ID No: 160	5901 La secuencia de aminoácidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 MALWRSSDNKVYLPPPSVAKVVSTDEYVTRTSIFYHAGSSRLLTVGHPYFKVP KGGNGRQDVPKVSAYQYRVFRVKLPDPNKFGLPDNTVYDPNSQRLVWACVG VEIGRGQPLGVGLSGHPLYNKLDDTENSHVASAVDTKDTRDNVSVDYKQTQL CHIGCVPAIGEHWTEGTACKPTTVVQGDCPPLELINTPIEDGDMVDTGYGAMDF KLLQDNKSEVPLDICQSICKYPDY LQMSADAYGDSMFFCLRREQVFARHFVNR SGTMGDQLPESLYIKCTDIRANPGSYLYSPSPSGSVVTSDSQLFNEPYWLHKAQ GLNNGICWHNQLELTVVDTTTRSTNLSVCASTTSSIPNVYTPTSFKEYARHVEEF DLQFIFQLCKITLTTEVMSYIHNMMNTTILEDWNFGVTPPPPTASLVDTYRFVQSAA VTCQKDTAPPVKQDPYDKLKFWPVDLKERFSADLDQFPLGRKFLLQLGARPKP TIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK
SEQ ID No: 161	5902 Secuencia de nucleótidos de la proteína L1 del HPV del tipo 59 ATGGCTCTGTGGAGGTCTCTGACAAACAAGGTCTACTGCTCCTCTATCTGTGCTAAGGTGGTGAGCACA GATGAATATGTGACCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGACACCC ATACTTCAAGGTGCCAAAGGGAGGCAATGGCAGACAGGATGTGCCAAAGGTGTCTGCTACCACTACAGG GTGTTTCAGGTGTGAACTGCTGACCCAAACAAATTTGGACTGCTGACAAACACAGTCTATGACCCAAACAG CCAGAGACTGGTGTGGCTTGTGTGGGAUTGGAUATTGGCAGGGGACAAACACTGGAGTGGGACTGTCT GGACACCCACCTTACAACAACTGGATGACACAGAGAACTCTCATGTGGCATCTGCTGTGGACACCAAGGA CACCAGGGACAAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGAACCAACTTTGTATCATTTGGCTGTGTGGCTGCCATTGG AGAACACTGGACCAAGGGCACAGCCTGTAAAGCAACACAGTGGTCCAGGGAGACTGTCTTCATTGGAA CTGATAAATACACCAATGTAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGGAATTCAAACTGCT

	CCAGACACAAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTGAGAGCATCTGTAAATACCCCTGACTACCTTCCAAA TGAGTCTTGATGCCATATGGAGACATATATGTTTCTCTGTGAGTGGGGAACAGGTGTTTCCCAAGACACTTCT GGAAACAGGTGTGGACAAATGGGAGACAACTTCCCTGAGTCCCTCTGATCAAGGGGACAGACATCAGGGCT AACCTTGGCTCTTACCTCTACAGCCCAAGCTCCATCTGGCTCTGTGGTGAATCTTGACAGCCAACTTTTCAAC AAGCCATACTGGCTGCACAAAGGCTCAAGGACTGAACAATGGCATCTGTTGGCACAACCAACTTTTCTGAC AGTGGTGGACACCAAGGAGCAGCAACCTGTCTGTGTGTGGCCAGCAGCAGCTCCACCATCCCAAAATGTCT ACACACCAACCTTCTTCAAGGAATATGCCAGGCTATGTGGAGGAGTTTGACCTCCAACTTCATCTTCCAACTTT GTAAGATTACCTGACCAACAGAGGTGATGAGTTACATCCACAATATGAACACCACTATCTGGAGGACTGG AACTTTGGAGTGACACTCTCTCAACAGCTCTCCCTGGTGGACACTTACAGGTGTGTCTAGGTGTGCTGCTGTG ACTTGTGAGAAAGACACAGCCCTCTCTGTGAAGCAGGACCTATATGACAACTGAAGTTCTGGCTGTGGGA CCTGAAAGAGAGGTTCTCTGTGAGCTGGACCACTTCCACTGGGCAGGAGATCTGTCTCCAACTTGGAG CCAGACCAAAAGCCAACTTGGACCAAGGAAAGAGGGCTGCCCCCTGGCCCAAGCAGCAGCAAGCCCAAA GAGGGTGAAAGAGAGGAAGTCCAGCAAGGAAGTAAA
SEQ ID No: 162	5903 Gen sintético de L1 del HPV59 atgggtaseatgggtctctgtggaggtctcttgacacacaaaggtctacctgcttccctctatctggtggctaagggtgtg agcacagatgaatattgtgacctaggaaccagcatctctctaccatgctggctccagcagactgtgtgacatgtggg acacccatacttcaagggtgclaaagggaagocaaatgacagacagatgtgccaagggtgtcttcttaccat acaggggtttcaggggtgaaaactgcttgacctcaaacaaagtttggacttgcctgacacacagttctatgaccca aatagccagagactggtgtgggtttgtgtgggagtggaagatttggcaggggacaaaccattgggacttgggac tgttctggacacccactctacacaaaactggatgacacagagaactcttctgttggcatgtgtgtgtggacacc aaggacaccagggacaaatgtgttctgttggactacaaagcagccccaaactttgtatcatgtggctgtgtgtctgc cttttggagaacacggaccaaaggacacagcttgaagccaaacaaagtgtgttgaaggaugctgtgtcttcaat tggaaactgataaacacacccaattgagggatggagatattggtggacacaggttatggagctatggacttcaa actgctccaaagacaaacaaatctgaggtgacactggacatctgttcagagcatctgttaaataacctgactacc

TCCAAATGAGTGCCTGATGCCATATGGAGACAGTAATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAGGTGTTTGGCAGA
CACTTCTGGAACAGGTCTGGCACAATGGGAGAACCAACTTCTGAGTCCCTCTACATCAAGGGCACAGACAT
CAGGGCTAATCCCTGGCTCCCTACCTCTACAGCCCAAGCCCACTGGGCTCTGTGGTGAACCTCTGACAGCCAACT
TTTCAACAAGCCATACTGGCTGCAACAAGGCTCAAGGACTGAACAAATGGCATCTGTGGCACAACCAACTTT
TCCTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGTCTGTGTGTGTCAGCACCACTCCAGCATCCCA
AATGTCTACACACCAACCTCTCTCAAGGAATATGCCAGGCCATGTGGAGGAGTTTGACCTCCAAATTCATCTTC
CAACTTTGTAAGATTACCTGACCACAGAGGTGATGAGTTACATCCACATAATGAAACACCACCATCTTGGG
GGACTGGAACTTTGGAGTGACACCTCTCCAACAGCCTCCCTGGTGGACACCTACAGGTTTGTCCAGTCTGC
TGCTGTGACTTTGTCAGAAGGACACAGCCCTCTCTGTGAAGCAGGACCCATATGACAAACTGAAGTCTGGC
CTGTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCCTGCTCCAA
CTTGGAGCCAGACCAAAGCCAACCATTGGACCAAGGAAGAGGGCTTGCCTCTGCCCAACCAAGCACACCAA
GCCCCAAGAGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAAGTAAATetgagstc

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunogénica del HPV para uso en la prevención de enfermedades o infecciones relacionadas con el HPV, que comprende:

5 proteína quimérica L1 del HPV de los tipos del HPV 6, 11, 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58, proteína L1 del HPV del tipo 33 y proteína L1 del HPV del tipo 59,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV de los tipos del HPV 6, 11, 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58 se muestra en SEQ ID No: 3, SEQ ID No: 16, SEQ ID No: 29, SEQ ID No: 42, SEQ ID No: 55, SEQ ID No: 71, SEQ ID No: 84, SEQ ID No: 97, SEQ ID No: 110, SEQ ID No: 123, SEQ ID No: 136 y SEQ ID No: 149, respectivamente,

10 y la proteína L1 del HPV del tipo 33 y la proteína L1 del HPV del tipo 59 se muestran en SEQ ID No: 66 y SEQ ID No: 160, respectivamente.
2. La composición inmunogénica del HPV para uso de acuerdo con la reivindicación 1,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 6 está codificada por SEQ ID No: 4,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 11 está codificada por SEQ ID No: 17,

15 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 16 está codificada por SEQ ID No: 30,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 18 está codificada por SEQ ID No: 43,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 31 está codificada por SEQ ID No: 56,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 35 está codificada por SEQ ID No: 72,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 39 está codificada por SEQ ID No: 85,

20 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 45 está codificada por SEQ ID No: 98,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 51 está codificada por SEQ ID No: 111,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 52 está codificada por SEQ ID No: 124,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 56 está codificada por SEQ ID No: 137,

 en la que dicha proteína quimérica L1 del HPV del HPV de Tipos 58 está codificada por SEQ ID No: 150,

25 en la que dicha proteína L1 del HPV del HPV de Tipos 33 está codificada por SEQ ID No: 67, o

 en la que dicha proteína L1 del HPV del HPV de Tipos 59 está codificada por SEQ ID No: 161.
3. La composición inmunogénica del HPV para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicha composición inmunogénica del HPV comprende adicionalmente un portador fisiológicamente aceptable y, opcionalmente, un adyuvante.
- 30 4. La composición inmunogénica del HPV para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicho adyuvante es un adyuvante de fosfato de aluminio.

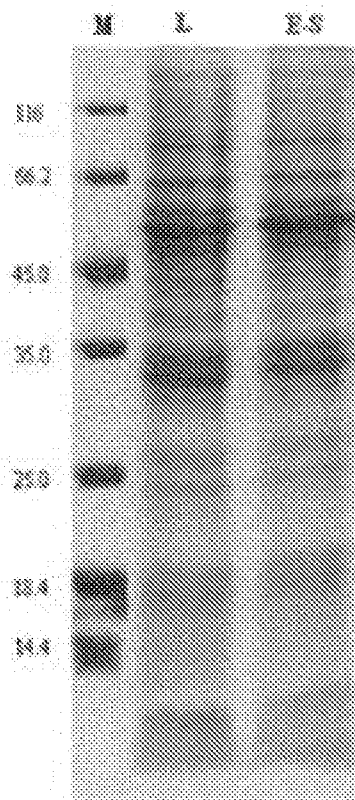


Fig.1A

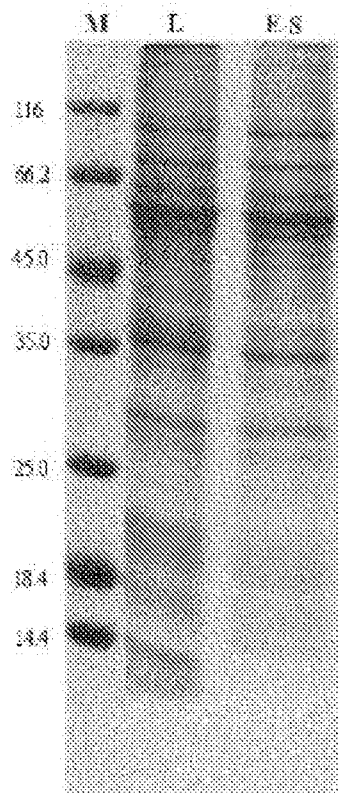


Fig.1B

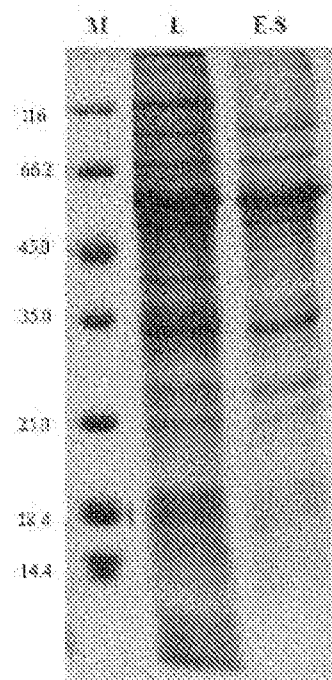


Fig.1C

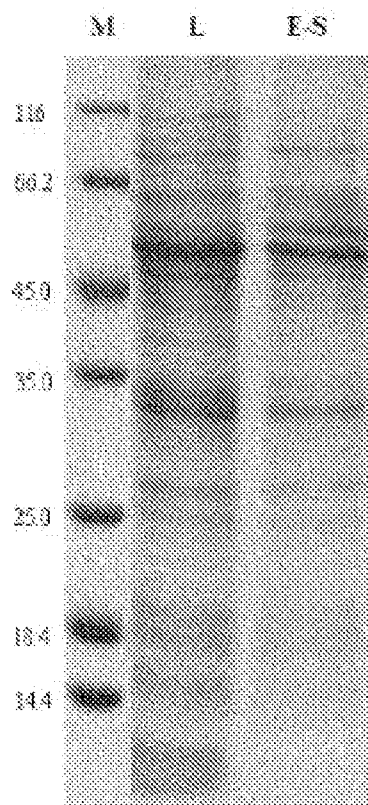


Fig.1D

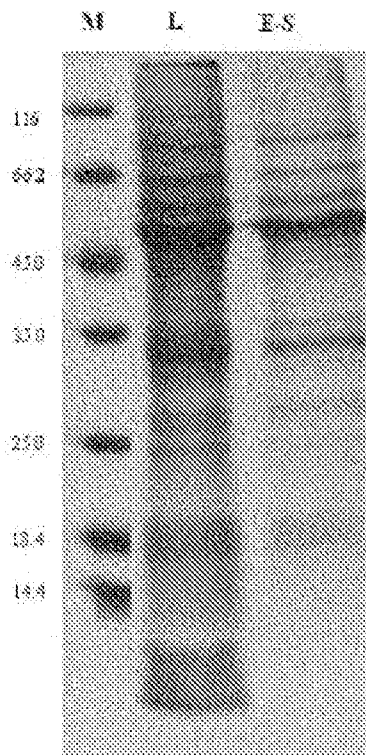


Fig. 1E

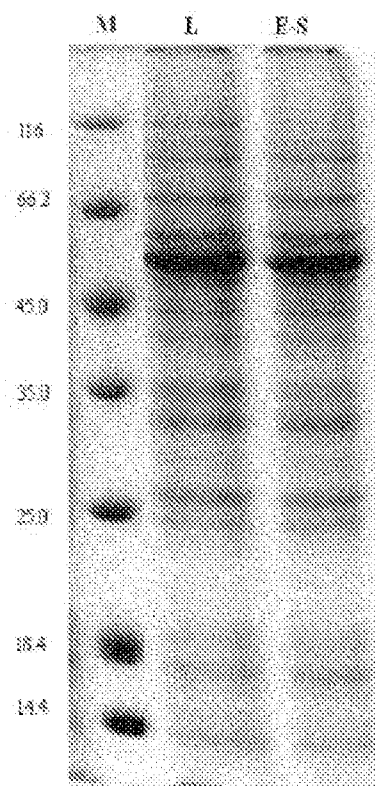


Fig. 1F

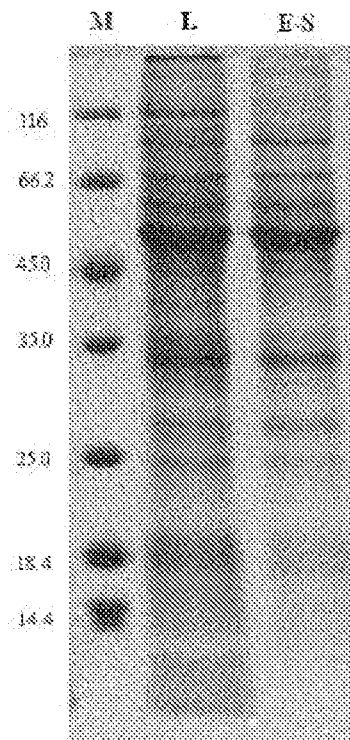


Fig.1G

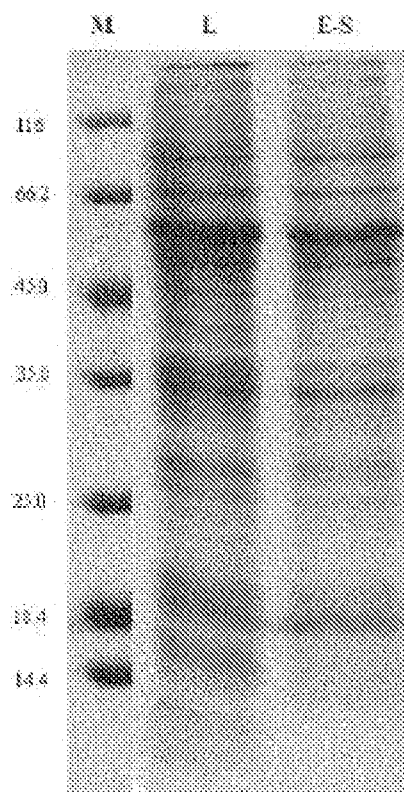


Fig.1H

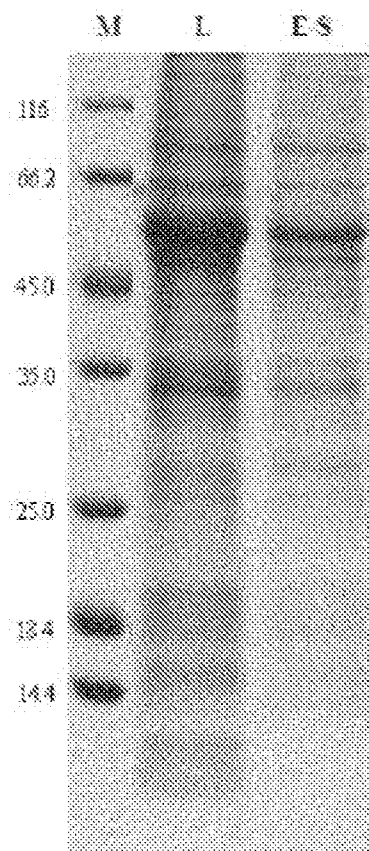


Fig.11

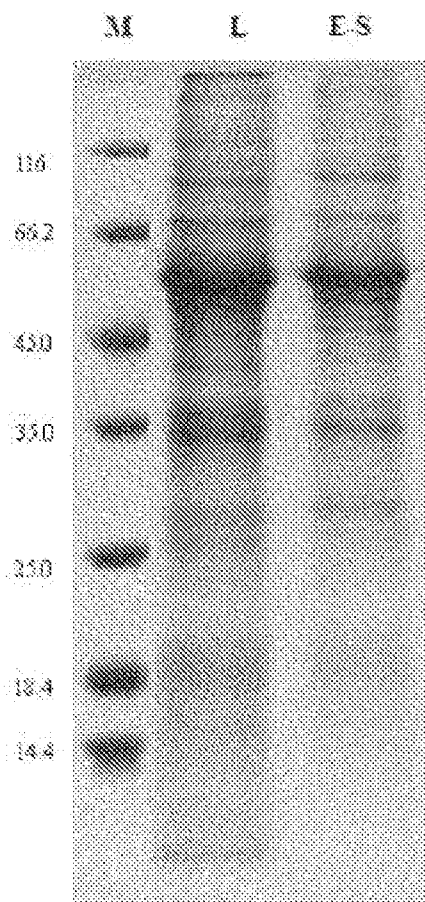


Fig.IJ

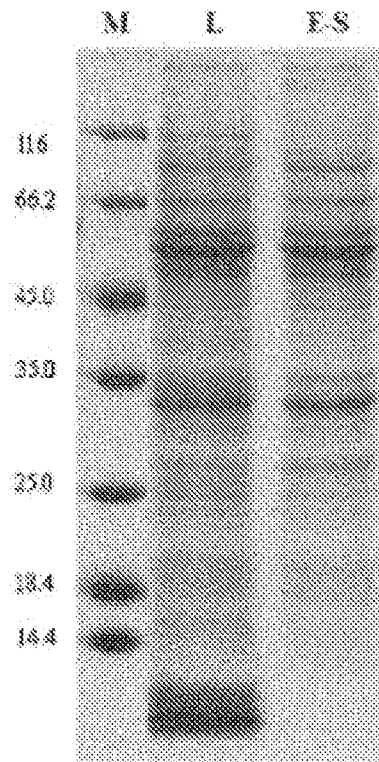


Fig.1K

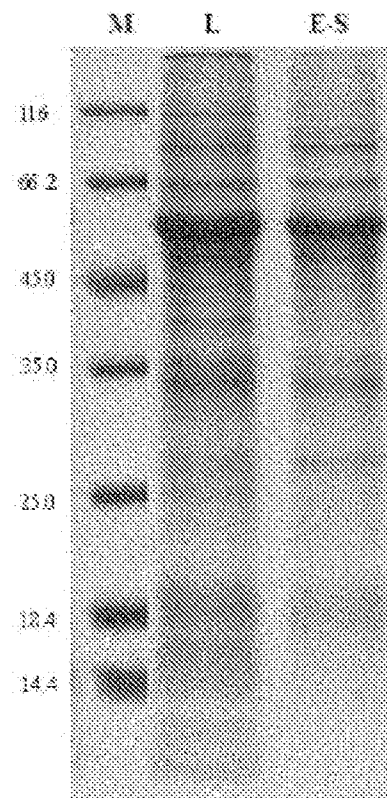


Fig 1L

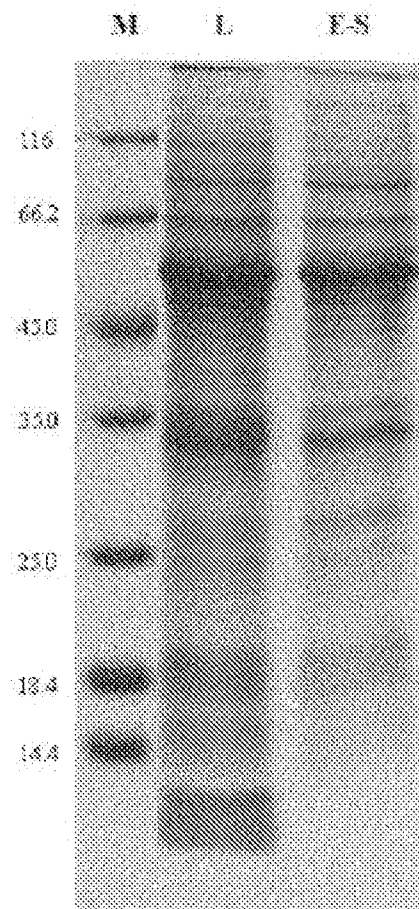


Fig.1M

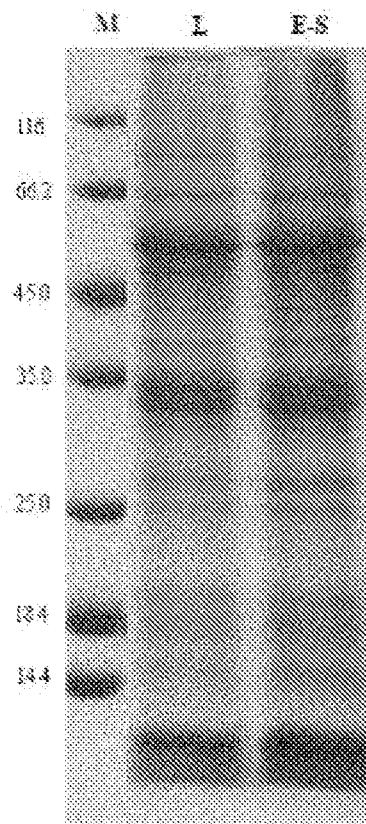
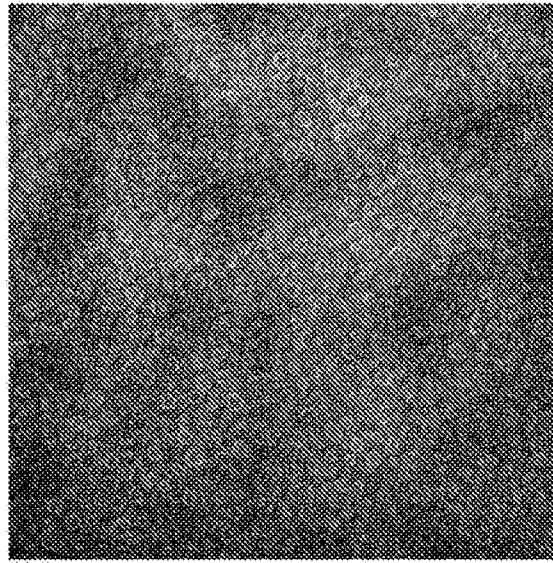


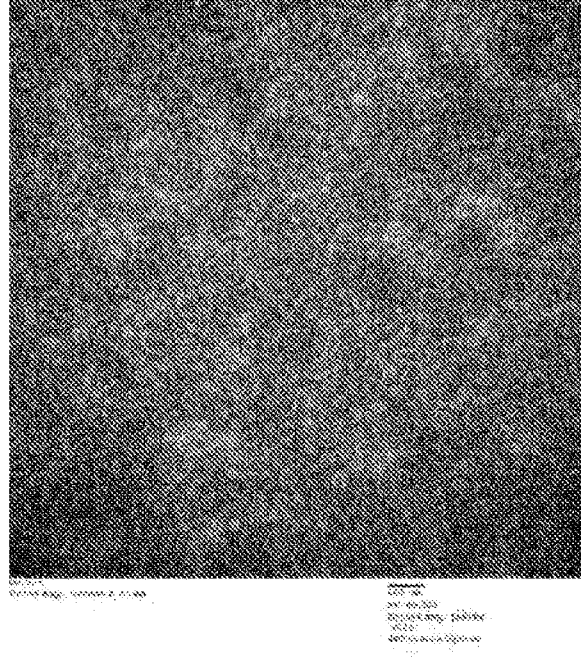
Fig.1N



A2-2.0f
SXCX-40
Mag impresa: 32000x @ 61 nm

100 nm
HV = 80.0kV
Mag directa: 80000x
Inclinación
Sistema de Cámara AMT

Fig.2A



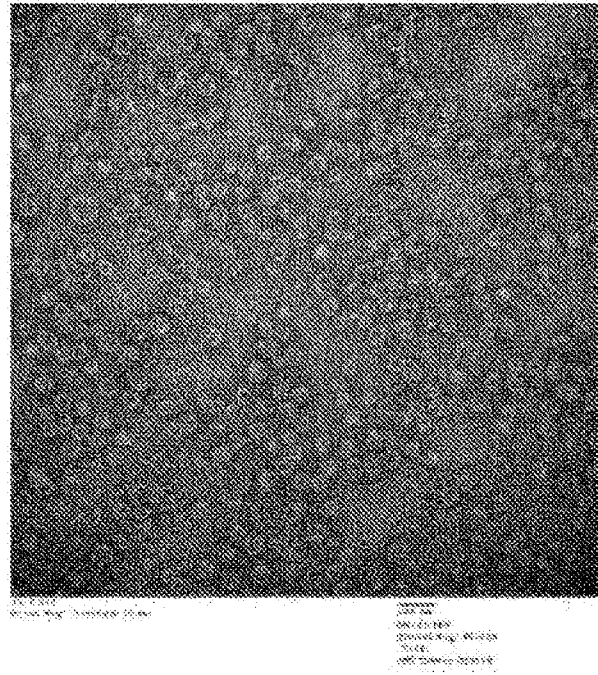


Fig.2C

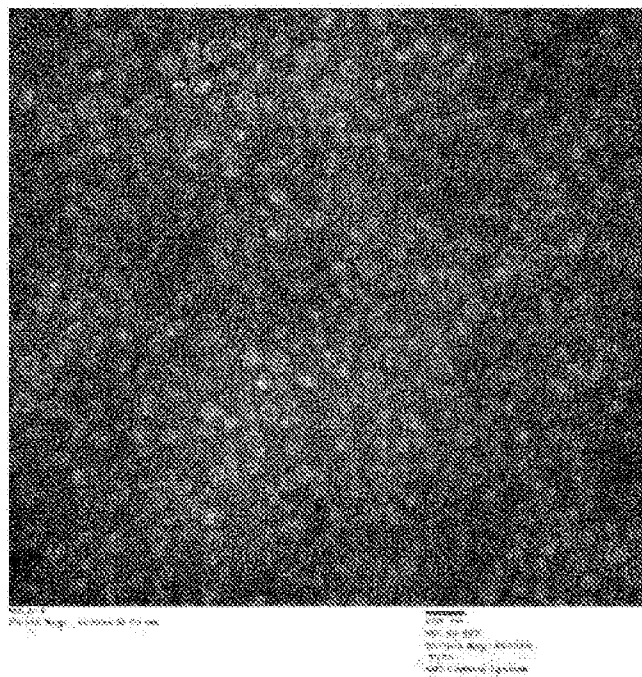


Fig.2D

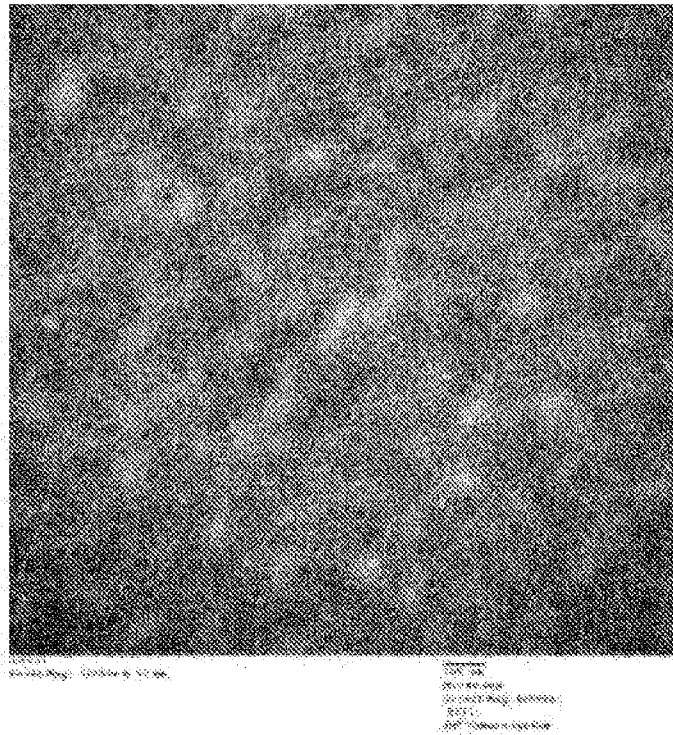


Fig.2E

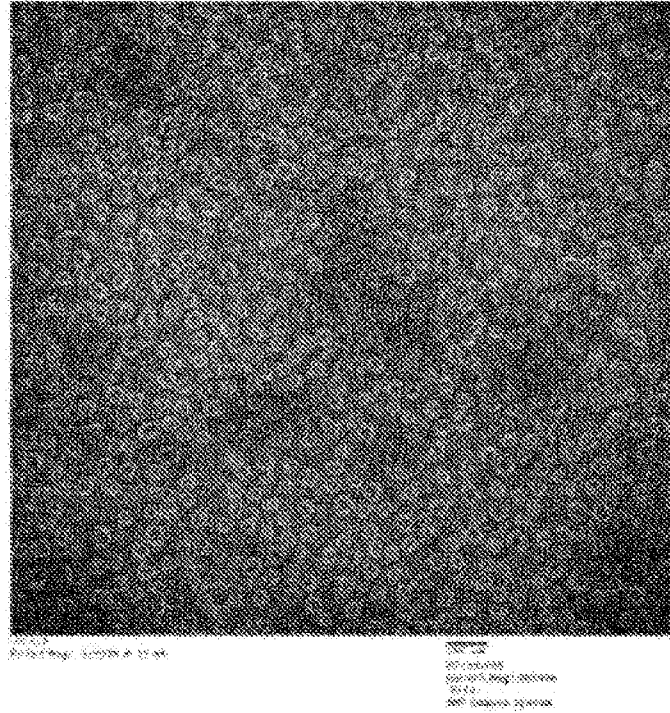


Fig.2F

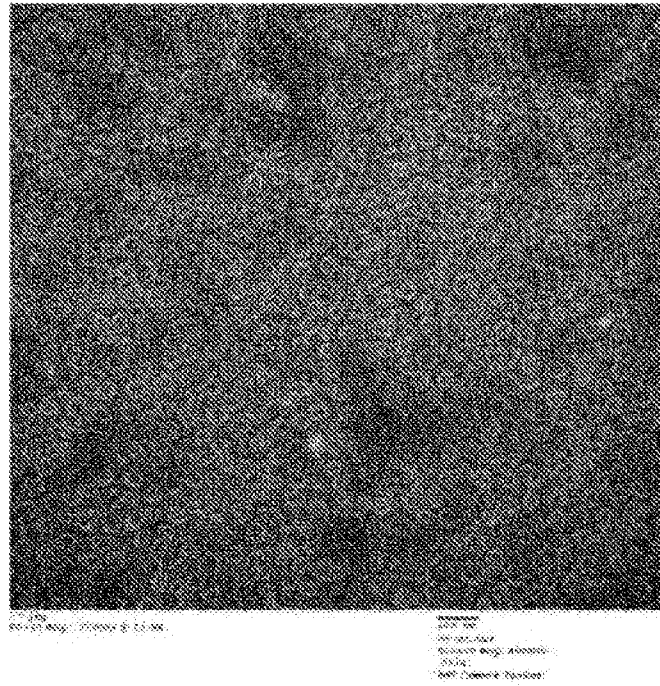


Fig.2G

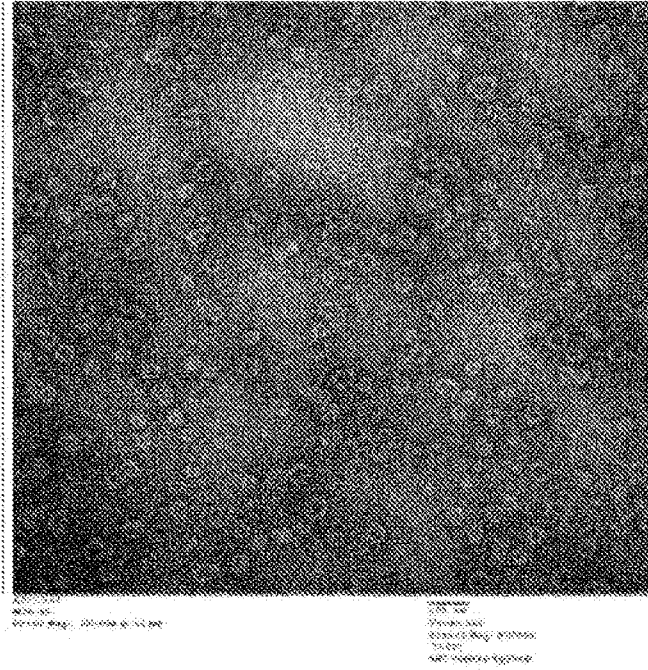


Fig.2H

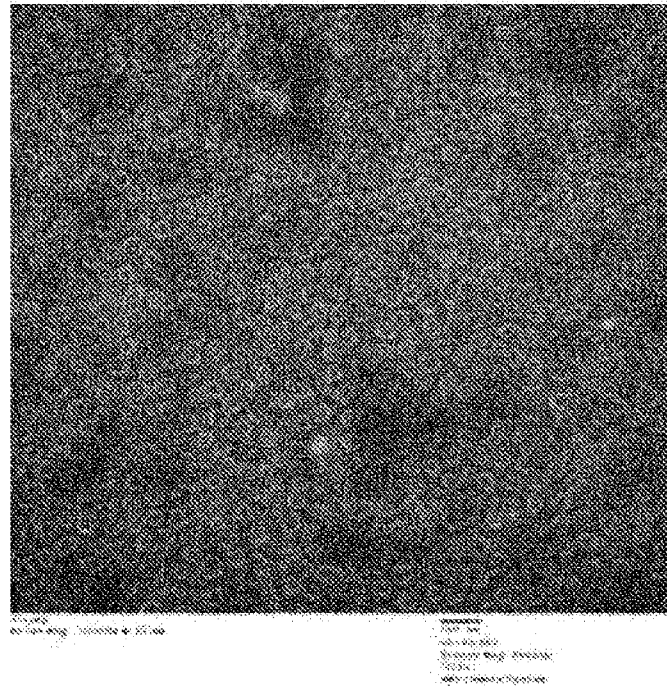


Fig.2I

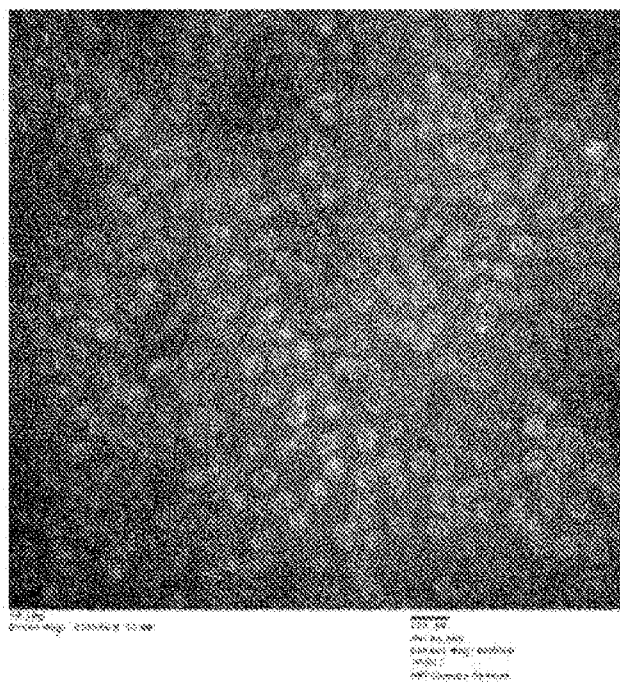
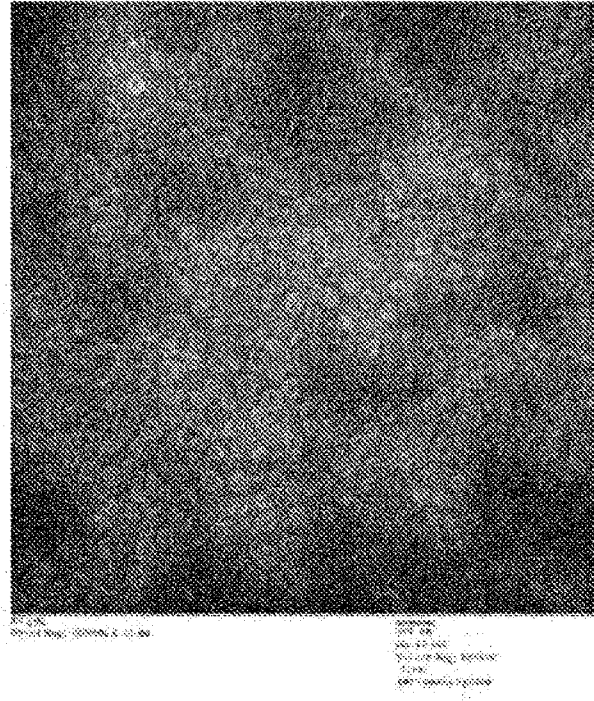


Fig.2J



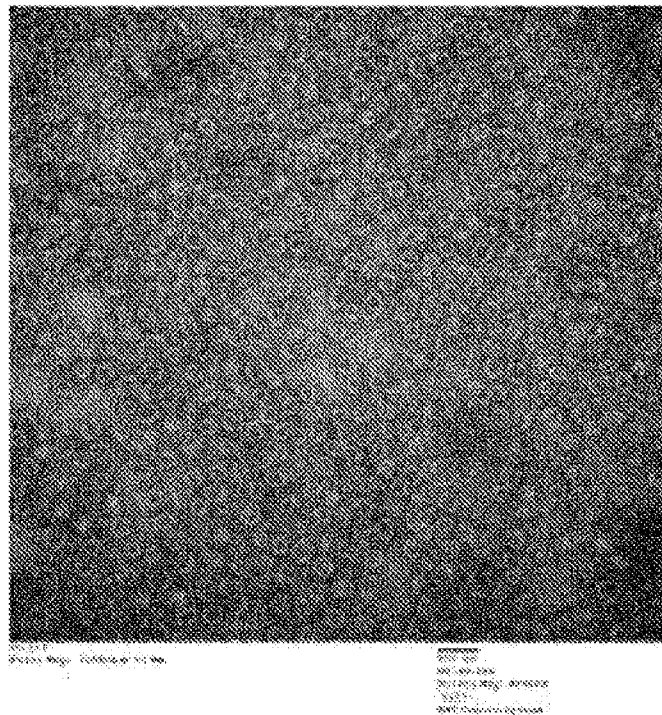


Fig.2L

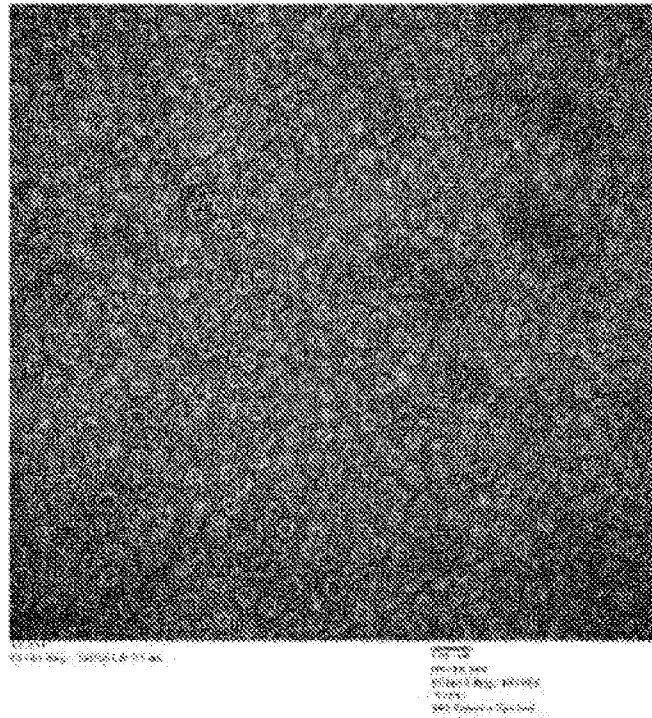
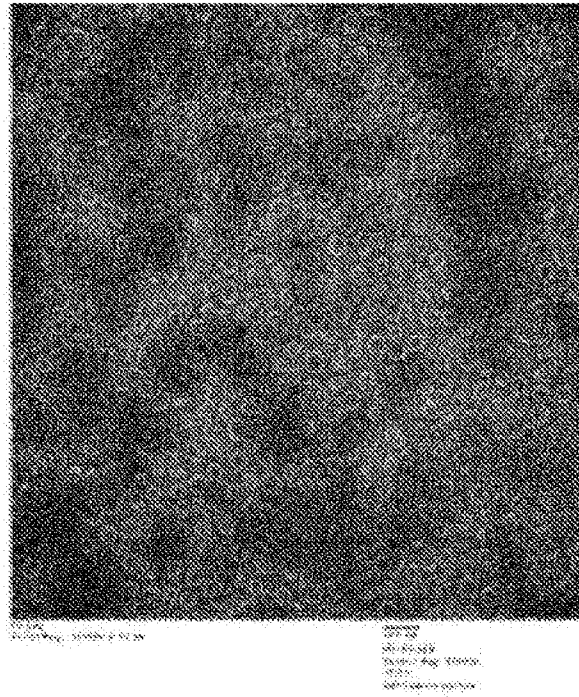


Fig.2M



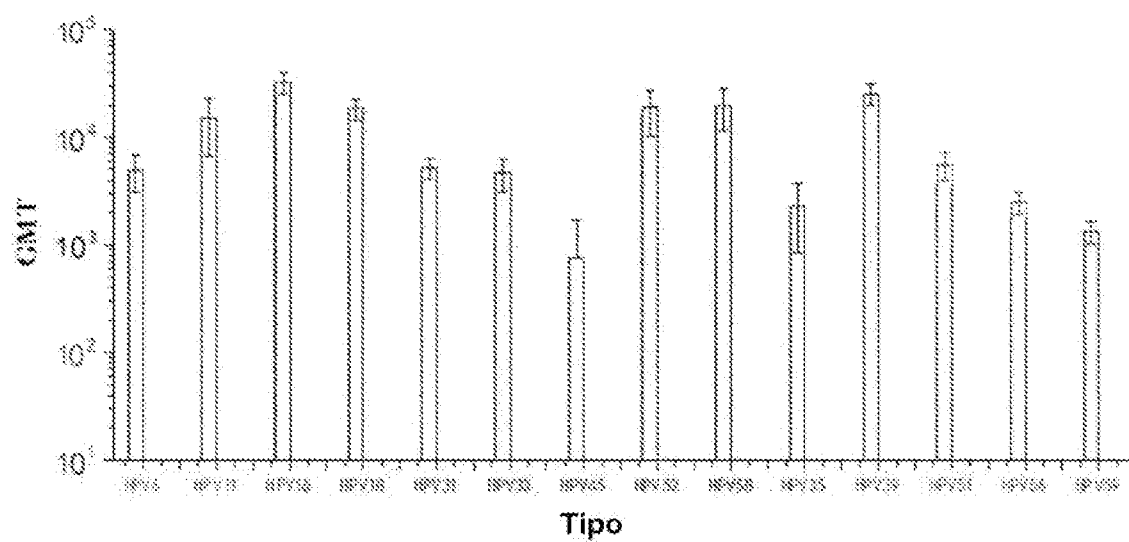


Fig.3

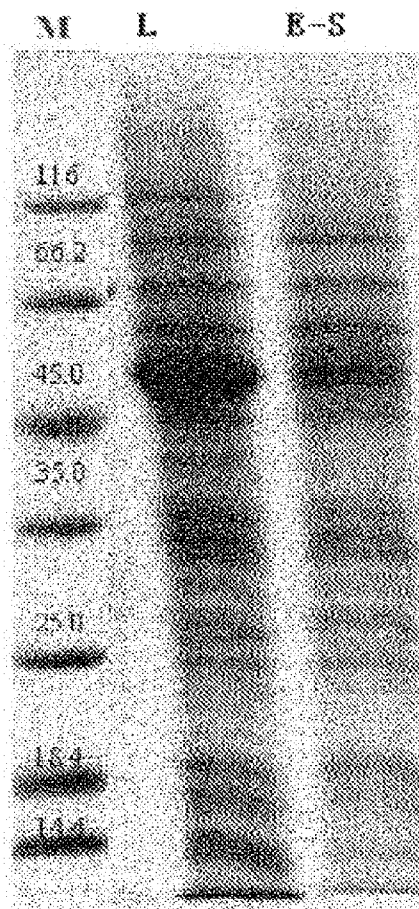


Fig.4