

**Título:** Inmunogenicidad comparada de proteínas recombinantes y su utilidad en el desarrollo de vacunas y fármacos biotecnológicos.

**Autor:** Dr. Orlando R. Serrano Barrera (orlandosb@infomed.sld.cu, orlando@ltu.sld.cu)

**Centro de trabajo** Centro Provincial de Genética Médica de Las Tunas, Dirección Provincial de Salud, Las Tunas.

## **PREMIO EN LA INSTANCIA NACIONAL DE CONCURSO PREMIO ANUAL DE LA SALUD 2012**

### **RESUMEN**

Con el objetivo de determinar la utilidad de algunas herramientas inmunoinformáticas para detectar péptidos que puedan ser inmunodominantes, y también objeto de modificación para favorecer la actividad biológica al tiempo que se reduzca su alergenicidad, así como para evaluar las diferencias en las respuestas inmunes de los modelos animales empleados en los estudios preclínicos y los humanos, se realizaron varias modelaciones de la respuesta inmune frente a dos proteínas exógenas de amplio uso en nuestro país: la estreptocinasa recombinante y el antígeno de superficie de la hepatitis B. A partir de las secuencias primarias de ambas proteínas se emplearon algoritmos para identificar epítopes B y herramientas para la identificación de los epítopes de células T frente a moléculas HLA de clase I y II (HLA-A\*0201, HLA-DRB1\*0301 y HLA-DRB1\*0701) y los haplotipos murinos H2-Kd y H2-Kk. Se seleccionaron los péptidos de más alta puntuación en cada caso y se compararon con lo reportado en la literatura. El algoritmo ABCPred mostró una mejor capacidad de predicción de epítopes B, mientras fue mayor la coincidencia para los programas de modelación de la respuesta T. Los epítopes generados para el haplotipo H2-Kk tuvieron una similitud mayor con los presentados por las moléculas HLA seleccionadas. La identificación de los epítopes inmunodominantes, que pueden ser delineados con el uso de los métodos computacionales incluso antes de inocularse un animal de laboratorio, pueden ser la base de modificaciones en la secuencia que reduzcan o incrementen la

inmunogenicidad, según se desee.

**Palabras clave:** bioinformática, inmunoinformática, modelación computacional, biología computacional, ensayos preclínicos, inmunofarmacología.

## INTRODUCCIÓN

La inmunoinformática es un área emergente de aplicación de la modelación computacional a los procesos inmunitarios, con implicaciones para la solución de cuestiones relevantes para la inmunobiología y la vacunología<sup>1</sup>. En los últimos años se han diseñado, creado y publicado numerosas y variadas bases de datos y herramientas inmunoinformáticas para la modelación computacional de los diferentes eventos de la respuesta inmune<sup>1-3</sup>. La inmunoinformática se ha ido integrando al desarrollo de candidatos vacunales contra agentes infecciosos y tumores malignos<sup>2,4,5</sup>.

La inmunoinformática tiene aplicaciones potenciales que van desde los mecanismos básicos hasta la investigación aplicada: fallos vacunales, emergencia de cepas de escape, eventos adversos relacionados con la vacunación, desarrollo de vacunas personalizadas y de nuevos adyuvantes, mejora y combinación de vacunas existentes, etcétera<sup>6</sup>. En el caso de la vacuna anti-hepatitis B se ha descrito que la sustitución de aminoácidos, sobre todo de la región 137-147, en el antígeno de superficie (Ag<sub>s</sub>HB) puede traer como consecuencias cambios en la inmunogenicidad, evasión de los mecanismos inmunitarios y fallos diagnósticos<sup>7</sup>. La estreptocinasa (SK, del término en inglés *streptokinase*), por otra parte, es un eficaz agente trombolítico empleado para, entre otras aplicaciones, el tratamiento del infarto agudo del miocardio<sup>8</sup>. En algunas poblaciones los sujetos portan altos títulos de anticuerpos anti-SK y no se recomienda la utilización de este fármaco<sup>9,10</sup>. Este fenómeno ha sido reportado en Cuba, donde se ha encontrado un 30,4% de prevalencia de anticuerpos circulantes en las personas incluidas<sup>10</sup>. La producción de una SK menos inmunogénica podría ser una alternativa para estos casos<sup>8</sup>.

Las técnicas disponibles para evaluar la inmunogenicidad de proteínas son de escaso valor para la predicción de las características clínicas de los fármacos y, por otra parte,

muchos aspectos de la inmunogenicidad no han sido adecuadamente explorados por métodos experimentales<sup>11</sup>. Los métodos bioinformáticos facilitan la búsqueda de antígenos para la mayoría de las proteínas, por lo que las herramientas inmunoinformáticas pueden simular las respuestas inmunes a un producto, sea o no empleado en la vacunación, y ahorrar tiempo y costos<sup>12,13</sup>.

## METODOLOGÍA

### ***Evaluación de la utilidad de los algoritmos bioinformáticos en la predicción de la inmunogenicidad de proteínas terapéuticas recombinantes:***

A partir de la secuencia primaria de la estreptocinasa recombinante cubana, contenida en la base de datos UniProt bajo el número de acceso Q53284, se emplearon tres algoritmos para identificar epítopes B: BepiPred, Bcepred y ABCpred. Se seleccionaron dos herramientas para la identificación de los epítopes de células T: SYFPEITHI y BIMAS. Se escogieron los cinco primeros epítopes en cada caso. Se trabajó con moléculas MHC (del inglés *Major Histocompatibility Complex*) reportadas como más frecuentes en la población cubana: HLA-A\*0201, HLA-DRB1\*0301 y HLA-DRB1\*0701. Los hallazgos *in silico* se compararon con las regiones antigénicas de la estreptocinasa encontradas por métodos *in vitro* y reportadas en la literatura.

### ***Comparación de la inmunogenicidad de proteínas recombinantes entre modelos de laboratorio y humanos:***

A partir de las secuencias primarias de la estreptocinasa recombinante (UniProt Q53284) y del antígeno de superficie de la hepatitis B (GenBank X02763.1), se trabajó con un algoritmo para modelar epítopes B (ABCpred) y otro para epítopes T (SYFPEITHI). Se seleccionaron los primeros cinco epítopes obtenidos con las herramientas inmunoinformáticas. Se consideraron los haplotipos murinos de modelos empleados en la experimentación biomédica: H2-Kd y H2-Kk.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Predicción de la inmunogenicidad de proteínas terapéuticas recombinantes**

Uno de los principales objetivos del desarrollo de vacunas y de la evaluación inmunofarmacológica e inmunotoxicológica de fármacos es la identificación de los componentes microbianos que generan una respuesta inmune, sea protectora o no<sup>24</sup>.

La predicción de los epítopes B de la SK recombinante cubana, a partir de los algoritmos bioinformáticos empleados, aparece en la tabla 1. Se observa algún grado de solapamiento entre los péptidos 1 (ABCPred) y 4 (BepiPred), 2 (ABCPred) y 3 (BepiPred) y 4 (ABCPred) y 5 (BepiPred). ABCPred fue, por tanto, el algoritmo que mostró una mejor capacidad de predicción.

Un estudio de inmunolocalización de epítopes lineales reconocidos por anticuerpos de tipo IgG en la estructura primaria de la SK encontró los sitios S379-T390 y Y397-N410, que se relacionan con los identificados por ABCpred y que se corresponden con regiones compartidas por los predichos por otros algoritmos<sup>14</sup>. La región 373-414 fue reconocida respectivamente por el 39 y el 64% de los sueros de pacientes antes y después de recibir tratamiento con SK<sup>8,15</sup>. El epítope G139-Q152, también identificado por ABCpred, fue encontrado en un reporte ya mencionado<sup>14</sup>. El péptido 1 propuesto por Bcepred ya había sido mapeado en otros estudios con sueros de pacientes, anticuerpos monoclonales y bibliotecas de fagos<sup>16,17</sup>.

La tabla 2 contiene la modelación de la respuesta de células T para antígenos HLA de clase I y II. En el caso de la molécula HLA-A\*0201 se observa una muy buena correspondencia entre los dos algoritmos empleados, con al menos tres péptidos igualmente identificados entre los primeros cinco. La administración de SK es seguida por el rápido aumento de la frecuencia de linfocitos T anti-SK y de la respuesta proliferativa en ensayos *in vitro*. La región 100-150, que contiene el péptido ubicado en el primer lugar por los dos algoritmos empleados en la modelación de la respuesta T, mostró los mayores índices de proliferación y fue la reconocida preferencialmente en la mayoría de los ensayos<sup>19</sup>.

La respuesta mediada por las dos moléculas de clase II seleccionadas comparte dos epítopes, iniciados en los residuos 76/77 y 310, y otra región formada por el solapamiento de dos péptidos, 296 y 310. Existe una asociación reconocida entre el incremento de la población de células T específicas para SK y las concentraciones séricas de anticuerpos anti-SK, responsables estos últimos de la neutralización del fármaco y de las reacciones de tipo alérgico<sup>16</sup>.

La correspondencia de las predicciones hechas por los algoritmos inmunoinformáticos con lo encontrado por diversos autores a través de variados métodos tradicionales de la experimentación biológica habla a favor de:

- un patrón consistente de respuesta focalizada sobre regiones inmunodominantes en la respuesta *in vivo*, que concentran los anticuerpos producidos por los pacientes expuestos a la bacteria o tratado con la SK<sup>16</sup>; y
- la posibilidad de identificar las regiones antigénicas con mayor capacidad alergénica, con vistas a su modificación para reducir las reacciones adversas al fármaco<sup>19</sup>.

La disponibilidad de métodos *in silico* para predecir los determinantes antigénicos, tanto de anticuerpos como de células T, significa un complemento importante en los procesos de diseño, selección, desarrollo y evaluación de vacunas y productos sintéticos y recombinantes<sup>20</sup>. El reconocimiento y la unión a los epítopes derivados de las moléculas de los patógenos, que conduce a la activación de los linfocitos T y a la producción de anticuerpos, son los elementos claves para una respuesta protectora<sup>21</sup> y constituyen la base para el diseño de las vacunas multiepitópicas para uno o varios agentes. Los algoritmos bioinformáticos pueden identificar más de la mitad de los péptidos con real capacidad de unirse a los receptores inmunitarios; ello reduce el trabajo del laboratorio tradicional, con un 85% menos de gastos en materiales, labor y tiempo<sup>21</sup>. La mejor caracterización y modelación de las respuestas inmunes conduce a las posibilidades de refinamiento en términos de potenciar la inmunogenicidad y reducir los posibles efectos adversos, ya sea por autoinmunidad o hipersensibilidad<sup>22,23</sup>.

### **Comparación de la inmunogenicidad de proteínas recombinantes entre modelos de laboratorio y humanos:**

En el caso de la inmunología, los ratones han permitido un profundo discernimiento de la estructura y el funcionamiento del sistema inmune, a pesar de las diferencias entre la biología humana y la murina: proporción de subpoblaciones leucocitarias, subclases de inmunoglobulinas, citocinas y sus receptores, diferenciación Th1/Th2, expresión y función de moléculas coestimuladoras, etc<sup>24</sup>.

La tabla 3 muestra la respuesta T frente a la SK recombinante producida en Cuba en el contexto de dos haplotipos murinos y moléculas HLA. De los cinco primeros epítopes

seleccionados entre las dos líneas de ratón, solo hay una coincidencia: la región de la secuencia iniciada entre los residuos 96-101. Al comparar esas posibles respuestas con la humana, particularmente para el HLA-A\*0201, no se observan similitudes con el haplotipo H2-Kd, mientras que aparecen cuatro epítopes en regiones similares para el haplotipo H2-Kk, para las posiciones 133/135, 259/262/268/269. Para las moléculas de clase II humanas, se encontraron tres solapamientos (226/232, 343/346, 98/101) con H2-Kk y solo uno para H2-Kd (296/298).

Para el caso del AgsHB (tabla 4), hubo una coincidencia entre ambos haplotipos murinos, en la región 175/181, y dos epítopes en regiones solapadas entre el HLA-A\*0201 y H2-Kk (191 y 264/272). Para el caso de las moléculas de clase II, aparecieron cinco coincidencias entre el HLA y H2-Kk (45/50, 185/194, 191/194, 199/194, 267/272) frente a dos coincidencias con H2-Kd (172/181, 376/379).

Las diferencias documentadas entre líneas de ratón son de diversa naturaleza y en ellas subyacen las características propias en cuanto a los mecanismos de defensa:

- Resistencia variable a infecciones: A/J, DBA/2 y BALB/c son altamente susceptibles a *Staphylococcus aureus*, mientras que C3H/HeN, CBA y C57BL/10 son medianamente resistentes<sup>25</sup>. Con respecto al parásito *Leishmania amazonensis* se ha descrito tres grupos: susceptibles (C57BL/10 y CBA), relativamente resistentes (DBA/2) y resistentes (C3H.He)<sup>26</sup>.
- Composición de los elementos del sistema inmune: BALB/c tiene un mayor número de células T de memoria y activadas, tanto CD8+ como CD4+, y menos linfocitos vírgenes (*naive*), con relación a otras líneas en determinadas condiciones experimentales<sup>40</sup>. La respuesta ante la infección, tanto en células T como en subclases de IgG, también depende del haplotipo H2<sup>27,28</sup>.

La identificación de los epítopes inmunodominantes, que pueden ser delineados con el uso de los métodos computacionales incluso antes de inocularse un animal de laboratorio, pueden ser la base de modificaciones en la secuencia que reduzcan o incrementen la inmunogenicidad, según se desee y como se ha hecho para la infección por el virus de la hepatitis B<sup>7,30,31</sup>. También, para clarificar los procesos patogénicos de la infección por el agente<sup>23,32</sup>.

En igual sentido, se debe ser cauteloso en la designación de los biomodelos para la selección de epítopes para candidatos vacunales o para la decisión de secuencias a modificar en proteínas recombinantes con potencial autoinmune o alergizante.

Las diferencias en las respuestas entre murinos y el humano, descritas para diferentes moléculas, no deben ser vistas como impedimento sino como oportunidad para la mejor selección de dianas terapéuticas y vacunales, procesos en los cuales los algoritmos bioinformáticos pueden igualmente reducir costos y tiempo.

El uso de la inmunoinformática ha sido limitado en el sistema cubano de salud, a pesar de las numerosas aplicaciones básicas y aplicadas; esa problemática ha sido identificada en otros países<sup>13</sup>. Sus potencialidades, apenas esbozadas en los estudios aquí presentados con dos moléculas de amplio uso en nuestro medio, pueden ampliarse en investigaciones básicas, ensayos preclínicos y clínicos y otras circunstancias<sup>22</sup>. Su alcance supera la inmunología, para extenderse a la microbiología, la farmacología, la vacunología, la epidemiología y la salud pública.

## **CONCLUSIONES**

Para la predicción de epítopes es recomendable la combinación de varios de los algoritmos inmunoinformáticos disponibles, sobre todo en el caso de los epítopes de células B. Los resultados de la modelación de la inmunogenicidad pueden servir de base para la selección de los mejores candidatos vacunales y para las modificaciones que se requieran con el objetivo de potenciar las respuestas deseadas y reducir las reacciones adversas a proteínas recombinantes. La selección de los biomodelos animales para los estudios preclínicos debe ser cuidadosa y puede ser apoyada por métodos bioinformáticos.

Se presenta una metodología aplicable al desarrollo de vacunas de subunidades y multiepitópicas, así como para otros fármacos biotecnológicos de naturaleza peptídica, que permite optimizar las etapas preclínicas y clínicas, a muy bajo costo, mínimos requerimientos tecnológicos, utilización óptima de medios, recursos y capital humano disponibles en cualquier institución del sistema nacional de salud.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Flower DR. Towards in silico prediction of immunogenic epitopes. *Trends in Immunology* 2003;24(12):667-674.
2. Bambini S, Rappuoli R. The use of genomics in microbial vaccine development. *Drug Discovery Today* 2009;14(5/6).
3. Baxevanis AD. The Molecular Biology Database Collection: 2003 update. *Nucleic Acids Research* 2003;31(1):1–12.
4. Sylvester-Hvid C, Nielsen M, Lamberth K, Roder G, Justesen S, Lundegaard C et al. SARS CTL vaccine candidates; HLA supertype-, genome-wide scanning and biochemical validation. *Tissue Antigens* 2004;63(5):395-400.
5. Petrovsky N, Brusica V. Computational immunology: The coming of age. *Immunology and Cell Biology* 2002;80:248–254.
6. Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM. Application of pharmacogenomics to vaccines. *Pharmacogenomics* 2009 May; 10(5): 837–852.
7. Wu C, Zhang X, Tian Y, Song J, Yang D, Roggendorf M et al. Biological significance of amino acid substitutions in hepatitis B surface antigen (HBsAg) for glycosylation, secretion, antigenicity and immunogenicity of HBsAg and hepatitis B virus replication. *J Gen Virol* 2010;91(2):483-492.
8. Torréns I, Ojalvo AG, Seralena A, Pupo E, Lugo V, Páez R. A mutant streptokinase lacking the C-terminal 42 amino acids is less reactive with preexisting antibodies in patient sera. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Dec 9;266(1):230-6.
9. Blackwell N, Hollins A, Gilmore G, Norton R. Antistreptokinase antibodies: implications for thrombolysis in a region with endemic streptococcal infection. *J Clin Pathol.* 2005 September; 58(9):1005-1007.
10. Ojalvo AG, Pozo L, Labarta V, Torrens I. Prevalence of Circulating Antibodies against a Streptokinase C-Terminal Peptide in Normal Blood Donors. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1999;263:454–459.
11. Flower DR. Advances in Predicting and Manipulating the Immunogenicity of Biotherapeutics and Vaccines. *Biodrugs* 2009;23(4):231-240.
12. Berglund L, Andrade J, Odeberg J, Uhle M. The epitope space of the human proteome. *Protein Science* 2008;17:606–613.



13. Flower DR, Macdonald IK, Ramakrishnan K, Davies MN, Doytchinova IA. Computer aided selection of candidate vaccine antigens. *Immunome Research* 2010;6(Suppl 2):S1.
14. Korol'chuk VI, Makohonenko EM, Cederholm-Williams SA. Isolation and characteristics of antistreptokinase antibodies from blood serum of myocardial infarct patients treated with streptokinase. *Ukr Biokhim Zh.* 1999 Nov-Dec;71(6):47-55.
15. Arabi R, Roohvand F, Norouzian D, Sardari S, Aghasadeghi MR, Khanahmad H et al. A comparative study on the activity and antigenicity of truncated and full-length forms of streptokinase. *Pol J Microbiol.* 2011;60(3):243-51.
16. Torrens I, Reyes O, Ojalvo AG, Seralena A, Chinea G, Cruz LJ et al. Mapping of the Antigenic Regions of Streptokinase in Humans after Streptokinase Therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1999;259(1):162–168.
17. Coffey JA, Jennings KR, Dalton H. New antigenic regions of streptokinase are identified by affinity-directed mass spectrometry. *European Journal of Biochemistry* 2001;268:5215–5221.
18. Lawley WJ, Fletcher S, Squire IB, Woods KL Hewitt ARA. T-cell recognition of discrete regions of the thrombolytic drug streptokinase. *Clinical Science* 2000;99:239-246.
19. Parhami-Seren B, Keel T, Reed GL. Sequences of antigenic epitopes of streptokinase identified via random peptide libraries displayed on phage. *Journal of Molecular Biology* 1997; 271(3):333–341.
20. Gourlay LJ, Colombo G, Soriani M, Grandi G, Daura X, Bolognesi M. Why is a protective antigen protective? *Human Vaccines* 2009;5(12):872-875.
21. Rapin N, Lund O, Bernaschi M, Castiglione F. Computational Immunology Meets Bioinformatics: The Use of Prediction Tools for Molecular Binding in the Simulation of the Immune System. *PLoS ONE* 2010;5(4):e9862.
22. Dimitrov I, Garnev P, Flower DR, Doytchinova I. MHC Class II Binding Prediction—A Little Help from a Friend. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2010:1-8.
23. Bayard F, Malmassari S, Deng Q, Lone YC, Michel ML. Hepatitis B virus (HBV)-derived DRB1\*0101-restricted CD4 T-cell epitopes help in the development of

HBV-specific CD8+ T cells in vivo. *Vaccine* 2010;28(22):3818-3826.

24. Mestas J, Hughes CC. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol.* 2004 Mar 1;172(5):2731-8.
25. von Köckritz-Blickwede M, Rohde M, Oehmcke S, Miller LS, Cheung AL, Herwald H et al. Immunological mechanisms underlying the genetic predisposition to severe *Staphylococcus aureus* infection in the mouse model. *Am J Pathol.* 2008 Dec;173(6):1657-68.
26. de Oliveira Cardoso F, de Souza Cda S, Mendes VG, Abreu-Silva AL, Gonçalves da Costa SC, Calabrese KS. Immunopathological studies of *Leishmania amazonensis* infection in resistant and in susceptible mice. *J Infect Dis.* 2010 Jun 15;201(12):1933-40.
27. Pinchuk LM, Filipov NM. Differential effects of age on circulating and splenic leukocyte populations in C57BL/6 and BALB/c male mice. *Immun Ageing.* 2008 Feb 11;5:1.
28. Gemmell E, Carter CL, Bird PS, Seymour GJ. Genetic dependence of the specific T-cell cytokine response to *Porphyromonas gingivalis* in mice. *J Periodontol.* 2002 Jun;73(6):591-6.
29. Gemmell E, Winning TA, Carter CL, Ford PJ, Bird PS, Ashman RB et al. Differences in mouse strain influence leukocyte and immunoglobulin phenotype response to *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol.* 2003 Dec;18(6):364-70.
30. Ru Z, Xiao W, Pajot A, Kou Z, Sun S, Maillere B et al. Development of a Humanized HLA-A2.1/DP4 Transgenic Mouse Model and the Use of This Model to Map HLA-DP4-Restricted Epitopes of HBV Envelope Protein. *PLoS One* 2012;7(3):e32247.
31. Wieland A, Riedl P, Reimann J, Schirmbeck R. Silencing an immunodominant epitope of hepatitis B surface antigen reveals an alternative repertoire of CD8 T cell epitopes of this viral antigen. *Vaccine* 2009;28(1):114-119.
32. Loirat D, Lemonnier FA, Michel ML. Multiepitopic HLA-A\*0201-Restricted Immune Response Against Hepatitis B Surface Antigen After DNA-Based Immunization. *The Journal of Immunology* 2000;165(8):4748-4755.

**Tabla 1. Predicción de epítopes de células B para la estreptocinasa recombinante cubana.**

Algoritmo	Péptido 1		Péptido 2		Péptido 3		Péptido 4		Péptido 5	
	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope
BepiPred	169	NPDDDFRP	281	EKPYDPF	355	EDNHDD	372	PEGENA	405	TPIPDN PNDK
Bcepred	7	LLDRPSV	15	NSQLVSV	127	LPTQPVQEFLL SGHVRVRPYK	300	VDVEYT VQFTPL	270	ISEKYY VLKKG
ABCpred	375	GENASYHL AYDKDRYT	342	AFGIMDYT LTGKVEDN	106	DATITDRN GKVYFADK	399	YLRYTGTP PDNPNDK	139	GHVRVRPY KEKPIQNG

Pos.: Posición del primer aminoácido del péptido.

**Tabla 2. Predicción de epítopes de células T para la estreptocinasa recombinante cubana.**

Algoritmo	Péptido 1		Péptido 2		Péptido 3		Péptido 4		Péptido 5	
	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope
HLA-A*0201										
SYFPEITHI	135	FLLSGHVRV	199	LLAQAQSIL	269	LISEKYYVL	259	GLNEEINNT	268	DLISEKYYV
BIMAS	135	FLLSGHVRV	259	GLNEEINNT	334	KLLYNNLDA	234	ILPMDQEFT	268	DLISEKYYV
HLA-DRB1*0301										
SYFPEITHI	232	RTILPMD QEFTYHVK	310	SEQLLTAS ERNLDFR	273	KYYVLKK GEKPYDPF	76	KADLLKA IQEQLIAN	196	SQELLAQ AQSILNKT
HLA-DRB1*0701										
SYFPEITHI	343	FGIMDYTL TGKVEDN	77	ADLLKAI QEQLIANV	98	FEVIDFAS DATITDR	310	SEQLLTAS ERNLDFR	296	TIKYVDVN TNELLKS

Pos.: Posición del primer aminoácido del péptido.

**Tabla 3. Predicción de epítopes de células T para la estreptocinasa recombinante cubana frente a haplotipos murinos y humanos.**

Algoritmo	Péptido 1		Péptido 2		Péptido 3		Péptido 4		Péptido 5	
	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope
H2-Kd	161	EYTVQFTPL	298	KYVDVNTNE	388	RYTEEEREV	96	DYFEVIDFA	216	IYERDSSIV
H2-Kk	262	EEINNTDLI	133	QEFLLSGHV	226	HDNDIFRTI	346	MDYTLTGKV	101	IDFASDATI
HLA-A*0201	135	FLLSGHVRV	199	LLAQAQSIL	269	LISEKYYVL	259	GLNEEINNT	268	DLISEKYYV
HLA-DRB1*0301	232	RTILPMD QEFTYHVK	310	SEQLLTAS ERNLDFR	273	KYYVLKK GEKPYDPF	76	KADLLKA IQEQLIAN	196	SQELLAQ AQSILNKT
HLA-DRB1*0701	343	FGIMDYTL TGKVEDN	77	ADLLKAI QEQLIANV	98	FEVIDFAS DATITDR	310	SEQLLTAS ERNLDFR	296	TIKYVDV NTNELLKS

Pos.: Posición del primer aminoácido del péptido.

**Tabla 4. Predicción de epítopes de células T para el antígeno de superficie de la hepatitis B recombinante cubano frente a haplotipos murinos y humano.**

Algoritmo	Péptido 1		Péptido 2		Péptido 3		Péptido 4		Péptido 5	
	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope	Pos.	Epítope
H2-Kd	334	KYLWEWASV	139	LYLPAGGSS	181	GFLGPLLVL	205	SLDSWWTSL	379	LYSIVSPFI
H2-Kk	50	DDWPAANQV	272	LDYQGMLPV	83	GILTTVSTI	194	FLLTRILTI	175	MENITSGFL
HLA-A*0201	261	LLLCLIFLL	194	FLLTRILTI	257	FLFILLLCL	260	ILLLCLIFL	264	CLIFLLVLL
HLA-DRB1*0301	267	FLLVLLDY QGMLPVC	21	PLGFFPD HQLDPAFG	45	FNPVKDDW PAANQVG	258	LFILLLC LIFLLVLL	185	PLLVLQA GFFLLTRI
HLA-DRB1*0701	172	VTNMENI TSGFLGPL	355	QWFVGLSP TVWLSAI	376	GPSLYSIV SPFIPLL	191	AGFFLLT RILTIPQS	199	ILTIPQSL DSWWTSL

Pos.: Posición del primer aminoácido del péptido.