

PROTEÍNA G ANTIRRÁBICA Y SUS USOS

REFERENCIA CRUZADA A LA SOLICITUD RELACIONADA

[0001] La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de patente de EE. UU. núm. 63/371,148, presentada el 11 de agosto de 2022, que se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

INCORPORACIÓN MEDIANTE REFERENCIA DEL LISTADO DE SECUENCIAS

[0002] Esta solicitud contiene un listado de secuencias que se presentó por vía EFS-WEB en formato .XML y se incorpora en su totalidad mediante esta referencia. Dicha copia .XML, creada el 7 de agosto de 2023, se llama 061291-507001WO_SeqList_ST26.xml y tiene un tamaño de 236 kilobytes.

CAMPO

[0003] La divulgación se refiere en general a vacunas contra el virus de la rabia.

ANTECEDENTES

[0004] El virus de la rabia (RV) es un patógeno viral letal que se transmite a los humanos principalmente a través de las mordeduras de perros infectados. Se estima que cada año la rabia mata a más de 55.000 personas, principalmente niños, en Asia y África. Los gastos directos anuales mundiales en intervenciones contra la rabia, incluidos los anticuerpos para la profilaxis posterior a la exposición, superan los mil millones de dólares estadounidenses, y el impacto económico total de la rabia se estima en más de 8 mil millones de dólares estadounidenses. Como la rabia es endémica en animales salvajes (zorros, zorrillos, hurones, murciélagos y otros), no hay posibilidad de erradicación del patógeno.

[0005] El RV es un lyssavirus de la familia Rhabdoviridae. Los lyssavirus tienen un genoma de ARN no segmentado de 12 kb que codifica cinco proteínas virales: una nucleoproteína (N), una fosfoproteína (P), una proteína de matriz (M), una glicoproteína (G) y una ARN polimerasa dependiente de ARN (o proteína grande, L). El RV se compone de dos unidades estructurales y funcionales: una nucleocápside helicoidal interna y una envoltura externa. La nucleocápside consiste en un complejo de ribonucleoproteína que comprende el ARN genómico y la proteína N fuertemente unida y las proteínas L y P. La envoltura lipídica se deriva de la membrana citoplasmática del huésped durante la gemación. Las espigas de proteína G, compuestas por

trímeros de ectodominios glicosilados, permiten que el virus se una a los receptores de la célula huésped y facilitan la fusión de las membranas virales y del huésped. La proteína M forma oligómeros que se unen al exterior de la nucleocápside, dando rigidez a la estructura del virión y proporcionando una plataforma de unión para la proteína G viral, que es el objetivo conocido de la inmunidad protectora. La proteína G es una proteína de fusión viral de clase III.

[0006] Las vacunas contra la rabia existen desde hace más de cien años, pero su costo y los complejos programas de inmunización reducen el acceso. A pesar del impulso internacional para eliminar las muertes por rabia con las herramientas disponibles, las vacunas actuales no son óptimas para controlar las infecciones y enfermedades causadas por el virus de la rabia. Las limitaciones de los productos actuales incluyen bajo rendimiento y pureza del producto, falta de termoestabilidad, sensibilidad a la congelación-descongelación y regímenes difíciles, incluidas múltiples dosis administradas mediante inmunización intradérmica.

[0007] Por lo tanto, es necesario contar con una vacuna mejorada contra la rabia.

COMPENDIO

[0008] En un aspecto, la divulgación proporciona un polipéptido, que comprende un ectodominio de proteína G de la rabia, en donde el ectodominio de proteína G de la rabia comprende una eliminación de un dominio de bucle de fusión del ectodominio de proteína G de la rabia, en donde el dominio de bucle de fusión eliminado es aproximadamente del residuo 70 a aproximadamente el residuo 200 del ectodominio de proteína G de la rabia, numerado de acuerdo con SEQ ID NO: 53.

[0009] En variaciones, la divulgación proporciona un polipéptido que comprende un ectodominio de proteína G de la rabia, en donde el ectodominio de proteína G de la rabia comprende una delección de un dominio de bucle de fusión del ectodominio de proteína G de la rabia, en donde el dominio de bucle de fusión eliminado es de aproximadamente el residuo 50 a aproximadamente el residuo 180, de aproximadamente el residuo 70 a aproximadamente el residuo 180, de aproximadamente el residuo 80 a aproximadamente el residuo 180, de aproximadamente el residuo 90 a aproximadamente el residuo 180, o de aproximadamente el residuo 100 a aproximadamente el residuo 180; de aproximadamente el residuo 50 a aproximadamente el residuo 190, de aproximadamente el residuo 70 a aproximadamente el residuo 190, de aproximadamente el residuo 80 a aproximadamente el residuo 190, de aproximadamente el residuo 90 a aproximadamente el residuo 190, o de aproximadamente el residuo 100 a aproximadamente el

residuo 190; aproximadamente residuo 50 a aproximadamente residuo 200, aproximadamente residuo 70 a aproximadamente residuo 200, aproximadamente residuo 80 a aproximadamente residuo 200, aproximadamente residuo 90 a aproximadamente residuo 200, o aproximadamente residuo 100 a aproximadamente residuo 200; aproximadamente residuo 50 a aproximadamente residuo 210, aproximadamente residuo 70 a aproximadamente residuo 210, aproximadamente residuo 80 a aproximadamente residuo 210, aproximadamente residuo 90 a aproximadamente residuo 210, o aproximadamente residuo 100 a aproximadamente residuo 210; aproximadamente residuo 50 a aproximadamente residuo 220, aproximadamente residuo 70 a aproximadamente residuo 220, aproximadamente residuo 80 a aproximadamente residuo 220, aproximadamente residuo 90 a aproximadamente residuo 220, o aproximadamente residuo 100 a aproximadamente residuo 220 del ectodominio de la proteína G de la rabia, numerados de acuerdo con SEQ ID NO: 53.

[0010] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de bucle de fusión eliminado es el residuo 66 al residuo 207 del ectodominio de la proteína G de la rabia, numerado de acuerdo con SEQ ID NO: 53.

[0011] En algunas modalidades del polipéptido, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende un primer segmento polipeptídico unido a un segundo segmento polipeptídico, en donde el primer segmento polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con los residuos 20-65 de la SEQ ID NO: 53; y en donde el segundo segmento polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con los residuos 208-417 de SEQ ID NO: 53.

[0012] En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido es una proteína de fusión que comprende, en orden N a C terminal, el primer segmento polipeptídico, un conector polipeptídico y el segundo segmento polipeptídico.

[0013] En algunas modalidades del polipéptido, el ectodominio de la proteína G de la rabia comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos

98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 77-81.

[0014] En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comprende un dominio de multimerización.

[0015] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es un dominio de trimerización.

[0016] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con FoldOn (SEQ ID NO: 58).

[0017] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada entre las SEQ ID NO: 1, 4, 5, 7, 9, 18, 19, 21, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 34, 36, 37, 39, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 y 51, en donde los residuos de interfaz identificados en la **Tabla 3** se conservan.

[0018] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-50A (SEQ ID NO: 7).

[0019] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es I53-50A- Δ cys (SEQ ID NO: 67).

[0020] En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 93-96.

[0021] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-dn5B (SEQ ID NO: 75).

[0022] En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comparte al menos 70 %, al

menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con SEQ ID NO: 101 o SEQ ID NO: 102.

[0023] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es un polipéptido de ferritina capaz de formar una partícula de ferritina.

[0024] En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con Construcción F-ferritina (SEQ ID NO: 103).

[0025] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es un dominio de formación de partículas.

[0026] En otro aspecto, la divulgación proporciona una nanopartícula, que comprende un polipéptido de acuerdo con cualquier realización. En algunas modalidades, el polipéptido comprende el ectodominio de la proteína G de la rabia según cualquier modalidad.

[0027] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula es una partícula similar a un virus basada en proteínas (pbVLP) o nanoestructura.

[0028] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula carece de un componente lipídico.

[0029] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula comprende un componente lipídico.

[0030] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula comprende un segundo componente polipeptídico.

[0031] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula comprende un segundo componente polipeptídico y el primer componente polipeptídico, y en donde la nanopartícula es una nanopartícula autoensamblable que comprende el primer y el segundo componente polipeptídico dispuestos simétricamente con simetría de grupo puntual.

[0032] En algunas modalidades de la nanopartícula, (a) el primer componente polipeptídico comprende cualquier polipéptido de la divulgación, y el primer componente polipeptídico forma un primer complejo homomérico a través del dominio de multimerización del polipéptido; (b) el segundo componente polipeptídico comprende un segundo dominio de multimerización, y el segundo componente polipeptídico forma un segundo complejo homomérico a través del segundo

dominio de multimerización del polipéptido; (c) el primer complejo homomérico y el segundo complejo homomérico se ensamblan para formar la nanopartícula con simetría de grupo puntual; (d) la nanopartícula carece de otros componentes polipeptídicos; y/o (e) la nanopartícula carece de componentes lipídicos.

5 **[0033]** En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula tiene simetría icosaédrica.

[0034] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-50A (SEQ ID NO: 7) o I53-50A Δ Cys (SEQ ID NO: 67); y el segundo dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-50B (SEQ ID NO: 8) o con I53-50B.4PosT1 (SEQ ID NO: 34).

[0035] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-dn5B (SEQ ID NO: 75); y el segundo dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-dn5A (SEQ ID NO: 74).

[0036] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada de SEQ ID NO: 93-96; y el segundo componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad

con I53-50B (SEQ ID NO: 8) o con I53-50B.4PosT1 (SEQ ID NO: 34).

[0037] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada de SEQ ID NO: 101-102; y el segundo componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-dn5A (SEQ ID NO: 74).

[0038] En otro aspecto, la divulgación proporciona una composición farmacéutica para su uso como vacuna, que comprende cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

[0039] En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende al menos un adyuvante.

[0040] En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende una emulsión de aceite en agua.

[0041] En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende una emulsión de aceite en agua basada en escualeno.

[0042] En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende un inmunoestimulante del receptor tipo Toll (TLR).

[0043] En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende escualeno, SLA, GLA, R848, IMQ, 3M-052, CpG, saponina (QS21) o combinaciones de ellos.

[0044] En otro aspecto, la divulgación proporciona un polinucleótido, que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación.

[0045] En otro aspecto, la divulgación proporciona un vector, que comprende polinucleótido que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación.

[0046] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para generar una respuesta inmune en un sujeto a un sujeto infectado con el virus de la rabia, que comprende administrar

cualquier polipéptido, nanopartícula, composición farmacéutica, polinucleótido o vector de la divulgación en una cantidad eficaz para generar una respuesta inmune.

[0047] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para inmunizar un sujeto contra la infección por la rabia a un sujeto infectado con el virus de la rabia, que comprende administrar cualquier polipéptido, nanopartícula, composición farmacéutica, polinucleótido o vector de la divulgación en una cantidad eficaz para generar una respuesta inmune.

[0048] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para brindar profilaxis posterior a la exposición en un sujeto infectado con el virus de la rabia, que comprende administrar cualquier polipéptido, nanopartícula, composición farmacéutica, polinucleótido o vector de la divulgación en una cantidad eficaz para generar una respuesta inmune.

[0049] En algunas modalidades del método, la respuesta inmune comprende una respuesta inmune humoral.

[0050] En algunas modalidades del método, la respuesta inmune comprende una respuesta de anticuerpos policlonales contra una proteína G de la rabia.

[0051] En algunas modalidades del método, la respuesta inmune comprende una respuesta de anticuerpos neutralizantes al virus de la rabia.

[0052] En algunas modalidades del método, el método genera una respuesta inmune protectora al virus de la rabia.

[0053] En algunas modalidades del método, el método genera anticuerpos neutralizantes contra el virus de la rabia.

[0054] En algunas modalidades del método, el paso de administración comprende una inyección intramuscular o una inyección subcutánea.

[0055] En algunas modalidades del método, el método da como resultado la producción de anticuerpos neutralizantes específicos de la rabia en el sujeto que los necesita.

[0056] En algunas modalidades del método, el método da como resultado un aumento de los anticuerpos neutralizantes específicos de la rabia en el sujeto que los necesita de al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 15 veces, al menos aproximadamente 20 veces o al menos aproximadamente 25 veces en comparación con los anticuerpos neutralizantes específicos de la rabia en el mismo sujeto antes del paso de administración.

[0057] En algunas modalidades del método, el método genera un título neutralizante de al menos 0,5 UI/mL en una prueba rápida de inhibición del foco fluorescente (RFFIT) y/o una prueba de neutralización del virus con anticuerpos fluorescentes (FAVN).

[0058] En algunas modalidades del método, el sujeto es un animal no humano.

5 **[0059]** En algunas modalidades del método, el sujeto es un animal de compañía.

[0060] En algunas modalidades del método, el sujeto es un humano.

[0061] En otro aspecto, la divulgación proporciona una célula huésped, que comprende polinucleótido que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación.

10 **[0062]** En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para fabricar una vacuna, que comprende: cultivar la célula huésped de la divulgación en un medio de cultivo de modo que la célula huésped secreta un primer componente polipeptídico en el medio de cultivo; purificar el primer componente polipeptídico del medio de cultivo; mezclar el primer componente polipeptídico con un segundo componente polipeptídico, en donde el primer y el segundo
15 componentes polipeptídicos se autoensamblan para formar una nanopartícula; y/o purificar la nanopartícula.

[0063] En otro aspecto, la divulgación proporciona un kit, que comprende un polipéptido, una nanopartícula, un polinucleótido, un vector o una composición farmacéutica de la divulgación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

20 **[0064]** La **FIG. 1** es el diagrama de la secuencia de la proteína G de la rabia con los elementos de estructura secundaria indicados.

[0065] La **FIG. 2** es una figura que representa nanopartículas de uno y dos componentes (sin la proteína G de la rabia).

[0066] La **FIG. 3** es un diagrama de una partícula similar a un virus basada en proteínas (pbVLP) que tiene dos componentes. Los dominios de multimerización I53-50A + I53-50B o I53-dn5B + I53-dn5A pueden usarse para formar VLP. Una VLP que tiene simetría icosaédrica (I53) como se muestra.

[0067] La **FIG. 4** es una imagen de un análisis SDS-PAGE de un pbVLP (Construcción F-CompA + CompB, versión I53-50).

30 **[0068]** La **FIG. 5** es un micrograma crioelectrónico de VLP que demuestra que las VLP forman la partícula icosaédrica prevista.

[0069] La **FIG. 6** muestra gráficos de interferometría de biocapa (BLI) con dos anticuerpos neutralizantes, D1-25 y 1112-1 (RD-Biotech), que reconocen el sitio antigénico III y II, respectivamente, de la proteína G de la rabia, ambos sin iniciar la congelación ("prefreeze") o después de una congelación-descongelación ("postfreeze").

5 **[0070]** La **FIG. 7** es un gráfico que muestra un ensayo ELISA de potencia con los dos anticuerpos neutralizantes (D1-25 y 1112-1 (RD-Biotech)). La Construcción F CompA expresada transitoriamente en células Expi293 (HEK) o células CHO-K1 junto con VLP ensambladas con CompA se evaluaron en el ELISA de potencia.

[0071] La **FIG. 8** es un gráfico de los títulos neutralizantes en sueros del día 35 para las VLP de Construcción C (grupo AddaVax) y el grupo ImRab3 con títulos de media geométrica de 37,87 y 17,9 UI/ml respectivamente. Las VLP de Construcción C formuladas con Alhydrogel o el componente Construcción C indujeron títulos bajos pero detectables con títulos de media geométrica de 0,25 y 0,78 UI/ml respectivamente.

15 **[0072]** La **FIG. 9** es un gráfico que muestra que los sueros del día 35 mostraron títulos neutralizantes inducidos por la Construcción C (I53-50 y dn5), la Construcción B y la Construcción F en niveles comparables y los títulos de todos los animales estaban por encima del correlato de protección (0,5 UI/ml). Los títulos medios geométricos inducidos por las VLP variaron de 21,3 a 34,3 UI/ml y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (prueba de Mann-Whitney). Los títulos observados con las VLP fueron comparables a los de ImRab3.

20 **[0073]** La **FIG. 10** es un gráfico que muestra que los sueros del día 35 mostraron títulos medios geométricos neutralizantes que varían de 74,8 a 211 UI/ml para la Construcción C y la Construcción F. Los títulos de todos las Construcciones C y F no fueron estadísticamente significativos (prueba de Mann-Whitney) entre los grupos. Todos los animales (ratones ICR) a los que se les administró Construcción C y Construcción F tuvieron títulos superiores al correlato de protección, excepto un animal en el nivel de dosis de 1 µg para Construcción F que estaba en niveles de fondo (<0,2 UI/ml). Los títulos observados con Construcción C y Construcción F fueron comparables a ImRab3 (media geométrica de 71,1) el día 35.

25 **[0074]** La **FIG. 11** es un gráfico que muestra que los sueros del día 35 mostraron títulos neutralizantes para la Construcción C que estaban por encima del correlato de protección con las dosis de 3 µg, 1 µg y 0,3 µg en 17/18 animales (hámsteres dorados sirios) con títulos medios geométricos que oscilaron entre 2,2 y 6,7 UI/mL. El grupo de dosis más baja de Construcción C,

0,1 µg, resultó en 2/6 animales con títulos superiores al correlato de protección. Las tres dosis más altas (3 µg, 1 µg y 0,3 µg) de Construcción F dieron como resultado títulos comparables con todos los animales por encima del correlato de protección (18 animales) con títulos medios geométricos que oscilaron entre 4,8 y 5,7 UI/ml y la dosis más baja con 3/6 animales por encima del correlato de protección.

[0075] La **FIG. 12** es un gráfico que muestra que los sueros del día 35 mostraron títulos neutralizantes para las VLP de Construcción F I53-50 formuladas con tampón acuoso, Alhydrogel o AddaVax, las VLP de Construcción F dn5 o Construcción F-CompA. Las VLP de Construcción F I53-50 formuladas con AddaVax indujeron títulos significativamente más altos.

[0076] La **FIG. 13** es un gráfico que muestra la tasa de supervivencia de los animales a los que se les administró solución salina y se les planteó el virus de la rabia, a los que se les inmunizó con VLP de Construcción F o a los que se les inmunizó con RabAvert.

[0077] La **FIG. 14** es un gráfico que muestra los títulos de anticuerpos neutralizantes de los sueros del día 34 de animales a los que se les administró solución salina, VLP de Construcción F o RabVert.

IDENTIFICADORES DE SECUENCIAS SELECCIONADAS

SEQ ID NO:	
1-51	Secuencias polipeptídicas de nanopartículas
52	Péptido señal N-terminal
53	Ectodominio de la proteína G del virus de la rabia
54	Ectodominio de la proteína G del virus de la rabia sin péptido señal
55	Ectodominio de la proteína G del virus de la rabia, sin dominio de bucle de fusión
56	Ectodominio de la proteína G del virus de la rabia, primer segmento polipeptídico
57	Ectodominio de la proteína G del virus de la rabia, segundo segmento polipeptídico
58	Dominio foldon de la fibritina T4
59-63	Enlaces Gly/Ser

64	CTD ₄₂₃₋₄₄₁
65	CTD ₄₂₃₋₄₅₄
66	CTD ₄₂₃₋₄₅₉
67	I53-50A-Δcys
68-73	Secuencias T33
74	I53-dn5A
75	I53-dn5B
76-81	Variantes del ectodominio
81-96	Fusiones I53-50A
97-102	Fusiones I53-dn5B
103	Construcción F de ferritina
104-170	Secuencias de la proteína G de la rabia
171-172	I53_dn5A.1 y I53_dn5A.2
173	I3-01
174	I3-01 (M31)
175-181	Secuencias 1WA3
182-186	Polipéptidos de ferritina

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0078] La presente divulgación proporciona polipéptidos, nanopartículas y composiciones relacionadas útiles para generar respuestas inmunes a la proteína G de la rabia, así como métodos para elaborarlos y utilizarlos. Sin limitarse a la teoría, se cree que la proteína G de la rabia comprende un dominio de bucle de fusión que incluye dos bucles de fusión y secuencias flanqueantes que juntas asumen una estructura terciaria compleja. La eliminación de este dominio de bucle de fusión puede, al menos en algunos casos, aumentar la expresión, la estabilidad y/o la competencia de ensamblaje de la proteína G de la rabia. Además, al menos en algunos casos, se conservan los sitios antigénicos de la proteína G de la rabia.

[0079] Se han descrito epítomos de varios anticuerpos neutralizantes dirigidos contra la proteína G de la rabia. El sitio antigénico I comprende los residuos 226-231, el sitio II es un epítipo discontinuo compuesto por los residuos 34-42 y 198-200; el sitio III consta de los residuos 226-231 (epítipo discontinuo 198-200 y 330-338) (Kuzmina et al. *J Antivir Antiretrovir* 5:22013(2013)); y el sitio IV contiene un residuo crítico 251 (Luo et al. *Microbiol. Immunol.*

39:693-702 (1995)). Además, el anticuerpo neutralizante RG719 se une a los residuos 249-268 (Ni et al. *Microbiol. Immunol.* 39(9):693-702 (1995)). Estos son ejemplos y no una lista exhaustiva de epítomos descritos para anticuerpos de neutralización contra la proteína G de rabia.

[0080] Los epítomos neutralizantes son generalmente epítomos de conformación, por lo que los péptidos correspondientes a los epítomos no se unen a los anticuerpos y, por lo tanto, no inducen títulos neutralizantes, aunque Dietzschold et al. *J. Virol.*, 595-602 (1982), describieron la generación de títulos neutralizantes a través de la inmunización con tres péptidos diferentes escindidos con CNBr de la proteína G de la rabia.

[0081] A diferencia de otras glicoproteínas (por ejemplo, la HA de la influenza), no hay un sitio de proteólisis, pero la proteína G de la rabia contiene dos pequeños bucles (residuos 91-97 y 139-145) que forman un péptido bipartito involucrado en la fusión.

Polipéptidos

[0082] La secuencia nativa de la proteína G de la rabia (GenBank P15199.2) se muestra a continuación con la secuencia señal subrayada y en cursiva y la porción transmembrana e intracelular subrayada (SEQ ID NO: 53):

```
1  MVPQVLLFVP LLGFSLCFFGK FPIYTIPDEL GPWSPIDIHH
41 LSCPNNLVVE DEGCTNLSEF SYMELKVGYI SAIKVNGFTC
81 TGVVTEAETY TNFVGIVTTT FKRKHFRPTP DACRAAYNWK
121 MAGDPRYEES LHNYPDPYHW LRTVRTTKES LIIISPSVTD
161 LDPYDKSLHS RGFPGGKCSG ITVSSTYCST NHDYTIWMPE
201 NPGPRTPCDI FTNSRGKRAS KGNKTCGFVD ERGLYKSLKG
241 ACRLKLCGVL GLRLMDGTWV AMQTSDETKW CPPDQLVNLH
281 DFRSDEIEHL VVEELVKKRE ECLDALESIM TTKSVSFRRL
321 SHLRKLVPGF GKAYTIFNKT LMEADAHYKS VRTWNEIIPS
361 KGCLKVGGRC HPHVNGVFFN GIILGPDGHV LIPEMQSSLL
401 QQHMELLKSS VIPLMHPLAD PSTVFKEGDE AEDFVEVHLP
441 DVYKQISGVD LGLPNWGKYV LMTAGAMIGL VLIFSLMTWC
481 RRANRPESKQ RSFGGTGRNV SVTSQSGKVI PSWESYRSGG
521 EIRL (SEQ ID NO: 53)
```

[0083] La secuencia señal nativa se escinde postraduccionalmente cuando se expresa la

proteína. La secuencia de señal nativa puede reemplazarse con otra secuencia de señal para la expresión del ectodominio o, en algunas modalidades, no se utiliza ninguna secuencia de señal. En consecuencia, el ectodominio de la proteína G nativa de la rabia tiene la siguiente secuencia:

```

                    K FPIYTIPDEL GPWSPIDIHH
5      LSCPNNLVVE DEGCTNLSEF SYMELKVGYI SAIKVNGFTC
      TGVVTEAETY TNFVG YVTTT FKRKHFRPTP DACRAAYNWK
      MAGDPRYEES LHNPPYD YHW LRTVRTTKES LIIISPSVTD
      LDPYDKSLHS RGFPGGKCSG ITVSSTYCST NHDYTIWMPE
      NPGPRTPCDI FTNSRGKRAS KGNKTCGFVD ERGLYKSLKG
10     ACRLKLCGVL GLRLMDGTWV AMQTSDETKW CPPDQLVNLH
      DFRSDEIEHL VVEELVKKRE ECLDALESIM TTKSVSFRRL
      SHLRKLVPGF GKAYTIFNKT LMEADAHYKS VRTWNEIIPS
      KGCLKVGGRC HPHVNGVFFN GIILGPDGHV LIPEMQSSLL
      QQHMELLKSS VIPLMHPLAD PSTVFKEGDE AEDFVEVHLP
15     DVYKQISGVD LGLPNWGKY          (SEQ ID NO: 54)

```

[0084] Sin embargo, sin limitarse a la teoría, el extremo C de la proteína G de la rabia puede truncarse aún más hasta aproximadamente el residuo 400, aproximadamente el residuo 410 o aproximadamente el residuo 420.

20 **[0085]** Sin limitarse a la teoría, la **FIG. 1** representa la estructura secundaria prevista y el patrón de enlaces disulfuro de la proteína G de la rabia, numerados comenzando en el extremo N de la proteína con el péptido señal eliminado. Se considera que el dominio de bucle de fusión comprende aproximadamente el residuo 70 a aproximadamente el residuo 200 del ectodominio de la proteína G de la rabia, numerado de acuerdo con SEQ ID NO: 53, o aproximadamente el residuo

25 50 a aproximadamente el residuo 180 del ectodominio de la proteína G de la rabia, numerado de acuerdo con la **FIG. 1**.

[0086] La presente divulgación demuestra la expresión de un antígeno de proteína G de la rabia como un trímero soluble y como un componente de una VLP basada en proteína. Sin limitarse a la teoría, los antígenos descritos en este documento pueden ser superiores a los antígenos de

30 proteína G de la rabia conocidos en el sentido de que pueden tener una mayor estabilidad; pueden expresarse con mayor rendimiento; son menos tóxicos para las células huésped; y/o pueden ser

más adecuados para mostrarse en partículas similares a virus, incluidas, entre otras, partículas similares a virus basadas en proteínas.

[0087] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende una o más inserciones y/o deleciones internas. En particular, el ectodominio de la proteína G de la rabia puede comprender una eliminación de parte, todo o sustancialmente todo el dominio del bucle de fusión del ectodominio de la proteína G de la rabia. En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende una sustitución de uno o más, dos o más, o tres o más aminoácidos.

[0088] En un aspecto, la divulgación proporciona un polipéptido, que comprende un ectodominio de proteína G de la rabia, en donde el ectodominio de proteína G de la rabia comprende una eliminación de un dominio de bucle de fusión del ectodominio de proteína G de la rabia, en donde el dominio de bucle de fusión eliminado es aproximadamente del residuo 70 a aproximadamente el residuo 200 del ectodominio de proteína G de la rabia, numerado de acuerdo con SEQ ID NO: 53.

[0089] El dominio de bucle de fusión eliminado puede ser de aproximadamente el residuo 50 a aproximadamente el residuo 180, de aproximadamente el residuo 70 a aproximadamente el residuo 180, de aproximadamente el residuo 80 a aproximadamente el residuo 180, de aproximadamente el residuo 90 a aproximadamente el residuo 180, o de aproximadamente el residuo 100 a aproximadamente el residuo 180; de aproximadamente el residuo 50 a aproximadamente el residuo 190, de aproximadamente el residuo 70 a aproximadamente el residuo 190, de aproximadamente el residuo 80 a aproximadamente el residuo 190, de aproximadamente el residuo 90 a aproximadamente el residuo 190, o de aproximadamente el residuo 100 a aproximadamente el residuo 190; aproximadamente residuo 50 a aproximadamente residuo 200, aproximadamente residuo 70 a aproximadamente residuo 200, aproximadamente residuo 80 a aproximadamente residuo 200, aproximadamente residuo 90 a aproximadamente residuo 200, o aproximadamente residuo 100 a aproximadamente residuo 200; aproximadamente residuo 50 a aproximadamente residuo 210, aproximadamente residuo 70 a aproximadamente residuo 210, aproximadamente residuo 80 a aproximadamente residuo 210, aproximadamente residuo 90 a aproximadamente residuo 210, o aproximadamente residuo 100 a aproximadamente residuo 210; aproximadamente residuo 50 a aproximadamente residuo 220, aproximadamente residuo 70 a aproximadamente residuo 220, aproximadamente residuo 80 a aproximadamente residuo 220,

aproximadamente residuo 90 a aproximadamente residuo 220, o aproximadamente residuo 100 a aproximadamente residuo 220 del ectodominio de la proteína G de la rabia, numerados de acuerdo con SEQ ID NO: 53.

[0090] En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de bucle de fusión eliminado es el residuo 66 al residuo 207 del ectodominio de la proteína G de la rabia, numerado de acuerdo con SEQ ID NO: 53.

[0091] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia es SEQ ID NO: 55, o una variante de esta:

```

                                K FPIYTIPDEL GPWSPIDIHH
10      LSCPNNLVVE DEGCTNLSEF SYMELXXXXX XXXXXXXXXXXX
      XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX
      XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX
      XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX XXXXXXXXXXXX
      XXXXXXXXCDI FTNSRGKRAS KGNKTCGFVD ERGLYKSLKG
15      ACRLKLCGVL GLRLMDGTWV AMQTSDETKW CPPDQLVNLH
      DFRSDEIEHL VVEELVKKRE ECLDALESIM TTKSVSFRRL
      SHLRKLVPGF GKAYTIFNKT LMEADAHYKS VRTWNEIIPS
      KGCLKVGGRC HPHVNGVFFN GIILGPDGHV LIPEMQSSLL
      QQHMELLKSS VIPLMHP (SEQ ID NO: 55)

```

donde X representa cualquier aminoácido o está ausente (es decir, uno o más de los residuos X pueden eliminarse para eliminar todo o parte de este bucle en la estructura prevista). Las variantes ilustrativas pueden compartir al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con SEQ ID NO: 55, en toda la longitud de SEQ ID NO: 55 sin incluir el segmento representado por X. El enlazador polipeptídico puede ser cualquier enlazador adecuado. Se puede utilizar un enlazador Gly-Ser, como la secuencia polipeptídica GSGSGSG. Otros enlaces adecuados incluyen Ser-Ser-Ile-Ser-Asn y Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly.

[0092] La eliminación del dominio del bucle de fusión puede dejar un primer polipéptido y un segundo segmento polipeptídico, que pueden estar unidos por un enlazador polipeptídico. En

algunas variaciones, los dos segmentos polipeptídicos se coexpresan sin un conector polipeptídico. En otras variaciones, dos segmentos polipeptídicos se expresan por separado y se combinan entre sí. Se puede utilizar la unión química para hacer que los dos segmentos polipeptídicos permanezcan en el complejo.

- 5 **[0093]** Por ejemplo, el ectodominio de la proteína G de la rabia puede comprender un primer segmento polipeptídico que comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con SEQ ID NO: 56:

K FPIYTIPDEL GPWSPIDIHH

10 LSCPNNLVVE DEGCTNLSEF SYMEL (SEQ ID NO: 56)

y/o el segundo segmento polipeptídico que comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con

15 SEQ ID NO: 57:

CDI FTNSRGKRAS KGNKTCGFVD ERGLYKSLKG

ACRLKLCGVL GLRLMDGTWV AMQTSDETKW CPPDQLVNLH

DFRSDEIEHL VVEELVKKRE ECLDALESIM TTKSVSFRRL

SHLRKLVPGF GKAYTIFNKT LMEADAHYKS VRTWNEIIPS

20 KGCLKVGGRG HPHVNGVFFN GIILGPDGHV LIPEMQSSLL

QQHMELLKSS VIPLMHP (SEQ ID NO: 57)

El enlazador puede ser cualquier enlazador adecuado. Se puede utilizar un enlazador Gly-Ser, como la secuencia polipeptídica GSGSGSG.

- 25 **[0094]** En algunas modalidades del polipéptido, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende un primer segmento polipeptídico unido a un segundo segmento polipeptídico, en donde el primer segmento polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99
- 30 % o un 100 % de identidad con los residuos 20-65 de la SEQ ID NO: 53; y en donde el segundo segmento polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al

menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con los residuos 208-417 de SEQ ID NO: 53.

[0095] En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido es una proteína de fusión que comprende, en orden N a C terminal, el primer segmento polipeptídico, un conector polipeptídico y el segundo segmento polipeptídico.

[0096] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende una delección, truncamiento o sustitución (por ejemplo, con un enlazador) de los residuos de aminoácidos G68 a F211, I70 a T212, S71 a T211, S71 a F211, A72 a P207, I73 a P207, K74 a P207, D137 a V144, L141 a V144 o P136 a K148, en relación con la secuencia de polipéptido de referencia SEQ ID NO: 53. La secuencia de enlace del polipéptido, si está presente, puede reemplazar 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más residuos de aminoácidos. La secuencia de enlace puede ser más corta que la secuencia reemplazada. Por ejemplo, los residuos G68 a P207 pueden reemplazarse con un enlazador de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 residuos de aminoácidos, opcionalmente una serie de residuos de glicina, serina, treonina o alanina, o una serie de residuos de glicina y serina (es decir, un enlazador glicina-serina).

[0097] El extremo C del polipéptido puede estar en varios residuos adecuados en el ectodominio de la proteína G de la rabia. En variaciones, el polipéptido puede retener los segmentos transmembrana y/o intracelulares de la proteína G de la rabia. En algunas modalidades, los residuos C-terminales son cualquier residuo en la región no helicoidal prevista (residuos 355-445). En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia termina en el residuo 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460 o 461 de la secuencia nativa (SEQ ID NO: 53).

[0098] En algunas modalidades, el truncamiento C-terminal es una eliminación de los residuos 418 a través del extremo C de la proteína G de la rabia en relación con la secuencia de referencia SEQ ID NO: 53, también denominada truncamiento C-terminal en el residuo 417.

[0099] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende una secuencia que comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos

97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con TVFKEGDEAEDFVEVHLPD (SEQ ID NO: 64).

[0100] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende una secuencia que comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con TVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQISGVDLGLP (SEQ ID NO: 65).

[0101] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia comprende una secuencia que comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con TVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQISGVDLGLPNWGKY (SEQ ID NO: 66).

[0102] Se pueden incluir varias modificaciones adicionales del ectodominio de la proteína G de la rabia. Utilizando los métodos descritos en los Ejemplos, se puede realizar y probar la modificación de la secuencia de aminoácidos para determinar qué aumenta (o reduce) la expresión, la capacidad de producir líneas celulares estables, la estabilidad de la proteína, el ensamblaje de nanopartículas y/o la antigenicidad. Por ejemplo y sin limitación, los residuos de cisteína (Cys) de la secuencia pueden eliminarse mediante sustituciones de un residuo alternativo, como serina (Ser), glicina (Gly) o alanina (Ala).

[0103] Se pueden utilizar varias proteínas G de la rabia, incluidas, entre otras, los ectodominios de la **Tabla 1**.

Tabla 1: Secuencias de la proteína G de la rabia

Ref.	Ectodominio
ASL04726.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFTCTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPIPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLQNPYPDYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITVSSTYCSTNHDYTIWMPEEPRLGTSCDIFTSSKGKKASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLRLMDGTWVSIQTSDDTKWCPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTKSVSFRRLSYLRKLVPFGFKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVRERCHPPVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 104)
AAB30931.1	KFPIYTIPDTLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGHISIAIKVNGFT

Ref.	Ectodominio
	CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHSPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDNSLHSRVFSPGKCSGITVSSVYCSTNHDYT VWMPESLRLGTSCDIFTNSRGKRVS KSGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVRGL RLMDGTWVAMQTSNETKWCPPDQLVNLHDLRSDEIEHLVIEELVKKREECLDALESII TTKSVSFRRLSYLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEAEAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHIELLESSVIPLMHPLADPF (SEQ ID NO: 105)
CCH26353.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFSPGKCLGITISSTYCSTNHDYTI WMPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMQTSDET KWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 106)
AFR56627.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVG YISAIKTNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDRSLHSRVFPGGNC SGVAVSSTYCSTNHDY TIWMPENPRLGMSCDIFTNSRGKRASKGSETCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGL RLMDGTWVAMQTSNETKWCPPGQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESI MTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVG GRCHPHVNGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLVSSVIPLMHPMADPS (SEQ ID NO: 107)
ABI47945.1	KFPIYTIPTKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGRISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPMPGCMYSRVQLEDGRSPQIEESLHNPYPD YHWLRTVVRTTKESLIIISPSVTDLDPYDKSLHSRVFPGRKCSGITVSSSTYCSTNHDYTVW MPEILRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLRLM DGTWVAMQTSNETKWCPPGQLVNLHDLHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESITTT KSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEAEAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGGC HPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHIELLESSVIPLMHPLADPF (SEQ ID NO: 108)
AHB86382.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNSLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPMPDACRSAYNWKL AGDPRYEESLHNPYP EYHWLRTVKTTKESLIVISPSVADLDPYDKSLHSRIFPNGKCSGMTVSSTYCSTNHEYTI WMPEKVG LGTSCDIFTTSKGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVSGLR

Ref.	Ectodominio
	LMDGTWVAIQTSDETKWCSPDQLVNLHDLHSDEIEHLVVEELVRKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGK CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHIELLESSVIPLMHPLADLS (SEQ ID NO: 109)
AEV43288.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGIVTTTFKRKHFRPTPDACRSAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESVVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPRGKCSGITVSSAYCSTNHDT IWPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAIQTSNETKWCPPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLLKSSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 110)
ADJ68075.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGIVTTTFKRKHFRPMPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP PDYHWLRTVKTSKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCSGITVSSTCCSTNHDT TIWPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKMKL CGVLG LRLMDGTWVAIQTSDEIKWCSPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALETI MTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSIRTWNEIIPSKGCLRVG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLHQHMELLELESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 111)
AAK11477.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGIVTTTFKRKHFRPTPDECRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPPSGKCSGITVSSTYCSTNHDTI WMPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLK LMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDLRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCKLKEG RCHPHVNGVFFNGVILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLELESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 112)
AAA69485.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNSLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGIVTTTFKRKHFCMPMPDACRSAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP PDYHWLRTVKTTKESLIIISPSVAELDPYDKSLHSRIFPGGKCTGLTVSSTYCSTNHDTI WMPEKAGLGTSCDIFTNSKGRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVSGLR LMDGTWVAIQTLDETKWCSPDQLVNLHDFHSDELEHLVVEELVRKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWSEIIPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHVELLELESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID

Ref.	Ectodominio
	NO: 113)
AMM70629.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPMSDACRAAYNWKVAGDPRYEESLQNPY PDYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLRSRIFPGGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFTNSKGKASKGKICGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVSGLR LMDGTWVAIQTSEETKWCPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDTLESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYNSVRTWNEIIPSKGCLKVGG CHPHVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 114)
AMM70625.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTPDACRTAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDRSLHSRVFPNGKCSGITVSSTYCPTNHDYTI WMPENPRLGTSCDIFVNSRGKASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMRTSDETKWCPPDQLVNIHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWDEIIPSKGCLRVGG RCHPHVHG VFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 115)
AIL01055.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEECTSLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITISSTYCSTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFANSRGKASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVTIQTSNETKWCPPDRLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSYLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGG CHPHVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 116)
AIL01053.1	GFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPMPDSCRAAYNWKTAGDPRYEESLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFTNSRGKASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVTIHTSNETKWCPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSIRTWNEIIPSKGCLKVGGRC HPHVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHVELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 117)
AIL01046.1	KFPIYPIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVGEDEGCISLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPIPDACRAAYNWKIAGDPRYEESLQNPYPDY

Ref.	Ectodominio
	HWLRTVKTTKESLIISPSVADLDPYDKSLHSRLFPGGKCLGITISSTYCSTNHDYTIWM PEEPRLGTSCDIFTNSKGKKASKGGKVCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVSGLRML DGTWVTIQTSDETKWCPPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTK SVSFRRLSYLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVSDRCH PHVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 118)
AIL01038.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRMPMPDACRAAHDWKIAGDP RYEDSLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVAELDPYDKSLHSRVFPSGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPVEARLGTSCDIFTNSRGKKASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVSIQTSDDIKWCPPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELIKKREGCLDALESIMTT KSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNNTLM EADAHYKSVRTWNEVIPS KGCLKVGGGR CHPPVNGVFFNGIILGPDGKVLIP EMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 119)
AIL01037.1	KFPIYTIPEKLG PWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTTSLSGFSYIELKVG YISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRMPMPDACRAAYNWKIAGDP RYEESLHNPYPD YHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITISSTYCSTNHDYTIW MP EEARLGTSCDIFTNSRGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLRL MDGTWVSIQASDETKWCSPDQLVNVHDFHSDEIEHLVVEELVKRREECLDALESIVTT KSISFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLSVGGGRCH PHVNGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 120)
AIL01032.1	KFPIYTIPEKLG PWSPIDIHHLGCPNNLVVEDEGCDSLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRMPMPDACRAAYNWKTAGDP RYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPEETRLGTSCDIFTNSRGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVSIQTPDETKWCSPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVRTWDEIIPSKGCLRVGGGR CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPVANPS (SEQ ID NO: 121)
AIL01031.1	EFPIYTIPEKLG PWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNSLSGFSYMELKVG YISSIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRMPMPDACRAAYNWKM SGDP RYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFSGGKCLGITISSTYCSTNHDYTL WMPEEARLGTSCDIFTNSKGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVSIQTSDETKWCPPDQLVNIHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT

Ref.	Ectodominio
	TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEVIPS KGCLSVGGR CHPHVDGVFFNGIILGPDG SVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLANPS (SEQ ID NO: 122)
AIL01029.1	KFPIYTIPDKIGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSY MELKVG YISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDP RYEDSLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPSGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFTNSKGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLRGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVSIQTTDETKWCPSDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVQ TWNEIIPSKGCLKV GGR CHPHVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 123)
AIL01021.1	EFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLV AENDGCTSLSGFSY MELKVG YISAIKVNGFT CTGVMTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPMPDACRAAHDWKIAGDP RYEDSLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPSGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPVEPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGGRVCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGIR LMDGTWVSIQTSEEIKWCPPDRLVNLHDFHSDEIEHLVVEELIKRRENCLDALESIMTT KSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVKTWNEVIPS KGCLEVGGR HPPVNGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 124)
AIL01017.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSY MELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPMPDACRAAHEWK MAGDP RYEDSLQNPY PDYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGNCLGITISSTYCSTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFTSSRGKRASKGGKICGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLRL MDGTWVSIQTSDETKWCPPDQLVNVHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTT KSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGMC HPHVGGVFFNGIILGPDGTVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 125)
AIL00998.1	KFPIYTIPEKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCDSLSGFSY MELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPMPDACRAAYNWKTAGDP RYEE SLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFTNSKGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVAIQTPGETKWCPSDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELIKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSNLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWDEIIPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLIHPLADPS (SEQ ID NO: 126)

Ref.	Ectodominio
AIL00989.1	KFPIYTIPEKLGWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNSLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPMPDACRAAYNWKTAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLIISPSVADLDPYDKSLHSRIFPGGKCLGITISSTYCSTNHDYTIW MPEEARLGTSCDIFTNSKGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLRL MDGTWVAIQTPNETKWCPDQLVNVHDFRSDEIEHLVVEELIRKREECLDALESIMTT KSVSFRRLSNLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSRGCLKVGGRC HPHVNGVFFNGIILGPDGHILPEMQSSLLQQHMELESSVIPLIHPLADPS (SEQ ID NO: 127)
AHB86369.1	KFPIYTIPDKLGWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNSLSGISYMELKVGYISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPMPDACRSAYNWKL AGDPRYEESLHNPYPD YHWLRTVKTTKESLIISPSVADLDPYDKSLHSRIFPSGKCSGMTISSTYCSTNHEYTIW MPEKAGLGTSCDIFTTSKGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVSGRLRL MDGTWVAIQTSEETKWCPPDQLVNLHDLHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTT KSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSIRTWNEIIPSKGCLR VGGKCH PHVDGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELESSVIPLMHPLADLS (SEQ ID NO: 128)
AGN94548.1	KFPIYTIPDKLGWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNSLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPVPDACRSAYNWKL AGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLIISPSVADLDPYDKSLHSRIFPDGKCSGITVSSTHCSTNHDYTI WMPEKAGLGTSCDIFINSRGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWAAIQTADETKWCSPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEDLVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLR VGG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSFLQQHMELESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 129)
AGN94533.1	KFPIYTIPDKLGWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCSGITVSSTYCSTNHDYTI WMPENPRLGTSCDIFVNSRGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVAIQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLR VGG CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 130)
AGN94484.1	KFPIYTIPDKLGWSPIDIHHLSCPNNLVAEDEGCTTSLGFSYMELKVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFIGYVTTTFRKRKHFSRPDACRTAYNWKITGDPRYEESLQNPYPD YSWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGRCLGITIYSTYCSTNHDYTV

Ref.	Ectodominio
	WLPPEARLGTSCDIFVKS RGKRASKGGRTCGFVDERGLYRSLKGACKLKL CGVPGLR LVDGTWVTIQTSDETKWC PSEQLVNLHNFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYTSVRTWNEIIPSKGCLKVG GK CHPHVGGVFFNGIILGPDGNILIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 131)
AGN94472.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNNLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RPTPDACRAAYNWKIAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGKCSGMTVSSTCCSTNHDYT IWMPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMQTSDEIKWC PPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNRTLMEADAHYKSVRTWNEVIPSKGCLRVGG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLANPS (SEQ ID NO: 132)
AGN94339.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVIEDEGCNNLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RMPDPACRSAYNWKL AGDPRYEESLHNPYPD YHWLRTVKTTKESLIVISPSVADLDPYDKSLHSRIFPGGKCSGMTVSSTYCSTNHEYTI WMPEKPGLGTSCDIFATSKGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVSGLR LMDGTWVAIQTSDETKWC SPDQLVNLHDLHSDEIEHLVVEELVRKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGK CHPPVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 133)
AGN94293.1	KFPIYTIPDKIGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RMPDPACRAAYNWKMAGDPRYEESLQNPYP DYNWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPNGKCLGITVSSTYCSTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFTNSKGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLRGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVSIQTSDETKWC PPDQLVNVHDFHSDEIEHLVVEELVRKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSIQ TWNEIIPSKGCLKVGGM CHPHLDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 134)
AGN94153.1	KFPLYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVG YISAIKVSGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRRHF RPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVTDLDPYDKSLHSRVFPGGKCSGITVSSTYCSTNHDYTI WMPESPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLRL MDGTWVAMQTSDETKWC LPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVRKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSIRTWNEIVPSKGCLRVGGR

Ref.	Ectodominio
	CHPHVNGVFFNGIILGPDGQVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 135)
AGN94083.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYISAIKVNNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHLRPAPDACRNAFNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFSPGKCSGITVSSTYCSTNHDYT VWMPENPRLGTSCDIFTNSKGKRASKGSRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGL RLTDGTWVAMQTSEETKWCPHDQLVNLHDFRLDEIEHLVVEELVKKREECLDALESI MTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVG GSCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 136)
ALM97199.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVG YISAIKVNNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVVISPSVADLDPYDKSLHSRVFSPGKCSGITVSSTYCSTNHDYT IWM PENPRLGTSCDIFVNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAIQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 137)
AFN24533.1	KFPIYTIPEKLGWSPIDIHHLSCPNNLVAEDEGCNSLSGFSYMELKVG YISAIKVNNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPDGKCLGITISSTYCSTNHDYTI WMPEEARLGTSCDIFTTSKGKRASKGDKICGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVSIQTPGETKW CSPDQLVNLHDFHSDEIEHLVAEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLSVGGR CHPHVNGVFFNGIILGPDGSVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 138)
AFN24525.1	KFPIYTIPEKLGWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCNSLSGFSYMELKVG YISAIKVNNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPMPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPY PDYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITISSTYCSTNHDYT IWMPEEARLGTSCDIFTNSKGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGL RLMDGTWVSIQTSEETKW CSSDQLVNIHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNNTLM EADAHYKSVKTWNEIIPSKGCLSVGGR CHPNVNGVFFNGIILGPDGSVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLANPS (SEQ ID NO: 139)
AFN24383.1	EFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVG YISAIKVNNGFT

Ref.	Ectodominio
	CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFSPGKCSGITVSSTYCLTNHDYTI WMPENLRLGTSCDIFTNSRGKRASRGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMQTSDETKWCPSDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDAIESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHVELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 140)
AFN24303.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCSNLSGFSYMELKVG YISAIKVDGFT CTGVVTEAETYTNFIGYVTTTFKRKHFRPMPDACRSAYNWKIAGDPRYEESLHTPYPD YHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSMVFPNGKCSGITVYSTYCTNHDYTI WMPEKAGLGTSCDIFTNSKGKRASKGGRTCGFVDERGLYKSLRGACKLKL CGVPGLR LMDGTWATIQTPEETKWCSPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEDLVKKREECLDTLESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGVIMGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELESSVIPLIHPLADPS (SEQ ID NO: 141)
AFN24193.1	DFPIYTIPEKLGWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCSSLGFSYMELKVG YISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPMPDACRAAYNWKTAGDPRYEESLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFSDGKCLGITISSTYCTNHDYTI WMPPEARLGTSCDIFTTSRGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVSGLR LMDGTWVSIQAPDEAKWCSTDQLVNIHDIRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWSEVIPSKGCLSVGGR CHPHENG VFFNGIILGPDGSVLIPEMQSSLLQQHMELESSVIPLMHPLANPS (SEQ ID NO: 142)
AFN24083.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFIGYVTTVFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFSPGKCSGITVSSTYCLTNHEYTI WMPENLRLGTSCDIFTNSRGKRASRGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDAIESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGG RCHPHVKGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELESSIIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 143)
ABX46665.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVSDLDPYDKSLHSRVFSPGKCSGITVSSTYCPTNHDYTI WMPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR

Ref.	Ectodominio
	LMDGTWAAIQTSDEAKWCPPDQLVNIHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMLPLADPS (SEQ ID NO: 144)
ABZ81200.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSYMEKLVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTPDACRAAYNWKVAGDPRYEESLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPSGKCLGITISSTYCSTNHDYTI WMPEEARLGTSCDIFTNSKGKASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVTIQTSDETKWCPPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGR CHPHVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 145)
AUT19580.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMEKLVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRHLRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP PDYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPSGKCSGMTVSSTYCSTNHDY TIWMPENPRLGTSCDIFTNSKGKRASKGSKICGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVTGL RLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESI MITKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVG GRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 146)
AUT19525.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMEKLVGYISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTPDACRSAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPNGKCSGLTVSSTYCSTNHDYT IWMPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASRGNKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LIDGTWVAMHTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSIRTWDEIVPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGIILGSDGHVLIPEMQSSLLQQHVLELLESSVPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 147)
AUT19520.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVIEDEGCTNLSGFSYMEKLVGYISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRRKHFRTSDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYPD YHWLRTVVRTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPNGRCSGLTVSSTFCSTNHDYTI WMPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGNRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMQTSEETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSIRTWNEIIPSKGCLRVGGR CHPHVNGVFFNGIILGSDGHVLIPEMQSSLLQQHVLELLESSVPLMHPLADPS (SEQ ID

Ref.	Ectodominio
	NO: 148)
ATP62005.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYVELKVGYILAIKMNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVTRTTKESLVIISPSVADLDPYDRSLHSRVFSPGKCSGVAVSSTYCSTNHDTY IWM PENPRLGMSCDIFTKSRGKRASKGSETCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVAMQTSNETKWCPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVRKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSLLRKLVPGF GKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEILPSKGCLR VGG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQ QHMELLESSVIPLVHPLADPS (SEQ ID NO: 149)
ASU55974.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVLEDEGCTNL SGFSYMELKVG YISAIKVSGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RPTPDACRAAYNWKIAGDPRYEESLHNPYPD YHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFSREKCLGMTVSSTYCSTNHDTYTI WMPENPRLGTSCDIFTNSKGKRASRGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LVDGTWIAMQTSDEAKWCPSDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGF GKAYTIFNKTLMEADAHYKSIRTWNEIIPSKGCLKVGGRC HPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQ QHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 150)
AKN89688.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLIVEDEGCSSL SGFSYMELKVG YISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RMPMPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITISSTYCSTNHDTYTI WMPEEPRLRTSCDIFTNSKGKRASKGGKMCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVPGLR LMDGTWVSVQTPDETKWCSPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDTLESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGF GKAYTIFNKTLMEADAHYKSIQTWNEVIPSKGCLKVGG RCHPHVNGVFLNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQ QHMELLESSVIPLMHPLSDPS (SEQ ID NO: 151)
AKN89673.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLIVEDEGCTSL SGLSYMELKVG YISAIKVNGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RMPMPDACRAAYNWKIAGDPRYEESLQNPYPD SHWLRTVKTTKESLIIISPSVADLDPYDKSLRSRVFPGGKCLGITISSTYCSTNHDTYTIW MPEEARLGTSCDIFTNSKGKRASKGGKICGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVSGLRL MDGTWVSIQIPDEIKWCPSDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTK SVSFRRLSHLRKLVPGF GKAYTIFNKTLMEADAHYNSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRC PHVDGVFFNGIIMGPDGSVLIPEMQSSLLQ QHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 152)
AKN89668.1	KFPVYTIPEKLGWSPIDIHHLSCPNNLAVEDEGCNSL SGFSYMELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF RMPMPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPY

Ref.	Ectodominio
	PDYHWLRTVTTTKESLIISPSVANLDPYDKSLHSRVFPGGKCMGITVSSTFCSTNHDTY IWMPENARLGTSCDIFTTSKGKKASKGGKICGFVDERGLYKSLKGACKLKLCGVSGLR LLDGTWVTIQTSDEIKWCPPDKLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVRKREECLDTLESIMTT KSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVNTWNEIIPSKGCLTVGGRC HPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 153)
AKN89653.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFRMPMPDACRAAHEWKTAGDPYEDSLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGVTISSTYCSTNHDTY IWMPEEAGLGTSCDIFTNSRGKRASKGGRICGFVDERGLYKSLKGACKLKLCGVPGLR LMDGTWVSIQAPDETKWCPPDQVVNLHDFHSDEIEHLVVEELIKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEVVPKSGCLKVGG RCHSDVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 154)
AKN89648.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTSLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFRMPMPDACRAAHNWKIAGDPYEDSLQNPYP DYHWLRTVKTTKESLIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGVTISSTYCSTNHDTY WMPEEAGLGTSCDIFTNSRGKRASKGGKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKLCGVPGLR LIDGTWVSIQTPDETKWCPPDQVVNLHDFHSDEIEHLVVEELIKKREECLDALESIMTT KSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIHNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGRC HPNVDGVFFNGIILGPDGNVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 155)
AEZ55919.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLCCPNNLVAAEEGCTSLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFRMPMPDACRAAYDWKMAGDPYEDSLQNPY PDYHWLRTVKTTKESLIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITISSTYCSTNHDTY WMPEEARLGTSCNIFTNSRGKKASKGGRTCGFVDERGLYKSLKGACKLKLCGVPGLR LMDGTWVSIQTSNETKWCPPDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGG CHPHVDGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLESSVIPLIHPLADPS (SEQ ID NO: 156)
BAL49598.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPYEEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSRVFPGGKCLGITVSSTYCSTNHDTY VWRPENPRLGTSCDIFTNSRGKRASKGSKTCGFVDERGWYKSWKGACKLKLCGVLG LRLIDGTWIAMQTSEETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT

Ref.	Ectodominio
	MTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSIRTWNEIIPSKGCLR VGG KCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQ QHMELLESSVIPLMHPLADPY (SEQ ID NO: 157)
ADD84790.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDLHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSY MELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTD ACRAAYNWKMAGDP RYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVTDLPYDKSLHSRVFPGGNC SGITVSS TYCSTNHDYTI WMPENLRLGTSCDIFTHSRGKRASKGDKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMQTSDETKWCPPGQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVQ TWNEIIPSKGCLR VGE RCHPHVNGVFFNGIILGSDGHVLIPEMQSSLLQ QHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 158)
AAV85905.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSY LELKVG HISAIKVNGFTC TG VVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTD ACRAAYNWKTAGDP RYEESLQNPYPD YQWLRTVRTTKESLVIISPSAADLPYDKSLHSRVFPSGKCSGITVSSVY CSTNHDYTI WMPENPRQGMSCDIFTNSRGKRASKERKTCGFVDERGLYKSLRGSKLKL CGVLGLR LMDGTWVAMQTSNETKWCS PDQLVNLHDFHSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIINKTLM EAEAHYKSVRTWNEIVPSKGCLR VEG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQ QHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 159)
ACR50749.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSY MELKVG YISAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFRKRKHFRPTD ACRAAYNWKMAGDP RYEESLHNPYP DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLPYDKSLHSRVFLNGKCSGLTVSS TYCSTNHDYS IWMPENPRLGTSCDIFVT SRGKRASKGSKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKL CGVLGLR LIDGTWVAMQTSEEPKWCPDQLVNLHNFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMT TKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSIRTWDEIIPSKGCLR VGGRC HPHVNGVFFNGIILGSDGHVLIPEMQSSLLQ QHVELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID NO: 160)
YP_009094182.1	DFPLYTIPEKIGPWTPIDLTHLSCPNNLLSEDDGCSSSSTFSYIELRTGYLTHQK VSGFTC TGVINEAVTYTNFVG YVTTTFRKRKHFKPTASACRDAYHWKISGDP RYEESLHTPYPDN SWLRTVTTTKESLLIISPSIVEMDIYSRSLHSPMFPTGRCYDFYKSTPSCLTNHDYTIWLP DDANVRLTCDIFVTSTGKKSMNGSKMCGFTDERGLYRTLKGACKLTL CGKPGLR LFD GTWISITRPEIVMWCS PNQLVNVHNNRVDEIEHLIVGDLIRRREECLDTLETVLM SKSV SFRRLSHFRKLVPGFGKAYTIANGSLMETNVHYKRVDRWEEILPSKGCLKLNDKCLNP ENG VFFNGIHKGPDGQVLIPEMQSSLLKQHMDLLKASVFPLRHPLIDQT (SEQ ID NO: 161)

Ref.	Ectodominio
AMM70635.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTTLTPFSYMEKLVGYITSIKVSGFTC TGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFRRRHFRPSVNSCRDAYNWKIAGDPRYEESLHNPYPDS HWLRTVKTTKESLLIISPSVADMDAYDKKLYSKMFPNGKCSEISPGSPFCPTNHEYTIW MPESNPGISCDIFTRSMGKKATKDQQLCGFVDERGLYKSLKGACRLRLCGISGLRLM DGSWVSLPQVNNSEWCSPDQLVNIHDFHSDEIEHLVADELVKKREDCLDALETIIFTKS ISFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIINRTLMEAEAHYKSVREWKEIIPSKGCLKAGGRCPH HNGIFFNGIILGPGGEILIPEMQSALLQQHIELLESSVVPLKHPLADPS (SEQ ID NO: 162)
ADD84515.1	DFPLYTIPEKIDSWTPIDMIHLSCPNNLLSGDDGCSTSTSFSYVELKTGYLTHQKVS GFT CTGVISEAVTYTNFVG YVTTTTFKRKHF KPTVSACRDAFHWKISGDPRYEESLHTPY PDS SWLRTVTTTTKESLLIISPSIVEMDIYSRTLHSPMFPTGTCSRFPSPVSCATNH DYTLWLP EDSNLSLICDIFVTSTGRKAMNGSKMCGFTDERGFYRTL RGACKLTLCGKPGRLRYDG TWVSFTRPEVHVWCSPNQLVNVHNNRIDELEHLIVDDLIQKREACLD TLETILMSK SIS FRRLSHFRKLVPGYGKAYTILNGSLMETNVHYRRVDNWDILPSKGCLKVG NKCLDP HKG VYFNGIIGPDGHILIPEMQSGMLKQHIDLLKAAVFPLRHPLIDQS (SEQ ID NO: 163)
YP_007641390.1	DFPLYTIPERLNPWTPIDLIHLSCPNNLLSDAEGCSETSSFTYVELKTGFLAHQKVP GFT CTGVINEAVTYTNFVG YVTTTTFKRKHF KPTVSACRDAFNWKVSGDPRYEESLHTPY PD NSWLRTVTTTTKESLLIISPSIVEMDVYGR TLHSPMFPTGICSKFYPSIPSCATNH DYTLW LPEDPNLSLICDIFVTSTGRKAMNGSRMCGFTDERGFYRTLKGACKLTLCGKPGRLRY DGTWVSFTRPEIHVWCSPDQLVNVHNNRIDEIEHLIVDDLIRKREECLDTLETV LMSKS LSFRRLSHFRKLVPGYGKAYTILNGSLMETNVHYKRVDNWDILPSKGCLKVNNKCM ESDTGVFFNGIIGPDGRILIPEMQSGLLKQHMDLLKAAVFPLRHPLIDKA (SEQ ID NO: 164)
AEE36617.1	EFPLYTIPEKIEKWTPIDMIHLSCPNNLLSEEEGCNTESPLTYFELKSGYLAHQKVP GFT CTGVVTEAETYTNFVG YVTTTTFKRKHF GPTVAACRDAYNWKVSGDPRYEESLHTPY P DSSWLRTVTTTTKESLLIISPSIVEMDVYGR TLHSPMFPSGICSKLYSPVSPCKTNH DYTL WLPEDPSLSLICDIFTSGSRKAMNGSRICGFKDERGFYRSLKGACKLTLCGKPGIRLFD GTWVSFTRPEVHVWCTPNQLVNIHNDRLDEIEHLIVEDIVKRREECLDTLETIFMSQ SIS FRRLSHFRKLVPGYGKAYTILNGSLMEANVYYKRVDKWADILPSKGCLKVGGQQCMD PVNGVFFNGIIGPDGQILIPEMQSEQLKQHMDLLKAAVFPLRHPLISQE (SEQ ID NO: 165)
AEE36616.1	DFPLYTIPEKIGTWTPIDLIHLTCPNNLLSGDDGCSDTATFGYIELKTGYLTHQKVS GFT CTGVVNEAVTYTNFVG YVTTTTFKRKHF KPTALACRDAFHWKISGDPRYEESLHTPY P DNSWLRTVTTTTKESLLIISPSIVEMDVYSRTLHSPMFPGGVCSKFYPSSPSCPTNH DYTL WLPEDANLSMACDIFVTSTGKKS MNNGSRMCGFTDERGFYRTLKGACKLTLCGKPGLR

Ref.	Ectodominio
	LYDGTWVSFTRPEINWVWCSPNQLVNVHNNRLDEIEHLIVGDLIRKREECLDTLETILMS KISISFRRLSHFRKLVPGYGKAYTIINGSLMETNVHYLRVDSWNDILPSKGCLKMKNKQC VDSYKGVFFNGIIGKLDGHILIPEMQSSLLKQHMDLLKAAVFPLRHPLIDQN (SEQ ID NO: 166)
AAA67271.1	EFPLYTIPEKIEKWTPIDMIHLSCPNNMLSEEEGCNTESPFTYFELKSGYLAHQKVPGFT CTGVVNEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFKPTVAACRDAYNWKVSGDPRYEESLHTYPY DSSWLRTVTTTTKEALLIISPSIVEMDIYGRTLHSPMFPSGKCSKLYPSVPSCCTNHDTL WLPEDSSLSLICDIFTSSSGQKAMNGSRICGFKDERGFYRSLKGSKCLTLCGKPGIRLFD GTWVSFTKPDVHVWCTPNQLVNIHNDRLDEVEHLIVDDIHKREECLDTLETILMSQSV SFRRLSHFRKLVPGYGKAYTILNGSLMETNVYYKRVDRWADILPSRGCLKVGGQQCMD PVKGVLFNGIIGKPDGQILIPEMQSEQLKQHMDLLKAAMFPLRHPLINRE (SEQ ID NO: 167)
ABZ81210.1	EFPLYTIPEKIEKWTPIDMIHLSCPNNLLSEEEGCNTESPFTYFELKSGYLAHQKVPGFTC TGVVNEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFMPTVAACRDAYNWKVSGDPRYEESLHTYPY DSSWLRTVTTTTKESLLIISPSIVEMDVYGRTLHSPMFPSGICSKLYPSVPSCCTNHDTL WLPEDPSLSLICDIFTSSSGQKVMNGSRICGFRDERGFYRSLKGACKLTLCGRPGIRLFD GTWVSFTKPDIVHVWCTPNQLVNIHNDRLDEIEHLIVEDIHKREECLDTLETILMSQSISF RRLSHFRKLVPGYGKAYTILNGSLMETNVYYKRVDKWTDILPSKGCLKVGGQQCMEPV NGVLFNGIIGKPDGQILIPEMQSEQLKQHMDLLKAAVFPLRHPLIKRE (SEQ ID NO: 168)
ABZ81170.1	DFPLYTIPEKIGPWTPIDLIHLSCPNNLQSEDEGCGTSSVFSYVELKTGYLTHQKVSGFT CTGVVNEAVTYTNFVGYYVTTTFKRKHFKPTALACRDAYHWKISGDPRYEESLHTYPY DNSWLRTVTTTTKESLVIISPSIVEMDVYSRTLHSPMFPTGTCSRFPSSPSCATNHDTL WLPDDPNLSLACDIFTSTGKKSMNGSRMCGFTDERGYYRTIKGACKLTLCGKPGRLRL FDGTWISFTRPEVTTRCLPNQLVNIHNNRIDEVEHLIVEDLIRKREECLDTLETVLMSSK ISFRRLSHFRKLVPGYGKAYTILNGSLMETNVHYLKVDNWSEILPSKGCLKINNQCVA HYKGVFFNGIIGKPDGHILIPEMQSSLLKQHMDLLKAAVFPLRHPLIEPG (SEQ ID NO: 169)
AHZ89649.1	KFPIYTIPDKLGPWSPIDIHLSCPNNMVVEDEGCTNLSGFSYMELKVGYSIAIKVNGFT CTGVVTEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFRPVPDACRDAHNWKIAGDPRYEESLHNYPY DYHWLRTVKTTKESLVIISPSVADLDPYDKSLHSSVFPGGKCSGITVSSTYCSCTNHDTI WMPENPRLGTSCDIFTYSKGRASKESKTCGFVDERGLYKSLKGACKLKLKGVPGLR LMDGTWVAIQTSDEVKWCPPDQLVNLHDLHSDELEHRVVEELVKKREECLDALESIM TTKSVSFRRLSHLRKLVPGFYKAYTIFNKTLMADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGG RCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQHMELLESSVIPLMHPLADPS (SEQ ID

Ref.	Ectodominio
	NO: 170)

[0104] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 104-170.

[0105] En la **Tabla 2** se proporcionan secuencias ilustrativas de ectodominio de la proteína G de la rabia que tienen eliminaciones del dominio de bucle de fusión.

Tabla 2

Construcción	SEQ ID NO:	Secuencia
A	76	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELKVGYISAIKVNNGFTCTGVVTEAETYTNFVGYYTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLHNPYPDYHWLRTVTRTTKESLIISPSVTDLDPYDKSLHSRGFPGGKCSGITVSSTYCSSTNHDTIWMENPGPRTPCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQISGVDLGLP
B	77	MELLILKANAITTILTAFTCFASGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELKVGYISAIKVNNGFTCTGVVTSVSGRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLSGSGESLIISPSVTDLDPYDKSLHSRGFPGGKCSGITVSSTYCSSTNHDTIWMENPGPRTPCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQISGVDLGLP
C	78	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELGSGSGSGCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEPLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLL

		QQHMELLKSSVIPLMHP
D	79	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCT NLSEFSYMELKVGSSIGKCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGAC RLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEPLVVE ELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGF GKAYTIFNKTLM EADA HYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLL QQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTVFKEGDEAEDFVEVHLDPVYKQISGVDLGL P
E	80	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCT NLSEFSYMELKVGIPGSNCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGAC RLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEPLVVE ELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGF GKAYTIFNKTLM EADA HYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLL QQHMELLKSSVIPLMHP
F	81	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCT NLSEFSYMELGSGSGSGCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGAC RLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVE ELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGF GKAYTIFNKTLM EADA HYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLL QQHMELLKSSVIPLMHP

[0106] En algunas modalidades del polipéptido, el ectodominio de la proteína G de la rabia comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 77-81.

- 5 **[0107]** En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comprende un dominio de multimerización. En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es un dominio de trimerización. En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con FoldOn (SEQ ID NO: 58). En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada entre las

SEQ ID NO: 1, 4, 5, 7, 9, 18, 19, 21, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 34, 36, 37, 39, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 y 51, en donde los residuos de interfaz identificados en la **Tabla 3** se conservan. En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-50A (SEQ ID NO: 7). En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es I53-50A-Δcys (SEQ ID NO: 67). En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 93-96. En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-dn5B (SEQ ID NO: 75). En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con SEQ ID NO: 101 o SEQ ID NO: 102. En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es un polipéptido de ferritina capaz de formar una partícula de ferritina. En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con Construcción F-ferritina (SEQ ID NO: 103). En algunas modalidades del polipéptido, el dominio de multimerización es un dominio de formación de partículas.

Vacunas de subunidades

[0108] Los polipéptidos de la divulgación pueden usarse como vacunas de subunidades. Por ejemplo, el polipéptido puede comprender un dominio de trimerización, tal como FoldOn o una trimerización GCN4, o como los dominios de trimerización I53-50A o I53-dn5B. En ausencia de sus socios (I53-50B e I53-dn5A, respectivamente), los dominios de trimerización I53-50A o I53-dn5B pueden usarse para generar trímeros en solución del ectodominio de la proteína G de la rabia. Estos trímeros solubles pueden utilizarse como reactivos de ensayo (como estándares de

validación) o como vacunas de subunidades. Por ejemplo, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un polipéptido, comprendiendo el polipéptido, en orden N a C-terminal, un ectodominio de proteína G de la rabia, en donde el ectodominio de proteína G de la rabia comprende una eliminación de un dominio de bucle de fusión del ectodominio de proteína G de la rabia; un enlazador polipeptídico; y un dominio de trimerización, seleccionado
5 opcionalmente entre el dominio de trimerización FoldOn, GCN4, I53-50A o I53-dn5B.

Nanopartículas

[0109] La presente divulgación se refiere, en parte, a polipéptidos para su uso como componente de una nanopartícula. La nanopartícula puede ser una nanopartícula que comprende
10 un componente lipídico, o preferiblemente una nanopartícula que está sustancialmente libre de o carece de un componente lipídico. Por ejemplo, la nanopartícula puede ser una nanoestructura de una partícula similar a un virus basada en proteínas (pbVLP). En la **FIG. 2** se muestran nanoestructuras ilustrativas sin la proteína G de la rabia mostrada. En la **FIG. 3** se representa otra nanoestructura ilustrativa o pbVLP.

[0110] Las nanopartículas de la presente descripción pueden mostrar un antígeno capaz de provocar respuestas inmunes al virus de la rabia. En algunas modalidades, las nanopartículas de la presente divulgación son útiles para prevenir o reducir la gravedad de la infección con rabia. En particular, las nanopartículas de la divulgación muestran el ectodominio de la proteína G de la rabia. Los ectodominios pueden unirse al núcleo de la nanopartícula de forma no covalente o
20 covalente, incluso como una proteína de fusión o por otros medios descritos en este documento. En algunas modalidades, un conector conecta el ectodominio a un primer polipéptido que comprende un dominio de multimerización. El enlazador puede ser cualquier enlace químico que incluye, entre otros, un polipéptido utilizado para formar una fusión N-terminal o C-terminal del ectodominio al primer polipéptido. La proteína G de la rabia puede mostrarse opcionalmente a lo
25 largo de un eje de simetría de la VLP. En algunas modalidades, la proteína G está unida C-terminalmente al primer polipéptido que comprende un dominio de trimerización. Puede haber una etiqueta de trimerización intermedia (por ejemplo, etiqueta FoldOn).

Partículas similares a virus basadas en proteínas

[0111] La nanopartícula de la divulgación puede ser partículas similares a virus basadas en
30 proteínas (pbVLP). Las pbVLP de la presente invención pueden comprender conjuntos de proteínas multiméricas adaptadas para la visualización del ectodominio de la proteína G de la rabia.

Las pbVLP de la presente invención comprenden al menos un componente polipeptídico, presente en múltiples copias en la pbVLP. El dominio de multimerización del primer componente polipeptídico puede derivarse de una secuencia de proteína natural mediante la sustitución de al menos un residuo de aminoácido. Este primer componente puede formar todo el núcleo de la pbVLP; o el núcleo de la pbVLP puede comprender un segundo componente polipeptídico o un tercer, cuarto, quinto componente polipeptídico, etc., de modo que la VLP comprenda dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete o más componentes, cada uno presente en múltiples copias. En algunos casos, el primer componente polipeptídico, que comprende el polipéptido que comprende el ectodominio de la proteína G de la rabia, formará trímeros relacionados por simetría rotacional triple y el segundo componente polipeptídico formará pentámeros relacionados por simetría rotacional quíntuple. En tales casos, la VLP forma una "partícula icosaédrica" que tiene simetría I53. Juntos, estos dos componentes polipeptídicos pueden disponerse de forma tal que los miembros de cada complejo homomérico estén relacionados entre sí mediante operadores de simetría. Un método computacional general para diseñar materiales proteicos autoensamblables, que implica el acoplamiento simétrico de bloques de construcción de proteínas en una arquitectura simétrica objetivo, se describe en la pub. de patente de los EE. UU. núm. 2015/0356240 A1.

[0112] El "núcleo" de la pbVLP se utiliza aquí para describir la porción central de la pbVLP que une las diversas copias del ectodominio de la proteína G de la rabia, mostrados por la pbVLP. En algunas modalidades, el primer componente comprende un polipéptido que comprende un ectodominio de proteína G de la rabia, un conector polipeptídico y un primer dominio de multimerización. En otras modalidades, el ectodominio que comprende la proteína G de la rabia está unido de forma no covalente o covalente al primer dominio de multimerización. Por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento antigénico de este se puede fusionar al primer dominio de multimerización y configurar para unirse al ectodominio de la proteína G de la rabia, o a una etiqueta química en el ectodominio. Por ejemplo, puede emplearse un sistema estreptavidina-biotina (o neuravidina-biotina). Como alternativa, se pueden utilizar varios enlaces químicos. Una ventaja de diseñar un núcleo para que sea una plataforma genérica es que los uno o más dominios de multimerización que componen el núcleo pueden diseñarse y optimizarse con antelación y luego probarse con varios ectodominios. Se entenderá que, en algunos casos, el mismo polipéptido puede formar una porción del "núcleo" y luego extenderse hacia afuera como un adaptador para la unión del ectodominio de la proteína G de la rabia o incluir el ectodominio (es decir, una proteína de

fusión). En modalidades de la presente descripción, el polipéptido comprende otras secuencias polipeptídicas además del ectodominio de la proteína G de la rabia. En algunas modalidades, el ectodominio está glicosilado de forma nativa o utilizando oligosacáridos alternativos (por ejemplo, oligosacáridos específicos de la célula huésped utilizados para expresar el antígeno).

5 **[0113]** Los dominios de multimerización impulsan el autoensamblaje de las pbVLP. En algunos casos, el autoensamblaje puede promoverse aún más mediante la multimerización del ectodominio, aunque el núcleo, en ausencia del ectodominio, sería capaz de autoensamblarse de forma independiente. Sin limitarnos a la teoría, la proteína G de la rabia forma un trímero en su estado nativo. La visualización del ectodominio en una VLP, al menos en algunas modalidades,
10 disminuye la barrera termodinámica para el ensamblaje y/o la relación de equilibrio de los componentes de VLP ensamblados y no ensamblados. En algunos casos, el ectodominio trimérico colocado a lo largo de un eje triple del VLP promueve el plegamiento adecuado y la estabilidad de la conformación del ectodominio y hace que el autoensamblaje del VLP sea un proceso cooperativo, en el que el ectodominio se trimeriza correctamente en parte debido a su visualización
15 en un eje triple del núcleo del VLP, y el VLP se estabiliza en su forma ensamblada, al menos en parte, por interacciones covalentes o no covalentes entre las unidades triméricas. En algunos casos, la introducción de mutaciones en el antígeno o en los componentes VLP puede opcionalmente estabilizar aún más el ensamblaje, en particular si los residuos de cisteína se posicionan para crear enlaces disulfuro intramoleculares. En algunos ejemplos, un antígeno dimérico, trimérico,
20 tetramérico, pentamérico o hexamérico se muestra sobre un núcleo diseñado para tener un eje de simetría coincidente de 2, 3, 4, 5 o 6 pliegues, de modo que el núcleo acomode la disposición del antígeno multimérico con la simetría nativa del antígeno.

[0114] En algunas modalidades, una VLP basada en proteínas puede incluir un núcleo simétrico. Estos incluyen, entre otros, VLP diseñadas. Por ejemplo, la proteína ferritina se ha
25 utilizado para generar una VLP simétrica basada en proteínas utilizando secuencias de ferritina naturales. Las VLP basadas en ferritina se distinguen de las VLP diseñadas en que no es necesaria ingeniería de proteínas para formar una VLP simétrica a partir de ferritina, salvo fusionar la proteína viral (aquí un ectodominio de la proteína G de la rabia) a la molécula de ferritina. Los métodos de diseño de proteínas se pueden utilizar para generar nanoestructuras similares de uno y
30 dos componentes basadas en estructuras modelo (por ejemplo, estructuras depositadas en el Banco de Datos de Proteínas) o de novo (es decir, mediante el diseño computacional de nuevas proteínas

que tengan una estructura deseada, pero poca o ninguna homología con proteínas naturales). Estas nanoestructuras de uno o dos componentes se pueden utilizar luego como núcleo de una VLP diseñada. Los términos "nanopartícula de proteína" o "nanopartícula" y el término "nanoestructura" pueden usarse para referirse a VLP basadas en proteínas como se describe en este documento.

[0115] La VLP puede ser una VLP basada en ferritina. En algunas modalidades, el complejo proteico es una VLP basada en proteína (que incluye ferritina, E2p, variantes I3-01 e I3-01) como se describe en la Patente de EE. UU. núm. US 2020/0009244 A1 y las Patentes Internacionales núm. WO 2022/046583 A1 y WO 2021/210984 A1, cuyas divulgaciones se incorporan como referencia en el presente documento. Las VLP basadas en proteínas pueden emplear una variedad de técnicas de acoplamiento para unir un antígeno al núcleo, que incluyen, pero sin limitarse a, el sistema SpyCatcher descrito en, por ejemplo, Escolano et al. *Nature* 570:468-473 (2019), He et al. *Sci Adv.* 7(12):eabf1591 (2021), y Tan et al. *Nat. Commun.* 12(1):542 (2021). La VLP basada en proteínas puede ser una nanopartícula de lumazina sintasa como se describe, por ejemplo, en Geng et al. *PLoS Pathog.* 17(9):e1009897 (2021). La VLP basada en proteína puede ser una nanopartícula de ferritina, tal como se describe, por ejemplo, en Joyce et al. bioRxiv 2021.05.09.443331 y en la publicación de patente estadounidense núm. US 2019/0330279 A1.

[0116] En la presente divulgación, las VLP basadas en proteínas se distinguen de las vacunas de nanopartículas de forma más general porque el término vacuna de nanopartículas se ha utilizado en la técnica para referirse a vacunas basadas en proteínas o basadas en glicoproteínas (véase, por ejemplo, la patente de los EE. UU. núm. 9,441,019), liposomas polimerizados (véase, por ejemplo, patente de los EE. UU. núm. 7,285,289), micelas surfactantes (véase, por ejemplo, publicación de patente de los EE. UU. núm. 2004/0038406 A1) y partículas biodegradables sintéticas (véase, por ejemplo, patente de los EE. UU. núm. 8,323,696). Se contempla el uso de los ectodominios de la proteína G de la rabia descritos en cualquiera de estos formatos.

[0117] Las VLP basadas en proteínas de la presente descripción se distinguen de las VLP que muestran la proteína G de la rabia en la superficie de una partícula micelar que contiene un surfactante (por ejemplo, NP-9); o alternatively, se elaboran extrayendo proteínas antigénicas de un virus vivo mientras se conservan los componentes lipídicos de la envoltura viral. Por el contrario, las VLP basadas en proteínas descritas en este documento están libres, o sustancialmente libres, de lípidos y surfactantes. Además, la visualización simétrica de la proteína G de la rabia en

algunas modalidades de las VLP basadas en proteínas de esta descripción puede generar una respuesta inmune superior a la proteína G en comparación con otras VLP.

[0118] El término "partícula similar a un virus" o "VLP" se refiere a un conjunto molecular que se parece a un virus, pero no es infeccioso, y que muestra una proteína antigénica, o un fragmento antigénico de la misma, de una proteína o glicoproteína viral. Una "VLP basada en proteínas" se refiere a una VLP formada a partir de proteínas o glicoproteínas y que está sustancialmente libre de otros componentes (por ejemplo, lípidos). Las VLP basadas en proteínas pueden incluir modificación postraducciona y modificación química, pero deben distinguirse de las VLP micelares y las VLP formadas por extracción de proteínas virales de preparaciones de virus vivos o inactivados. El término "VLP diseñada" se refiere a una VLP que comprende uno o más polipéptidos generados mediante diseño computacional de proteínas. Las VLP diseñadas ilustrativamente son VLP que comprenden nanoestructuras representadas en la **FIG. 2**. El término "VLP simétrica" se refiere a una VLP basada en proteínas con un núcleo simétrico, tal como se muestra en la **FIG. 2** y en la **FIG. 3**. Estos incluyen, entre otros, VLP diseñadas.

[0119] El término "partícula icosaédrica" se refiere a una VLP diseñada que tiene un núcleo con simetría icosaédrica (por ejemplo, las partículas denominadas I53 e I52 en la **Tabla 3**). I53 se refiere a una partícula icosaédrica construida a partir de pentámeros y trímeros. I52 se refiere a una partícula icosaédrica construida a partir de pentámeros y dímeros. T33 se refiere a una partícula tetraédrica construida a partir de dos conjuntos de trímeros. T32 se refiere a una partícula tetraédrica construida a partir de trímeros y dímeros.

[0120] Los antígenos pueden unirse al núcleo de la VLP basada en proteína de forma no covalente o covalente, incluso como una proteína de fusión o por otros medios descritos en este documento. Los antígenos multiméricos pueden mostrarse opcionalmente a lo largo de un eje de simetría de la VLP. También se proporcionan proteínas y moléculas de ácido nucleico que codifican dichas proteínas, formulaciones y métodos de uso.

[0121] Un ejemplo no taxativo de una modalidad se muestra en la **FIG. 3**, la que ilustra la proteína G fusionada genéticamente a un dominio de multimerización de la VLP, que opcionalmente se expresa de forma recombinante en una célula hospedadora (por ejemplo, células de 293F); junto con un complejo homomérico pentamérico del segundo componente, que se expresa opcionalmente de forma recombinante en la misma célula hospedadora o una célula hospedadora diferente (por ejemplo, células de *E. coli*). Estos dos componentes se ensamblan en

una VLP que exhibe 20 trímeros de proteína G alrededor de un núcleo icosaédrico. En esta modalidad, el núcleo tiene un diseño genérico. En algunas modalidades, la VLP está además unida a polipéptidos u otros agentes capaces de actuar como adyuvante. En algunas modalidades, el antígeno (primer componente) y/o el segundo componente comprende uno o más epítomos de células T, opcionalmente un epítomo de células T de origen heterólogo.

[0122] Otras posibles disposiciones de polipéptidos de la presente descripción se muestran en la **FIG. 2**. En algunas modalidades, la VLP está adaptada para la visualización de hasta 8 trímeros; 8 trímeros y 12 dímeros; 6 tetrámeros y 12 dímeros; 6 tetrámeros y 8 trímeros; 20 trímeros y 30 dímeros; 4 trímeros y 6 dímeros; 4 primeros trímeros y 4 segundos trímeros, u 8 trímeros; 12 pentámeros y 20 trímeros; 12 pentámeros y 30 dímeros; o 4 trímeros. En algunos casos, uno de los ejes simétricos no se utiliza para la visualización de antígenos, por lo tanto, en algunas modalidades la VLP está adaptada para la visualización de hasta 8 trímeros; 12 dímeros; 6 tetrámeros; 20 trímeros; 30 dímeros; 4 trímeros; 6 dímeros; 8 trímeros; o 12 pentámeros. En algunos casos, se muestran antígenos monoméricos y, por lo tanto, la VLP está adaptada para la visualización de hasta 12, 24, 60 o 70 antígenos monoméricos. En algunos casos, la VLP comprende pluralidades mixtas de polipéptidos, de modo que polipéptidos del núcleo de la VLP que de otro modo serían idénticos muestran antígenos diferentes o ningún antígeno. Por lo tanto, dependiendo de la proporción de polipéptidos, la VLP está en algunos casos adaptada para la visualización de entre 1 y 130 antígenos (por ejemplo, en la partícula I52) donde cada uno de los antígenos mostrados puede ser el mismo o pueden ser diferentes miembros de una población mixta en proporción a cualquier proporción elegida. Los antígenos pueden coexpresarse en un sistema de expresión recombinante y autoensamblarse antes de la purificación. Alternativamente, los antígenos pueden expresarse por separado y luego mezclarse entre sí, ya sea antes o después de la purificación del huésped de expresión y los contaminantes asociados. En distintas modalidades, se muestran 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o más antígenos. Se proporcionan VLP de ejemplo y no limitantes en Bale et al. *Science* 353:389-94 (2016); Heinze et al. *J. Phys. Chem B*. 120:5945-5952 (2016); King et al. *Nature* 510:103-108 (2014); y King et al. *Science* 336:1171-71 (2012).

[0123] En algunos casos, la VLP está adaptada para mostrar el mismo antígeno de dos o más cepas diversas de rabia. En ejemplos no limitantes, la misma VLP muestra poblaciones mixtas de antígenos proteicos homotrímeros mixtos de antígenos proteicos de diferentes cepas de rabia. En

otras modalidades, se pueden fabricar partículas para mostrar proteínas de diversas fuentes, tales como un ectodominio de proteína G de la rabia y una o más glicoproteínas triméricas del VIH-1, VIH-2, VEB, CMV, VSR, influenza, ébola, Marburgo, dengue, SARS, MERS, Hanta o virus Zika. En algunas modalidades, la VLP comprende las glicoproteínas triméricas de virus que están relacionados evolutivamente o en identidad de secuencia con cualquiera de estos virus de ejemplo, incluidos, entre otros, un virus del herpes, ortomixovirus, paramixovirus, neumovirus, filovirus, flavivirus, reovirus o retrovirus. En una modalidad, la VLP comprende el dominio o dominios extracelulares de una proteína transmembrana o glicoproteína, o un fragmento antigénico de la misma.

[0124] Cuando se crean VLP mixtas, puede ser ventajoso asegurar la homomerización de una manera específica de la cepa en lugar de permitir la heterodimerización, de modo que, por ejemplo, todas las proteínas F de la cepa 1 se muestren en un eje triple de una partícula T33 mientras que todas las proteínas G de la cepa 2 se muestren en el otro eje triple de la partícula T33. Esto se puede lograr mediante el uso de una VLP que comprenda dos o más pluralidades de polipéptidos como núcleo de la VLP con cada pluralidad de polipéptidos unidos a un antígeno diferente. Como alternativa, se puede diseñar una VLP con una o más mutaciones que rompan la simetría, como mutaciones de botón en agujero o mutaciones de disulfuro intramolecular, que tienen el efecto de prevenir la formación de trímeros entre los diferentes antígenos. En ese caso, la VLP muestra antígenos multiméricos de diferentes cepas en posiciones simétricamente equivalentes en la VLP, pero cada posición en la VLP está ocupada por homómeros de la misma cepa, con solo una proporción insignificante de antígenos heteroméricos entre cepas. En algunos casos, el propio antígeno puede ser modificado genéticamente para evitar la heterodimerización entre cepas. En una modalidad, la VLP está diseñada para evitar la heteromización de dos proteínas antigénicas con estructura conservada, pero con una antigenicidad divergente, como por ejemplo, una proteína G de la cepa 1 y una proteína G de la cepa 2 o una proteína G de la rabia y una proteína antigénica que no es rabia. Además, cuando se crean VLP mixtas y los antígenos se muestran como proteínas de fusión, las VLP comprenderán tres o más proteínas diferentes, ya que las proteínas de fusión compartirán dominios idénticos (o equivalentes) utilizados para formar el núcleo de las VLP con diferentes dominios antígenicos, uno para cada antígeno mostrado en las VLP.

Modalidades de unión (enlazadores)

[0125] Las VLP de la presente descripción presentan proteínas antigénicas de diversas

maneras, incluida la fusión de genes o por otros medios descritos en la presente. Tal como se utiliza en la presente, "enlazado a" o "unido a" denota cualquier medio conocido en la técnica para hacer que dos polipéptidos se asocien. La asociación puede ser directa o indirecta, reversible o irreversible, débil o fuerte, covalente o no covalente, y selectiva o no selectiva. En algunas modalidades, se describe un "enlazador polipeptídico" que puede referirse a un enlazador entre dos partes de la proteína G.

[0126] En algunas modalidades, la unión se logra mediante ingeniería genética para crear una fusión N o C-terminal del ectodominio de la proteína G de la rabia al dominio de multimerización.

[0127] En algunas modalidades, la unión se logra mediante la unión covalente postraducciona del ectodominio de la proteína G de la rabia al dominio de multimerización del primer componente de la VLP. En algunos casos, la reticulación química se utiliza para unir de forma no específica el antígeno a un polipéptido de VLP. En algunos casos, se utiliza reticulación química para unir específicamente la proteína antigénica a un polipéptido de VLP (por ejemplo, al primer polipéptido o al segundo polipéptido). Se conocen en la técnica diversas reticulaciones químicas específicas y no específicas, como la química Click y otros métodos. En general, cualquier reticulación química utilizada para unir dos proteínas puede adaptarse para su uso en las VLP descritas en la presente. En particular, pueden utilizarse las químicas empleadas en la creación de inmunoconjugados o conjugados anticuerpo-fármaco. En algunos casos, se crea una VLP utilizando un enlazador escindible o no escindible. Los procesos y métodos para la conjugación de antígenos con portadores se proporcionan, por ejemplo, en la pub. de patente de los EE. UU. núm. 2008/0145373 A1.

[0128] En algunas modalidades, la unión se consigue mediante unión no covalente con la VLP. En algunos casos, el ectodominio de la proteína G de la rabia está diseñada para estar cargada negativamente en al menos una superficie y el polipéptido del núcleo está diseñado para estar cargado positivamente en al menos una superficie, o cargado positiva y negativamente, respectivamente. Esto promueve la asociación intermolecular entre la proteína antigénica y el polipéptido del núcleo por fuerza electrostática. En algunos casos, se emplea la complementariedad de forma para provocar la unión de la proteína antigénica al núcleo. La complementariedad de formas puede ser preexistente o diseñada racionalmente. En una modalidad, el antígeno está marcado con biotina y el polipéptido comprende una estreptavidina, o viceversa. En una modalidad, la estreptavidina se muestra mediante fusión genética o de otro modo como un

tetrámero en un eje cuádruple del núcleo y el antígeno marcado con biotina es monomérico, dimérico o tetramérico, lo que permite la asociación con el núcleo en una configuración apropiada para la multimerización nativa del antígeno. En algunos casos, se utiliza un adaptador basado en proteínas para capturar la proteína antigénica. En algunos casos, el polipéptido se fusiona a una proteína capaz de unirse a una proteína complementaria, que se fusiona a la proteína antigénica.

[0129] La reacción inmune a G de la rabia se puede controlar alterando la orientación del ectodominio con respecto al núcleo. Dependiendo de cómo la proteína antigénica esté unida al núcleo de la VLP, la proteína antigénica puede mostrarse en varias orientaciones. En algunas modalidades, la proteína antigénica se muestra de modo que uno o más epítopos conocidos estén orientados en o hacia el extremo distal de la proteína antigénica, de modo que estos epítopos sean accesibles preferentemente al sistema inmunológico. En algunos casos, la orientación recapitulará la orientación de una proteína viral con respecto al virus. Así, en el caso de la proteína G de la rabia, la proteína antigénica (ectodominio de la proteína G de la rabia) puede estar orientada de modo que el epítipo identificado en Marissen et al. (2005) *J Virol.* 79(8):4672–4678 esté en el extremo distal de la proteína. La elección de la orientación puede dirigir el sistema inmune hacia uno u otro epítipo.

[0130] En algunas modalidades, la preferencia del epítipo se controla por otros medios, como el posicionamiento de los glicanos en la VLP mediante la adición o sustracción del motivo de secuencia de glicanos ligado a N NX-[T/S] en posiciones predeterminadas en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de los polipéptidos de la VLP, incluida la secuencia de aminoácidos de la proteína antigénica.

[0131] En algunos casos, los epítopos encontrados a distancias intermedias desde el extremo proximal al distal serán preferidos sobre los epítopos ubicados más distalmente dependiendo de varias consideraciones que incluyen, entre otras, la geometría general de la VLP, la hidrofobicidad de la superficie, la carga de la superficie y la unión competitiva de proteínas presentes de forma endógena en el sujeto o proteínas proporcionadas de forma exógena en la composición de la vacuna. La presente descripción abarca todos los métodos conocidos de diseño racional de la estructura de proteínas y lo anterior no pretende ser limitante.

Secuencias polipeptídicas

[0132] Los polipéptidos de la presente descripción pueden comprender distintas secuencias de aminoácidos. La pub. de patente de los EE. UU. núm. 2015/0356240 A1 describe diversos métodos

para diseñar ensamblajes de proteínas. Como se describe en la pub. de patente de los EE. UU. núm. 2016/0122392 A1 y en la publicación de patente internacional WO 2014/124301 A1, los polipéptidos aislados de las SEQ ID NO: 1-51 se diseñaron por su capacidad de autoensamblarse en pares para formar VLP, como partículas icosaédricas. Se describen VLP adicionales adecuados en la publicación de patente de los EE. UU. núm. 2022/0072120 A1. El método del diseño implicó diseñar residuos de interfaz adecuados para cada miembro del par polipeptídico que puede ensamblarse para formar las VLP. Las VLP así formadas incluyen interfaces polipéptido-polipéptido no covalentes, simétricamente repetidas y no naturales, que orientan un primer ensamblaje y un segundo ensamblaje en VLP, tal como una con simetría icosaédrica. Por lo tanto, en una modalidad, el primer polipéptido y el segundo polipéptido (es decir, los dos polipéptidos del núcleo de la VLP) se seleccionan del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1-51. En cada caso, un residuo de metionina de extremo N está presente en la proteína de longitud completa, pero típicamente eliminado para hacer una fusión que no esté incluida en la secuencia. En diversas modalidades, se eliminan uno o más residuos adicionales del extremo N y/o se agregan residuos adicionales al extremo N (por ejemplo, para formar una extensión helicoidal).

TABLA 3

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
I53-34A SEQ ID NO:1	trímero	EGMDPLAVLAESRLPLLTVRGGEDLAGLATVLELMGV GALEITLRTEKGGLEALKALRKSGLLLGAGTVRSPKEAEA ALEAGAAFLVSPGLLEEVAALAQARGVPYLPGVLTPTTEV ERALALGLSALKFFPAEPFQGVRVLRAYAEVFPEVRFLPT GGIKEEHLPHYAALPNLLAVGGSWLLQGDLAAVMKKV KAAKALLSPQAPG	I53-34A: 28,32,36,37,186, 188,191,192,195
I53-34B SEQ ID NO:2	pentámero	TKKVGIVDTTFARVDMAEAAIRTLKALSPNIKIIRKTVPGI KDLPVACKKLLEEEGCDIVMALGMPGKAEKDKVCAHE ASLGLMLAQLMTNKHIEVFVHEDEAKDDDEL DILALVR AIEHAANVYYLLFKPEYLTRMAGKGLRQGFEDAGPARE	I53-34B: 19,20,23,24,27,1 09,113,116,117, 120,124,148
I53-40A SEQ ID NO:3	pentámero	TKKVGIVDTTFARVDMASAAITLKMESPNIKIIRKTVPGI KDLPVACKKLLEEEGCDIVMALGMPGKAEKDKVCAHE ASLGLMLAQLMTNKHIEVFVHEDEAKDDAELKILAARR AIEHALNVYYLLFKPEYLTRMAGKGLRQGFEDAGPARE	I53-40A: 20,23,24,27,28,1 09,112,113,116, 120,124

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
I53-40B SEQ ID NO:4	trímero	STINNQLKALKVIPVIAIDNAEDIIPLGKVLAEENGLPAAEI TFRSSAAVKAIMLLRSAQPEMLIGAGTILNGVQALAAKE AGATFVVSPGFNPNTVRACQIIGIDIVPGVNNPSTVEAAL EMGLTTLKFFPAEASGGISMVKS LVGPYGDIRLMPTGGIT PSNIDNYLAIPQVLACGGTWMVDKKLV TNGEWDEIARL TREIVEQVNP	I53-40B: 47,51,54,58,74,102
I53-47A SEQ ID NO:5	trímero	PIFTLNTNIKATDVPSDFLSLTSRLVGLILSKPGSYVAVHI NTDQQLSFGGSTNPAAFGTLM SIGGIEPSKNRDHSAVLFD HLNAMLGIPKNRMYIH FVN LN GDDVGWNGTTF	I53-47A: 22,25,29,72,79,86,87
I53-47B SEQ ID NO:6	pentámero	NQSHSKDYETVRIAVVRARWHADIVDACVEAFEIAMAA IGGDRFAVDVFDVPGAYEIPLHARTLAETGRYGAVLGTA FVVNGGIYRHEFVASAVIDGMMNVQLSTGVPVLSAVLT PHRYRDSA EHH RFFAAHFAVKGVEAARACIEILAAREKI AA	I53-47B: 28,31,35,36,39,131,132,135,139,146
I53-50A SEQ ID NO:7	trímero	MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEI TFTVPDADTVIKALS VLKEKGAIIGAGTVTSVEQCRKAV ESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL VKA MKLGHTILKLFPGEVVGPPQFVKAMKGPFNPVKFVPTGG VNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAKA FVEKIRGCTE	I53-50A: 25,29,33,54,57
I53-50B SEQ ID NO:8	pentámero	NQSHSKDYETVRIAVVRARWHAEIVDACVSAFEAAMA DIGGDRFAVDVFDVPGAYEIPLHARTLAETGRYGAVLGTA AFVVNGGIYRHEFVASAVIDGMMNVQLSTGVPVLSAVL TPHRYRDSAHTLLFLALFAVKGME AARACVEILAARE KIAA	I53-50B: 24,28,36,124,125,127,128,129,131,132,133,135,139
I53-51A SEQ ID NO:9	trímero	FTKSGDDGNTNVINKRVGKDSPLVNFLGDLDELNSFIGF AISKIPWEDMKKDLERVQVELFEIGEDLSTQSSKKKIDES YVLWLLAATAIYRIESGPVKLFVIPGGSEEASVLHVTRSV ARRVERNAVKYTKELPEINRMIIVYLNRLSSLLFAMALV	I53-51A: 80,83,86,87,88,90,91,94,166,172,176

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
		ANKRRNQSEKIYEIGKSW	
I53-51B SEQ ID NO:10	pentámero	NQHSHKDYETVRIAVVRARWHADIVDQCVRAFEEAMA DAGGDRFAVDVFDVPGAYEIP LHARTLAETGRYGAVLG TAFVVNGGIYRHEFVASAVIDGMMNVQLSTGVPVLSAV LTPHRYRSSREHHEFFREHFMVKGVEAAAACITILAARE KIAA	I53-51B: 31,35,36,40,122, 124,128,131,135 ,139,143,146,14 7
I52-03A SEQ ID NO:11	pentámero	GHTKGPTPQQHDGSALRIGIVHARWNKTIIMPLLIGTIAK LLECGVKASNIVVQSVPGSWELPIAVQRLYSASQLQTPSS GPSLSAGDLLGSSTTDLTALPTTTASSTGPFDAIAIGVLI KGETMHFEYIADSVSHGLMRVQLDTGVPVIFGVLTCLTD DQAKARAGVIEGSHNHGEDWGAAVEMGVRRRDWAA GKTE	I52-03A: 28,32,36,39,44,4 9
I52-03B SEQ ID NO:12	dímero	YEVHDADVDFYLGGRGKDYAAEASDIADLVRSTPEA SSLLDVACGTGTHLEHFTKEFGDTAGLESEDMLTHARK RLPDATLHQGDMRDFQLGRKFSAVVSMFSSVGYLKTV ELGA AVASFAEHLEPGGVVVVEPWVFPETFADGWVSA DVVRRDGRTVARVSHSVREGNATRMEVHFTVADPGKG VRHFSDVHLITLFHQREYEA AFMAAGLRVEYLEGGPSGR GLFVG VPA	I52-03B: 94,115,116,206, 213
I52-32A SEQ ID NO:13	dímero	GMKEKFVLIITHGDFGKGLLSGA EVIIGKQENVHTVGLN LGDNIEKVAKEVMRIIAKLAEDKEIIIVDLFGGSPFNIAL EMMKTFDVKVITGINMPMLVELLTSINVYDTTELLENISK IGKDG IKVIEKSSLKM	I52-32A: 47,49,53,54,57,5 8,61,83,87,88
I52-32B SEQ ID NO:14	pentámero	KYDGSKLRIGILHARWNLEIIAALVAGAIKRLQEFGVKAE NIIETVPGSFELPYGSKLFVEKQKRLGKPLDAIPIGVLIK GSTMHFEYICDSTTHQLMKLNFELGIPVIFGVLTCLTDEQ AEARAGLIEGKMHNHGEDWGAAAVEMATKFN	I52-32B: 19,20,23,30,40
I52-33A SEQ ID NO:15	pentámero	AVKGLGEVDQKYDGSKLRIGILHARWNRKIILALVAGA VLRLLFEGVKAENIIETVPGSFELPYGSKLFVEKQKRLG KPLDAIPIGVLIK GSTMHFEYICDSTTHQLMKLNFELGIP VIFGVLTCLTDEQAEARAGLIEGKMHNHGEDWGAAAVE	I52-33A: 33,41,44,50

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
		MATKFN	
I52-33B SEQ ID NO:16	dímero	GANWYLDNESSRLSFTSTKNADIAEVHRFLVLHGKVDPKGLAEVEVETESISTGIPLRDMLLRVLVFQVSKFPVAQIN AQLDMRPINN LAPGAQLELRPLTVSLRGKSHSYNAELL ATRLDERRFQVVTLEPLVIHAQDFDMVRAFNALRLVAGLSAVSLSPVPGAVLIFTAR	I52-33B: 61,63,66,67,72,147,148,154,155
I32-06A SEQ ID NO:17	dímero	TDYIRDGSAIKALSFAILLAEADLRHIPQDLQRLAVRVIHACGMVDVANDLAFSEGAGKAGRNALLAGAPILCDARMVAEGITRSLRPADNRVIYTLSDPSVPELAKKIGNTRSAALDLWLPHIEGSIVAIGNAPTALFRLFELLDAGAPKPALIIGMPVGFVGAAESKDELAANSRGVPYVIVRGRRGGSAMTAAAVNALASERE	I32-06A: 9,12,13,14,20,30,33,34
I32-06B SEQ ID NO:18	trímero	ITVFLGKSKLAPRREKLAEVIYSSLHLGLDIPKGKHAIRFLCLEKEDFYYPFDRSDDYTVEINLMAGRSEETKMLLIFLLFIALERKLGIRAH DVEITIKEQPAHCWGFRGRTGDSARDLDYDIYV	I32-06B: 24,71,73,76,77,80,81,84,85,88,114,118
I32-19A SEQ ID NO:19	trímero	GSDLQKLQRFSTCDISDGLLN VYNIPTGGYFPNLTAISPPQNSSIVGTAYTVLFAPIDDPRAVNYIDSVPPNSILVLALEPHLQSQFHPFIKITQAMYGGLMSTRAQYLKSNGTVVFGRI RDVDEHRTL NHPVFAYGVGSCAPKAVVKAVGTNVQLKILTS DGVTQTICPGDYIAGDNNGIVRIPVQETDISKLVTYIEKSIEVDRLVSEAIKNGLPAKAAQTARRMVLKDYI	I32-19A: 208,213,218,222,225,226,229,233
I32-19B SEQ ID NO:20	dímero	SGMRVYLGADHAGYELKQAIIFLKM TGHEPIDCGALRYDADDDYPAFCIAAATRTVADPGSLGIVLGGSGNGEQIA ANKVPGARCALAWSVQTAALAREHNNAQLIGIGRMHTLEEALRIVKAFVTTPWSKAQRHQRRIDILAEYERTHEAPVPGAPA	I32-19B: 20,23,24,27,117,118,122,125
I32-28A SEQ ID NO:21	trímero	GDDARIAAIGDVDELNSQIGVLLAEPLPDDVRAALSAIQHDLFDLGGELCIPGHAAITEDHLLRLALWL VHYNGQLPPL EEFILPGGARGAALAHVCRTVCRRRAERSIKALGASEPLNI APAAYVNLLSDLLFVLARVLNRAAGGADVLWDRTRAH	I32-28A: 60,61,64,67,68,71,110,120,123,124,128

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
I32-28B SEQ ID NO:22	dímero	ILSAEQSFTLRHPHGQAAALAFVREPAAALAGVQRLRGL DSDGEQVWGELLVRVPLLGEVDLPFRSEIVRTPQGAELR PLTLTGERAWVAVSGQATAAEGGEMAFQFQAHLATP EAEGEGGAAFEVMVQAAAGVTLLLVAMALPQGLAAGL PPA	I32-28B: 35,36,54,122,12 9,137,140,141,1 44,148
I53-40A.1 SEQ ID NO:23	pentámero	TKKVGIVDTTFARVDMASAAITLKMESPNIKIIRKTVPGI KDLPVACKKLLLEEGCDIVMALGMPGKKEKDKVCAHE ASLGLMLAQLMTNKHIEVFVHEDEAKDDAELKILAARR AIEHALNVYYLLFKPEYLTRMAGKGLRQGFEDAGPARE	I53-40A: 20,23,24,27,28,1 09,112,113,116, 120,124
I53-40B.1 SEQ ID NO:24	trímero	DDINNQLKRLKVIPVIAIDNAEDIHPLGKVLAEGLPAAEI TFRSSAAVKAIMLLRSAQPEMLIGAGTILNGVQALAAKE AGADFVVSFGFNPNTVRACQIIGIDIVPGVNNPSTVEQAL EMGLTTLKFFPAEASGGISMVKS LVGPYGDIRLMPTGGIT PDNIDNYLAIPQVLACGGTWMVDKKLVRNGEWDEIARL TREIVEQVNP	I53-40B: 47,51,54,58,74,1 02
I53-47A.1 SEQ ID NO:25	trímero	PIFTLNTNIKADDVPSDFLSLTSRLVGLILSKPGSYVAVHI NTDQQLSFGGSTNPAAFGTLM SIGGIEPDKNRDHS AVL F DHLNAMLGIPKNRMYIH FVNLNGDDVGWNGTTF	I53-47A: 22,25,29,72,79,8 6,87
I53-47A.1NegT2 SEQ ID NO:26	trímero	PIFTLNTNIKADDVPSDFLSLTSRLVGLILSEPGSYVAVHI NTDQQLSFGGSTNPAAFGTLM SIGGIEPDKNEDHS AVL F DHLNAMLGIPKNRMYIH FVDLDGDDVGWNGTTF	I53-47A: 22,25,29,72,79,8 6,87
I53-47B.1 SEQ ID NO:27	pentámero	NQSHKDHETVRIAVVRARWHADIVDACVEAFEIAMAA IGGDRFAVDVFDVPGAYEIP LHARTLAETGRYGAVLGTA FVVNGGIYRHEFVASAVIDGMMNVQLDTGVPVLSAVLT PHRYRDSDEHHRFFAAHFAVKGVEAARACIEILNAREKI AA	I53-47B: 28,31,35,36,39,1 31,132,135,139, 146

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
I53-47B.1NegT2 SEQ ID NO:28	pentámero	NQSHKDHETVRIAVVRARWHADIVDACVEAFEIAMAA IGGDRFAVDVFDVPGAYEIPHLARTLAETGRYGAVLGT FVVDGGIYDHEFVASAVIDGMMNVQLDTGVPVLSAVLT PHEYEDSDEDHEFFAAHFAVKGVEAARACIEILNAREKI AA	I53-47B: 28,31,35,36,39,1 31,132,135,139, 146
I53-50A.1 SEQ ID NO:29	trímero	EELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITF TVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQCRKAVES GAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTELVKAM KLGHDLKLFPGEVVGPPQFVKAMKGPFPNVKFPVPTGGV NLDNVCEWFKAGVLAVGVGDALVKGDPDEVREKAKKF VEKIRGCTE	I53-50A: 25,29,33,54,57
I53-50A.1NegT2 SEQ ID NO:30	trímero	EELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITF TVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQCRKAVES GAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTELVKAM KLGHDLKLFPGEVVGPEFVEAMKGPFPNVKFPVPTGGVD LDDVCEWFDAGVLAVGVGDALVEGDPDEVREDAKEFV EEIRGCTE	I53-50A: 25,29,33,54,57
I53-50A.1PosT1 SEQ ID NO:31	trímero	EELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITF TVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQCRKAVES GAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTELVKAM KLGHDLKLFPGEVVGPPQFVKAMKGPFPNVKFPVPTGGV NLDNVCKWFKAGVLAVGVGKALVKGKPDEVREKAKKF VKKIRGCTE	I53-50A: 25,29,33,54,57
I53-50B.1 SEQ ID NO:32	pentámero	NQSHKDHETVRIAVVRARWHAEIVDACVSAFEAAMR DIGGDRFAVDVFDVPGAYEIPHLARTLAETGRYGAVLGT AFVVNGGIYRHEFVASAVIDGMMNVQLDTGVPVLSAVL TPHRYRSDAHTLLFLALFAVKGMEAAARACVEILAARE KIAA	I53-50B: 24,28,36,124,12 5,127,128,129,1 31,132,133,135, 139
I53-50B.1NegT2 SEQ ID NO:33	pentámero	NQSHKDHETVRIAVVRARWHAEIVDACVSAFEAAMR DIGGDRFAVDVFDVPGAYEIPHLARTLAETGRYGAVLGT AFVVDGGIYDHEFVASAVIDGMMNVQLDTGVPVLSAVL TPHEYEDSDADTLLFLALFAVKGMEAAARACVEILAAREK	I53-50B: 24,28,36,124,12 5,127,128,129,1 31,132,133,135,

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
		IAA	139
I53-50B.4PosT1 SEQ ID NO:34	trímero	NQSHKDHETVRIAVVRARWHAEIVDACVSAFEAAMR DIGGDRFAVDVFDVPGAYEIPHLARTLAETGRYGAVLGT AFVVNGGIYRHEFVASAVINGMMNVQLNTGVPVLSAVL TPHNYDKSKAHTLLFLALFAVKGMEAAARACVEILAARE KIAA	I53-50B: 24,28,36,124,12 5,127,128,129,1 31,132,133,135, 139
Género I53-40A SEQ ID NO:35	pentámero	TKKVGIVDTTFARVDMASAAITLKMESPNIKIIRKTVPGI KDLPVACKKLLLEEKGCDIVMALGMPGK(A/K)EKDKVCA HEASLGLMLAQLMTNKHIIIEVFVHEDEAKDDAELKILAA RRAIEHALNVYYLLFKPEYLTRMAGKGLRQGFEDAGPA RE	
Género I53-40B SEQ ID NO:36	trímero	(S/D)(T/D)INNQLK(A/R)LKVIPVIAIDNAEDIPLGKVLAE NGLPAAEITFRSSAAVKAIMLLRSAQPEMLIGAGTILNGV QALAAKEAGA(T/D)FVVSPGFNPNTVRACQIIGIDIVPGV NNPSTVE(A/Q)ALEMGLTTLKFFPAEASGGISMVKSLVGP YGDIRLMPTGGITP(S/D)NIDNYLAIPQVLACGGTWMVD KKLV(T/R)NGEWDEIARLTREIVEQVNP	
Género I53-47A SEQ ID NO:37	trímero	PIFTLNTNIKA(T/D)DVPSDFLSLTSRLVGLILS(K/E)PGSY VAVHINTDQQLSFGGSTNPAAFGTLMSIGGIEP(S/D)KN(R /E)DHSAVLFDHLNAMLGIPKNRMYIHFV(N/D)L(N/D)GD DVGWNGTTF	
Género I53-47B SEQ ID NO:38	pentámero	NQSHKD(Y/H)ETVRIAVVRARWHADIVDACVEAFEIA MAAIGGDRFAVDVFDVPGAYEIPHLARTLAETGRYGAV LGTAFFVV(N/D)GGIY(R/D)HEFVASAVIDGMMNVQL(S/D) TGVPVLSAVLTPH(R/E)Y(R/E)DS(A/D)E(H/D)H(R/E)FFAA HFAVKGVEAARACIEIL(A/N)AREKIAA	
Género I53-50A SEQ ID NO:39	trímero	EELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLEITF TVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQCRKAVES GAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTELVKAM KLGH(T/D)ILKLFPGEVVGP(Q/E)FV(K/E)AMKGPFNPVKF VPTGGV(N/D)LD(N/D)VC(E/K)WF(K/D)AGVLAVGVG(S/ K/D)ALV(K/E)G(T/D/K)PDEVRE(K/D)AK(A/E/K)FV(E/K)(	

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
		K/E)IRGCTE	
Género I53-50B SEQ ID NO:40	pentámero	NQHSHKD(Y/H)ETVRIAVVRARWHAEIVDACVSAFEAA M(A/R)DIGGDRFAVDVFDVPGAYEIPHLARTLAETGRYG AVLGTAFVV(N/D)GGIY(R/D)HEFVASAVI(D/N)GMMNV QL(S/D/N)TGVPVLSAVLTPH(R/E/N)Y(R/D/E)(D/K)S(D/K) A(H/D)TLLFLALFAVKGMEAAARACVEILAAAREKIAA	
T32-28A SEQ ID NO:41	dímero	GEVPIGDPKELNGMEIAAVYLQPIEMEPRGIDLAASLADI HLEADIIHALKNNPNNGFPEGFWMPYLTIAAYALANADTGAI KTGTLMPMVADDGPHYGANIAMEKDKKGGFGVGTIAL TFLISNPEKQGFGRHVDEETGVGKWFEPFVVITYFFKYTG TPK	
T32-28B SEQ ID NO:42	trímero	SQAIGILELTSIAKGMELGDAMLKSANVDLLVSKTISPGK FLLMLGGDIGAIQQAETGTSQAGEMLVDSLVLANIHPVS LPAISGLNSVDKRQAVGIVETWSVAACISAADLAVKGSN VTLVRVHMAFGIGGKCYMVVAGDVLDVAAAVATASLA AGAKGLLVYASIIIPRPHEAMWRQMVEG	
T33-09A SEQ ID NO:43	trímero	EEVVLITVPSALVAVKIAHALVEERLAACVNIVPGLTSIY RWQGSVVSHELLLVKTTTHAFPKLKERVKALHPYTV PEIVALPIAEGNREYLDWLRENTG	
T33-09B SEQ ID NO:44	trímero	VRGIRGAITVEEDTPAAILAATIELLLKMLEANGIQSYEEL AAVIFTVTEDLTSAFPAAEARLIGMHRVPLLSAREVPVPG SLPRVIRVLALWNTDTPQDRVRHVYLNEAVRLRPDLESA Q	
T33-15A SEQ ID NO:45	trímero	SKAKIGIVTVSDRASAGITADISGKAILALNLYLTSEWEPI YQVIPDEQDVIETTLIKMADEQDCCLIVTTGGTGPAKRD VTPEATEAVCDRMMPGFGELMRAESLKEVPTAILSRTQA GLRGDSLIVNLPGDPASISDCLLAVFPAIPYCIDLMEGPYL ECNEAMIKPFRPKAK	
T33-15B	trímero	VRGIRGAITVNSDTPSTIIATILLLEKMLEANGIQSYEELA AVIFTVTEDLTSAFPAAEARQIGMHRVPLLSAREVPVPGS	

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
SEQ ID NO:46		LPRVIRVLALWNTDTPQDRVRHVYLSEAVRLRPDLESAQ	
T33-21A SEQ ID NO:47	trímero	RITTKVGDKGSTRLFGGEEVWKDSPIIEANGTLDELTSFI GEAKHYVDEEMKGILEEIQNDIYKIMGEIGSKGKIEGISEE RIAWLLKLILRYMEMVNLKSFVLPGGTLESAKLDVCRTI ARRALRKVLTVTREFGIGAEAAAYLLALSDLLFLLARVIE IEKNKLKEVRS	
T33-21B SEQ ID NO:48	trímero	PHLVIEATANLRLETSPGELLEQANKALFASGQFGEADIK SRFVTLEAYRQGTAAVERAYLHACLSILDGRDIATRTLL GASLCAVLAEAVAGGGEQVQVSVEVREMERLSYAKR VVARQR	
T33-28A SEQ ID NO:49	trímero	ESVNTSFLSPSLVTIRDFDNGQFAVL RIGRTGFPADKGDI DLCLDKMIGVRAAQIFLGDDTEDGFKGPHIRIRCVDIDDK HTYNAMVYVDLIVGTGASEVERETAEEEAKLALRVALQ VDIADEHSCVTQFEMKLREELLSSDSFHPDKDEYYKDFL	
T33-28B SEQ ID NO:50	trímero	PVIQTFVSTPLDHHKRLLLAIHYRIVTRVVLGKPEDLVMM TFHDSTPMHFFGSTDPVACVRVEALGGYGPSEPEKVTSI VTAAITAVCGIVADRIFVLYFSPLHCGWNGTNF	
T33-31A SEQ ID NO:51	trímero	EEVVLITVPSALVAVKIAHALVEERLAACVNIVPGLTSIY REEGSVSDHELLLLVKTTTTDAFPKLERVKELHPYEV EIVALPIAEGNREYLDWLRENTG	
T33-dn2A SEQ ID NO: 68	trímero	NLAEKMYKAGNAMYRKGYTIAIIAYTLALLKDPNNAE AWYNLGNAAAYKKGEYDEAIEAYQKALELDPNNAEAWY NLGNAYYKQGDYDEAIEYYKKALRLDPRNVDAIENLIE AEEKQG	
T33-dn2B SEQ ID NO: 69	trímero	EEAELAYLLGELAYKLGEYRIAIRAYRIALKRDPNNAEA WYNLGNAYYKQGDYREAIRYYLRALKLDPENAEAWYN LGNALYKQGYDLAIIAYQAAL EDPNNAEAKQNLGNA KQKQG	

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
T33-dn5A SEQ ID NO: 70	trímero	NSAEAMYKMGNAAYKQGDYILAIAYLLALEKDPNNAE AWYNLGNAAYKQGDYDEAIEYYQKALELDPNNAEAW YNLGNAAYKQGDYDEAIEYYEKALELDPNNAEALKNLL EAIAEQD	
T33-dn5B SEQ ID NO: 71	trímero	TDPLAVILYIAILKAEKSIARAKAAEALGKIGDERAVEPLI KALKDEDALVRAAAADALGQIGDERAVEPLIKALKDEE GLVRASAAIALGQIGDERAVQPLIKALTDERDLVRVAAA VALGRIGDEKAVRPLIIVLKDEEGEVREAAAIALGSIGGE RVRAAMEKLAERGTGFARKVAVNYLETHK	
T33-dn10A SEQ ID NO: 72	trímero	EEAELAYLLGELAYKLGEYRIAIRAYRIALKRDPNNAEA WYNLGNAAYKQGDYDEAIEYYQKALELDPNNAEAWY NLGNAYKQGDYDEAIEYYEKALELDPENLEALQNLLN AMDKQG	
T33-dn10B SEQ ID NO: 73	trímero	IEEVVAEMIDILAESSKKSIEELARAADNKTTEKAVAEAI EEIARLATAAIQLIEALAKNLASEEFMARAI SAIAELAKK AIEAIYRLADNHTTDTFMARAIAAIANLAVTAILAIAALA SNHTTEEFMARAI SAIAELAKKAIEAIYRLADNHTTDKFM AAAIEAIALLATLAILAIALLASNHTTEKF MARAIMAAIL AKAIEAIYRLADNHTSPTYIEKAIEAIEKIARKAIAIEM LAKNITTEEYKEKAKKIIDIIRKLAKMAIKKLEDNRT	
I53-dn5A SEQ ID NO: 74	pentámero	KYDGSKLRIGILHARWNAEIIILALVLGALKRLQFEGVKR ENIIIE TVPGSFELPYGSKLFVEKQKRLGKPLDAIPIGVLI KGSTMHFEYICDSTTHQLMKLNFELGIPVIFGVLTCLTDE QAEARAGLIEGKMHNHGEDWGAAAVEMATKFN	31, 43, 45, 48, 49, 51, 52, 55, 56, 59, 69, 74, 76
I53-dn5B SEQ	trímero	EEAELAYLLGELAYKLGEYRIAIRAYRIALKRDPNNAEA	[]

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
ID NO: 75		WYNLGNAYYKQGRYREAIEYYQKALELDPNNAEAWYN LGNAYYERGEYEEAIEYYRKALRLDPNNADAMQNLLNA KMREE	
I53_dn5A.1 SEQ ID NO: 171	pentámero	KYDGSKLRIGILHARGNAEIIALVLGALKRLQEFGVKRE NIIETVPGSFELPYGSKLFVEKQKRLGKPLDAIPIGVLR GSTPHFDYIADSTTHQLMKLNFELGIPVIFGVITADTDEQ AEARAGLIEGKMHNHGEDWGAAAVEMATKFN	
I53_dn5A.2 SEQ ID NO: 172	pentámero	KYDGSKLRIGILHARGNAEIIELVLGALKRLQEFGVKRE NIIETVPGSFELPYGSKLFVEKQKRLGKPLDAIPIGVLR GSTAHFDYIADSTTHQLMKLNFELGIPVIFGVLTTESDEQ AEERAGTKAGNHGEDWGAAAVEMATKFN	
I3-01 SEQ ID NO: 173		MKMEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKKKALAVFLGGVH LIEITFTVPDADTVIKELSFLKEMGAIIGAGTVTSVEQCRK AVESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL V KAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVPT GGVNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPVEVAEKA KAFVEKIRGCTE	
I3-01 (M31) SEQ ID NO: 174		MKIEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKKKALAVFLGGVHLI EITFTVPDADTVIKELSFLKEMGAIIGAGTVTSVEQCRKA VESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL V KAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVPT GGVNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPVEVAEKA KAFVEKIRGCTE	
1WA3-ref SEQ ID NO: 175		MKMEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKEKALAVFEGGVHL IEITFTVPDADTVIKELSFLKEKGAIIGAGTVTSVEQCRKA VESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL VK AMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVPTG GVNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAK AFVEKIRGCTE	
1WA3-1 SEQ ID NO: 176		(MK)MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKKKALAVFLGGV HLIEITFTVPDADTVIKELSFLKEMGAIIGAGTVTSVEQCR KAVESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL	

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
		VKAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVP TGGVNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPVEVAEK AKAFVEKIRGCTE	
1WA3-2 SEQ ID NO: 177		(MK)IEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKKKALAVFLGGVH LIEITFTVPDADTVIKELSFLKEMGAIIGAGTVTSVEQCRK AVESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL VKAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVPT GGVNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPVEVAEKA KAFVEKIRGCTE	
1WA3-3 SEQ ID NO: 178		(MK)MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKKKALAVFLGGV HLIEITFTVPDADTVIKELSFLKEMGAIIGAGTVTSVEQAR KAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKGVFYMPGVMTPTTE LVKAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFV PTGGVNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPVEVAE KAKAFVEKIRGCTE	
1WA3-4 SEQ ID NO: 179		(MK)MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKMKALAVFVGGV HLIEITFTVPDADTVIKELSFLKELGAIIGAGTVTSVEQCR KAVESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL VKAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVP TGGVNLDNVCEWFKAGVLAVGVGSALVKGTIAEVAEK AAAFVEKIRGCTE	
1WA3-5 SEQ ID NO: 180		(MK)MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKKKALAVFLGGV DLIEITFTVPDADTVIKELSFLKEMGAIIGAGTVTSVEQCR KAVESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL VKAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVP TGGVNLDNVCEWFKAGVQAVGVGEALNKGTPVEVAEK AKAFVEKIRGCTE	
1WA3-6 SEQ ID NO: 181		(MK)MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAKKKALAVFMGGV DLIEITFTVPDADTVIKELSFLKELGAIIGAGTVTSVEQCR KAVESGAEFIVSPHLDEEISQFCKEKGVFYMPGVMTPTTEL VKAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVP TGGVNLDNVCEWFKAGVQAVGVGEALNKGTPAEVAEK	

Nombre	Componente multímero	Secuencia de aminoácidos	Residuos de interfaz identificados
		AKAFVEKIRGCTE	

[0133] La **Tabla 3** proporciona la secuencia de aminoácidos del primer y segundo dominio de multimerización. En cada caso, los pares de secuencias forman juntos un multímero I53 con simetría icosaédrica. La columna de la derecha de la Tabla 3 identifica los números de residuos en cada polipéptido de ejemplo que se identificaron como presentes en la interfaz de las partículas similares a virus resultantes (es decir, "residuos de interfaz identificados"). Como puede observarse, el número de residuos de interfaz para los polipéptidos de ejemplo de la SEQ ID NO: 1-34 oscila entre 4 y 13. En diversas modalidades, el primer polipéptido y el segundo polipéptido comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica en toda su longitud, e idéntica al menos en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 13 posiciones de interfaz identificadas (dependiendo del número de residuos de interfaz para un polipéptido dado), a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1-34. Las SEQ ID NO: 35-51 representan otras secuencias de aminoácidos de los dominios de multimerización. En otras modalidades, el primer polipéptido y/o el segundo polipéptido comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica en su longitud, y al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 33 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntico a las posiciones de interfaz identificadas, a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1-51.

[0134] Como ocurre con las proteínas en general, se espera que los polipéptidos toleren cierta variación en las secuencias diseñadas sin perturbar el posterior ensamblaje en partículas similares

a virus: en particular, cuando dicha variación comprende sustituciones conservadoras de aminoácidos. Tal como se utiliza en la presente, "sustitución conservadora de aminoácidos" significa que: los aminoácidos hidrofóbicos (Ala, Cys, Gly, Pro, Met, Val, Ile, Leu) solo se pueden sustituir con otros aminoácidos hidrofóbicos; los aminoácidos hidrofóbicos con cadenas laterales voluminosas (Phe, Tyr, Trp) solo se pueden sustituir con otros aminoácidos hidrofóbicos con cadenas laterales voluminosas; los aminoácidos con cadenas laterales cargadas positivamente (Arg, His, Lys) solo se pueden sustituir con otros aminoácidos con cadenas laterales cargadas positivamente; los aminoácidos con cadenas laterales cargadas negativamente (Asp, Glu) solo se pueden sustituir con otros aminoácidos con cadenas laterales cargadas negativamente; y los aminoácidos con cadenas laterales polares no cargadas (Ser, Thr, Asn, Gln) solo se pueden sustituir con otros aminoácidos con cadenas laterales polares no cargadas.

[0135] En diversas modalidades de las VLP de la invención, el primer polipéptido y el segundo polipéptido, o viceversa, comprenden polipéptidos con la secuencia de aminoácidos seleccionada de los siguientes pares, o versiones modificadas de estos (es decir, modificaciones permitidas según se describe para los polipéptidos de la invención: polipéptidos aislados que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % en toda su longitud, y/o idéntica al menos en una posición de interfaz identificada, a la secuencia de aminoácidos indicada por la SEQ ID NO):

SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 (I53-34A y I53-34B);

SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4 (I53-40A y I53-40B);

SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 24 (I53-40A y I53-40B.1);

SEQ ID NO: 23 y SEQ ID NO: 4 (I53-40A.1 y I53-40B);

SEQ ID NO: 35 y SEQ ID NO: 36 (género I53-40A y género I53-40B);

SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6 (I53-47A y I53-47B);

SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 27 (I53-47A y I53-47B.1);

SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 28 (I53-47A y I53-47B.1NegT2);

SEQ ID NO: 25 y SEQ ID NO: 6 (I53-47A.1 y I53-47B);

SEQ ID NO: 25 y SEQ ID NO: 27 (I53-47A.1 y I53-47B.1);

SEQ ID NO: 25 y SEQ ID NO: 28 (I53-47A.1 y I53-47B.1NegT2);

- SEQ ID NO: 26 y SEQ ID NO: 6 (I53-47A.1NegT2 y I53-47B);
 SEQ ID NO: 26 y SEQ ID NO: 27 (I53-47A.1NegT2 y I53-47B.1);
 SEQ ID NO:26 y SEQ ID NO:28 (I53-47A.1NegT2 y I53-47B.1NegT2);
 SEQ ID NO: 37 y SEQ ID NO: 38 (género I53-47A y género I53-47B);
- 5 SEQ ID NO:7 y SEQ ID NO:8 (I53-50A and I53-50B);
 SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 32 (I53-50A y I53-50B.1);
 SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 33 (I53-50A y I53-50B.1NegT2);
 SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 34 (I53-50A y I53-50B.4PosT1);
 SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 8 (I53-50A.1 y I53-50B);
- 10 SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 32 (I53-50A.1 y I53-50B.1);
 SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 33 (I53-50A.1 y I53-50B.1NegT2);
 SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 34 (I53-50A.1 y I53-50B.4PosT1);
 SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 8 (I53-50A.1NegT2 y I53-50B);
 SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 32 (I53-50A.1NegT2 y I53-50B.1);
- 15 SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 33 (I53-50A.1NegT2 y I53-50B.1NegT2);
 SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 34 (I53-50A.1NegT2 y I53-50B.4PosT1);
 SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 8 (I53-50A.1PosT1 y I53-50B);
 SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 32 (I53-50A.1PosT1 y I53-50B.1);
 SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 33 (I53-50A.1PosT1 y I53-50B.1NegT2);
- 20 SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 34 (I53-50A.1PosT1 y I53-50B.4PosT1);
 SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 40 (género I53-50A y género I53-50B);
 SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 10 (I53-51A y I53-51B);
 SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 12 (I52-03A y I52-03B);
 SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 14 (I52-32A y I52-32B);
- 25 SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16 (I52-33A y I52-33B)
 SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18 (I32-06A y I32-06B);
 SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 20 (I32-19A y I32-19B);
 SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 22 (I32-28A y I32-28B);
 SEQ ID NO: 23 y SEQ ID NO: 24 (I53-40A.1 y I53-40B.1);
- 30 SEQ ID NO: 41 y SEQ ID NO: 42 (T32-28A y T32-28B);
 SEQ ID NO: 43 y SEQ ID NO: 44 (T33-09A y T33-09B);

SEQ ID NO: 45 y SEQ ID NO: 46 (T33-15A y T33-15B);

SEQ ID NO: 47 y SEQ ID NO: 48 (T33-21A y T33-21B);

SEQ ID NO: 49 y SEQ ID NO: 50 (T33-28A y T32-28B); y

SEQ ID NO: 51 y SEQ ID NO: 44 (T33-31A y T33-09B (también denominado T33-31B))

5 **[0136]** En algunas modalidades, una o más ectodominios de proteínas G de la rabia se expresan como una proteína de fusión con el primer dominio de multimerización.

[0137] Los ejemplos no limitantes de complejos proteicos diseñados útiles en VLP basados en proteínas de la presente divulgación incluyen aquellos divulgados en la patente de los EE. UU. núm. 9,630,994; publicación de patente internacional núm. WO2018187325A1; patente de los
10 EE. UU. pub. núm. US 2018/0137234 A1; patente de los EE. UU. pub. núm. 2019/0155988 A2, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento en su totalidad.

[0138] En diversas modalidades de las VLP de la descripción, el primer y el segundo dominios de mutimerización, o viceversa, comprenden polipéptidos con la secuencia de aminoácidos seleccionada de los siguientes pares, o versiones modificadas de estos (es decir, modificaciones
15 permitidas según se describe para los polipéptidos de la invención: polipéptidos aislados que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % en toda su longitud, y/o idéntica al menos en una posición de interfaz identificada, a la secuencia de aminoácidos indicada
20 por la SEQ ID NO):

SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69 (T33-dn2A y T33-dn2B);

SEQ ID NO: 70 y SEQ ID NO: 71 (T33-dn5A y T33-dn5B);

SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 73 (T33-dn10A y T33-dn10B); o

SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 75 (I53-dn5A y I53-dn5B).

25 **[0139]** En algunas modalidades del polipéptido, el polipéptido comprende un dominio de multimerización que comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-dn5A (SEQ ID NO: 74).

[0140] Por ejemplo, el segundo componente puede comprender I53-dn5A o una variante
30 funcional de este.

[0141] En algunas modalidades, el antígeno comprende un polipéptido que comparte al menos

70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-dn5B (SEQ ID NO: 75).

[0142] Por ejemplo, el primer componente puede comprender I53-dn5B o una variante funcional de este, opcionalmente fusionada en el extremo N al ectodominio de la proteína G de la rabia.

[0143] Diversas nanoestructuras proteínicas son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en la pub. de pat. de EE. UU. núm. US2015/0356240A1; US2016/0122392A1, US20180030429A1, US20190341124A1 y US2022/0072120A1, cuyo contenido se incorpora mediante referencia en la presente. En algunas modalidades, la nanoestructura proteica comprende, como dominio de ensamblaje, una variante de KDPG aldolasa (código 1WA3 del Banco de Datos de Proteínas) diseñada para autoensamblarse en una nanoestructura proteica. En su forma nativa, 1WA3 se ensambla de forma no covalente para formar un trímero a través de una primera interfaz (la interfaz del trímero). Cuando 20 copias del trímero (60 monómeros) se acoplan de forma computacional para formar una nanoestructura proteica icosaédrica de un solo componente, conjuntos de cinco monómeros de 1WA3 entran en contacto a través de una segunda interfaz (la interfaz del pentámero). Mediante la introducción de sustituciones de aminoácidos, la interfaz del pentámero puede estabilizarse de manera que la nanoestructura proteica se autoensamble espontáneamente, por ejemplo, dentro de la célula expresante o cuando se mezclen los trímeros (o monómeros) aislados en condiciones adecuadas.

[0144] En algunas modalidades, el dominio de ensamblaje comprende sustituciones de aminoácidos que eliminan residuos de cisteína. En algunas modalidades, el dominio de ensamblaje comprende sustituciones C76A y/o C100A de acuerdo con las SEQ ID NO: 175-181. En modalidades, el dominio de ensamblaje comprende sustituciones C76A, C100A, C165A y/o C203A de acuerdo con las SEQ ID NO: 175-181. En la **Tabla 3** se proporcionan ejemplos de secuencias de dominio de ensamblaje. En cada caso, el MK N-terminal es opcional y no se incluye al calcular la identidad de secuencia, sino que se muestra solo para fines de numeración, es decir, MK está incluido en la secuencia de referencia pero no necesariamente en el dominio de ensamblaje de la nanoestructura.

[0145] En algunas realizaciones, el dominio de ensamblaje forma un trímero con otros dominios de ensamblaje para formar un "componente" trimérico de una nanoestructura de proteína.

[0146] En algunas modalidades, el dominio de ensamblaje es un polipéptido de ferritina. En algunas modalidades, el dominio de ensamblaje de una nanoestructura proteica de ferritina comprende una secuencia polipeptídica al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a cualquiera de las siguientes secuencias:

[0147] ML SKDI I KLL NEQVN KEMNSSNLYMSMSSWCYTHSLDGAGLFLFDHAAEEY
EHAKKLIIFLNENNV PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAISKD
HATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKVELIGNENHGLYLADQYVKGIASRK S (SEQ
ID NO: 182).

[0148] MLKPEMIEKLNEQMNLELYSSLLYQQMSAWCSYHTFEGAAFLRRHAQEE
MTHMQRLFDYLTDTGNLPRINTVESPF AEYSSLDEL FQETYKHEQLITQKINELAHAAMT
NQDYPTFNFLQWYVSEQHEEEKLFKSIIDKLSLAGKSGEGLYFIDKELSTLDAQN (SEQ
ID NO: 183).

[0149] NFHQDCEAGLNRTVNLKFHSSYVYLSMASYFNRDDVALSNFAKFFRERSEEE
KEHAEKLI EYQNQRGGRVFLQSVEKPERDDWANGLEALQTALKLQKSVNQALLDLHA
VAADKSDPHMTDFLESPYLSESVETIKKLGDHITSLKKLWSSHPGMAEYLFNKHTLG
(SEQ ID NO: 184).

[0150] QFSKDIEKLLNEQVN KEMQSSNLYMSMSSWCYTHSLDGAGLFLFDHAAEEY
EHAKKLIIFLNENNV PVQLTSISAPEHKFEGLTQIFQKAYEHEQHISESINNIVDHAISKD
HATFNFLQWYVAEQHEEEVLFKDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIASRKSGS
(SEQ ID NO: 185).

[0151] SGESQVRQNFKPEMEEKLNEQMNLELYSSLLYQQMSAWCSYHTFEGAAFL
RRHAQEEMTHMQRLFDYLTDTGNLPRINTVESPF AEYSSLDEL FQETYKHEQLITQKINE
LAHAAMTNQDYPTFNFLQWYVSEQHEEEKLFKSIIDKLSLAGKSGEGLYFIDKELSTLDG
S (SEQ ID NO: 186).

[0152] En algunas modalidades, el primer componente y el segundo componente incluyen opcionalmente una etiqueta de trimerización adicional (por ejemplo, una etiqueta FoldOn o trímeros GCN4). En algunas modalidades, la secuencia enlazadora comprende un foldon, en donde la secuencia foldon es GYIPEAPRDG QAYVRKDGEWVLLSTFL (SEQ ID NO: 58). En algunas modalidades, el enlazador puede comprender un enlazador Gly-Ser (es decir, un enlazador

formado por residuos de glicina y serina) de cualquier longitud adecuada. En algunas modalidades, el enlazador Gly-Ser puede tener una longitud de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más aminoácidos de longitud.

[0153] En algunas modalidades, la VLP comprende un conjunto trimérico de antígenos que

5 comprende un primer polipéptido que comprende un primer dominio de multimerización y un segundo polipéptido que comprende un segundo dominio de multimerización. El primer dominio de multimerización comprende una interfaz proteína-proteína que induce a tres copias de los primeros polipéptidos a autoasociarse para formar bloques de construcción triméricos. En las VLP que tienen dos o más componentes, cada copia del primer dominio de multimerización comprende
10 además una interfaz expuesta a la superficie que interactúa con una interfaz expuesta a la superficie complementaria en el segundo dominio de multimerización. De manera similar, el segundo dominio de multimerización está adaptado para multimerizarse con el primer dominio de multimerización (del primer polipéptido del primer componente). Como se describe en King et al. (Nature 510, 103-108, 2014), Bale et al. (Science 353, 389-394, 2016) y las publicaciones de
15 patentes WO2014124301 A1 y US20160122392 A1, la interfaz proteína-proteína complementaria entre el primer dominio de multimerización y el segundo dominio de multimerización impulsa el ensamblaje de múltiples copias del dominio de ensamblaje trimérico y el segundo dominio de ensamblaje en una VLP objetivo. En algunas modalidades, cada copia de los dominios de ensamblaje triméricos de la VLP lleva una proteína antigénica, o un fragmento antigénico de la
20 misma, unido a ella (por ejemplo, como una fusión genética); estas VLP muestran las proteínas en valencia completa. En otras modalidades, las VLP de la descripción comprenden una o más copias de primeros dominios de multimerización que portan proteínas antigénicas, o fragmentos antigénicos de las mismas (por ejemplo, como fusiones genéticas), así como uno o más primeros dominios de multimerización que no portan proteínas antigénicas; estas VLP muestran las
25 proteínas G en valencia parcial. Los primeros dominios de multimerización pueden ser cualquier secuencia polipeptídica que forme un trímero e interactúe con segundos dominios de multimerización para impulsar el ensamblaje a una VLP objetivo. En algunas modalidades, la VLP comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido seleccionado entre los divulgados en US 20130274441 A1, US 2015/0356240 A1, US 2016/0122392 A1, WO 2018/187325 A1, cada
30 uno de los cuales se incorpora como referencia en el presente documento en su totalidad.

[0154] En algunas modalidades de las VLP de la presente descripción, la proteína antigénica

y el núcleo de la VLP pueden fusionarse genéticamente de modo que ambos estén presentes en un solo polipéptido. El enlace entre la proteína y el núcleo permite que la proteína antigénica, o su fragmento antigénico, se muestre en el exterior de la VLP. Como tal, el punto de conexión con el núcleo debe estar en el exterior del núcleo de la partícula similar al virus formada. Puede utilizarse una amplia variedad de secuencias polipeptídicas para enlazar las proteínas, o fragmentos antigénicos de estas y la nanoestructura proteica. En algunos casos, el enlazador comprende una secuencia polipeptídica. Se puede utilizar cualquier polipéptido enlazador adecuado. En algunas modalidades, el enlazador impone una orientación relativa rígida de la proteína antigénica (por ejemplo, ectodominio) o el fragmento antigénico de esta al núcleo. En algunas modalidades, el enlazador enlaza de forma flexible la proteína antigénica (por ejemplo, el ectodominio) o el fragmento antigénico de esta al núcleo. En algunas modalidades, el enlazador incluye dominios de trimerización adicionales (por ejemplo, el dominio foldon de la fibritina T4) para ayudar a estabilizar la forma trimérica de la proteína G, por ejemplo, GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (SEQ ID NO: 58) o una variante funcional de esta.

[0155] En algunas modalidades, el enlazador puede comprender un enlazador Gly-Ser (es decir, un enlazador formado por residuos de glicina y serina) de cualquier longitud adecuada. En algunas modalidades, el enlazador Gly-Ser puede tener una longitud de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más aminoácidos de longitud. En algunas modalidades, el enlazador Gly-Ser puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos de GSGGSGSGSGSGSGSG (SEQ ID NO: 59), GGSGGSGS (SEQ ID NO: 60) o GSGGSGSG (SEQ ID NO: 61). En algunas modalidades, el enlazador comprende la secuencia GSGSGSG (SEQ ID NO: 62). En algunas modalidades, el enlazador comprende la secuencia GSGSGSGSGSGSGSGSG (SEQ ID NO: 63).

[0156] En la **Tabla 4** se proporcionan proteínas de fusión con I53-50A ilustrativas. En cada caso, el péptido señal en el extremo N o la etiqueta de purificación en el extremo C pueden reemplazarse con alternativas conocidas.

Tabla 4

Descripción	SEQ ID NO:	Secuencia
Construcción A I53-50A	82	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPITYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDE GCTNLSEFSYMELKVGYISAIKVNFTCTGVVTEAETYTNFVG YVTTTFK RKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDP RYEESLHNPPDYH WLRTRVTTKES LIIISPSVTDLPYDKSLHSRGFP GGKCSGITVSSTYCSTNH DYT I WMPENP

		GPRTPCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQISGVDLGLPGSGSGSGEKA AKAEEAARKMEELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITFTVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKGVFYMPGVMTPTELVKAMKLGHTILKLPGEVVGPQFVKAMKGPPNVKVFVPTGGVNLNDNVAEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIRGATELEHHHHHH
Construcción B I53-50A	83	MELLILKANAITTILTAVTFCFASGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNL VVEDEGCTNLSEFSYMELKVGYSISAIKVNGFTCTGVVTSGSGRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLSGSGESLIISPSVTDLPYDKSLHSRGFPGGKCSGITVSSTYCSTNHDTIWMPENPGPRTPCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQISGVDLGLPGSGSGSGEKA AKAEEAARKMEELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITFTVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKGVFYMPGVMTPTELVKAMKLGHTILKLPGEVVGPQFVKAMKGPPNVKVFVPTGGVNLNDNVAEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIRGATELEHHHHHH
Construcción B I53-50A (polinucleótido)	84	ATGGAGTTGCTAATCCTCAAAGCAAATGCAATTACCACAATCCTCACTGCAGTCACATTTTGTTCCTCAGGTAAATTCCTATCTACACCATCCCTGATGAGCTGGGACCTTGGAGCCCCATCGACATCCACCACCTGAGCTGCCCCAACACCTGGTGGTCGAGGACGAGGGCTGTACTAACCTGAGCGAGTTCAGCTACATGGAAGTGAAGGTGGGCTACATCAGTGCCATTAAGGTGAACGGCTTCACATGCACCGGCGTTGTGACCAGCGGCAGCGGCAGAAAGCACTTCGCCCCACACCTGACGCCTGCAGAGCCGCTATAACTGGAAGATGGCCGCGACCCAGATACGAGGAATCTCTGAGCGGCAGCGGCGAGAGCCTGATCATCATCAGCCCCAGCGTGACAGACCTGGACCCTTACGACAAGAGCCTGCACAGCAGAGGTTTTCCAGGCGGAAAGTGCAGTGGAAATTACCGTCAGCAGCACCTACTGCTCCACAAACCACGATTACACCATCTGGATGCCCCGAGAACCCTGGCCCGCGGACACCGTGCGACATCTTACCAATAGCAGAGGCAAGCGGGCCAGCAAGGGCAACAAGACCTGTGG

		CTTCGTGGACGAAAGAGGCCTGTACAAGTCACTGAAGGGTGCTTGTAG ACTGAAACTGTGCGGCGTGCTGGGCCTGAGACTGATGGACGGCACCTG GGTCGCCATGCAAACATCTGACGAGACAAAGTGGTGCCCTCCTGACCA GCTGGTGAACCTGCACGACTTCAGAAGCGACGAGATCGAACACCTGG TCGTGGAAGAGCTGGTCAAGAAAAGAGAGGAGTGCCTGGATGCCCTC GAGTCTATCATGACCACCAAGTCTGTGTCTTCCGGAGACTGTCTCAC CTGCGGAAGCTGGTGCCCGGATTTCGGCAAGGCTACACCATCTTCAAC AAGACACTGATGGAAGCCGATGCTCACTACAAGAGCGTTAGAACCTG GAACGAGATCATTCCAAGCAAGGGTTGTCTGAAGGTGGGCGGCAGAT GCCACCCTCACGTGAACGGCGTCTTTTTCAACGGCATCATCTGGGCC CCGATGGCCACGTGCTGATCCCTGAGATGCAGAGCAGCCTGCTGCAGC AGCACATGGAAGTCTGAAGTCCAGCGTCATCCCCCTGATGCACCCCC TTGCTGATCCTAGCACAGTGTTCAAGGAAGGCGACGAAGCTGAAGATT TCGTTGAGGTGCACCTGCCTGATGTGTACAAGCAGATCAGCGGAGTGG ACCTGGGCCTGCCTGGCAGCGGCTCTGGATCTGGCGAGAAAGCTGCCA AGGCCGAGGAAGCCGCTAGAAAGATGGAAGAGCTGTTTAAGAAGCAC AAGATCGTGGCCGTGCTGCGAGCTAATTCTGTGAGGAAGCCATCGAG AAAGCCGTTGCCGTGTTCCCGGAGGCGTTCATCTGATCGAGATCACC TTCACCGTGCCCGATGCCGACACCGTGATCAAGGCTCTGAGCGTGCTG AAAGAAAAGGGCGCCATCATCGGCGCCGGCACAGTCACCAGCGTGGA ACAGGCCAGAAAGGCCGTGGAAGTGGCGCCGAGTTCATCGTGTCTC CACACCTGGACGAGGAAATCTCACAGTTTGCCAAGGAAAAGGGGGTG TTCTACATGCCTGGCGTGATGACCCCTACAGAGCTGGTGAAAGCTATG AAACTGGGCCACACCATCCTGAAGCTGTTCCCAGGCGAAGTGGTGGGC CCCCAATTTGTGAAGGCTATGAAGGGCCCATTCCCTAACGTGAAGTTC GTGCTACCGGCGGCGTGAATCTGGACAACGTGGCCGAGTGGTTCAAG GCCGGCGTGCTGGCCGTGGGAGTGGGCAGCGCCCTGGTGAAGGGCAC CCCCGACGAGGTGCGGGAAGGCCAAAGCCTTCGTGGAAGATCA GAGGCGCTACAGAGCTCGAGCACCACCACCACCATCATTGA
Construcción C I53-50A	85	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHLSCPNNLVVEDE GCTNLSEFSYMELGSGSGSGCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKS LKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSD EIEPLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIF NKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPD GHVLIPEMQSSLQQHMELLKSSVIPLMHPGSGSGSGEKAACAEEAARK MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITFTVPDADTVIK ALSVLKEKGAIIAGTIVTSVEQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKG

		VFYMPGVMTPTLVKAMKLGHTILKLPGEVVGPQFVKAMKGPFNPVKF VPTGGVNLDNVAEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIR GATELEHHHHHH
Construcción C I53-50A (polinucleótido)	86	ATGGTGCCTCAGGTGCTGCTGTTCGTGCCCCTGCTGGGCTTTAGCCTCT GCTTCGGAAAATTCCCTATCTACACCATCCCTGATGAGCTGGGACCTT GGAGCCCCATCGACATCCACCACCTGAGCTGCCCCAACAACTGGTGG TCGAGGACGAGGGCTGTACTAACCTGAGCGAGTTCAGCTACATGGAA CTGGGATCTGGCTCTGGCAGCGGATGCGACATCTTCACCAATAGCAGA GGCAAGCGGGCCAGCAAGGGCAACAAGACCTGTGGCTTCGTGGACGA AAGAGGCCTGTACAAGTCACTGAAGGGTGCTTGTAGACTGAACTGTG CGGCGTGCTGGGCCTGAGACTGATGGACGGCACCTGGGTCGCCATGCA AACATCTGACGAGACAAAGTGGTGCCCTCCTGACCAGCTGGTGAACCT GCACGACTTCAGAAGCGACGAGATCGAACCTCTGGTCGTGGAAGAGC TGGTCAAGAAAAGAGAGGAGTGCCTGGATGCCCTCGAGTCTATCATG ACCACCAAGTCTGTGTCCTTCCGGAGACTGTCTCACCTGCGGAAGCTG GTGCCCCGATTCCGGCAAGGCCTACACCATCTTCAACAAGACACTGATG GAAGCCGATGCTCACTACAAGAGCGTTAGAACCTGGAACGAGATCAT TCCAAGCAAGGGTTGTCTGAAGGTGGGCGGCAGATGCCACCCTCACGT GAACGGCGTCTTTTTCAACGGCATCATCCTGGGCCCCGATGGCCACGT GCTGATCCCTGAGATGCAGAGCAGCCTGCTGCAGCAGCACATGGAACT GCTGAAGTCCAGCGTCATCCCCCTGATGCACCCCGGCAGCGGCTCTGG ATCTGGCGAGAAAGCTGCCAAGGCCGAGGAAGCCGCTAGAAAGATGG AAGAGCTGTTTAAGAAGCACAAAGATCGTGCCGTGCTGCGAGCTAATT CTGTGCGAGGAAGCCATCGAGAAAGCCGTTGCCGTGTTGCCGGAGGC GTTTCATCTGATCGAGATCACCTTCACCGTGCCCGATGCCGACACCGTG ATCAAGGCTCTGAGCGTGCTGAAAGAAAAGGGCGCCATCATCGGCGC CGGCACAGTCACCAGCGTGGAACAGGCCAGAAAGGCCGTGGAAAGTG GCGCCGAGTTCATCGTGTCTCCACACCTGGACGAGGAAATCTCACAGT TTGCCAAGGAAAAGGGGGTGTCTACATGCCTGGCGTGATGACCCCTA CAGAGCTGGTGAAGCTATGAACTGGGCCACACCATCCTGAAGCTGT TCCCAGGCGAAGTGGTGGGCCCCCAATTTGTGAAGGCTATGAAGGGCC CATTCCCTAACGTGAAGTTCGTGCCTACCGGCGGCGTGAATCTGGACA ACGTGGCCGAGTGTTCAAGGCCGGCGTGCTGGCCGTGGGAGTGGGC AGCGCCCTGGTGAAGGGCACCCCGACGAGGTGCGGGAAAAGGCCAA AGCCTTCGTGGAAAAGATCAGAGGCGCTACAGAGCTCGAGCACCACC ACCACCATCATTGA

Construcción D I53-50A	87	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDE GCTNLSEFSYMELKVGSSIGKCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYK SLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRS DEIEPLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYT IFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGGRCHPHVNGVFFNGIILGP DGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTVFKEGDEAEDFVE VHLPDVYKQISGVDLGLPGSGSGSGEKAAKAAEEAARKMEELFKKHKIVA VLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITFTVPDADTVIKALSVLKEKGAIIG AGTVTSVEQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKGVFYMPGVMPTPE LVKAMKLGHTILKLFPGEVVGPFVKAMKGPFNVKFVPTGGVNLDNVA EWFKAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIRGATELEHHHHHH
Construcción D I53-50A (polinucleótido)	88	ATGGTGCCTCAGGTGCTGCTGTTCTGTCGCCCTGCTGGGCTTTAGCCTCT GCTTCGGAAAATTCCCTATCTACACCATCCCTGATGAGCTGGGACCTT GGAGCCCCATCGACATCCACCACCTGAGCTGCCCCAACAACCTGGTGG TCGAGGACGAGGGCTGTACTAACCTGAGCGAGTTCAGCTACATGGAA CTGAAGGTGGGCAGCTCTATCGGCAAGTGCGACATCTTCACCAATAGC AGAGGCAAGCGGGCCAGCAAGGGCAACAAGACCTGTGGCTTCGTGGA CGAAAGAGGCCTGTACAAGTCACTGAAGGGTGCTTGTAGACTGAAAC TGTGCGGCGTGCTGGGCCTGAGACTGATGGACGGCACCTGGGTGCGCA TGCAAACATCTGACGAGACAAAGTGGTGCCCTCCTGACCAGCTGGTGA ACCTGCACGACTTCAGAAGCGACGAGATCGAACCTCTGGTCGTGGAA GAGCTGGTCAAGAAAAGAGAGAGTGCCTGGATGCCCTCGAGTCTAT CATGACCACCAAGTCTGTGTCTTCCGGAGACTGTCTCACCTGCGGAA GCTGGTGCCCGGATTTCGGCAAGGCCTACACCATCTTCAACAAGACACT GATGGAAGCCGATGCTCACTACAAGAGCGTTAGAACCTGGAACGAGA TCATTCCAAGCAAGGGTTGTCTGAAGGTGGGCGGCAGATGCCACCCTC ACGTGAACGGCGTCTTTTTCAACGGCATCATCCTGGGCCCCGATGGCC ACGTGCTGATCCCTGAGATGCAGAGCAGCCTGCTGCAGCAGCACATGG AACTGCTGAAGTCCAGCGTCATCCCCCTGATGCACCCCCTTGCTGATC CTAGCACAGTGTTCAAGGAAGGCGACGAAGCTGAAGATTTCTTTGAG GTGCACCTGCCTGATGTGTACAAGCAGATCAGCGGAGTGACCTGGGC CTGCCTGGCAGCGGCTCTGGATCTGGCGAGAAAGCTGCCAAGGCCGA GGAAGCCGCTAGAAAGATGGAAGAGCTGTTTAAGAAGCACAAGATCG TGGCCGTGCTGCGAGCTAATTCTGTGCGAGGAAGCCATCGAGAAAGCCG TTGCCGTGTTCCGGGAGGCGTTCATCTGATCGAGATCACCTTACCGT GCCCCGATGCCGACACCGTGATCAAGGCTCTGAGCGTGCTGAAAGAAA AGGGCGCCATCATCGGCGCCGGCACAGTCACCAGCGTGGAACAGGCC

		AGAAAGGCCGTGGAAAGTGGCGCCGAGTTCATCGTGTCTCCACACCTG GACGAGGAAATCTCACAGTTTGCCAAGGAAAAGGGGGTGTCTACAT GCCTGGCGTGATGACCCCTACAGAGCTGGTGAAAGCTATGAAACTGG GCCACACCATCCTGAAGCTGTTCCCAGGCGAAGTGGTGGGCCCCCAAT TTGTGAAGGCTATGAAGGGCCCATTCCCTAACGTGAAGTTCGTGCCTA CCGGCGGCGTGAAATCTGGACAACGTGGCCGAGTGGTTCAAGGCCGGC GTGCTGGCCGTGGGAGTGGGCAGCGCCCTGGTGAAAGGGCACCCCGA CGAGGTGCGGGAAGGCAAGCCTTCGTGGAAAAGATCAGAGGCG CTACAGAGCTCGAGCACCACCACCACCATCATTGA
Construcción E I53-50A	89	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDE GCTNLSEFSYMELKVGIPGSNCIDFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYK SLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRS DEIEPLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYT IFNKTLMEDIAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGP DGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPGSGSGSKEKAAKAEAAARK MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITFTVPDADTVIK ALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKG VFYMPGVMTPTLVKAMKLGHTILKLPGEVVGVPQVKAMKGPFPNVKF VPTGGVNLDNVAEWFKAAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIR GATELEHHHHHH
Construcción E I53-50A (polinucleótido)	90	ATGGTGCCTCAGGTGCTGCTGTTCTGTCGCCCTGCTGGGCTTTAGCCTCT GCTTCGGAAAATCCCTATCTACACCATCCCTGATGAGCTGGGACCTT GGAGCCCCATCGACATCCACCACCTGAGCTGCCCCAACACCTGGTGG TCGAGGACGAGGGCTGTACTAACCTGAGCGAGTTCAGCTACATGGAA CTGAAGGTGGGCATCCCCGGCTCTAACTGCGACATCTTCACCAATAGC AGAGGCAAGCGGGCCAGCAAGGGCAACAAGACCTGTGGCTTCGTGGA CGAAAGAGGCCTGTACAAGTCACTGAAGGGTGCTTGTAGACTGAAAC TGTGCGGCGTGCTGGGCCTGAGACTGATGGACGGCACCTGGGTCGCCA TGCAAACATCTGACGAGACAAAGTGGTGCCCTCCTGACCAGCTGGTGA ACCTGCACGACTTCAGAAGCGACGAGATCGAACCTCTGGTCGTGGAA GAGCTGGTCAAGAAAAGAGAGGAGTGCCTGGATGCCCTCGAGTCTAT CATGACCACCAAGTCTGTGTCTTCGGGAGACTGTCTCACCTGCGGAA GCTGGTGCCCGGATTTCGGCAAGGCCTACACCATCTTCAACAAGACACT GATGGAAGCCGATGCTCACTACAAGAGCGTTAGAACCTGGAACGAGA TCATTCCAAGCAAGGGTTGTCTGAAGGTGGGCGGCAGATGCCACCCTC ACGTGAACGGCGTCTTTTTCAACGGCATCATCCTGGGCCCCGATGGCC ACGTGCTGATCCCTGAGATGCAGAGCAGCCTGCTGCAGCAGCACATGG

		AACTGCTGAAGTCCAGCGTCATCCCCCTGATGCACCCCGGCAGCGGCT CTGGATCTGGCGAGAAAGCTGCCAAGGCCGAGGAAGCCGCTAGAAAG ATGGAAGAGCTGTTTAAGAAGCACAAGATCGTGGCCGTGCTGCGAGC TAATTCTGTCTGAGGAAGCCATCGAGAAAGCCGTTGCCGTGTTGCGCGG AGGCGTTCATCTGATCGAGATCACCTTCACCGTGCCCGATGCCGACAC CGTGATCAAGGCTCTGAGCGTGCTGAAAGAAAAGGGCGCCATCATCG GCGCCGGCACAGTCACCAGCGTGGAACAGGCCAGAAAGGCCGTGGAA AGTGGCGCCGAGTTCATCGTGTCTCCACACCTGGACGAGGAAATCTCA CAGTTTGCCAAGGAAAAGGGGGTGTCTACATGCCTGGCGTGATGACC CCTACAGAGCTGGTGAAAGCTATGAAACTGGGCCACACCATCCTGAA GCTGTTCCCAGGCGAAGTGGTGGGCCCCCAATTTGTGAAGGCTATGAA GGGCCCATTCCCTAACGTGAAGTTCGTGCCTACCGGCGGCGTGAATCT GGACAACGTGGCCGAGTGGTTCAAGGCCGGCGTGCTGGCCGTGGGAG TGGGCAGCGCCCTGGTGAAGGGCACCCCCGACGAGGTGCGGGAAAAG GCCAAAGCCTTCGTGGAAAAGATCAGAGGCGCTACAGAGCTCGAGCA CCACCACCACCATCATTGA
Construcción F I53-50A	91	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDE GCTNLSEFSYMELGSGSGSGCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKS LKGACRLKLCGLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSD EIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTI FNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRRCHPHVNGVFFNGIILGP DGHVLIPEMQSSLLQQHMEELLKSSVIPLMHPGSGSGSGEKAAKAEAAARK MEELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITFTVPDADTVIK ALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKG VFYMPGVMTPTLVKAMKLGHTILKLPGEVVGVPQFVKAMKGPFNPVKF VPTGGVNLDNVAEWFKAGVLA VGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIR GATELEHHHHHH
Construcción F I53-50A (polinucleótido)	92	ATGGTGCCTCAGGTGCTGCTGTTCTGTGCCCTGCTGGGCTTTAGCCTCT GCTTCGGAAAATTCCCTATCTACACCATCCCTGATGAGCTGGGACCTT GGAGCCCCATCGACATCCACCACCTGAGCTGCCCCAACACCTGGTGG TCGAGGACGAGGGCTGTACTAACCTGAGCGAGTTCAGCTACATGGAA CTGGGATCTGGCTCTGGCAGCGGATGCGACATCTTCACCAATAGCAGA GGCAAGCGGGCCAGCAAGGGCAACAAGACCTGTGGCTTCGTGGACGA AAGAGGCCTGTACAAGTCACTGAAGGGTGCTTGTA GACTGAAACTGTG CGGCGTGCTGGGCCTGAGACTGATGGACGGCACCTGGGTCGCCATGCA AACATCTGACGAGACAAAGTGGTGCCCTCCTGACCAGCTGGTGAACCT GCACGACTTCAGAAGCGACGAGATCGAACACCTGGTCGTGGAAGAGC

		TGGTCAAGAAAAGAGAGGAGTGCCTGGATGCCCTCGAGTCTATCATG ACCACCAAGTCTGTGTCCTTCCGGAGACTGTCTCACCTGCGGAAGCTG GTGCCCCGATTTCGGCAAGGCCTACACCATCTTCAACAAGACACTGATG GAAGCCGATGCTCACTACAAGAGCGTTAGAACCTGGAACGAGATCAT TCCAAGCAAGGGTTGTCTGAAGGTGGGCGGCAGATGCCACCCTCACGT GAACGGCGTCTTTTTCAACGGCATCATCCTGGGCCCCGATGGCCACGT GCTGATCCCTGAGATGCAGAGCAGCCTGCTGCAGCAGCACATGGAAC GCTGAAGTCCAGCGTCATCCCCCTGATGCACCCCGGCAGCGGCTCTGG ATCTGGCGAGAAAGCTGCCAAGGCCGAGGAAGCCGCTAGAAAGATGG AAGAGCTGTTTAAGAAGCACAAAGATCGTGGCCGTGCTGCGAGCTAATT CTGTGAGGAAGCCATCGAGAAAGCCGTTGCCGTGTTGCCGGAGGC GTTTCATCTGATCGAGATCACCTTCACCGTGCCCGATGCCGACACCGTG ATCAAGGCTCTGAGCGTGCTGAAAGAAAAGGGCGCCATCATCGGCGC CGGCACAGTCACCAGCGTGGAACAGGCCAGAAAGGCCGTGGAAAGTG GCGCCGAGTTCATCGTGTCTCCACACCTGGACGAGGAAATCTCACAGT TTGCCAAGGAAAAGGGGGTGTCTACATGCCTGGCGTGATGACCCCTA CAGAGCTGGTGAAAGCTATGAAACTGGGCCACACCATCCTGAAGCTGT TCCCAGGCCAAGTGGTGGGCCCCCAATTTGTGAAGGCTATGAAGGGCC CATTCCCTAACGTGAAGTTCGTGCCTACCGGCGGCGTGAATCTGGACA ACGTGGCCGAGTGGTTCAAGGCCGGCGTGCTGGCCGTGGGAGTGGGC AGCGCCCTGGTGAAGGGCACCCCGACGAGGTGCGGGAAAAGGCCAA AGCCTTCGTGGAAGAGATCAGAGGCGCTACAGAGCTCGAGCACCACC ACCACCATCATTGA
Construcción A I53-50A sin extensiones	93	KFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELKVGYIS AIKVNGFTCTGVVTEAETYTNFVGYYVTTTFKRKHFRPTPDACRAAYNWK MAGDPRIEESLHNPYPDYHWLRTVRTTKESLIISPSVTDLPYDKSLHSR GFPGGKCSGITVSSTYCSTNHDYTIWMPENPGPRTPCDIFTNSRGKRASKG NKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETK WCPPDQLVNLHDFRSEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRL SHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEDAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRC HPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADP STVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQISGVDLGLPGSGSGSGEKAAKAEAAA RKMEELFKKHKIVAVLRANSVEEAIEKAVAVFAGGVHLIEITFTVPDADT VIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKE KGVFYMPGVMTPTTELVKAMKLGHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPFNV KFVPTGGVNLDNVAEWFKAGVLAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEK IRGATE

Construcción B I53-50A sin extensiones	94	KFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELKVGYIS AIKVNGFTCTGVVTSVSGSRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLSG SGESLIISPSVTDLDPYDKSLHSRGFPGGKCSGITVSSTYCSTNHDTIWM PENPGPRTPCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCG VLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELV KKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMREADA HYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQS SLLQQHMELLKSSVIPLMHPADPSTVFKEGDEAEDFVEVHLPDVYKQIS GVDLGLPGSGSGSGEKA AKAEEAARKMEELFKKHKIVAVLRANSVEEAI EKAVAVFAGGVHLEITFTVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSVEQA RKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKGVFYMPGVMTPTTELVKAMKLGH TILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVPTGGVNLNDNVAEWFKAGVLAV GVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIRGATE
Construcción C I53-50A sin extensiones	95	KFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELGSGSGS GCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVGLRLM DGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEPLVVEELVKKREECLD ALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMREADAHYKSVRTW NEIIPSKGCLKVGGRRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHME LLKSSVIPLMHPGSGSGSGEKA AKAEEAARKMEELFKKHKIVAVLRANSV EEAIEKAVAVFAGGVHLEITFTVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSV EQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKGVFYMPGVMTPTTELVKAMKL GHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVPTGGVNLNDNVAEWFKAGV LAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIRGATE
Construcción F I53-50A sin extensiones	96	KFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELGSGSGS GCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVGLRLM DGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLD ALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMREADAHYKSVRTW NEIIPSKGCLKVGGRRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHME LLKSSVIPLMHPGSGSGSGEKA AKAEEAARKMEELFKKHKIVAVLRANSV EEAIEKAVAVFAGGVHLEITFTVPDADTVIKALSVLKEKGAIIGAGTVTSV EQARKAVESGAEFIVSPHLDEEISQFAKEKGVFYMPGVMTPTTELVKAMKL GHTILKLPGEVVGPPQFVKAMKGPPPNVKFVPTGGVNLNDNVAEWFKAGV LAVGVGSALVKGTPDEVREKAKAFVEKIRGATE

[0157] En algunas modalidades, la proteína de fusión comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad

con una secuencia de polipéptido seleccionada de SEQ ID NO: 82, 83, 85, 87, 89, 91, 93-96.

[0158] En la **Tabla 5** se proporcionan proteínas de fusión con I53-dn5B ilustrativas. En cada caso, el péptido señal en el extremo N o la etiqueta de purificación en el extremo C pueden reemplazarse con alternativas conocidas.

5 **Tabla 5**

Descripción	SEQ ID NO:	Secuencia
Construcción C dn5B	97	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVED EGCTNLSEFSYMELKVGYISAIKVNNGFTCTGVVTSGSGRKHFRPTPDACR AAYNWKMAGDPRIEESLSGSGESLIISPSVTDLDPYDKSLHSRGFPGGK CSGITVSSTYCSTNHDYTIWMPENPGPRTPCDIFTNSRGKRASKGNKTCG FVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPD QLVNLHDFRSDEIEPLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLR KLVPGFGKAYTIFNKTLMHEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCRPH VNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTV FKEGDEAEDFVEVHLDPVYKQISGVDLGLPSAIGGSAEEAELAYLLGELA YKLGEYRIAIRAYRIALKRDPNNAEAWYNLGNAYYKQGRYREAIEYYQ KALELDPNNAEAWYNLGNAYYERGEYEEAIEYYRKALRLDPNNADAM QNLLNAKMREEGSHHHHHH
Construcción C dn5B (polinucleótido)	98	ATGGTGCCTCAGGTGCTGCTGTTTCGTGCCCCTGCTGGGCTTTAGCCTC TGCTTCGGAAAATTCCCTATCTACACCATCCCTGATGAGCTGGGACCT TGGAGCCCCATCGACATCCACCACCTGAGCTGCCCCAACAACCTGGT GGTCGAGGACGAGGGCTGTACTAACCTGAGCGAGTTCAGCTACATGG AACTGAAGGTGGGCTACATCAGTGCCATTAAGGTGAACGGCTTCACA TGCACCGGCGTTGTGACCAGCGGCAGCGGCAGAAAGCACTTCCGCCC CACACCTGACGCCTGCAGAGCCGCCTATACTGGAAGATGGCCGGCG ACCCAGATACGAGGAATCTCTGAGCGGCAGCGGCGAGAGCCTGATC ATCATCAGCCCCAGCGTGACAGACCTGGACCCTTACGACAAGAGCCT GCACAGCAGAGGTTTTCCAGGCGGAAAGTGCAGTGGAATTACCGTCA GCAGCACCTACTGCTCCACAAACCACGATTACACCATCTGGATGCCC GAGAACCCTGGCCCGCGGACACCGTGCGACATCTTCACCAATAGCAG AGGCAAGCGGGCCAGCAAGGGCAACAAGACCTGTGGCTTCGTGGAC GAAAGAGGCCTGTACAAGTCACTGAAGGGTGCTTGTAGACTGAACT GTGCGGCGTGCTGGGCCTGAGACTGATGGACGGCACCTGGGTCGCCA TGCAAACATCTGACGAGACAAAGTGGTGCCCTCTGACCAGCTGGTG AACCTGCACGACTTCAGAAGCGACGAGATCGAACCTCTGGTCGTGGA AGAGCTGGTCAAGAAAAGAGAGGAGTGCCTGGATGCCCTCGAGTCTA

		TCATGACCACCAAGTCTGTGTCCTTCCGGAGACTGTCTCACCTGCGGA AGCTGGTGCCCGGATTTCGGCAAGGCCTACACCATCTTCAACAAGACA CTGATGGAAGCCGATGCTCACTACAAGAGCGTTAGAACCTGGAACGA GATCATTCCAAGCAAGGGTTGTCTGAAGGTGGGCGGCAGATGCCACC CTCACGTGAACGGCGTCTTTTTCAACGGCATCATCCTGGGCCCCGATG GCCACGTGCTGATCCCTGAGATGCAGAGCAGCCTGCTGCAGCAGCAC ATGGAAGTCTGAAGTCCAGCGTCATCCCCCTGATGCACCCCCTTGCT GATCCTAGCACAGTGTTCAAGGAAGGCGACGAAGCTGAAGATTTTCGT TGAGGTGCACCTGCCTGATGTGTACAAGCAGATCAGCGGAGTGGACC TGGGCCTGCCTTCTGCCATCGGAGGCTCCGCCGAGGAGGCAGAGCTG GCCTACCTGCTGGGCGAGCTGGCCTACAAGCTGGGCGAGTATAGGAT CGCCATCCGGGCCTATAGAATCGCCCTGAAGCGCGATCCCAACAATG CCGAGGCCTGGTACAACCTGGGCAATGCCTACTATAAGCAGGGCCGG TATAGAGAGGCCATCGAGTACTATCAGAAGGCCCTGGAGCTGGACCC TAATAACGCTGAGGCCTGGTATAACCTGGGAAACGCCTACTATGAGC GGGGCGAGTATGAGGAAGCTATCGAGTACTATAGGAAGGCCCTGCGC CTGGACCCAAACAATGCCGATGCCATGCAGAACCTGCTGAATGCCAA GATGAGAGAGGAGGGCAGCCACCACCACCACCACCACCTGA
Construcción F dn5B	99	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVED EGCTNLSEFSYMELGSGSGSGCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLY KSLKGACRLKLCGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDF RSDEIEPLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGF GK AYTIFNKTLMEADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNG IILGPDGHVLIPEMQSLLQQHMELLKSSVIPLMHPSAIGGSAEEAELAYL LGELAYKLGEYRIAIRAYRIALKRDPNNAEAWYNLGNAYYKQGRYREAI EYYQKALELDPNNAEAWYNLGNAYYERGEYEEAIEYYRKALRLDPNNA DAMQNLLNAKMREEGSHHHHHH
Construcción F dn5B (polinucleótido)	100	ATGGTGCCCTCAGGTGCTGCTGTTTCGTGCCCCTGCTGGGCTTTAGCCTC TGCTTCGGAAAATTCCCTATCTACACCATCCCTGATGAGCTGGGACCT TGGAGCCCCATCGACATCCACCACCTGAGCTGCCCCAACACCTGGT GGTCGAGGACGAGGGCTGTACTAACCTGAGCGAGTTCAGCTACATGG AACTGGGATCTGGCTCTGGCAGCGGATGCGACATCTTACCAATAGC AGAGGCAAGCGGGCCAGCAAGGGCAACAAGACCTGTGGCTTCGTGG ACGAAAGAGGCCTGTACAAGTCACTGAAGGGTGCTTGTAGACTGAAA CTGTGCGGCGTGCTGGGCCTGAGACTGATGGACGGCACCTGGGTCGC CATGCAAACATCTGACGAGACAAAGTGGTGCCCTCCTGACCAGCTGG TGAACCTGCACGACTTCAGAAGCGACGAGATCGAACCTCTGGTCGTG

		GAAGAGCTGGTCAAGAAAAGAGAGGAGTGCCTGGATGCCCTCGAGT CTATCATGACCACCAAGTCTGTGTCCTTCCGGAGACTGTCTCACCTGC GGAAGCTGGTGCCCGGATTTCGGCAAGGCCTACACCATCTTCAACAAG ACACTGATGGAAGCCGATGCTCACTACAAGAGCGTTAGAACCTGGAA CGAGATCATTCCAAGCAAGGGTTGTCTGAAGGTGGGCGGCAGATGCC ACCCTCACGTGAACGGCGTCTTTTTCAACGGCATCATCCTGGGCCCCG ATGGCCACGTGCTGATCCCTGAGATGCAGAGCAGCCTGCTGCAGCAG CACATGGAAGTCTGAAGTCCAGCGTCATCCCCCTGATGCACCCCTCT GCCATCGGAGGCTCCGCCGAGGAGGCAGAGCTGGCCTACCTGCTGGG CGAGCTGGCCTACAAGCTGGGCGAGTATAGGATCGCCATCCGGGCCT ATAGAATCGCCCTGAAGCGCGATCCCAACAATGCCGAGGCCTGGTAC AACCTGGGCAATGCCTACTATAAGCAGGGCCGGTATAGAGAGGCCAT CGAGTACTATCAGAAGGCCCTGGAGCTGGACCCTAATAACGCTGAGG CCTGGTATAACCTGGGAAACGCCTACTATGAGCGGGGCGAGTATGAG GAAGCTATCGAGTACTATAGGAAGGCCCTGCGCCTGGACCCAAACAA TGCCGATGCCATGCAGAACCTGCTGAATGCCAAGATGAGAGAGGAG GGCAGCCACCACCACCACCACCACTGA
Construcción C dn5B sin extensiones	101	KFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELKVGYIS AIKVNGFTCTGVVTSGSGRKHFRPTPDACRAAYNWKMAGDPRYEESLS SGESLIISPSVTDLPYDKSLHSRGFPGGKCSGITVSSTYCSNHDYTIW MPENPGPRTPCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKL CGVLGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEPLVVEE LVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEA DAHYSVRTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPE MQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPLADPSTVFKEGDEAEDFVEVHLPDVY KQISGVDLGLPSAIGGSAEEAELAYLLGELAYKLGEYRIAIRAYRIALKRD PNNAEAWYNLGNAYYKQGRYREAIEYYQKALEDPNNAEAWYNLGN YYERGEYEEAIEYYRKALRLDPNNADAMQNLLNAKMREE
Construcción F dn5B sin extensiones	102	KFPIYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSEFSYMELGSGSG SGCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDERGLYKSLKGACRLKLCGVLGLRL MDGTWVAMQTSDETKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEPLVVEELVKKREEC LDALESIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMEADAHYSV RTWNEIIPSKGCLKVGGRCHPHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQ QHMELLKSSVIPLMHPSAIGGSAEEAELAYLLGELAYKLGEYRIAIRAYRI ALKRDPNNAEAWYNLGNAYYKQGRYREAIEYYQKALEDPNNAEAWY NLGNAYYERGEYEEAIEYYRKALRLDPNNADAMQNLLNAKMREE

[0159] En algunas modalidades, la proteína de fusión comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada de SEQ ID NO: 97, 99, 101, 102.

- 5 **[0160]** En la **Tabla 6** se proporciona una proteína de fusión ilustrativa con ferritina. El péptido señal en el extremo N o la etiqueta de purificación en el extremo C pueden reemplazarse con alternativas conocidas.

Tabla 6

Descripción	SEQ ID NO:	Secuencia
Construcción F ferritina	103	MVPQVLLFVPLLGFSLCFGKFPITYTIPDELGPWSPIDIHHLSCPNNLVV EDEGCTNLSEFSYMELGSGSGSGCDIFTNSRGKRASKGNKTCGFVDE RGLYKSLKGACRLKLCGVGLRLMDGTWVAMQTSDETKWCPPDQL VNLHDFRSDEIEHLVVEELVKKREECLDALESIMTTKSVSFRRLSHLR KLVPGFGKAYTIFNKTLM EADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLKVGGGRCH PHVNGVFFNGIILGPDGHVLIPEMQSSLLQQHMELLKSSVIPLMHPPGG SGGSGSGSGSGSGSDIILLNEQVNKEMQSSNLYMSMSSWCYTHSLD GAGLFLFDHAAEEYEHAKKLIIFLNENNVPVQLTSISAPEHKFEGLTQI FQKAYEHEQHISESINNIVDHAIKSKDHATFNFLQWYVAEQHEEEVLF KDILDKIELIGNENHGLYLADQYVKGIASRKS

- 10 **[0161]** En algunas modalidades, la proteína de fusión comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada de SEQ ID NO: 103.

Ensamblaje de VLP

- 15 **[0162]** En algunas modalidades, un único componente se autoensambla en la VLP. En algunas modalidades, una o más muestras purificadas de primer y segundo componentes para su uso en la formación de una VLP se mezclan en una proporción molar aproximadamente equimolar en condiciones acuosas (por ejemplo, una VLP isosaédrica I53-50A/B). Los componentes primero y segundo (a través de los dominios de multimerización y opcionalmente a través de los ectodominios) interactúan entre sí para impulsar el ensamblaje de la VLP objetivo. El ensamblaje exitoso de la VLP objetivo se puede confirmar analizando la reacción de ensamblaje *in vitro* mediante métodos bioquímicos o biofísicos comunes utilizados para evaluar el tamaño físico de las proteínas o los ensamblajes de proteínas, que incluyen, entre otros, cromatografía de exclusión
- 20

por tamaño, electroforesis en gel nativa (no desnaturalizante), dispersión de luz dinámica, dispersión de luz multiángulo, ultracentrifugación analítica, microscopía electrónica de tinción negativa, microscopía crioelectrónica o cristalografía de rayos X. Si es necesario, la VLP ensamblada se puede purificar de otras especies o moléculas presentes en la reacción de ensamblaje *in vitro* utilizando técnicas preparativas comúnmente utilizadas para aislar proteínas por su tamaño físico, que incluyen, entre otras, cromatografía de exclusión por tamaño, ultracentrifugación preparativa, filtración de flujo tangencial o electroforesis en gel preparativa. La presencia de la proteína antigénica en la VLP se puede evaluar mediante técnicas comúnmente utilizadas para determinar la identidad de las moléculas de proteína en soluciones acuosas, que incluyen, entre otras, SDS-PAGE, espectrometría de masas, secuenciación de proteínas, ELISA, resonancia de plasmón de superficie, interferometría de biocapa o análisis de aminoácidos. La accesibilidad de la proteína en el exterior de la partícula, así como su conformación o antigenicidad, se pueden evaluar mediante técnicas comúnmente utilizadas para detectar la presencia y conformación de un antígeno, que incluyen, entre otras, la unión de anticuerpos monoclonales, anticuerpos monoclonales específicos de conformación, resonancia de plasmón de superficie, interferometría de biocapa o antisueros específicos para el antígeno.

[0163] En diversas modalidades, las VLP de la descripción comprenden dos o más primeros polipéptidos distintos que portan diferentes proteínas antigénicas como fusiones genéticas; estas VLP exhiben conjuntamente múltiples proteínas diferentes en la misma VLP. Estas VLP multiantígeno se producen realizando un ensamblaje *in vitro* con mezclas de dos o más antígenos, cada uno de los cuales comprende un dominio de multimerización. La fracción de cada antígeno en la mezcla determina la valencia promedio de cada proteína antigénica en las VLP resultantes. La presencia y la valencia promedio de cada antígeno en una muestra dada se pueden evaluar mediante análisis cuantitativo utilizando las técnicas descritas anteriormente para evaluar la presencia de proteínas antigénicas en VLP de valencia completa.

[0164] En diversas modalidades, las VLP tienen entre aproximadamente 20 nanómetros (nm) y aproximadamente 40 nm de diámetro, con lúmenes interiores entre aproximadamente 15 nm y aproximadamente 32 nm de ancho y tamaños de poro en las capas de proteína entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 14 nm en sus dimensiones más largas.

[0165] En algunas modalidades, la VLP tiene simetría icosaédrica. En dicha modalidad, la VLP puede comprender 60 copias de un primer componente y 60 copias de un segundo

- componente. En una de dichas modalidades, el número de primeros polipéptidos idénticos en cada primer conjunto es diferente al número de primeros polipéptidos idénticos en cada segundo conjunto. Por ejemplo, en algunas modalidades, la VLP comprende doce primeros conjuntos y veinte segundos conjuntos; en dichas realizaciones, cada primer conjunto puede, por ejemplo, comprender cinco copias del primer componente idéntico, y cada segundo conjunto puede, por ejemplo, comprender tres copias del segundo componente idéntico. En otras modalidades, la VLP comprende doce primeros ensambles y treinta segundos conjuntos; en dicha modalidad, cada primer conjunto puede, por ejemplo, comprender cinco copias del primer componente idéntico, y cada segundo conjunto puede, por ejemplo, comprender dos copias del segundo componente idéntico. Por ejemplo, en algunas modalidades, la VLP comprende veinte primeros conjuntos y treinta segundos conjuntos; en dichas realizaciones, cada primer conjunto puede, por ejemplo, comprender tres copias del primer componente idéntico, y cada segundo conjunto puede, por ejemplo, comprender dos copias del segundo componente idéntico. Todas estas modalidades son capaces de formar VLP basadas en proteínas con simetría icosaédrica regular.
- 15 **[0166]** En diversas modalidades adicionales, los estados oligoméricos del primer y segundo dominio de multimerización son los siguientes:
- I53-34A: trímero + I53-34B: pentámero;
- I53-40A: pentámero + I53-40B: trímero;
- I53-47A: trímero + I53-47B: pentámero;
- 20 I53-50A: trímero + I53-50B: pentámero;
- I53-51A: trímero + I53-51B: pentámero;
- I32-06A: dímero + I32-06B: trímero;
- I32-19A: trímero + I32-19B: dímero;
- I32-28A: trímero + I32-28B: dímero;
- 25 I52-03A: pentámero + I52-03B: dímero;
- I52-32A: dímero + I52-32B: pentámero; y
- I52-33A: pentámero + I52-33B: dímero
- [0167]** En algunas modalidades, el primer dominio de multimerización (del primer polipéptido) comprende una secuencia que comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con

I53-50A o una variante de esta:

I53-50A

```
1 MEELFKKKHI VAVLRANSVE EAIEKAVAVF AGGVHLIEIT
41 FTVPDADTVI KALSVLKEKG AIIGAGTVTS VEQCRKAVES
5 81 GAEFIVSPHL DEEISQFCKE KGVFYMPGVM TPTELVKAMK
121 LGHTILKLFP GEVVGPFQFVK AMKGPFPPNVK FVPTGGVNLD
161 NVCEWFKAGV LAVGVGSALV KGTPDEVREK AKAFVEKIRG
201 CTE (SEQ ID NO: 7)
```

10 **[0168]** En algunas modalidades, el segundo dominio de multimerización (del segundo polipéptido) comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de la secuencia con SEQ ID NO: 7 o un fragmento antigénico de esta.

15 **[0169]** La secuencia de la proteína I53-50A tiene dos enlaces disulfuro intramonómeros. En algunas modalidades, los residuos de cisteína se mutan a residuos que no contienen un grupo tiol (por ejemplo, alanina o serina). La eliminación del grupo tiol puede promover el plegamiento correcto de las proteínas sin perjudicar la multimerización. En algunas modalidades, el dominio de multimerización del primer polipéptido comprende una sustitución de aminoácidos en una o
20 más de las posiciones 74, 97, 163 y 201 con respecto a SEQ ID NO: 7, como se muestra aquí:

I53-50A

```
1 MEELFKKKHI VAVLRANSVE EAIEKAVAVF AGGVHLIEIT
41 FTVPDADTVI KALSVLKEKG AIIGAGTVTS VEQCRKAVES
25 81 GAEFIVSPHL DEEISQFCKE KGVFYMPGVM TPTELVKAMK
121 LGHTILKLFP GEVVGPFQFVK AMKGPFPPNVK FVPTGGVNLD
161 NVCEWFKAGV LAVGVGSALV KGTPDEVREK AKAFVEKIRG
201 CTE (SEQ ID NO: 7)
```

30 **[0170]** En algunas modalidades, el dominio de multimerización del primer polipéptido comprende una sustitución de aminoácidos de uno o más de C74A, C97A, C163A y C201A en

relación con SEQ ID NO: 86. En algunas modalidades, el dominio de multimerización del primer polipéptido comprende SEQ ID NO: 86 o una variante de esta.

I53-50A-Δcys (forma libre de disulfuro)

5 1 MEELFKKHKI VAVLRANSVE EAIEKAVAVF AGGVHLIEIT
 41 FTVPDADTVI KALSVLKEKG AIIGAGTVTS VEQAARKAVES
 81 GAEFIVSPHL DEEISQFAKE KGVFYMPGVM TPTELVKAMK
 121 LGHTILKLFP GEVVGPFQFVK AMKGPFPNVK FVPTGGVNLD
 161 NVAEWFKAGV LAVGVGSALV KGTPDEVREK AKAFVEKIRG
 10 201 ATE (SEQ ID NO: 67)

[0171] En algunas modalidades, el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o
 15 100 % de identidad de la secuencia con SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 86, o un fragmento antigénico de la misma, y comprende una, dos, tres o cuatro sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre C74A, C97A, C163A y C201A. Alternativamente, la sustitución puede ser de C a A, T, S, L, I, o cualquier aminoácido distinto de C.

[0172] Un polipéptido proporcionado en este documento puede comprender una o más
 20 sustituciones conservadoras de aminoácidos. La terminología "sustitución conservadora de aminoácidos" es bien conocida en la técnica y se relaciona con la sustitución de un aminoácido particular por uno que tenga una característica similar (por ejemplo, carga o hidrofobicidad similar). Las mutaciones conservadoras pueden incluir, sin limitación, la sustitución de residuos de aminoácidos con, por ejemplo, carga o hidrofobicidad similar pero que difieren en tamaño o
 25 volumen (por ejemplo, para proporcionar una función de llenado de cavidades). En la siguiente tabla se proporciona una lista de sustituciones conservadoras de aminoácidos de ejemplo no taxativa.

Para aminoácido	Código	Reemplazar con
Alanina	A	D-ala, Gly, Aib, β-Ala, Acp, L-Cys, D-Cys
Arginina	R	D-Arg, Lys, D-Lys, homo-Arg, D-homo-Arg, Met, Ile, D-Met,

Para aminoácido	Código	Reemplazar con
		D-Ile, Orn, D-Orn
Asparagina	N	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
Ácido aspártico	D	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
Cisteína	C	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr
Glutamina	Q	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
Ácido glutámico	E	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
Glicina	G	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, Aib, β -Ala, Acp
Isoleucina	I	D-Ile, Val, D-Val, AdaA, AdaG, Leu, D-Leu, Met, D-Met
Leucina	L	D-Leu, Val, D-Val, AdaA, AdaG, Leu, D-Leu, Met, D-Met
Lisina	K	D-Lys, Arg, D-Arg, homo-Arg, D-homo-Arg, Met, D-Met, Ile, D-Ile, Orn, D-Orn
Metionina	M	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val
Fenilalanina	F	D-Phe, Tyr, D-Thr, L-Dopa, His, D-His, Trp, D-Trp, Trans-3,4 o 5-fenilprolina, AdaA, AdaG, cis-3,4 o 5-fenilprolina, Bpa, D-Bpa
Prolina	P	Ácido D-Pro, LI-tioazolidina-4-carboxílico, ácido D-o-L-1-oxazolidina-4-carboxílico (Kauer, patente de los EE. UU. núm. (4,511,390)
Serina	S	D-Ser, Thr, D-Thr, alo-Thr, Met, D-Met, Met (O), D-Met (O), L-Cys, D-Cys
Treonina	T	D-Thr, Ser, D-Ser, alo-Thr, Met, D-Met, Met (O), D-Met (O), Val, D-Val
Tirosina	Y	D-Tyr, Phe, D-Phe, L-Dopa, His, D-His
Valina	V	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met, AdaA, AdaG

[0173] Alternativamente, puede preferirse una sustitución de aminoácidos no conservativa. Por ejemplo, la erradicación de una porción flexible de la estructura secundaria de la proteína G nativa de la rabia se puede realizar añadiendo un residuo de cisteína (o viceversa). La "sustitución no conservadora" se refiere a la sustitución de un aminoácido de una clase por un aminoácido de otra clase; por ejemplo, la sustitución de un Ala por Asp, Asn, Glu o Gln. Ejemplos adicionales no

limitantes de sustituciones no conservadora incluyen la sustitución de un residuo de aminoácido no polar (hidrofóbico) tal como isoleucina, valina, leucina, alanina o metionina por un residuo polar (hidrofílico) tal como cisteína, glutamina, ácido glutámico o lisina y/o un residuo polar por un residuo no polar. Se pueden utilizar sustituciones de D-Cys por D-Ala, D-Ser o D-Tyr (u otro

5 residuo) para eliminar enlaces disulfuro intramoleculares, lo que puede, en algunos casos, mejorar la estabilidad o la expresión de la proteína. Las sustituciones de D-Cys se pueden utilizar para generar enlaces disulfuro que estabilizan una proteína o la fijan en una conformación deseada.

[0174] En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el polipéptido comprende un dominio de multimerización. En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el dominio

10 de multimerización es un dominio de trimerización. En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con FoldOn (SEQ ID NO: 58). En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el dominio

15 de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada entre las SEQ ID NO: 1, 4, 5, 7, 9, 18, 19, 21, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 34, 36, 37, 39, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 y 51, en donde los

20 residuos de interfaz identificados en la **Tabla 3** se conservan. En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-50A (SEQ ID NO: 7). En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende

25 el dominio de multimerización es I53-50A-Δcys (SEQ ID NO: 67). En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 93-96. En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el

30 dominio de multimerización comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos

96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con I53-dn5B (SEQ ID NO: 75). En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con las SEQ ID NO: 101 o SEQ ID NO: 102. En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el dominio de multimerización es un polipéptido de ferritina capaz de formar una partícula de ferritina. En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el polipéptido comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la Construcción F-ferritina (SEQ ID NO: 103). En algunas modalidades, la nanopartícula que comprende el dominio de multimerización es un dominio de formación de partículas.

[0175] En otro aspecto, la divulgación proporciona una nanopartícula que comprende un polipéptido de acuerdo con cualquier realización; o una nanopartícula que comprende un ectodominio de proteína G de la rabia. En algunas modalidades, el polipéptido comprende el ectodominio de la proteína G de la rabia según cualquier modalidad.

[0176] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula es una partícula similar a un virus basada en proteínas (pbVLP) o nanoestructura.

[0177] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula carece de un componente lipídico. En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula comprende un componente lipídico. En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula comprende un segundo componente polipeptídico.

[0178] En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula comprende un segundo componente polipeptídico y el primer componente polipeptídico, y en donde la nanopartícula es una nanopartícula autoensamblable que comprende el primer y el segundo componente polipeptídico dispuestos simétricamente con simetría de grupo puntual.

[0179] En algunas modalidades de la nanopartícula, (a) el primer componente polipeptídico comprende cualquier polipéptido de la divulgación, y el primer componente polipeptídico forma un primer complejo homomérico a través del dominio de multimerización del polipéptido; (b) el segundo componente polipeptídico comprende un segundo dominio de multimerización, y el segundo componente polipeptídico forma un segundo complejo homomérico a través del segundo

dominio de multimerización del polipéptido; (c) el primer complejo homomérico y el segundo complejo homomérico se ensamblan para formar la nanopartícula con simetría de grupo puntual; (d) la nanopartícula carece de otros componentes polipeptídicos; y/o (e) la nanopartícula carece de componentes lipídicos.

5 **[0180]** En algunas modalidades de la nanopartícula, la nanopartícula tiene simetría icosaédrica.

[0181] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-50A (SEQ ID NO: 7) o I53-50A Δ Cys (SEQ ID NO: 67); y el segundo dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-50B (SEQ ID NO: 8) o con I53-50B.4PosT1 (SEQ ID NO: 34).

[0182] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-dn5B (SEQ ID NO: 75); y el segundo dominio de multimerización comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-dn5A (SEQ ID NO: 74).

[0183] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada de SEQ ID NO: 93-96; y el segundo componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad

con I53-50B (SEQ ID NO: 8) o con I53-50B.4PosT1 (SEQ ID NO: 34).

[0184] En algunas modalidades de la nanopartícula, el primer componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con una secuencia de polipéptido seleccionada de SEQ ID NO: 101-102; y el segundo componente polipeptídico comparte al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o un 100 % de identidad con I53-dn5A (SEQ ID NO: 74).

Vehículo de administración

[0185] En algunas modalidades, los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) que codifican nanoestructuras proteicas que incluyen un componente que comprende un monómero de proteína viral de un antígeno viral trimérico se formulan en un vehículo de administración. En algunas modalidades, el vehículo de administración es un vector no viral. En algunas modalidades, el vehículo de administración es una nanopartícula lipídica (LNP, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el vehículo de administración es un liposoma. En algunas modalidades, el vehículo de administración es un vector polimérico no viral, tal como espermina, polietilenimina, quitosano o poliuretano. En algunas modalidades, el vehículo de administración son sistemas de administración poliméricos, como poli-amido-amina (PAA), poli-beta-aminoésteres (PBAE) o polietilenimina (PEI). En algunas modalidades, el vehículo de administración es una nanopartícula de ferritina. En algunas modalidades, el vehículo de administración es una encapsulina.

[0186] En algunas modalidades, los polinucleótidos (*por ejemplo*, ARNm) que codifican nanoestructuras proteicas que incluyen un componente que comprende un monómero de proteína viral de un antígeno viral trimérico se formulan en una nanopartícula. En algunas modalidades, la nanopartícula es una nanopartícula lipídica (LNP). En algunas modalidades, los polinucleótidos se formulan en un complejo policationico lipídico, al que se hace referencia como LNP cationica. A modo de ejemplo no limitante, el polication puede incluir un polipéptido o péptido cationico, tal como, de modo no taxativo, polilisina, poliornitina y/o poliarginina. En algunas modalidades, los polinucleótidos se formulan en una LNP que incluye un lípido no cationico tal como, de modo no limitante, colesterol o fosfatidiletanolamina de dioleilo (DOPE, por sus siglas en inglés).

[0187] En diversas modalidades, las nanopartículas lipídicas tienen un diámetro medio de alrededor de 30 nm a alrededor de 150 nm, de alrededor de 40 nm a alrededor de 150 nm, de alrededor de 50 nm a alrededor de 150 nm, de alrededor de 60 nm a alrededor de 130 nm, de alrededor de 70 nm a alrededor de 110 nm, de alrededor de 70 nm a alrededor de 100 nm, de
5 alrededor de 80 nm a alrededor de 100 nm, de alrededor de 90 nm a alrededor de 100 nm, de alrededor de 70 a alrededor de 90 nm, de alrededor de 80 nm a alrededor de 90 nm, de alrededor de 70 nm a alrededor de 80 nm o alrededor de 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm, 50 nm, 55 nm, 60 nm, 65 nm, 70 nm, 75 nm, 80 nm, 85 nm, 90 nm, 95 nm, 100 nm, 105 nm, 110 nm, 115 nm, 120 nm, 125 nm, 130 nm, 135 nm, 140 nm, 145 nm o 150 nm. En modalidades, las LNP son sustancialmente
10 no tóxicas. En ciertas modalidades, los polinucleótidos, cuando están presentes en las LNP, son resistentes en solución acuosa a la degradación con una nucleasa. Los lípidos y LNP que comprenden polinucleótidos y su método de preparación se describen, *por ejemplo*, en las patentes de EE. UU. núm. 8,569,256, 5,965,542 y las pub. de patente de EE. UU. núm. 2016/0199485, 2016/0009637, 2015/0273068, 2015/0265708, 2015/0203446, 2015/0005363, 2014/0308304,
15 2014/0200257, 2013/086373, 2013/0338210, 2013/0323269, 2013/0245107, 2013/0195920, 2013/0123338, 2013/0022649, 2013/0017223, 2012/0295832, 2012/0183581, 2012/0172411, 2012/0027803, 2012/0058188, 2011/0311583, 2011/0311582, 2011/0262527, 2011/0216622, 2011/0117125, 2011/0091525, 2011/0076335, 2011/0060032, 2010/0130588, 2007/0042031, 2006/0240093, 2006/0083780, 2006/0008910, 2005/0175682, 2005/017054, 2005/0118253,
20 2005/0064595, 2004/0142025, 2007/0042031, 1999/009076 y las publicaciones PCT núm. WO 99/39741, WO 2017/004143, WO 2017/075531, WO 2015/199952, WO 2014/008334, WO 2013/086373, WO 2013/086322, WO 2013/016058, WO 2013/086373, WO2011/141705 y WO 2001/07548, el contenido de las cuales se incorpora mediante referencia en la presente.

[0188] Otros ejemplos de lípidos y LNP y su fabricación son conocidos en la técnica, por
25 ejemplo en las pub. de patente de EE. UU. núm. 2012/0276209, Semple et al., 2010, Nat Biotechnol., 28(2):172-176; Akinc et al., 2010, Mol Ther., 18(7): 1357-1364; Basha et al., 2011, Mol Ther, 19(12): 2186-2200; Leung et al., 2012, J Phys Chem C Nanomater Interfaces, 116(34): 18440-18450; Lee et al., 2012, Int J Cancer., 131(5): E781-90; Belliveau et al., 2012, Mol Ther
nucleic Acids, 1: e37; Jayaraman et al., 2012, Angew Chem Int Ed Engl., 51(34): 8529-8533; Mui
30 et al., 2013, Mol Ther Nucleic Acids. 2, e139; Maier et al., 2013, Mol Ther., 21(8): 1570-1578; y Tam et al., 2013, Nanomedicine, 9(5): 665-74, cada uno de los cuales se incorpora mediante

referencia en la presente. Los lípidos y su fabricación pueden consultarse, por ejemplo, en las pub. de los EE. UU. núm. 2015/0376115 y 2016/0376224, cuyo contenido se incorpora mediante referencia en la presente.

Ácidos nucleicos, vectores y células

- 5 **[0189]** En otro aspecto, la presente descripción proporciona ácidos nucleicos aislados que codifican un antígeno, un primer componente, y/o un segundo componente, de la presente descripción. La secuencia de ácido nucleico aislada puede comprender ARN o ADN. Tal como se utiliza en la presente, los "ácidos nucleicos aislados" son aquellos que se han eliminado de sus secuencias de ácidos nucleicos circundantes normales en el genoma o en secuencias de ADNc.
- 10 Tales secuencias de ácidos nucleicos aislados pueden comprender secuencias adicionales útiles para promover la expresión y/o purificación de la proteína codificada, que incluyen, pero no se limitan a, secuencias poliA, secuencias Kozak modificadas, y secuencias que codifican etiquetas epitópicas, señales de exportación, señales secretoras, señales de localización nuclear y señales de localización de la membrana plasmática. Será evidente para los expertos en la técnica, basándose
- 15 en las enseñanzas del presente documento, qué secuencias de ácido nucleico codificarán las proteínas de la descripción.
- [0190]** En un aspecto adicional, la presente descripción proporciona vectores de expresión recombinantes que comprenden el ácido nucleico aislado de cualquier realización o combinación de realizaciones de la divulgación unido operativamente a una secuencia de control adecuada.
- 20 "Vector de expresión" incluye vectores que unen operativamente una región codificante de ácido nucleico o un gen a cualquier secuencia de control capaz de efectuar la expresión del producto génico. Las "secuencias de control" unidas operativamente a las secuencias de ácidos nucleicos de la divulgación son secuencias de ácidos nucleicos capaces de efectuar la expresión de las moléculas de ácidos nucleicos. Las secuencias de control no necesitan ser contiguas a las secuencias de ácido
- 25 nucleico, siempre que funcionen para dirigir su expresión. Así, por ejemplo, pueden estar presentes secuencias intermedias no traducidas pero transcritas entre una secuencia promotora y las secuencias de ácidos nucleicos, y la secuencia promotora todavía puede considerarse "operativamente unida" a la secuencia codificante. Otras secuencias de control de este tipo incluyen, entre otras, señales de poliadenilación, señales de terminación y sitios de unión de
- 30 ribosomas. Dichos vectores de expresión pueden ser de cualquier tipo conocido en la técnica, incluidos, entre otros, vectores de expresión basados en plásmidos y virus. La secuencia de control

utilizada para impulsar la expresión de las secuencias de ácidos nucleicos descritas en un sistema mamífero puede ser constitutiva (impulsada por cualquiera de una variedad de promotores, incluidos, entre otros, CMV, SV40, RSV, actina, EF) o inducible (impulsada por cualquiera de una cantidad de promotores inducibles, incluidos, entre otros, tetraciclina, ecdisona, esteroides sensibles). La construcción de vectores de expresión para su uso en la transfección de células también es bien conocida en la técnica y, por lo tanto, puede lograrse mediante técnicas estándar. (Véase, por ejemplo, Sambrook, Fritsch y Maniatis, en: *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989; *Gene Transfer and Expression Protocols*, págs. 109-128, ed. EJ Murray, The Humana Press Inc., Clifton, N. J., y el Catálogo Ambion 1998 (Ambion, Austin, TX)). El vector de expresión debe ser replicable en los organismos hospedantes, ya sea como episoma o mediante integración en el ADN cromosómico del hospedante.

[0191] En otro aspecto, la presente descripción proporciona células huésped que han sido transfectadas o transducidas con los vectores de expresión recombinantes divulgados en este documento, en donde las células huésped pueden ser procariotas o eucariotas. Las células pueden ser transfectadas o transducidas de forma transitoria o estable. Dicha transfección o transducción de vectores de expresión en células procariotas y eucariotas se puede lograr a través de cualquier técnica conocida en la técnica, incluyendo, entre otras, transformaciones bacterianas estándar, coprecipitación con fosfato de calcio, electroporación o transfección mediada por liposomas, mediada por DEAE dextrano, mediada por policationicos o mediada por virus. (Véase, por ejemplo, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Sambrook et al., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press; *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 2.^a edición, R. I. Freshney, 1987, Liss, Inc., New York, NY)).

[0192] En otro aspecto, la descripción proporciona un método para producir un antígeno, componente o VLP de acuerdo con la descripción. En algunas modalidades, el método comprende los pasos de (a) cultivar un huésped de acuerdo con este aspecto de la descripción en condiciones propicias para la expresión del polipéptido y (b) opcionalmente, recuperar el polipéptido expresado.

[0193] En algunas modalidades, la divulgación proporciona un método para fabricar una vacuna, que comprende cultivar una célula huésped que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia que codifica el antígeno de la divulgación en un medio de cultivo de modo que la célula huésped secreta el antígeno en el medio de cultivo; opcionalmente purificar el

antígeno del medio de cultivo; mezclar el antígeno con un segundo componente, en donde el segundo componente se multimeriza con el antígeno para formar una VLP; y opcionalmente purificar la VLP.

[0194] En algunas modalidades, la descripción proporciona un método para fabricar una vacuna, que comprende cultivar una célula huésped que comprende uno o más polinucleótidos que comprenden secuencias que codifican ambos componentes de la VLP de cualquiera de las divulgaciones de modo que la célula huésped secrete el primer componente y el segundo componente en el medio de cultivo; y opcionalmente purificar la VLP del medio de cultivo.

[0195] Las células huésped ilustrativas incluyen células de E. coli, células 293 y 293F, células HEK293, células Sf9, células de ovario de hámster chino (CHO) y cualquier otra línea celular utilizada en la producción de proteínas recombinantes.

[0196] En distintas modalidades, el primer componente se expresa en aproximadamente 0,5 mg/L, aproximadamente 1,0 mg/L, aproximadamente 2,5 mg/L, aproximadamente 5 mg/L, aproximadamente 10 mg/L, aproximadamente 25 mg/L, aproximadamente 50 mg/L, aproximadamente 250 mg/L, aproximadamente 500 mg/L, aproximadamente 1000 mg/L o más en un método de fabricación de acuerdo con la divulgación (por ejemplo, células 293F o CHO cultivadas en suspensión). En diversas modalidades, el primer componente expresa al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % del nivel de expresión de una proteína G de la rabia (opcionalmente el mismo ectodominio que en la VLP) en el mismo sistema de expresión o en uno similar. En diversas modalidades, el primer componente expresa al menos el 105 %, al menos el 110 %, al menos el 115 %, al menos el 120 %, al menos el 125 %, al menos el 150 %, al menos el 175 % o al menos el 200 % del nivel de expresión de una proteína G de la rabia (opcionalmente el mismo ectodominio que en la VLP) en el mismo sistema de expresión o en uno similar.

[0197] En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia del primer componente está en la conformación de prefusión, o una fracción sustancial del ectodominio de la proteína G de la rabia está en la conformación de prefusión. En diversas modalidades, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % del ectodominio de la proteína G de la rabia del primer componente está en la conformación de prefusión. En algunas modalidades, el ectodominio de la proteína G de la rabia de la VLP está en la conformación de prefusión, o una fracción sustancial del ectodominio de la proteína G de la

rabia está en la conformación de prefusión. En diversas modalidades, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % del ectodominio de la proteína G de la rabia de la VLP está en la conformación de prefusión.

[0198] En algunas modalidades, la fracción del ectodominio de la proteína G de la rabia en el estado de prefusión se determina mediante la unión a un anticuerpo específico de conformación (por ejemplo, D1-25 y 1112-1). En algunas modalidades, la fracción del ectodominio de la proteína G de la rabia en el primer componente en la conformación de prefusión es al menos 105 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 150 %, al menos 175 % o al menos 200 % mayor que la fracción en un componente de referencia o que la fracción en una proteína de referencia no vinculada a un dominio de multimerización. En algunas modalidades, la fracción del ectodominio de la proteína G de la rabia en el primer componente en la conformación de prefusión es al menos 105 %, al menos 110 %, al menos 115 %, al menos 120 %, al menos 125 %, al menos 150 %, al menos 175 % o al menos 200 % mayor que la fracción en una VLP (por ejemplo, VLP de micela).

[0199] En otro aspecto, la divulgación proporciona un polinucleótido, que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación.

[0200] En algunas modalidades, el polinucleótido que codifica la proteína de fusión comparte al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia de polinucleótido seleccionada de SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 92, 98, 100.

[0201] En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 500 nucleótidos hasta aproximadamente 10.000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 10.000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 9000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 8000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 7000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 6000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta

- aproximadamente 5000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 4000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 3000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 2000 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 1500 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 1400 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 1300 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 1200 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1000 nucleótidos hasta aproximadamente 1100 nucleótidos. En algunas modalidades, el polinucleótido tiene desde aproximadamente 1100 nucleótidos hasta aproximadamente 1900 nucleótidos.
- 15 **[0202]** En otro aspecto, la divulgación proporciona un vector, que comprende polinucleótido que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación.
- [0203]** En otro aspecto, la divulgación proporciona un kit, que comprende un polipéptido, una nanopartícula, un polinucleótido, un vector o una composición farmacéutica de la divulgación.
- 20 **Vacunas y administración**
- [0204]** La descripción también proporciona vacunas que comprenden las VLP descritas en este documento. Estas composiciones se pueden utilizar para generar anticuerpos en un mamífero (por ejemplo, un ser humano). Las composiciones de las vacunas de la descripción normalmente incluyen un portador farmacéuticamente aceptable, y una discusión exhaustiva de dichos portadores está disponible en Remington: The Science and Practice of Pharmacy.
- 25 **[0205]** El pH de la composición está normalmente entre aproximadamente 4,5 y aproximadamente 11, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 11, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 11, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 11, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10,5, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 10,5, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 10,5, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 10, entre aproximadamente
- 30

6 y aproximadamente 10, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 9,5, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 9,5, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 9,5, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 9, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 9, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 9, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 8,5, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 8,5, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8,5, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 8, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 8, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, aproximadamente 4,5, aproximadamente 5, aproximadamente 5,5, aproximadamente 6, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7, aproximadamente 7,5, aproximadamente 8, aproximadamente 8,5, aproximadamente 9, aproximadamente 9,5, aproximadamente 10, aproximadamente 10,5, aproximadamente 11, etc. Se puede mantener un pH estable mediante el uso de un tampón, por ejemplo, un tampón Tris, un tampón citrato, un tampón fosfato o un tampón histidina. Por lo tanto, una composición generalmente incluirá un buffer.

[0206] Una composición puede ser estéril y/o libre de pirógenos. Las composiciones pueden ser isotónicas con respecto a los humanos.

[0207] Una composición farmacéutica puede comprender una cantidad efectiva de su polipéptido antigénico. Una "cantidad eficaz" es una cantidad que, administrada a un sujeto, es eficaz para causar una respuesta de anticuerpos contra el antígeno. Esta cantidad puede variar en función de la salud y el estado físico del individuo a tratar, su edad, la capacidad del sistema inmunitario del individuo para sintetizar anticuerpos, el grado de protección deseado, la formulación de la vacuna, la evaluación de la situación médica por parte del médico tratante y otros factores pertinentes. Se espera que la cantidad se sitúe en un rango relativamente amplio que pueda determinarse mediante ensayos rutinarios. El contenido de antígeno de las composiciones de la divulgación se expresará generalmente en términos de masa de proteína por dosis. Puede ser útil una dosis de 10 a 500 µg (por ejemplo, 50 µg) por antígeno.

[0208] En otro aspecto, la divulgación proporciona una composición farmacéutica para su uso como vacuna, que comprende cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende al menos un adyuvante. En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende una emulsión de aceite en agua. En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la

composición farmacéutica comprende una emulsión de aceite en agua basada en escualeno. En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende un inmunoestimulante del receptor tipo Toll (TLR). En algunas modalidades de la composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende escualeno, SLA, GLA, R848, IMQ, 3M-052, CpG, saponina (QS21) o combinaciones de ellos.

[0209] El polipéptido o nanopartícula antigénica puede ser el único agente activo en la composición, por ejemplo, formulado como una vacuna acuosa, o la composición puede comprender además uno o más agentes adicionales adecuados para un uso previsto, incluidos, entre otros, adyuvantes para estimular el sistema inmunológico en general y mejorar las respuestas inmunológicas en general.

[0210] Las composiciones de vacunas pueden incluir un adyuvante inmunológico. Los adyuvantes de ejemplo incluyen los siguientes, entre otros: 1. composiciones que contienen minerales; 2. emulsiones oleosas; 3. formulaciones de saponina; 4. virosomas y partículas similares a virus; 5. derivados bacterianos o microbianos; 6. bioadhesivos y mucoadhesivos; 7. liposomas; 8. formulaciones de éter de polioxietileno y de éster de polioxietileno; 9. polifosfazeno (pcpp); 10. muramil péptidos; 11. compuestos de imidazoquinolona; 12. compuestos de tiosemicarbazona; 13. compuestos de triptantrina; 14. inmunomoduladores humanos; 15. lipopéptidos; 16. benzonaftiridinas; 17. micropartículas; 18. polinucleótidos inmunoestimuladores (tales como ARN o ADN; por ejemplo, oligonucleótidos que contengan cpg).

[0211] En algunas modalidades, el adyuvante es una emulsión de aceite en agua, tal como una emulsión de aceite en agua a base de escualeno, o un adyuvante de hidróxido de aluminio. En algunas modalidades, el adyuvante incluye Allhydrogel. Por ejemplo, la composición puede incluir un adyuvante de sal de aluminio o una emulsión de aceite en agua.

[0212] Por ejemplo, la composición puede incluir un adyuvante de sal de aluminio, una emulsión de aceite en agua (por ejemplo, una emulsión de aceite en agua que comprende escualeno, tal como MF59, SWE o AS03), un agonista de TLR9 (como oligodesoxinucleótidos de CpG), un agonista de TLR7 (como imidazoquinolina o imiquimod) o una combinación de estos. En algunas modalidades, el adyuvante es una combinación de una sal de aluminio y CPG1018. Las sales de aluminio adecuadas incluyen hidróxidos (por ejemplo, oxihidróxidos), fosfatos (por ejemplo, hidroxifosfatos, ortofosfatos), aluminio (por ejemplo, consulte los capítulos 8 y 9 de Vaccine Design. (1995) eds. Powell & Newman. ISBN: 030644867X. Plenum) o mezclas de estos.

Las sales pueden adoptar cualquier forma adecuada (por ejemplo, gel, cristalina, amorfa, etc.), siendo un ejemplo la adsorción del antígeno a la sal. La concentración de Al^{+++} en una composición para administración a un paciente puede ser inferior a 5 mg/ml, por ejemplo, <4 mg/ml, <3 mg/ml, <2 mg/ml, <1 mg/ml, etc. En algunas modalidades, el rango de Al^{+++} es entre 0,3 y 1 mg/ml, entre 0,3 y 2 mg/ml, entre 0,3 y 3 mg/ml o entre 0,3 y 4 mg/ml. En algunas modalidades, se utiliza un máximo de 0,85 mg/dosis. Los adyuvantes de hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio son adecuados para su uso con la invención de la descripción. En una modalidad preferida, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hidróxido de aluminio como adyuvante. En algunas modalidades, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende 500 µg de hidróxido de aluminio.

[0213] Los adyuvantes ejemplares incluyen, pero no se limitan a, 3M-052, Adju-PhosTM, AlhydrogelTM, AdjumerTM, micropartículas de albúmina-heparina, glucano de algas, algammulina, alumbre, formulación de antígeno, adyuvante AS-2, ASO1, ASO3, células dendríticas autólogas, PBMC autólogas, AvridineTM, B7-2, BAK, BAY R1005, agonistas TLR-4 de BECC, bupivacaína, bupivacaína-HCl, BWZL, calcitriol, gel de fosfato de calcio, péptidos CCR5, CFA, holotoxina del cólera (CT) y subunidad B de la toxina del cólera (CTB), proteína de fusión de fragmento D de proteína A-subunidad A1 de la toxina del cólera, CpG, CPG-1018, CRL1005, liposomas que contienen citocinas, D-murapalmitina, DDA, DHEA, toxoide diftérico, DL-PGL, DMPC, DMPG, complejo DOC/alumbre, viruela aviar, adyuvante completo de Freund, inulina gamma, adyuvante Gerbu, GM-CSF, GMDP, hGM-CSF, hIL-12 (N222L), hTNF-alfa, IFA, IFN-gamma en pcDNA3, ADN IL-12, plásmido IL-12, plásmido IL-12/GMCSF (Sykes), IL-2 en pcDNA3, plásmido IL-2/Ig, proteína IL-2/Ig, IL-4, IL-4 en pcDNA3, ImiquimodTM, ImmTherTM, inmunoliposomas. Contiene anticuerpos contra moléculas coestimuladoras, interferón gamma, interleucina-1 beta, interleucina-12, interleucina-2, interleucina-7, ISCOM(s)TM, Iscoprep 7.0.3TM, hemocianina de lapa, adyuvante a base de lípidos, liposomas, loxoribina, LT(R192G), adyuvante oral LT-OA o LT, LT-R192G, LTK63, LTK72, adyuvante Matrix-MTM, MF59®, MONTANIDE ISA 51, MONTANIDE ISA 720, MPL.TM., MPL-SE, MTP-PE, Liposomas MTP-PE, Murametida, Murapalmitina, NAGO, toxina del cólera nativa nCT, vesículas surfactantes no iónicas, mutante no tóxico E112K de la toxina del cólera mCT-E112K, éster metílico del ácido p-hidroxibenzoico, pCIL-10, pCIL12, pCMVmCAT1, pCMVN, Peptomer-NP, Pleuran, PLG, PLGA, PGA y PLA, Pluronic L121, PMMA, PODDSTM, Poly rA: Poly rU, Polisorbato 80, cocleatos proteicos, QS-21,

Quadri A saponina, Quil-A, Rehydragel HPA, Rehydragel LV, RIBI, sistema de adyuvante de tipo Ribi (MPL, TMD, CWS), S-28463, SAF-1, péptido Sclavo, proteoliposomas Sendai, matrices lipídicas que contienen Sendai, Span 85, Specol, escualeno 1, escualeno 2, esteariltirosina, SWE, toxoide de tétanos (TT), Theramide™, dipéptido de treonilo muramilo (TMDP), partículas Ty y liposomas Walter Reed. La selección de un adyuvante depende del sujeto a tratar. Preferiblemente, se utiliza un adyuvante farmacéuticamente aceptable. En modalidades preferidas, el adyuvante es un gel de hidróxido de aluminio (por ejemplo, Alhydrogel™). En modalidades preferidas, el adyuvante es SWE. En modalidades preferidas, el adyuvante es MF59.

[0214] En algunas modalidades, el adyuvante es una emulsión de escualeno.

[0215] En algunas modalidades, el adyuvante es un inmunoestimulante TLR4 (por ejemplo, SLA, GLA), por ejemplo, como se describe en Van Hoeven et al. PLoS One. 11(2):e0149610 (2016).

[0216] En algunas modalidades, el adyuvante es un inmunoestimulante TLR7/8 (por ejemplo, R848, IMQ, 3M-052), por ejemplo, como se describe en Dowling D. *ImmunoHorizons* (6):185-197 (2018).

[0217] En algunas modalidades, el adyuvante es un inmunoestimulante TLR9 (CpG), por ejemplo, como se describe en Bode et al. *Expert Rev Vaccines*. 10(4):499–511 (2011).

[0218] En algunas modalidades, el adyuvante es saponina (QS21), por ejemplo, como se describe en Zhu et al. *Nat Prod Chem Res*. 3(4):e113 (2016).

[0219] En algunas modalidades, la vacuna comprende una combinación de dos o más adyuvantes (por ejemplo, emulsión de escualeno y alumbre o un inmunoestimulante TLR4).

[0220] Un adyuvante inmunológico adecuado comprende un compuesto de Fórmula (I) como se define en WO2011/027222, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, adsorbido a una sal de aluminio. Se pueden utilizar muchos otros adyuvantes, incluido cualquiera de los descritos en Powell y Newman (1995).

[0221] Las composiciones pueden incluir un antimicrobiano, particularmente cuando están envasadas en formato de dosis múltiples. Los antimicrobianos como el tiomersal y el 2-fenoxietanol se encuentran comúnmente en las vacunas, pero a veces puede ser conveniente utilizar un conservante sin mercurio o ningún conservante.

[0222] Las composiciones pueden comprender un detergente, por ejemplo un polisorbato, tal como polisorbato 80. Los detergentes generalmente están presentes en niveles bajos, por ejemplo,

<0,01 %.

[0223] Las composiciones pueden incluir sales de sodio (por ejemplo, cloruro de sodio) para dar tonicidad. Una concentración típica es de 10 ± 2 mg/ml de NaCl, es decir, aproximadamente 9 mg/ml.

5 **[0224]** En algunas modalidades, el tampón en la composición de la vacuna es un tampón Tris, un tampón de histidina, un tampón de fosfato, un tampón de citrato o un tampón de acetato. La composición también puede incluir un lioprotector, por ejemplo, sacarosa, sorbitol o trehalosa. En ciertas modalidades, la composición incluye un conservante, por ejemplo, cloruro de benzalconio, bencetonio, clorhexidina, fenol, m-cresol, alcohol bencílico, metilparabeno, propilparabeno, 10 clorobutanol, o-cresol, p-cresol, clorocresol, nitrato fenilmercúrico, timerosal, ácido benzoico y diversas mezclas de los mismos. En otras modalidades, la composición incluye un agente de carga, como glicina. En otras modalidades más, la composición incluye un tensioactivo, por ejemplo, polisorbato-20, polisorbato-40, polisorbato-60, polisorbato-65, polisorbato-80, polisorbato-85, poloxámero-188, monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, monoestearato de sorbitán, 15 monooleato de sorbitán, trilaurato de sorbitán, triestearato de sorbitán, trioleato de sorbitán o una combinación de estos. La composición también puede incluir un agente de ajuste de la tonicidad, por ejemplo, un compuesto que hace que la formulación sea sustancialmente isotónica o isoosmótica con la sangre humana. Los agentes de ajuste de la tonicidad de ejemplo incluyen sacarosa, sorbitol, glicina, metionina, manitol, dextrosa, inositol, cloruro de sodio, arginina y 20 clorhidrato de arginina. En otras modalidades, la composición incluye adicionalmente un estabilizador, por ejemplo, una molécula que previene o reduce sustancialmente la inestabilidad química y/o física de la VLP, en forma liofilizada o líquida. Los estabilizadores de ejemplo incluyen, entre otros, sacarosa, sorbitol, glicina, inositol, cloruro de sodio, metionina, arginina y clorhidrato de arginina.

25 **[0225]** En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

[0226] En algunas modalidades, la composición farmacéutica es una emulsión estable.

[0227] En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más adyuvantes. En algunas modalidades, el uno o más adyuvantes comprenden 30 un inmunoestimulante TLR4, por ejemplo, monofosforil lípido A (MPL), glucopiranosil lípido A (GLA) y/o antígeno soluble de *Leishmania* (SLA).

[0228] También se proporcionan aquí dosis unitarias de la composición farmacéutica descrita en la presente divulgación. En algunas modalidades, la dosis unitaria comprende aproximadamente 1 µg a aproximadamente 5 µg, aproximadamente 5 µg a aproximadamente 10 µg, aproximadamente 10 µg a aproximadamente 15 µg, aproximadamente 15 µg a aproximadamente 20 µg, aproximadamente 20 µg a aproximadamente 30 µg, aproximadamente 30 µg a aproximadamente 40 µg, aproximadamente 40 µg a aproximadamente 50 µg, aproximadamente 50 µg a aproximadamente 60 µg, aproximadamente 60 µg a aproximadamente 70 µg, aproximadamente 70 µg a aproximadamente 80 µg, aproximadamente 80 µg a aproximadamente 90 µg, aproximadamente 90 µg a aproximadamente 100 µg, aproximadamente 100 µg a aproximadamente 110 µg, aproximadamente 110 µg a aproximadamente 120 µg, aproximadamente 120 µg a aproximadamente 130 µg, aproximadamente 130 µg a aproximadamente 140 µg, aproximadamente 140 µg a aproximadamente 150 µg, aproximadamente 150 µg a aproximadamente 200 µg, aproximadamente 200 µg a aproximadamente 250 µg, aproximadamente 250 µg a aproximadamente 300 µg, aproximadamente 300 µg a aproximadamente 350 µg, aproximadamente 350 µg a aproximadamente 400 µg, aproximadamente 400 µg a aproximadamente 450 µg, o aproximadamente entre 450 µg y aproximadamente 500 µg del complejo de proteínas. En algunas modalidades, la unidad de dosis comprende aproximadamente 1 µg, aproximadamente 2 µg, aproximadamente 5 µg, aproximadamente 10 µg, aproximadamente 15 µg, aproximadamente 25 µg, aproximadamente 50 µg, aproximadamente 75 µg, aproximadamente 100 µg, aproximadamente 125 µg, aproximadamente 150 µg, aproximadamente 200 µg, aproximadamente 250 µg o aproximadamente 300 µg del complejo proteico. En algunas modalidades, la dosis unitaria comprende 25 µg, 75 µg, 150 µg, 250 µg o aproximadamente 300 µg del complejo proteico. La abreviatura µg puede usarse indistintamente con la abreviatura mcg para referirse a microgramos de una sustancia.

[0229] El pH de la formulación también puede variar. En general, el pH oscila entre aproximadamente pH 6,2 y aproximadamente pH 8,0. En algunas modalidades, el pH es de aproximadamente 6,2, aproximadamente 6,4, aproximadamente 6,6, aproximadamente 6,8, aproximadamente 7,0, aproximadamente 7,2, aproximadamente 7,4, aproximadamente 7,6, aproximadamente 7,8 o aproximadamente 8,0. El pH también puede estar dentro de un rango de valores. Por lo tanto, en algunas modalidades el pH está entre aproximadamente 6,2 y

aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 6,2 y aproximadamente 7,8, entre aproximadamente 6,2 y aproximadamente 7,6, entre aproximadamente 6,2 y aproximadamente 7,4, entre aproximadamente 6,2 y aproximadamente 7,2, entre aproximadamente 6,2 y aproximadamente 7,0, entre aproximadamente 6,2 y aproximadamente 6,8, entre
5 aproximadamente 6,2 y aproximadamente 6,6, o entre aproximadamente 6,2 y aproximadamente 6,4. En otras modalidades, el pH está entre aproximadamente 6,4 y aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 6,4 y aproximadamente 7,8, entre aproximadamente 6,4 y aproximadamente 7,6, entre aproximadamente 6,4 y aproximadamente 7,4, entre aproximadamente 6,4 y aproximadamente 7,2, entre aproximadamente 6,4 y aproximadamente 7,0, entre
10 aproximadamente 6,4 y aproximadamente 6,8, o entre aproximadamente 6,4 y aproximadamente 6,6. En otras modalidades más, el pH está entre aproximadamente 6,6 y aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 6,6 y aproximadamente 7,8, entre aproximadamente 6,6 y aproximadamente 7,6, entre aproximadamente 6,6 y aproximadamente 7,4, entre aproximadamente 6,6 y aproximadamente 7,2, entre aproximadamente 6,6 y aproximadamente
15 7,0, o entre aproximadamente 6,6 y aproximadamente 6,8. En otras modalidades más, está entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 7,8, entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 7,6, entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 7,4, entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 7,2, o entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 7,0. En aun otras modalidades más, está entre
20 aproximadamente 7,0 y aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,8, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,6, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,4, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 7,2, entre aproximadamente 7,2 y aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 7,2 y aproximadamente 7,8, entre aproximadamente 7,2 y aproximadamente 7,6, entre aproximadamente 7,2 y
25 aproximadamente 7,4, entre aproximadamente 7,4 y aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 7,4 y aproximadamente 7,8, aproximadamente 7,4 y aproximadamente 7,6, entre aproximadamente 7,6 y aproximadamente 8,0 o entre aproximadamente 7,6 y aproximadamente 7,8.

[0230] En algunas modalidades, la composición farmacéutica puede incluir una o más sales,
30 como cloruro de sodio, fosfato de sodio o una combinación de los mismos. En general, cada sal está presente en la formulación entre aproximadamente 10 mM y aproximadamente 200 mM. Por

lo tanto, en algunas modalidades, cualquier sal que esté presente está presente en una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 75 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 150 mM a aproximadamente 200 mM, o de aproximadamente 175 mM a aproximadamente 200 mM. En otras modalidades, cualquier sal que esté presente está presente en una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 75 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM, o de aproximadamente 150 mM a aproximadamente 175 mM. En aun otras modalidades, cualquier sal que esté presente está presente en una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 75 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM o de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 150 mM. En aun otras modalidades, cualquier sal que esté presente está presente en una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 125 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 125 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 125 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 125 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 125 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 125 mM, de aproximadamente 75 mM a aproximadamente 125 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 125 mM. En algunas modalidades, cualquier sal que esté presente está presente en una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 100 mM, de

aproximadamente 20 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 100 mM, o de aproximadamente 75 mM a aproximadamente 100 mM. En otras
5 modalidades más, cualquier sal que esté presente está presente en una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 75 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 75 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 75 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 75 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 75 mM, o de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 75 mM. En incluso
10 otras modalidades, cualquier sal que esté presente está presente en una cantidad de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 50 mM, o de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 50 mM. En otras modalidades, cualquier sal que esté presente está presente en
15 una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 40 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 40 mM, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 40 mM, de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 40 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 30, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 30 mM, de aproximadamente 10 mM a
20 aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 25 mM o de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 20 mM. En algunas modalidades, el cloruro de sodio está presente en la formulación en aproximadamente 100 mM. En algunas modalidades, el fosfato de sodio está presente en la formulación en aproximadamente 25 mM.

[0231] Las formulaciones pueden comprender además un agente solubilizante tal como un
25 detergente no iónico. Dichos detergentes incluyen, entre otros, polisorbato 80 (Tween® 80), Triton X-100 y polisorbato 20.

[0232] En algunas modalidades, la vacuna es una vacuna pediátrica. Vacunas que pueden
coformularse con el polipéptido, la partícula similar al virus, el ácido nucleico, el vector de
expresión y/o el adyuvante. Sin limitación, una vacuna contra la hepatitis B, una vacuna contra el
30 rotavirus, una vacuna contra la difteria, el tétano y la tos ferina ("DTaP"), una vacuna contra la polio, una vacuna contra la influenza y una vacuna contra el sarampión, las paperas y la rubéola

("MMR").

[0233] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para inducir una respuesta inmunitaria contra la rabia, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad inmunológicamente eficaz de la composición inmunogénica descrita en el presente documento, que comprende la VLP como se describe en el presente documento.

[0234] En ciertas modalidades, la respuesta inmune comprende la producción de anticuerpos neutralizantes contra un agente infeccioso. En ciertas modalidades, los anticuerpos neutralizantes son independientes del complemento.

[0235] La respuesta inmune puede comprender una respuesta inmune humoral, una respuesta inmune mediada por células o ambas. En algunas modalidades, se induce una respuesta inmune contra cada proteína antigénica administrada. Una respuesta inmune mediada por células puede comprender una respuesta de células T colaboradoras (Th), una respuesta de células T citotóxicas CD8+ (CTL) o ambas. En algunas modalidades, la respuesta inmune comprende una respuesta inmune humoral y los anticuerpos son anticuerpos neutralizantes. Los anticuerpos neutralizantes bloquean la infección viral de las células. Los virus infectan las células epiteliales y también las células fibroblastos. En algunas modalidades, la respuesta inmune reduce o previene la infección de ambos tipos de células. Las respuestas de anticuerpos neutralizantes pueden ser dependientes o independientes del complemento. En algunas modalidades, la respuesta de anticuerpos neutralizantes es independiente del complemento. En algunas modalidades, la respuesta de anticuerpos neutralizantes es neutralizante cruzada; es decir, en donde un anticuerpo generado contra una composición administrada neutraliza un virus de una cepa distinta de la cepa utilizada en la composición.

[0236] Una medida útil de la potencia de los anticuerpos en la técnica es el "título de neutralización del 50 %". Para determinar el título neutralizante del 50 %, se diluye el suero de los animales inmunizados para evaluar qué tan diluido puede ser el suero y, al mismo tiempo, conservar la capacidad de bloquear la entrada del 50 % de los virus a las células. Por ejemplo, un título de 700 significa que el suero conservó la capacidad de neutralizar el 50 % del virus después de ser diluido 700 veces. Por lo tanto, títulos más altos indican respuestas de anticuerpos neutralizantes más potentes. En algunas modalidades, el título de neutralización del 50 % está en un rango que tiene un límite inferior de aproximadamente 200, aproximadamente 400, aproximadamente 600, aproximadamente 800, aproximadamente 1000, aproximadamente 1500,

aproximadamente 2000, aproximadamente 2500, aproximadamente 3000, aproximadamente 3500, aproximadamente 4000, aproximadamente 4500, aproximadamente 5000, aproximadamente 5500, aproximadamente 6000, aproximadamente 6500 o aproximadamente 7000. El rango del título de neutralización del 50 % puede tener un rango con un límite superior de aproximadamente 400, aproximadamente 600, aproximadamente 800, aproximadamente 1000, aproximadamente 1500, aproximadamente 2000, aproximadamente 2500, aproximadamente 3000, aproximadamente 3500, aproximadamente 4000, aproximadamente 4500, aproximadamente 5000, aproximadamente 5500, aproximadamente 6000, aproximadamente 6500, aproximadamente 7000, aproximadamente 8000, aproximadamente 9000, aproximadamente 10.000, aproximadamente 11.000, aproximadamente 12.000, aproximadamente 13.000, aproximadamente 14.000, aproximadamente 15.000, aproximadamente 16.000, aproximadamente 17.000, aproximadamente 18.000, aproximadamente 19.000, aproximadamente 20.000, aproximadamente 21.000, aproximadamente 22.000, alrededor de 23.000, alrededor de 24.000, alrededor de 25.000, alrededor de 26.000, alrededor de 27.000, alrededor de 28.000, alrededor de 29.000 o alrededor de 30.000. Por ejemplo, el título de neutralización del 50 % puede ser de aproximadamente 3000 a aproximadamente 25.000. Con respecto a los títulos divulgados, "aproximadamente" significa más o menos el 10 % del valor recitado.

[0237] La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido correlatos de protección contra el virus de la rabia utilizando la prueba rápida de inhibición del foco fluorescente (RFFIT) o los ensayos de prueba de neutralización del virus con anticuerpos fluorescentes (FAVN). La RFFIT es una prueba de neutralización (inhibición) del suero. FAVN se refiere a una adaptación del formato de placa de microtitulación (por ejemplo, 96 pocillos) del método RFFIT. El ensayo utiliza una cantidad constante de virus de la rabia incubado con una dilución seriada de suero y luego agregado para infectar células BHK-21. El título sérico es la dilución a la cual el 100 % del virus está neutralizado en el 50 % de los pocillos. El título se expresa en UI/ml comparándolo con la dilución neutralizante de un estándar de referencia. En un método ilustrativo, el suero de un sujeto vacunado se diluye cinco veces (1 parte de suero en 4 partes de diluyente) y luego se diluye en serie en incrementos de cinco veces. Las muestras diluidas en serie se mezclan con una cantidad estandarizada de virus de la rabia vivo y se incuban. Luego, cada muestra diluida se utiliza para infectar un cultivo de células objetivo. El resultado de esta prueba se puede expresar como un título final de anticuerpos neutralizantes del virus de la rabia (RVNA) (por ejemplo, 1:50) o como un

valor de potencia de RVNA (por ejemplo, 0,5 UI). La UI significa unidad internacional y se calcula a partir del título comparándolo con el título de un suero de referencia estándar: título de la muestra dividido por el título del suero de referencia, multiplicado por el valor UI/mL del suero de referencia. El simposio conjunto OMS/IABS de 1978, *Dev Biol Stand.* 1978;40:1-288, definió una correlación de protección para un título neutralizante de la rabia contra la proteína G de 0,5 UI/ml o superior basándose en datos de perros y gatos que demostraron una protección del 100 % frente al desafío del virus con títulos neutralizantes de 0,2 UI/ml y 0,1 UI/ml, respectivamente. Se eligió un valor conservador de 0,5 UI/ml como valor mínimo para un título de inmunización adecuado.

[0238] En algunas modalidades, las partículas similares a virus de la divulgación generan una respuesta inmune de aproximadamente 0,5 UI/mL, aproximadamente 1,0 UI/mL, aproximadamente 1,5 UI/mL, aproximadamente 2,0 UI/mL, aproximadamente 10 UI/mL, aproximadamente 25 UI/mL, aproximadamente 50 UI/mL, aproximadamente 100 UI/mL o más. En algunas modalidades, las partículas similares a virus de la divulgación generan una respuesta inmune de aproximadamente 0,5 UI/mL o más.

[0239] Las composiciones de la descripción generalmente se administrarán directamente a un sujeto. La administración directa puede realizarse mediante inyección parenteral (por ejemplo, por vía subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular o en el espacio intersticial de un tejido), por vía oral, intranasal o por cualquier otra vía adecuada. Por ejemplo, se puede utilizar la administración intramuscular en, por ejemplo, el muslo o en la parte superior del brazo. La inyección puede realizarse mediante una aguja (por ejemplo, una aguja hipodérmica), pero también puede utilizarse una inyección sin aguja. Un volumen de dosificación intramuscular típico es de aproximadamente 0,5 ml.

[0240] La dosificación puede ser mediante un esquema de dosis única o un esquema de dosis múltiples. Se pueden utilizar dosis múltiples en un programa de inmunización primaria y/o en un programa de inmunización de refuerzo. En un programa de dosis múltiples, las distintas dosis pueden administrarse por la misma vía o por vías diferentes, por ejemplo, una inducción parenteral y un refuerzo mucoso, una inducción mucosa y un refuerzo parenteral, etc. Las dosis múltiples normalmente se administrarán con al menos 1 semana de diferencia (por ejemplo, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 16 semanas, etc.). Pueden administrarse

múltiples dosis con un intervalo de al menos 1 mes (por ejemplo, alrededor de 2 meses, alrededor de 3 meses, alrededor de 4 meses, alrededor de 6 meses, alrededor de 8 meses, alrededor de 10 meses, alrededor de 12 meses, alrededor de 16 meses, etc.). Una segunda dosis o dosis posteriores pueden administrarse a intervalos más largos, por ejemplo, alrededor de 1 año o alrededor de 2 años después de la dosis anterior.

[0241] La inmunización puede comprender entre una y diez, o más administraciones (por ejemplo, inyecciones) de la composición, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más administraciones. Es posible que la primera administración no produzca una respuesta inmunitaria detectable, ya que generalmente cada administración posterior reforzará la respuesta inmunitaria generada por administraciones anteriores.

[0242] Cuando la vacuna es para uso profiláctico, el humano es preferiblemente un niño (por ejemplo, un niño pequeño o un lactante), un adolescente o un adulto; cuando la vacuna es para uso terapéutico, el humano es preferiblemente un adolescente o un adulto. Una vacuna destinada a niños también puede administrarse a adultos, por ejemplo, para evaluar la seguridad, la dosis, la inmunogenicidad, etc.

[0243] Las vacunas de la descripción pueden ser profilácticas (es decir, para prevenir enfermedades) o terapéuticas (es decir, para reducir o eliminar los síntomas de una enfermedad). El término profiláctico puede considerarse como la reducción de la gravedad o la prevención de la aparición de una afección particular. Para evitar dudas, el término vacuna profiláctica también puede referirse a vacunas que mejoran los efectos de una infección futura, por ejemplo, reduciendo la gravedad o la duración de dicha infección.

[0244] Las VLP aisladas y/o purificadas descritas en este documento se pueden administrar solas o como una iniciación o un refuerzo en regímenes de modalidad mixta, como una iniciación de ARN o una iniciación de ADN seguida de un refuerzo de proteína. Los beneficios de la estrategia de preparación de ARN/potenciación de proteínas, en comparación con una estrategia de preparación de proteínas/potenciación de proteínas, incluyen, por ejemplo, mayores títulos de anticuerpos, un perfil de subtipos IgG1:IgG2a más equilibrado, inducción de una respuesta inmune mediada por células T CD4+ de tipo TH1 similar a la de las partículas virales y una producción reducida de anticuerpos no neutralizantes. El ARN primario puede aumentar la inmunogenicidad de las composiciones independientemente de que contengan o no un adyuvante.

[0245] Las VLP de la divulgación se pueden administrar antes, simultáneamente con o después

de la vacunación con inmunoglobulina antirrábica (RIG), por ejemplo, para la profilaxis posterior a la exposición (PEP).

[0246] En la estrategia de refuerzo de proteína/preparación de ARN, el ARN y la proteína se dirigen al mismo antígeno objetivo. Los ejemplos de modos adecuados de administración de ARN incluyen partículas de replicón similares a virus (VRP), ARN de alfavirus, replicones encapsulados en nanopartículas lipídicas (LNP) o ARN formulados, como replicones formulados con nanoemulsiones catiónicas (CNE). En el documento WO2012/006380 se describen nanoemulsiones catiónicas de aceite en agua adecuadas, por ejemplo, que comprenden un núcleo de aceite (por ejemplo, que comprende escualeno) y un lípido catiónico (por ejemplo, DOTAP, DMTAP, DSTAP, DC-colesterol, etc.).

[0247] Alternativamente, se pueden administrar dos dosis de VLP en un intervalo predeterminado para lograr un efecto de refuerzo. El intervalo predeterminado puede ser de 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, o 14 días; o 3 a 5 días, 7 a 10 días, o 10 a 14 días o similares. El intervalo predeterminado puede ser de 1, 2, 3, 4 o 6 semanas; o de 2 a 3 semanas, 3 a 4 semanas, o 5 a 6 semanas o similares. El intervalo predeterminado puede ser de 1, 2, 3 o 4 meses.

[0248] En algunas modalidades, la molécula de ARN está encapsulada, unida o adsorbida en un lípido catiónico, un liposoma, un cocleato, un virosoma, un complejo inmunoestimulante, una micropartícula, una microesfera, una nanoesfera, una vesícula unilamelar, una vesícula multilamelar, una emulsión de aceite en agua, una emulsión de agua en aceite, un emulsionante, un péptido policationico, una nanoemulsión catiónica o combinaciones de estos.

[0249] La descripción proporciona además vacunas combinadas. Las vacunas de la descripción incluyen vacunas que comprenden tanto una VLP de la rabia como vacunas para uno o más de los siguientes: fiebre tifoidea, hepatitis A, polio, influenza, hepatitis B, fiebre amarilla, encefalitis japonesa, parvovirus, moquillo, adenovirus, parainfluenza, influenza, sarampión, enfermedad de Lyme, coronavirus, virus de la estomatitis vesicular, virus del herpes simple, baculovirus, thogotovirus y bornaviridae.

[0250] También se proporcionan aquí kits para la administración de ácido nucleico (por ejemplo, ARN), proteínas purificadas y VLP purificadas descritas aquí, e instrucciones de uso. La descripción también proporciona un dispositivo de administración precargado con una composición o una vacuna divulgada en este documento.

[0251] Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden

administrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos adicionales pueden incluir, pero no se limitan a, antibióticos o agentes antibacterianos, agentes antieméticos, agentes antifúngicos, agentes antiinflamatorios, agentes antivirales, agentes inmunomoduladores, citocinas, antidepresivos, hormonas, agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, agentes antimitóticos, inhibidores de la topoisomerasa, agentes citostáticos, agentes antiinvasión, agentes antiangiogénicos, inhibidores de la función del factor de crecimiento, inhibidores de la replicación viral, inhibidores de enzimas virales, agentes anticancerígenos, interferones α , interferón β , ribavirina, hormonas y otros moduladores del receptor tipo Toll, inmunoglobulinas (Ig) y anticuerpos que modulan la función de Ig (como anti-IgE (omalizumab)).

[0252] En ciertas modalidades, las composiciones divulgadas en este documento pueden usarse como un medicamento, por ejemplo, para usar en la inducción o mejora de una respuesta inmune en un sujeto que lo necesita, tal como un mamífero.

[0253] En ciertas modalidades, las composiciones divulgadas en este documento pueden usarse en la fabricación de un medicamento para usar en la inducción o mejora de una respuesta inmune en un sujeto que lo necesita, tal como un mamífero.

[0254] Una forma de comprobar la eficacia del tratamiento terapéutico implica el seguimiento de la infección por un agente infeccioso después de la administración de las composiciones o vacunas descritas en este documento. Una forma de comprobar la eficacia del tratamiento profiláctico consiste en controlar las respuestas inmunitarias, sistémicamente (por ejemplo, controlando el nivel de producción de IgG1 e IgG2a) y/o mucosalmente (por ejemplo, controlando el nivel de producción de IgA), contra el antígeno. Por lo general, las respuestas de anticuerpos séricos específicos del antígeno se determinan después de la inmunización, pero antes del desafío, mientras que las respuestas de anticuerpos mucosos específicos del antígeno se determinan después de la inmunización y después del desafío.

Método de uso

[0255] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para generar una respuesta inmune en un sujeto a un sujeto infectado con el virus de la rabia, que comprende administrar cualquier polipéptido, nanopartícula, composición farmacéutica, polinucleótido o vector de la divulgación en una cantidad eficaz para generar una respuesta inmune.

[0256] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para inmunizar un sujeto contra

la infección por la rabia a un sujeto infectado con el virus de la rabia, que comprende administrar cualquier polipéptido, nanopartícula, composición farmacéutica, polinucleótido o vector de la divulgación en una cantidad eficaz para generar una respuesta inmune.

[0257] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para brindar profilaxis posterior a la exposición en un sujeto infectado con el virus de la rabia, que comprende administrar cualquier polipéptido, nanopartícula, composición farmacéutica, polinucleótido o vector de la divulgación en una cantidad eficaz para generar una respuesta inmune.

[0258] En algunas modalidades del método, la respuesta inmune comprende una respuesta inmune humoral.

[0259] En algunas modalidades del método, la respuesta inmune comprende una respuesta de anticuerpos policlonales contra una proteína G de la rabia.

[0260] En algunas modalidades del método, la respuesta inmune comprende una respuesta de anticuerpos neutralizantes al virus de la rabia.

[0261] En algunas modalidades del método, el método genera una respuesta inmune protectora al virus de la rabia.

[0262] En algunas modalidades del método, el método genera anticuerpos neutralizantes contra el virus de la rabia.

[0263] En algunas modalidades del método, el paso de administración comprende una inyección intramuscular o una inyección subcutánea.

[0264] En algunas modalidades del método, el método da como resultado la producción de anticuerpos neutralizantes específicos de la rabia en el sujeto que los necesita.

[0265] En algunas modalidades del método, el método da como resultado un aumento de los anticuerpos neutralizantes específicos de la rabia en el sujeto de al menos aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 15 veces, al menos aproximadamente 20 veces o al menos aproximadamente 25 veces en comparación con el valor inicial.

[0266] En algunas modalidades del método, el método genera un título neutralizante de al menos 0,5 UI/mL en una prueba rápida de inhibición del foco fluorescente (RFFIT) y/o una prueba de neutralización del virus con anticuerpos fluorescentes (FAVN).

[0267] En algunas modalidades del método, el sujeto es un animal no humano.

[0268] En algunas modalidades del método, el sujeto es un animal de compañía.

[0269] En algunas modalidades del método, el sujeto es un humano.

[0270] En otro aspecto, la divulgación proporciona una célula huésped, que comprende polinucleótido que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica cualquier polipéptido o nanopartícula de la divulgación.

[0271] En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para fabricar una vacuna, que comprende: cultivar la célula huésped de la divulgación en un medio de cultivo de modo que la célula huésped secrete un primer componente polipeptídico en el medio de cultivo; purificar el primer componente polipeptídico del medio de cultivo; mezclar el primer componente polipeptídico con un segundo componente polipeptídico, en donde el primer y el segundo componentes polipeptídicos se autoensamblan para formar una nanopartícula; y/o purificar la nanopartícula.

Definiciones

[0272] Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente, incluidos los gráficos y los apéndices que tengan, se incorporan en su totalidad mediante referencia para todos los fines en la misma medida como si cada publicación, patente o solicitud patente individual, gráfico o apéndice se indicara específica e individualmente como incorporada mediante referencia en su totalidad para todos los fines.

[0273] El término "un" o "una" se refiere a uno o más de esa entidad, es decir, puede referirse a referentes plurales. De ese modo, las expresiones "un/a", "uno/a o más" y "al menos uno/a" se usan indistintamente aquí. Además, la referencia a "un elemento" mediante el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que esté presente más de uno de los elementos, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y sólo uno de los elementos.

[0274] El término "aproximadamente" o "aproximadamente" significa dentro de un rango de error aceptable para el valor particular según lo determinado por una persona con conocimientos ordinarios en la materia, lo que dependerá en parte de cómo se mida o determine el valor, por ejemplo, las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, "aproximadamente" puede significar dentro de 1 o más de 1 desviación estándar. Alternativamente, "aproximadamente" puede significar más o menos un rango de, por ejemplo, hasta un 20 %, hasta un 10 % o hasta un 5 %. Cuando se utiliza junto con un rango o una serie de valores, el término "aproximadamente" se aplica a los puntos finales del rango o de cada uno de los valores enumerados en la serie, a menos

que se indique lo contrario. Tal como se utilizan en esta solicitud, los términos "aproximadamente" y "aproximadamente" se utilizan como equivalentes. El término "aproximadamente" cuando se utiliza aquí para referirse a una eliminación del dominio del bucle de fusión de la proteína G de la rabia, puede significar +/- 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o 30 residuos.

5 **[0275]** El término "antígeno" se refiere a un polipéptido o complejo polipeptídico que incluye al menos un componente diseñado para provocar una respuesta inmunitaria.

[0276] El término "polipéptido" se refiere a una serie de residuos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos y opcionalmente una o más modificaciones postraduccionales (por ejemplo, glicosilación) y/u otras modificaciones (incluidas, entre otras, la conjugación de la fracción
10 polipeptídica utilizada como marcador, como una etiqueta fluorescente, o un adyuvante de unión covalente).

[0277] El término "infección" se refiere tanto a infecciones sintomáticas como asintomáticas.

[0278] El término "ectodominio" se refiere a la porción de una proteína transmembrana o glicoproteína que, en el estado nativo de la proteína, se encuentra en el exterior de la membrana
15 celular o viral.

[0279] El término "variante" hace referencia a un polipéptido que tiene una o más inserciones, deleciones o sustituciones de aminoácidos con respecto a un polipéptido de referencia, pero que retiene una o más propiedades de la proteína de referencia. Cuando se utiliza el término "variante", la variante comparte al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %
20 o 100 % de identidad de secuencia con la proteína de referencia.

[0280] El término "variante antigénica" se refiere a una variante que tiene uno o más epítopos en común con un polipéptido de referencia y/o genera la misma respuesta inmune o una similar cuando se administra a un sujeto como polipéptido de referencia.

[0281] El término "variante funcional" se refiere a una variante que exhibe el mismo efecto
25 funcional o efectos similares a los de un polipéptido de referencia. Por ejemplo, una variante funcional de un dominio de multimerización es capaz de promover la multimerización en la misma medida, o en una medida similar, que un dominio de multimerización de referencia y/o es capaz de multimerizarse con los mismos dominios de multimerización cognados que un dominio de multimerización de referencia.

30 **[0282]** El término "enlazador" se refiere a un enlace químico (es decir, un enlace covalente o una serie de enlaces covalentes con fracciones químicas intermedias). Un "enlazador

polipeptídico" se refiere a un enlazador que consiste en un polipéptido insertado entre otras dos cadenas polipeptídicas.

[0283] El término "dominio" se refiere a cualquier porción de un polipéptido que adopta una estructura terciaria.

5 **[0284]** Los términos "dominio de multimerización" y "multimerizar" se refieren a la capacidad de un polipéptido, o dominio de un polipéptido, de formar dímeros, trímeros, tetrameros, pentámeros o hexámeros y/o formar heterómeros con otros dominios de multimerización.

[0285] El término "dominio de trimerización" se refiere a un dominio de multimerización que forma trímeros.

10 **[0286]** El término "dominio formador de VLP" se refiere a un dominio de multimerización que, solo o con otros dominios de multimerización, forma un complejo proteico simétrico.

[0287] El término "fragmento" se refiere a un polipéptido que tiene uno o más truncamientos N-terminales o C-terminales en comparación con un polipéptido de referencia.

[0288] El término "fragmento funcional" se refiere a una variante funcional de un fragmento.

15 **[0289]** La expresión "sustitución de aminoácidos" hace referencia al reemplazo de un residuo único de aminoácido en una secuencia con otro residuo de aminoácido. Se utilizan las formas estándar de abreviaturas para la sustitución de aminoácidos. Por ejemplo, V94R se refiere a la sustitución de valina (V) en una secuencia de referencia con arginina (R). La abreviatura Arg94 se refiere a cualquier secuencia en la que el residuo 94, con respecto a una secuencia de referencia,
20 es arginina (Arg).

[0290] Los términos "hélice" o "helicoidal" se refieren a una estructura secundaria α -helicoidal en un polipéptido que se sabe que ocurre o se predice que ocurrirá. Por ejemplo, una secuencia puede describirse como helicoidal cuando el modelado computacional sugiere que es probable que la secuencia adopte una conformación helicoidal.

25 **[0291]** El término "componente polipeptídico" se refiere a un polipéptido capaz de ensamblarse en una nanopartícula en condiciones apropiadas.

[0292] El término "vacuna" se refiere a una composición capaz de utilizarse para producir una respuesta inmune en un sujeto.

[0293] El término "excipientes farmacéuticamente aceptables" significa excipientes
30 biológicamente o farmacológicamente compatibles con el uso in vivo en animales o humanos, y puede significar excipientes aprobados por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o

incluidos en la Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales y, más particularmente, en humanos.

[0294] El término "excipiente" como se utiliza en este documento se refiere a una sustancia inerte que se utiliza comúnmente como diluyente, vehículo, conservante, aglutinante o agente estabilizador para medicamentos que imparte una propiedad física beneficiosa a una formulación, como mayor estabilidad de proteínas, mayor solubilidad de proteínas y menor viscosidad. Los ejemplos de excipientes incluyen, pero no se limitan a, proteínas (por ejemplo, pero no se limitan a, albúmina sérica), aminoácidos (por ejemplo, pero no se limitan a, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, glicina), surfactantes (por ejemplo, pero no se limitan a, SDS, Tween 20, Tween 80, polisorbato y surfactantes no iónicos), sacáridos (por ejemplo, pero no se limitan a, glucosa, sacarosa, maltosa y trehalosa), polioles (por ejemplo, pero no se limitan a, manitol y sorbitol), ácidos grasos y fosfolípidos (por ejemplo, pero no se limitan a, alquil sulfonatos y caprilato).

[0295] El término "adyuvante" se refiere a una sustancia farmacéuticamente aceptable que mejora la respuesta inmune a un antígeno cuando se coadministra con el antígeno o se administra antes, durante o después de la administración del antígeno a un sujeto.

[0296] El término "inmunoestimulante TLR4" se refiere a un adyuvante que estimula el receptor tipo Toll 4 (TLR4) en las células inmunes de un sujeto para modular una respuesta inmune, por ejemplo, monofosforil lípido A (MPL), glucopiranosil lípido A (GLA) y/o antígeno soluble de Leishmania (SLA).

[0297] La expresión "cantidad eficaz" hace referencia a la cantidad de una composición que, cuando se administra a un sujeto para tratar un estado, trastorno o afección es suficiente para lograr dicho tratamiento o cuando se administra a un sujeto para generar una respuesta inmunitaria es suficiente para generar dicha respuesta inmunitaria. La "cantidad efectiva" variará dependiendo del ingrediente activo, el estado, trastorno o condición a tratar y su gravedad, y la edad, el peso, la condición física y la capacidad de respuesta del sujeto a tratar.

[0298] El término "respuesta inmune" se refiere a la provocación de la actividad de uno o más tipos de células inmunes en el sujeto. Las respuestas inmunes incluyen, por ejemplo, las respuestas de las células T y de las células B.

[0299] El término "respuesta inmune humoral" se refiere a una respuesta inmune que genera anticuerpos plasmáticos o séricos (por ejemplo, IgG).

[0300] El término "respuesta inmunitaria protectora" se refiere a una respuesta inmunitaria que previene y/o reduce la gravedad de la infección con un patógeno cuando el sujeto se expone posteriormente al patógeno, o a una respuesta inmunitaria que genera un nivel de respuesta inmunitaria que se correlaciona con la protección. Por ejemplo, la vacunación puede generar una

5 respuesta inmune protectora si da como resultado la producción, en el plasma o suero, del sujeto (por ejemplo, un ser humano, una mascota o un animal agrícola), de anticuerpos neutralizantes que protegen al sujeto contra una infección posterior y/o están presentes en una cantidad que se observa que confiere protección a los sujetos de prueba (por ejemplo, hámsteres dorados sirios (SGH)).

[0301] El término "respuesta de anticuerpos policlonales" se refiere a una respuesta de

10 anticuerpos que comprende anticuerpos que tienen más de una especificidad y/o variación en sus secuencias de anticuerpos.

[0302] El término "neutralizante" (por ejemplo, "respuesta de anticuerpos neutralizantes") se refiere a los anticuerpos que previenen la infección y/o reducen el nivel de infección por un patógeno. Una respuesta de anticuerpos neutralizantes se puede medir en ensayos in vitro (por

15 ejemplo, infección de células en cultivo por un patógeno en presencia del anticuerpo) o en un ensayo in vivo (por ejemplo, determinando una dosis protectora de un anticuerpo mediante la administración del anticuerpo a un sujeto antes del desafío con una dosis infecciosa de un patógeno).

[0303] El término "tiempo predeterminado" se refiere a un intervalo de tiempo seleccionado

20 como apropiado para observar un efecto particular. Se puede seleccionar un tiempo predeterminado antes o durante un experimento o procedimiento.

[0304] El término "profilaxis posterior a la exposición" se refiere a la administración de una composición antigénica (por ejemplo, una vacuna) a un sujeto previamente expuesto y/o infectado con un patógeno para provocar una respuesta inmunitaria para proteger contra la infección por el

25 patógeno y/o disminuir la gravedad de uno o más síntomas de la infección por el patógeno.

[0305] El término "administrar" se refiere a proporcionar una composición a un sujeto de una manera que permita que la composición tenga el efecto previsto. La administración para vacunación o profilaxis posterior a la exposición puede realizarse mediante inyección intramuscular, inyección intravenosa, inyección intraperitoneal, inyección subcutánea o cualquier

30 otra vía adecuada.

[0306] Los términos "inmunización" e "inmunizar" hacen referencia a la administración de

una composición a un sujeto en una cantidad suficiente para provocar, después de una o más etapas de administración, una respuesta inmunitaria deseada (por ejemplo, una respuesta inmunitaria humoral). El término "inmunizante" tal como se utiliza en este documento incluye la profilaxis posterior a la exposición.

5 **[0307]** El término "sujeto" se refiere a un animal humano o no humano al que se le puede administrar una composición para vacunación, tratamiento u otro propósito. En algunas modalidades, el animal no humano es un primate no humano que incluye, entre otros, conejo, hámster, jerbo, cerdo, vaca, oveja, cabra, conejillo de indias, rata, ratón, ardilla, lobo, zorro, caballo, cebrá, jirafa, elefante, gato, perro, llama o hurón.

10 **[0308]** El término "fabricación" se refiere a la producción de un polipéptido recombinante o una partícula similar a un virus a cualquier escala, incluyendo, entre otras, al menos 25 mL, 50 mL, 1 L, 2 L, 1000 L, 50.000 L o mayor.

[0309] Los términos "cultivo" y "medio de cultivo" se refieren al cultivo celular estándar y a las técnicas de expresión de proteínas recombinantes.

15 **[0310]** El término "célula huésped" se refiere a cualquier célula capaz de utilizarse en la expresión de un polipéptido recombinante.

[0311] El término "secreta" se refiere a la capacidad de las células huésped de secretar polipéptidos en el medio en el que se cultivan.

[0312] El término "secuencia señal" se refiere a una secuencia polipeptídica, típicamente en el extremo N de un polipéptido expresado en una célula huésped que dirige el polipéptido a un compartimento celular particular. Una secuencia señal puede ser una señal de secreción para hacer que la célula huésped secrete el polipéptido en el medio en el que se cultiva la célula huésped. Se conocen varias secuencias de señales y está dentro de la capacidad de un artesano común seleccionar una secuencia de señales apropiada. Una secuencia señal es un péptido corto
20 (normalmente de 16 a 30 aminoácidos de longitud) que se escinde durante o después de completar la translocación para generar un péptido señal libre y una proteína madura.

[0313] El término "mezcla" se refiere a poner dos soluciones en contacto para permitir que se mezclen.

[0314] El término "purificar" se refiere a separar una molécula de otras sustancias presentes
30 en una composición. Los polipéptidos se pueden purificar por afinidad (por ejemplo, a un anticuerpo o a una etiqueta, por ejemplo, utilizando una resina de captura con etiqueta His), por

carga (por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico), por tamaño (por ejemplo, ultracentrifugación preparativa, cromatografía de exclusión por tamaño) o de otro modo.

[0315] Los términos "polinucleótido" y "ácido nucleico", utilizados indistintamente en este documento, se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de más de aproximadamente 100 nucleótidos, ya sean ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos. Por lo tanto, este término incluye, pero no se limita a, ADN o ARN monocatenario, bicatenario o multcatenario, ADN genómico, ADNc, híbridos de ADN-ARN o un polímero que comprende bases de purina y pirimidina u otras bases de nucleótidos naturales, modificadas química o bioquímicamente, no naturales o derivatizadas.

[0316] El término "idéntico/a" o "porcentaje de identidad", en el contexto de dos o más secuencias de ácidos nucleicos o polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tiene un porcentaje especificado de nucleótidos o residuos aminoácidos que son iguales, cuando se comparan y alinean para una correspondencia máxima. Los métodos de alineamiento de secuencias para comparación son bien conocidos en la técnica. Una vez que estén alineadas, la cantidad de coincidencias se determina contando la cantidad de posiciones donde un residuo de aminoácido o nucleótido idéntico se presenta en ambas secuencias. El porcentaje de identidad de secuencia se determina dividiendo la cantidad de coincidencias en la alineación por la longitud de la secuencia de referencia, seguido de la multiplicación del valor resultante por 100. Por ejemplo, una secuencia peptídica que tiene 1166 coincidencias cuando se alinea con una secuencia de referencia que tiene 1554 aminoácidos es un 75,0 por ciento idéntica a la secuencia de prueba ($1166 \div 1554 * 100 = 75,0$). Tal como se utilizan los términos en la presente, los huecos en la alineación no disminuyen el porcentaje de identidad de secuencia. A menos que se especifique lo contrario, la alineación óptima de las secuencias para la comparación se realiza mediante el algoritmo de alineación global de Needleman y Wunsch, Mol. Biol. 48:443 (1970) implementado por EMBOSS Needle (disponible en línea en ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/) (Madeira et al. *Nucleic Acids Res.* 50(W1):W276-W279 (2022)). Pueden utilizarse otros métodos de alineación, incluidos, entre otros, los descritos en Devereux, et al, *Nucleic Acids Res.* 12:387-95 (1984); Atschul et al. *J. Mo. Biol.* 215:403-10 (1990) (BLAST); Carrillo y Lipman *Siam J. Appl. Math.* 48(5) (1988); Computational Molecular Biology (Lesk, AM, ed., 1989); Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, DW, ed., 1993); Computer Analysis of Sequence Data, Parte I, (Griffin y Griffin, eds., 1994); Sequence Analysis in Molecular Biology

(von Heinje, 2012); Sequence Analysis Primer (Gribkov y Devereux, J., eds. 1993). La identidad de secuencia se calcula utilizando la implementación del algoritmo Needleman-Wunsch proporcionado por la Biblioteca Nacional de Medicina (disponible en línea en blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=GlobalAln).

- 5 **[0317]** El término "tratar" significa uno o más de aliviar, aliviar, retrasar, reducir, revertir, mejorar o controlar al menos un síntoma de una afección en un sujeto. El término "tratar" también puede significar uno o más de los siguientes: detener, retrasar la aparición (es decir, el período anterior a la manifestación clínica de la afección) o reducir el riesgo de desarrollar o empeorar una afección.
- 10 **[0318]** Tal como se utiliza en este documento, "sustancialmente" o "sustancial" se refiere al alcance o grado completo o casi completo de una acción, característica, propiedad, estado, estructura, elemento o resultado. Por ejemplo, un objeto que está "sustancialmente" encerrado significaría que el objeto está completamente encerrado o casi completamente encerrado. El grado exacto de desviación permisible respecto de la integridad absoluta puede depender en algunos
- 15 casos del contexto específico. Sin embargo, en términos generales, la proximidad de la finalización será tal que se obtendrá el mismo resultado general que si se obtuviera la finalización absoluta y total. El uso de "sustancialmente" es igualmente aplicable cuando se utiliza en una connotación negativa para referirse a la falta total o casi total de acción, característica, propiedad, estado, estructura, elemento o resultado. Por ejemplo, una composición que está "sustancialmente libre
- 20 de" otros agentes activos carecería completamente de otros agentes activos o carecería casi por completo de otros agentes activos de tal manera que el efecto sería el mismo que si careciera completamente de otros agentes activos. En otras palabras, una composición que esté "sustancialmente libre de" un ingrediente o elemento u otro agente activo aún puede contener dicho elemento siempre que no haya un efecto medible del mismo.
- 25 **[0319]** Tal como se utiliza en este documento, el término "animal de compañía" se refiere a cualquier animal cuyo propietario, criador o cuidador controla los hábitos de alimentación. En algunas realizaciones, un animal de compañía es un animal seleccionado del grupo que consiste en perro, gato, conejo, hámster, jerbo, hurón y conejillo de indias. En algunas modalidades, un animal de compañía es un perro o un gato.
- 30 **[0320]** La descripción incluye información que puede ser útil para comprender la presente invención. Ninguna declaración hecha en el presente debe interpretarse como una admisión de que

alguna de la información aquí proporcionada sea técnica anterior o relevante para las invenciones actualmente reivindicadas, o que alguna publicación a la que se hace referencia específica o implícita esté disponible como técnica anterior.

EJEMPLOS

5 Ejemplo 1

[0321] Se diseñaron y probaron diversas modificaciones de la proteína G de la rabia como proteínas de fusión al dominio de multimerización I53-50A. Para muchos, la expresión era baja y/o la proteína estaba agregada. En la **Tabla 7** se incluye un subconjunto de diseños probados.

[0322] Las secuencias de polinucleótidos humanos optimizadas por codones se crearon mediante síntesis genética y se clonaron en vectores de expresión. Cada vector de expresión se expresó individualmente mediante transfección transitoria en células Expi293. Los sobrenadantes se recogieron cuatro días después de la transfección.

[0323] Se realizó un Western blot utilizando un anticuerpo monoclonal anti-His₆. Los medios acondicionados (12 µl) de las transfecciones transitorias se mezclaron con 4 µl de tampón de carga de muestra reducido y se calentaron a 95 °C durante 5 minutos. Las muestras se cargaron en un gel de proteína NuPAGE 4-12 % Bis-Tris y se procesaron durante 2 horas a 120 V. Las proteínas se transfirieron a una membrana Immuno-Blot PDVF (Bio-Rad). Después de la transferencia, la mancha se bloqueó con tampón de caseína 1X (Bio-Rad) durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Luego, la membrana se incubó con un anticuerpo monoclonal anti-His₆ conjugado con HRP durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación. La membrana se lavó 3 veces durante 15 minutos cada vez en PBS con 0,1 % de Tween 20. A continuación, se incubó la membrana con sustrato HRP (kit Pierce ECL plus) durante 2 minutos y se obtuvieron imágenes.

[0324] Los niveles de expresión se evaluaron mediante inspección visual de transferencias Western y se designaron como sin expresión (X) o baja expresión (*) a alta expresión (****), sin expresión a >10 mg/L.

Tabla 7: Construcciones de antígenos y mutaciones

Núm. de construcción	ID de secuencia	Secuencia de la proteína G de la rabia	Modificación Numeración por SEQ ID NO: 53	Nivel de expresión transitorio
Construcción A	76	20-454	N/C	*
Construcción B	77	20-454	Sustitución de dos bucles de fusión con enlaces polipeptídicos: los residuos 85-102 y 132-148 se	****

			sustituyen cada uno por el enlace Ser-Gly-Ser-Gly	
Construcción C	78	20-417	Eliminación del dominio del bucle de fusión: los residuos 66-207 se sustituyen por el enlazador Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (la construcción incluye mutación puntual); extremo C en el residuo 417	****
Construcción D	79	20-454	Eliminación del dominio del bucle de fusión: los residuos 69-207 se sustituyen por el enlazador Ser-Ser-Ile-Gly-Lys (la construcción incluye mutación puntual); extremo C en el residuo 454	***
Construcción E	80	20-417	Eliminación del dominio del bucle de fusión: los residuos 69-207 se sustituyen por el enlazador Ile-Pro-Gly-Ser-Asn (la construcción incluye mutación puntual); extremo C en el residuo 417	***
Construcción F	81	20-417	Eliminación del dominio del bucle de fusión: los residuos 66-207 se sustituyen por el enlazador Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly; extremo C en el residuo 417	****

[0325] Construcción A, la secuencia de ectodominio de tipo salvaje para la G de la rabia fusionada a I53-50A, expresada en niveles bajos (<2 mg/L). La proteína resultante estaba severamente agregada.

[0326] La Construcción B, que tiene dos delecciones dentro del dominio del bucle de fusión, ha mejorado enormemente la expresión y no se agregó como la secuencia de tipo salvaje.

[0327] Las delecciones del dominio del bucle de fusión completo fueron sorprendentemente bien toleradas, ya que las construcciones con truncamientos C-terminales en el residuo 417 (Construcción C y Construcción F) o el residuo 454 (Construcción D y Construcción E) se expresaron bien.

[0328] Se ha informado que la proteína G de la rabia tiene toxicidad en las células de mamíferos. Para probar la capacidad de expresar de manera estable las proteínas G de la rabia seleccionadas, los polinucleótidos que codifican la Construcción B o la Construcción F se transfectaron en CHO-K1 y se seleccionaron grupos estables utilizando glutamina sintetasa como marcador de selección. Ninguna célula de expresión de la Construcción B sobrevivió a la selección con glutamina durante 14 días. Otras tres construcciones probadas tampoco generaron líneas

celulares estables. Se seleccionó con éxito una línea celular estable para la Construcción F utilizando un sistema de lote alimentado a escala de 25 mL, la expresión de CompA-Construcción F fue superior a 400 mg/L.

Ejemplo 2

5 **[0329]** La etiqueta de multimerización I53-50A es capaz de formar un trímero por sí sola. Se sabe que cuando se mezclan con I53-50B pentamérico, los trímeros I53-50A se autoensamblan para formar una partícula icosaédrica. La Construcción B, la Construcción C y la Construcción F (obtenidos mediante transfección transitoria) se ensamblaron con I53-50B para generar VLP. Todos ensamblados en VLP monodispersos del tamaño esperado. La caracterización
10 representativa de las VLP de la Construcción F se muestra en la **FIG. 4** (SDS-PAGE), **FIG. 5** (microscopía electrónica de tinción negativa), **FIG. 6** (BLI) y **FIG. 7** (ELISA).

[0330] Para caracterizar la proteína G de la rabia en las partículas resultantes, se probó la unión de los anticuerpos neutralizantes D1-25 y 1112-1 (RD-Biotech) que reconocen los sitios antigénicos III y II, respectivamente, mediante interferometría de biocapa (BLI). Ambos
15 anticuerpos neutralizantes se unen a las partículas de la Construcción F, ya sea almacenadas a temperatura ambiente o sometidas a congelación/descongelación (**FIG. 6**).

[0331] También se probó la unión de partículas ("VLP") o trímeros solubles ("CompA") para muestras elaboradas a partir de células Expi293 transfectadas transitoriamente ("HEK") o líneas celulares CHO-K1 estables ("CHO-K1"). Los pocillos de una placa de 96 pocillos se recubrieron
20 con 2 µg/mL de anticuerpo monoclonal 1112-1 (100 µl) en tampón de carbonato-bicarbonato, pH 9,6 a 4 °C durante la noche. Las placas se lavaron 3 veces con 300 µl de PBS con 0,05 % de Tween 20. Después de bloquear con 100 µl de PBS con 2 % de BSA durante 1 hora a 37 °C, las placas se lavaron 3 veces como se indicó anteriormente. Se añadieron partículas de la Construcción F trimérica (Construcción F compA) o de la Construcción F (Construcción F VLP) en un volumen
25 de 100 µl y las placas se agitaron suavemente durante 1 hora a 37 °C. Las placas se lavaron 3 veces con 200 µl de PBS con 0,05 % de Tween 20. Se añadió D1-25 biotinilado (100 µl) en PBS con 0,05 % de Tween-20 y 0,1 % de BSA y las placas se agitaron suavemente durante 1 hora a 37 °C. Después de lavar las placas 3 veces con 300 µl de PBS con 0,05 % de Tween 20, se añadieron 100 µl de una dilución 1:5000 de estreptavidina conjugada con HRP a cada pocillo y se agitó
30 suavemente durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavaron 6 veces con 200 µl de PBS con 0,05 % de Tween 20, y luego se agregaron 100 µl de sustrato TMB y se reveló en la

oscuridad durante 10 minutos. La reacción se detuvo mediante la adición de 100 µl de 0,1 M de HCl y se midió la absorbancia a 450 nm en un lector de placas. El sistema ELISA sándwich mostraría una señal positiva solo si la muestra se une tanto al anticuerpo de captura 1112-1 como al anticuerpo de detección D1-25.

- 5 **[0332]** Todas las muestras de CompA y VLP mostraron una señal positiva en el ELISA sándwich (FIG. 7), lo que indica que la proteína G de la rabia con eliminación del dominio del bucle de fusión está plegada de manera estable en una conformación antigénica, ya sea como un trímero o ensamblada en una partícula. La fuente de la muestra (células 293F o células CHO) no afectó la unión; se observó una señal más alta para las partículas que para el trímero (FIG. 7).

10 **Ejemplo 3**

[0333] Se realizó un estudio en ratones BALB/c sin tratamiento previo para explorar la inmunogenicidad de una proteína G de la rabia que incluye una eliminación de los residuos 66-207 que se muestran en una partícula similar al virus (VLP) de dos componentes. Los experimentos del Ejemplo 2 se realizaron utilizando el par de dominios de multimerización I53-50A / I53-50B.

- 15 Para este ejemplo, se utilizó una partícula diferente, en la que el ectodominio de la proteína G de la rabia se fusionó con el dominio de multimerización I53-dn5B, que forma un trímero, y luego se ensambló con un dominio de multimerización pentámero I53-dn5A para formar una partícula.

[0334] El ectodominio de la proteína G de la rabia fusionado al dominio de trimerización I53-dn5B (SEQ ID NO: 97) ("Construcción C-Componente") se expresó y purificó, y luego se mezcló
20 con I53-dn5A para ensamblar una partícula. El complejo proteico trimérico I53-dn5B se formuló con un adyuvante de aceite en agua (Addavax™). La partícula I53-dn5B / dn5A ensamblada se formuló con el adyuvante de aceite en agua (Addavax™) o un adyuvante de hidróxido de aluminio (alumbre) (Alhydrogel™). La vacuna antirrábica adyuvada comercial IMRAB® 3 ("ImRab3") se utilizó como control.

- 25 **[0335]** Se realizó un estudio de inmunogenicidad en ratones que incluyó cuatro grupos de ocho ratones BALB/c hembras inmunizados los días 0 y 21. Los ratones fueron inmunizados dos veces con 2,5 µg de VLP de la Construcción C, 4 µg de VLP de la Construcción C-dn5B (el doble del contenido de antígeno de las VLP), o una décima parte de la dosis comercial de ImRab3. Se recolectaron muestras de sangre los días 0, 21 y 35 y se procesaron a suero para su análisis en una
30 prueba rápida de inhibición de focos fluorescentes (RFFIT) para anticuerpos neutralizantes. El suero del día 0 se agrupó por grupo. Los datos del título de anticuerpos neutralizantes se graficaron

mostrando la media geométrica con la desviación estándar (SD) geométrica. Los análisis estadísticos grupales se realizaron utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (GraphPad Prism V.9.3.1).

[0336] Los sueros del día 35 mostraron títulos neutralizantes robustos para las VLP de Construcción C con adyuvante de aceite en agua y el control ImRab3 con títulos medios geométricos de 37,87 y 17,9 UI/ml, respectivamente (**FIG. 8**). Las VLP de la Construcción C (Construcción C-dn5) formuladas con alumbre o el componente Construcción C-dn5B trimérico (Construcción C-CompA) indujeron títulos bajos pero detectables con títulos de media geométrica de 0,25 y 0,78 UI/ml, respectivamente (**FIG. 8**). El correlato reconocido de protección contra la rabia es de 0,5 UI/ml.

Ejemplo 4

[0337] Se realizó un estudio en ratones BALB/c ingenuos para explorar la inmunogenicidad de diferentes antígenos G de la rabia. La Construcción C mostrada en I53-50 o dn5 se incluyó para comparar las dos plataformas VLP. También se incluyeron la Construcción F y la Construcción B (VLP I53-50). El objetivo del estudio fue evaluar la inducción de títulos neutralizantes por la Construcción B, la Construcción C y la Construcción F. Los ratones fueron inmunizados dos veces con cada VLP (0,1 µg) formulada con Addavax, un adyuvante de aceite en agua. Un grupo fue inmunizado con una vacuna antirrábica comercial para mascotas MRAB® 3 ("ImRab3") administrada en una dosis canina de 1/10. Se realizó una prueba RFFIT (prueba de inhibición rápida de focos fluorescentes) en muestras de suero para determinar los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la rabia. Los datos del título de anticuerpos neutralizantes se graficaron mostrando la media geométrica con la SD geométrica. Los análisis estadísticos grupales se realizaron utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (GraphPad Prism V.9.3.1).

[0338] Se inmunizaron cinco grupos de ocho ratones BALB/c hembras los días 0 y 21. Se recolectaron muestras de sangre los días 0, 21 y 35 y se procesaron en suero para su análisis en una prueba RFFIT para anticuerpos de neutralización. El suero del día 0 se agrupó por grupo.

[0339] Los sueros del día 35 mostraron títulos neutralizantes inducidos por la Construcción C (I53-50 y dn5), la Construcción B y la Construcción F en niveles comparables (**FIG. 9**) y los títulos de todos los animales estaban por encima del correlato de protección (0,5 UI/ml). Los títulos medios geométricos inducidos por las VLP variaron de 21,3 a 34,3 UI/ml y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (prueba de Mann-Whitney). Los títulos observados

con las VLP fueron comparables a los de ImRab3.

Ejemplo 5

[0340] Se realizó un estudio en ratones ICR sin tratamiento previo para explorar la inmunogenicidad de dos antígenos G de la rabia que se muestran en una partícula similar al virus (VLP) de dos componentes. Se evaluaron partículas de Construcción C I53-50 o partículas de Construcción F I53-50, formuladas con adyuvante de aceite en agua (Addavax™), en dosis de 3 µg, 1 µg, 0,3 µg y 0,1 µg, en comparación con el control ImRab3 administrado en una dosis canina de 1/10. Se realizó una prueba RFFIT (prueba de inhibición rápida de focos fluorescentes) para determinar los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la rabia.

[0341] Se inmunizaron nueve grupos de ocho ratones ICR hembras exogénicos los días 0 y 21. Se recogieron muestras de sangre los días 0, 21 y 35 y se procesaron para su análisis en suero. El suero del día 0 se agrupó por grupo. Los datos del título de anticuerpos neutralizantes se graficaron mostrando la media geométrica con la SD geométrica. Los análisis estadísticos grupales se realizaron utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (GraphPad Prism V.9.3.1).

[0342] Las muestras de suero del día 0 de todos los grupos dieron como resultado títulos inferiores a 0,2 UI/ml. Los sueros del día 35 mostraron títulos medios geométricos neutralizantes que oscilaron entre 74,8 y 211 UI/ml para la Construcción C y la Construcción F (**FIG. 10**). Como la titulación de la dosis dio como resultado títulos comparables, los datos demuestran que 100 ng de VLP de la rabia formulado con Addavax induce una respuesta humoral máxima en ratones ICR ingenuos. Todos los animales (ratones ICR) a los que se les administró Construcción C y Construcción F tuvieron títulos superiores al correlato de protección, excepto un animal en el nivel de dosis de 1 µg para la Construcción F que estaba en niveles de fondo (<0,2 UI/ml). Los títulos observados con Construcción C y Construcción F fueron comparables a ImRab3 (media geométrica de 71,1) el día 35.

Ejemplo 6

[0343] Se realizó un estudio en hámsteres dorados sirios (SGH) sin tratamiento previo para explorar la inmunogenicidad de dos antígenos G de la rabia expresados en una partícula similar al virus (VLP) de dos componentes, esencialmente como se describe en el Ejemplo 5, excepto para el animal en cuestión. Se inmunizaron nueve grupos de seis SGH hembras los días 0 y 21. Se recolectaron muestras de sangre los días 0, 21 y 35 y se procesaron en suero para su análisis en una prueba RFFIT para anticuerpos de neutralización. El suero del día 0 se agrupó por grupo. Los

datos del título de anticuerpos neutralizantes se graficaron mostrando la media geométrica con la SD geométrica. Los análisis estadísticos grupales se realizaron utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (GraphPad Prism V.9.3.1).

[0344] Las muestras agrupadas de suero del día 0 de todos los grupos dieron como resultado títulos inferiores a 0,2 UI/ml. Los sueros del día 35 mostraron títulos neutralizantes para la Construcción C que estaban por encima del correlato de protección con las dosis de 3 µg, 1 µg y 0,3 µg en 17/18 animales con títulos medios geométricos que oscilaron entre 2,2 y 6,7 UI/ml (**FIG. 11**). El grupo de dosis más baja de Construcción C, 0,1 µg, resultó en 2/6 animales con títulos superiores al correlato de protección. Las tres dosis más altas (3 µg, 1 µg y 0,3 µg) de Construcción F dieron como resultado títulos comparables con todos los animales por encima del correlato de protección (18 animales) con títulos medios geométricos que oscilaron entre 4,8 y 5,7 UI/ml y la dosis más baja con 3/6 animales por encima del correlato de protección.

Ejemplo 7

[0345] Se realizó un estudio en ratones BALB/c sin tratamiento previo para explorar la inmunogenicidad de la Construcción F mostrada en I53-50 o dn5 como proteínas solubles triméricas o VLP. La Construcción F se fusionó a CompA (I53-50, SEQ ID NO: 95) o dn5B (dn5, SEQ ID NO: 97) y se expresó como proteínas triméricas solubles. Las proteínas triméricas también se combinaron con las subunidades pentámeras apropiadas para ensamblar VLP. Los ratones fueron inmunizados dos veces en los días 0 y 21 con proteína trimérica o VLP a las dosis y formulaciones indicadas en la **Tabla 8**. Las proteínas solubles triméricas se administraron en un contenido de antígeno equivalente a 0,5 µg y 0,1 µg de VLP. Un grupo fue inmunizado con una vacuna antirrábica comercial para mascotas MRAB® 3 ("ImRab3") administrada en una dosis canina de 1/10. Se realizó una prueba RFFIT (prueba de inhibición rápida de focos fluorescentes) en muestras de suero para determinar los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la rabia. Los datos del título de anticuerpos neutralizantes se graficaron mostrando la media geométrica con la SD geométrica. Los análisis estadísticos grupales se realizaron utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (GraphPad Prism V.10.0.0).

[0346] Se inmunizaron once grupos de ocho ratones BALB/c hembras los días 0 y 21. Se recolectaron muestras de sangre los días 0, 21 y 35 y se procesaron en suero para su análisis en una prueba RFFIT para anticuerpos de neutralización. El suero del día 0 se agrupó por grupo.

[0347] Los sueros del día 35 mostraron títulos neutralizantes inducidos en diversos grados por

encima de los títulos iniciales del día 0 (<0,2 UI/ml). Las VLP de Construcción F I53-50 formuladas con tampón acuoso o Alhydrogel indujeron títulos bajos con solo un subconjunto de títulos iguales o superiores al correlato de protección (0,5 UI/ml) con títulos medios geométricos de 0,56 y 0,52 UI/ml respectivamente (**FIG. 12**). Las VLP de la Construcción F I53-50 formuladas con AddaVax indujeron títulos significativamente más altos ($p = 0,0002$, prueba de Mann-Whitney) con títulos medios geométricos de 63,11 y 47,44 UI/ml para las dosis de 0,1 μg y 0,2 μg respectivamente y todos los animales estaban por encima del correlato de protección (**FIG. 12**). Los grupos a los que se les administró CompA-Construcción F (proteína trimérica soluble) tuvieron títulos medios geométricos de 1 y 0,65 UI/ml, significativamente inferiores ($p=0,0002$, prueba de Mann-Whitney) que las VLP I53-50 con Construcción F (**FIG. 12**). Las VLP de Construcción F dn5 formuladas con AddaVax indujeron títulos con una amplia distribución, lo que sugiere que la calidad del antígeno en la preparación de VLP fue subóptima. Los títulos de media geométrica fueron 2,65 y 1,03 IU/ml para las dosis de 0,1 μg y 0,2 μg respectivamente y la mayoría de los animales estaban por encima del correlato de protección (**FIG. 12**). Los grupos a los que se les administró dn5B-Construcción F (proteína trimérica soluble) tuvieron títulos medios geométricos de 0,91 y 1,56 UI/ml, similares a las VLP dn5 con Construcción F (**FIG. 12**). Los títulos observados con las VLP I53-50 fueron comparables a los de ImRab3 (**FIG. 12**). Los datos demuestran que la presentación del antígeno G de la rabia se ve afectada por el adyuvante y el formato, siendo el formato VLP superior a la proteína soluble.

Tabla 8: Inscripción de animales y grupos de tratamiento

Grupo núm.	Grupo experimental	Antígeno por dosis (μg)	Adyuvante
1	Construcción F VLP (I53-50)	0,1	Acuosa
2	Construcción F VLP (I53-50)	0,1	Alhydrogel
3	Construcción F VLP (I53-50)	0,1	AddaVax
4	Construcción F VLP (I53-50)	0,02	AddaVax
5	Fusión Construcción F-CompA (I53-50A)	0,38 (antígeno 5X)	AddaVax

6	Fusión Construcción F-CompA (I530-50A)	0,076 (0,1 equiv)	AddaVax
7	Construcción F VLP (dn5)	0,1	AddaVax
8	Construcción F VLP (dn5)	0,02	AddaVax
9	Fusión Construcción F-CompA (dn5B)	0,37 (antígeno 5X)	AddaVax
10	Fusión Construcción F-CompA (dn5B)	0,074 (0,1 equivalente)	AddaVax
11	ImRab3	0,1 ml	N/C
Cada grupo n= 8 ratones			

Ejemplo 8

[0348] Se realizó un estudio en hámsteres dorados sirios para evaluar la capacidad de las VLP de Construcción F para proteger contra un desafío posterior con el virus de la rabia. Se incluyeron en el estudio cinco grupos de diez hámsteres dorados sirios hembras. Se administraron VLP de Construcción F (I53-50) en dosis de 2 µg o 0,2 µg formuladas con AddaVax los días 0 y 21. RabAvert, una vacuna comercial contra la rabia humana, se administró los días 0, 7 y 21 a 1/20 de la dosis humana. A dos grupos se les administró solución salina y uno de ellos no fue desafiado con el virus de la rabia. A todos los demás grupos se les administró una inyección intramuscular del virus de la rabia el día 35. Se recolectaron muestras de sangre y se procesaron a suero los días 0, 21, 34 y el día del sacrificio. El cerebro de cada animal era recogido el día del sacrificio. Se realizó una prueba RFFIT (prueba de inhibición rápida de focos fluorescentes) en muestras de suero para determinar los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la rabia. Los datos del título de anticuerpos neutralizantes se graficaron mostrando la media geométrica con la SD geométrica. Los análisis estadísticos grupales se realizaron utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (GraphPad Prism V.10.0.0). Se realizó una prueba de anticuerpos fluorescentes directos (DFA) en las muestras de cerebro para detectar la presencia del virus de la rabia. Todos los animales expuestos al virus de la rabia fueron monitoreados durante 30 días para detectar signos clínicos de infección y fueron sacrificados al alcanzar un punto final humanitario (es decir, parálisis).

[0349] De los animales a los que se les administró solución salina y fueron desafiados con el virus de la rabia, 7/10 animales fueron sacrificados debido a signos clínicos de infección (**FIG. 13**) en los 30 días posteriores al desafío. De los 20 animales inmunizados con VLP de Construcción

F, ninguno fue sacrificado por alcanzar un punto final humanitario (**FIG. 13**). Ninguno de los animales inmunizados con RabAvert alcanzó un punto final humanitario (**FIG. 13**). Los resultados de la prueba DFA mostraron la presencia del virus de la rabia solo en los cerebros de los 7 animales del grupo de control que fueron sacrificados por haber alcanzado un punto final humanitario.

- 5 Todos los demás animales dieron negativo al virus de la rabia. Los títulos de anticuerpos neutralizantes de las muestras de suero del día 34 demostraron que los animales inyectados con solución salina tenían títulos en el límite inferior de detección para el ensayo (**FIG. 14**). Todos los animales inmunizados con VLP de Construcción F (dosis días 0 y 21) tuvieron títulos iguales o superiores al correlato de protección (**FIG. 14**). El grupo al que se administró RabAvert (dosis los
- 10 días 0, 7 y 21) también tuvo títulos iguales o superiores al correlato de protección (**FIG. 14**). El estudio demuestra que las VLP de Construcción F pueden proteger completamente a los animales frente al virus de la rabia.

* * * *

- 15 **[0350]** Aunque la invención se ha descrito en relación con realizaciones específicas propuestas de la misma, se entenderá que es capaz de modificaciones adicionales y esta solicitud pretende cubrir cualquier variación, usos o adaptaciones de la invención siguiendo, en general, los principios de la invención e incluyendo tales desviaciones de la presente divulgación como vienen dentro de la práctica conocida o habitual dentro de la técnica a la que pertenece la invención y
- 20 como pueden aplicarse a las características esenciales expuestas anteriormente y como sigue en el alcance de las reivindicaciones adjuntas.