

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 883 347**

51 Int. Cl.:

A61K 38/48	(2006.01) A61P 25/24	(2006.01)
A61K 36/185	(2006.01) A61P 37/02	(2006.01)
A61P 37/06	(2006.01)	
A61P 29/00	(2006.01)	
A61K 36/36	(2006.01)	
A61J 1/03	(2006.01)	
A61P 1/00	(2006.01)	
A61P 17/00	(2006.01)	
A61P 21/00	(2006.01)	
A61P 25/22	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2015 PCT/CA2015/000389**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2015 WO15192211**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2015 E 15809878 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.06.2021 EP 3220946**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para atenuar y prevenir la inflamación intestinal debida a la presencia de antígenos alimentarios peptídicos en un intestino**

30 Prioridad:

16.06.2014 US 201462012865 P
19.02.2015 US 201562118396 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.12.2021

73 Titular/es:

CODEXIS, INC (100.0%)
200 Penobscot Drive
Redwood City, CA 94063, US

72 Inventor/es:

SCHRIEMER, DAVID y
REY, MARTIAL

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 883 347 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones y procedimientos para atenuar y prevenir la inflamación intestinal debida a la presencia de antígenos alimentarios peptídicos en un intestino

CAMPO DE LA INVENCION

En esta memoria se proporcionan composiciones para uso en el tratamiento de la intolerancia al gluten y afecciones relacionadas, tales como enfermedad celíaca o sensibilidad al gluten. Se proporcionan además en esta memoria composiciones y procedimientos para atenuar o impedir la infiltración de linfocitos intraepiteliales (IEL) inducida por la presencia de antígenos alimentarios proteicos en el intestino. Tales antígenos alimentarios proteicos incluyen alimentos ricos en prolina difíciles de digerir, tales como las proteínas encontradas en el trigo, la cebada, el centeno, etc., que contienen gluten. El gluten, en particular, se hidroliza parcialmente en el tracto gastrointestinal y puede conducir a infiltración de IEL y producción de anticuerpos que incluyen IgA endomisial y transglutaminasa antitissular. Las composiciones de esta invención proporcionan cantidades reducidas de tales antígenos alimentarios proteicos en el intestino, lo que a su vez reduce la cantidad de infiltración de IEL del intestino.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Varias enfermedades están mediadas por reacciones a proteínas alimentarias antigénicas en individuos susceptibles. Por ejemplo, la ingestión de trigo, cebada y centeno, que contienen proteínas alimentarias antigénicas (p. ej., gluten), puede provocar respuestas autoinmunitarias anómalas, tales como enfermedad celíaca, alergia al trigo y dermatitis herpetiforme, en individuos intolerantes al gluten. El gluten es una mezcla de moléculas proteicas de prolina y glutenina ricas en glutamina y prolina.

La enfermedad celíaca es un trastorno autoinmunitario que afecta al intestino delgado. La mayoría de los individuos que tienen las respuestas autoinmunitarias anómalas características de la enfermedad celíaca expresan las moléculas de antígeno leucocitario humano (HLA) DQ2 o DQ8. Los síntomas de la enfermedad son provocados por una reacción a las proteínas del gluten, y también pueden incluir otras proteínas de almacenamiento en los productos de grano consumidos (p. ej., serpinas, purinas). Clínicamente, la enfermedad es detectable en parte mediante la cuantificación de anticuerpos específicos para el gluten y la transglutaminasa tisular (tTG). Las respuestas autoinmunitarias dan como resultado el desarrollo de atrofia de las vellosidades de la mucosa del intestino delgado con hiperplasia de las criptas e inflamación de la mucosa. Los síntomas de la enfermedad celíaca pueden variar de un individuo a otro y pueden incluir uno o más de fatiga, diarrea crónica, estreñimiento, mala absorción de nutrientes, pérdida de peso, distensión abdominal, anemia, así como un riesgo sustancialmente mayor de desarrollar osteoporosis y neoplasias malignas intestinales (linfoma y carcinoma).

La diabetes de tipo I es un factor de riesgo para la enfermedad celíaca. El autismo también está asociado a la enfermedad celíaca, y una dieta exenta de gluten puede ayudar a aliviar algunos síntomas del autismo. Similarmente, se cree que algunas personas con trastorno por déficit de atención e hiperactividad presentan menos síntomas cuando se elimina el gluten de sus dietas. Otras afecciones que pueden beneficiarse de la eliminación del gluten en la dieta incluyen la artritis reumatoide y la fibromialgia. El documento WO 2012/006384 describe las enzimas degradadoras de gluten encontradas en bacterias de la especie *Rothia* que son capaces de romper los enlaces peptídicos en péptidos que contienen -XPQ-, -QQP-, -PPF-, -LYP- y/o -PFP-. Stepniak y col. (2006) American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology, American Physiological Society, US 291 (4), G621-G629 describen la degradación del gluten muy eficiente con una prolil endoproteasa recientemente identificada y también describen las implicaciones para la enfermedad celíaca. La patente US 2005/249719 describe la administración de una dosis efectiva de glutenasa a un paciente celíaco o con dermatitis herpetiforme con el fin de reducir los niveles de oligopéptidos tóxicos del gluten atenuando o eliminando los efectos perjudiciales del gluten. Kadek y col. (2013) describen la expresión y caracterización de la proteasa aspártica vegetal nepentesina-1 de *Nepenthes gracilis*. La patente US 2014/140980 describe composiciones, alimentos que comprenden nepentesina o un derivado de la misma y procedimientos para usar nepentesina o un derivado de la misma para modular la intolerancia al gluten y afecciones relacionadas, tales como enfermedad celíaca. Freeman (2008) Canadian Journal of Gastroenterology (2008) describe las ventajas y dificultades del diagnóstico de la enfermedad celíaca del adulto.

El tratamiento para la intolerancia al gluten, especialmente la enfermedad celíaca, implica habitualmente una dieta estricta exenta de gluten de por vida. Sin embargo, una dieta exenta de gluten es inapropiada, restrictiva y el gluten es difícil de evitar. Por lo tanto, se necesitan tratamientos alternativos efectivos para la intolerancia al gluten y la enfermedad celíaca.

RESUMEN DE LA INVENCION

Esta invención se refiere al descubrimiento de que la administración de una composición farmacéutica que comprende una o más enzimas de *Nepenthes* como se describen en esta memoria, en combinación con una proteína alimentaria potencialmente antigénica, da como resultado una disminución en la respuesta inmunitaria a la proteína alimentaria antigénica después de su ingestión, que incluye una disminución en la infiltración y/o producción de linfocitos

intraepiteliales en el intestino. Los linfocitos intraepiteliales son linfocitos T que están intercalados entre las células epiteliales del intestino grueso y delgado. Un recuento de linfocitos T aumentado es un indicador precoz de inflamación y está potencialmente asociado a intolerancia al gluten, lo que incluye la enfermedad celíaca.

5 Se cree que las propiedades tóxicas de las proteínas del gluten (p. ej., gliadinas y gluteninas) se deben en gran medida a los péptidos ricos en prolina y glutamina que se producen durante la degradación incompleta de las proteínas por las enzimas digestivas humanas (entre otras, la pepsina). Las endoproteasas gástricas y pancreáticas son incapaces de escindir estos subproductos peptídicos tóxicos o inmunogénicos de la degradación incompleta, al menos en parte debido al hecho de que tales enzimas carecen de especificidad por la prolina y/o la glutamina. Se cree que los péptidos
10 provocan numerosos síntomas intestinales en individuos sensibles, que incluyen linfocitosis intraepitelial, atrofia de las vellosidades y/o inflamación. Otras proteínas presentes en el trigo también pueden estar implicadas en la respuesta autoinmunitaria, entre otras, las serpinas, las purininas, los inhibidores de alfa-amilasas/proteasas, las globulinas y las farininas.

15 Los linfocitos T son unos de los primeros en responder al ataque antigénico (es decir, la presencia de péptidos alimentarios tóxicos) en un individuo sensible. Los linfocitos T reaccionan rápidamente al ataque del antígeno y provocan inflamación y, en algunos casos, degradación del intestino. Por tanto, una reducción de los linfocitos T en el intestino indica una respuesta inmunitaria disminuida y es un indicador potencial de síntomas reducidos o eliminados asociados al consumo de alimentos inmunogénicos (p. ej., gluten) en individuos sensibles.

20 Sin ceñirnos a la teoría, se cree que al poner en contacto el gluten (u otra proteína antigénica) con una composición farmacéutica como se describe en esta memoria, la proteína se descompone en fragmentos polipeptídicos pequeños que reducen o eliminan una respuesta inmunitaria (es decir, no son tóxicos o son menos tóxicos).

25 Se contempla que una composición farmacéutica como se describe en esta memoria puede usarse para degradar proteínas de la dieta, particularmente proteínas ricas en prolina y/o glutamina, que no son degradadas con efectividad por las enzimas del tracto digestivo. Se contempla además que tal degradación aumentaría la absorción de las proteínas y/o disminuiría la inmunogenicidad. Tal resultado puede tener efectos beneficiosos sobre los síntomas de las enfermedades y los trastornos intestinales (p. ej., enfermedad celíaca, intolerancia al gluten, síndrome del intestino irritable, colitis, enfermedad de Crohn, alergias alimentarias y similares). En una realización, la administración de la
30 composición farmacéutica mejora la absorción de nutrientes.

Las secreciones de la jarra de *Nepenthes*, una planta carnívora conocida habitualmente como copas de mono en las regiones tropicales, incluyen varias proteasas. El fluido de la jarra de *Nepenthes* concentrado tiene especificidad alta por los péptidos del gluten ricos en prolina y glutamina. Las solicitudes de patente de los Estados Unidos de n.º de publicación 2014/0186330 y 2014/0140980 describen la actividad y especificidad del fluido de la jarra de *Nepenthes* concentrado y las enzimas de *Nepenthes* recombinantes. El fluido de la jarra es ácido y las enzimas contenidas en el mismo generalmente son más activas a pH ácido.

40 La nepentesina (EC 3.4.23.12) es una proteasa aspártica que se puede aislar o concentrar a partir de las secreciones de la jarra de *Nepenthes*, así como de un abanico de otras fuentes vegetales. Tökés y col., Digestive Enzymes Secreted by the Carnivorous Plant *Nepenthes macfarlanei* L., Planta (Berl.) 119, 39-46 (1974). Se ha encontrado que la actividad de la nepentesina es superior a la de la pepsina (EC 3.4.23.1), una enzima presente en el estómago de los seres humanos que es parcialmente responsable de la degradación de las proteínas alimentarias en péptidos. La nepentesina tiene dos isotipos conocidos: nepentesina I (que se sabe que tiene dos variantes: nepentesina Ia y nepentesina Ib) y nepentesina II.

En un aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende neprosina o una variante de la misma con al menos 85 % de homología de secuencia con la misma, y opcionalmente una enzima seleccionada del grupo que consiste en nepentesina I, nepentesina II, variantes de las mismas con al menos 85 % de homología de secuencia con las mismas y mezclas de las mismas para uso en la atenuación o prevención de la inflamación intestinal debida a la presencia de antígenos alimentarios peptídicos en un intestino de un paciente. En un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende neprosina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde la neprosina es una proteína que comprende una secuencia aminoacídica que
50 tiene al menos 90 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1.

La prolil endopeptidasa, neprosina, posee una actividad proteolítica alta para escindir proteínas y oligopéptidos ricos en prolina (tales como proteínas del gluten). La neprosina se puede aislar o concentrar a partir de las secreciones de la jarra de *Nepenthes*, es activa en un amplio intervalo de pH y es especialmente activa a pH bajo (p. ej., de aproximadamente 3 a 5). La secuencia proteica de la neprosina no es homóloga a ninguna otra proteína conocida en las bases de datos genómicas. La neprosina puede escindir con efectividad los péptidos sobre el extremo carboxílico (C) de la prolina. Esta escisión parece ser muy específica.

La neprosina, la nepentesina I y la nepentesina II, solas o en combinación, pueden escindir los péptidos alimentarios tóxicos en péptidos no tóxicos más pequeños. Debido a que las enzimas son activas en un amplio intervalo de pH ácidos, la digestión por las enzimas se puede iniciar en el entorno ácido del estómago.

Esta invención se basa además en el descubrimiento de que tales composiciones enzimáticas son capaces de degradar antígenos alimentarios proteicos hasta un nivel en el que la respuesta inmunitaria en el intestino, como se mide mediante la infiltración de IEL, se atenúa o elimina cuando se usan en combinación con alimentos. La infiltración de IEL debida a la presencia de uno o más antígenos alimentarios peptídicos es un indicador biológico precoz de sensibilidad a antígenos alimentarios (p. ej., gluten). Por consiguiente, en un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir una respuesta inmunitaria a antígenos alimentarios proteicos en el intestino de un mamífero, este procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas. En una realización, la cantidad de la composición farmacéutica es efectiva para atenuar o impedir la infiltración de IEL en el intestino debida a la presencia del uno o más antígenos alimentarios peptídicos. En una realización, la infiltración de IEL es debida a la digestión incompleta de una proteína alimentaria potencialmente antigénica por las enzimas gástricas y/o intestinales endógenas. En una realización, la composición se administra al mamífero antes de la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero con la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero después de la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero independientemente del consumo de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es gluten. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es una o más proteínas del trigo.

En una realización, la inflamación intestinal está caracterizada por infiltración y/o proliferación de IEL en el intestino. Por consiguiente, en un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir la inflamación intestinal debida a la presencia de uno o más antígenos alimentarios peptídicos en el intestino de un mamífero, este procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas. En una realización, la cantidad de la composición farmacéutica es efectiva para atenuar o impedir la inflamación intestinal debida a la presencia del uno o más antígenos alimentarios peptídicos. En una realización, la inflamación intestinal es debida a la digestión incompleta de una proteína alimentaria potencialmente antigénica por las enzimas gástricas y/o intestinales endógenas. En una realización, la composición se administra al mamífero antes de la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero con la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero después de la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero independientemente del consumo de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es gluten. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es una o más proteínas del trigo.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir la linfocitosis intraepitelial debida a la presencia de uno o más antígenos alimentarios peptídicos en un intestino de un mamífero, este procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas. En una realización, la cantidad de la composición farmacéutica es efectiva para inhibir la linfocitosis intraepitelial en el intestino. En una realización, la composición se administra al mamífero antes de la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero con la ingestión de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la composición se administra al mamífero después de la ingestión de un alimento potencialmente antigénico. En una realización, la composición se administra al mamífero independientemente del consumo de un alimento o una proteína potencialmente antigénicos. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es gluten. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es una o más proteínas del trigo.

En una realización, la cantidad efectiva de la composición farmacéutica es de entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 1 g. En una realización, la cantidad efectiva de la composición farmacéutica depende de la cantidad de proteína potencialmente antigénica consumida.

En una realización, esta descripción se refiere a tratar y/o mejorar al menos un síntoma asociado a una respuesta inmunitaria a la presencia de gluten u otra proteína antigénica en el intestino de un paciente. Los síntomas incluyen, sin limitación, "mente confusa", depresión, ansiedad, comportamiento similar al TDAH, dolor abdominal, hinchazón, diarrea, estreñimiento, cefaleas, migrañas, dolor de huesos o articulaciones, fatiga crónica, lesión del intestino delgado, desarrollo de anticuerpos contra la transglutaminasa tisular (tTG), acné extenso, vómitos, pérdida de peso, irritabilidad, anemia ferropénica, artritis, hormigueo, entumecimiento en las extremidades, infertilidad y úlceras aftosas en la boca.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir la atrofia de las vellosidades debida a la presencia de uno o más antígenos alimentarios peptídicos en un intestino de un mamífero, este

procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es degradada por la composición farmacéutica para inhibir la atrofia de las vellosidades en el intestino. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es gluten. En una realización, la proteína potencialmente antigénica es una o más proteínas del trigo.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para reducir la respuesta de linfocitos T a un antígeno alimentario peptídico, comprendiendo el procedimiento poner en contacto el antígeno alimentario peptídico con una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas, en condiciones donde dicho antígeno es degradado para reducir la respuesta de linfocitos T al antígeno. En una realización, se reduce la respuesta de linfocitos T en un intestino de un mamífero. En una realización, el antígeno se pone en contacto con la composición farmacéutica en el estómago de un mamífero. En una realización, el antígeno se pone en contacto con la composición farmacéutica *ex vivo*. En una realización, el antígeno es gluten. En una realización, el antígeno es una proteína inmunotóxica del gluten.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir una manifestación de la enfermedad celíaca que se produce por la presencia de proteína de trigo parcialmente hidrolizada en un intestino de un paciente que tiene enfermedad celíaca, que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas para atenuar o impedir una manifestación de la enfermedad celíaca.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para mejorar la digestibilidad de una proteína de un alimento en un mamífero con un trastorno intestinal, este procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas, en condiciones donde la proteína del alimento es degradada por la composición farmacéutica. En una realización, la degradación de la proteína mejora la absorción de la proteína en el intestino. En una realización, se atenúa o impide al menos un síntoma del trastorno. En una realización, el trastorno intestinal es enfermedad de Crohn, síndrome del intestino irritable o colitis. En una realización, se aumenta la absorción de proteínas de los alimentos.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para tratar la insuficiencia de enzimas pancreáticas en un paciente que lo necesita, que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la al menos una enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas y una mezcla de las mismas. En una realización, se administran una o más enzimas pancreáticas. La una o más enzimas pancreáticas se pueden administrar simultáneamente a la composición farmacéutica o en un momento diferente. En una realización, la enzima pancreática es una lipasa, una amilasa, una proteasa o una mezcla de las mismas. En una realización, la insuficiencia de enzimas pancreáticas se debe a pancreatitis, fibrosis quística, síndrome de Shwachman-Bodian-Diamond, cálculos biliares, lupus, esprúe celíaco, cáncer pancreático o cirugía pancreática. En una realización, la pancreatitis es pancreatitis crónica.

En una realización, la enzima de *Nepenthes* se concentra, aísla o extrae a partir del fluido de la jarra de una planta de *Nepenthes*. En una realización, la enzima de *Nepenthes* comprende nepentesina I recombinante, nepentesina II recombinante, neprosina recombinante, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas.

En una realización, la variante de las mismas comprende una proteína, cuya secuencia aminoacídica tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21. En una realización, la variante de las mismas comprende una proteína, cuya secuencia aminoacídica tiene al menos 85 % de homología de secuencia con el aminoácido codificado por el ADNc seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 14.

En una realización, el alimento es un líquido. En un aspecto de la descripción, el alimento es un sólido. En una realización preferida, la composición farmacéutica se administra por vía oral.

Incluso cuando un paciente cumple con una dieta exenta de gluten estricta, el gluten es difícil de evitar. Numerosos alimentos, particularmente los alimentos procesados, están contaminados con cantidades pequeñas de gluten. El consumo de cantidades incluso mínimas de gluten puede conducir a la reaparición de los síntomas en un paciente con enfermedad celíaca. Esto también ocurre con otros alimentos potencialmente inmunogénicos.

En una realización, la composición farmacéutica se administra independientemente de si el paciente ha ingerido (p. ej., ha ingerido conscientemente) un alimento que contiene una proteína potencialmente inmunogénica. En una

realización, la composición farmacéutica se administra según sea necesario, p. ej., antes, durante, y/o después de una comida que podría estar contaminada con una proteína potencialmente inmunogénica, o en la que se desconoce el contenido de proteína potencialmente inmunogénica. En una realización, la composición farmacéutica se administra regularmente. En una realización, la composición farmacéutica se administra al menos una vez al día. En una realización, la composición farmacéutica se administra dos, tres, cuatro o más veces al día. En una realización, la composición farmacéutica se administra junto con (p. ej., antes de, durante o después de) cada comida y/o aperitivo. En una realización, la composición farmacéutica se incluye como parte de una formulación de liberación prolongada en la que hay una liberación continua de una o más enzimas para permitir la ingestión intermitente de aperitivos, etc., sin tener en cuenta el contenido de proteína antigénica del alimento.

En una realización, la composición farmacéutica se mantiene en un sistema acuoso, a aproximadamente pH 2, donde se cargan los grupos amino libres de dicha enzima. En una realización, la composición se mantiene a pH neutro antes de entrar en contacto con los ácidos del estómago. En una realización, la composición farmacéutica comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, de tal manera que el pH de la composición permanece pH 5 o 6 tras entrar en contacto con los ácidos del estómago.

En una realización, la cantidad efectiva de composición farmacéutica es de entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 1 g. En una realización, la cantidad efectiva de composición farmacéutica es de entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 1 g por 1 g de sustrato (p. ej., gluten u otra proteína potencialmente inmunogénica). En una realización, la composición farmacéutica comprende más de una de nepentesina I, nepentesina II, neprosina o una variante de las mismas.

En una realización, el mamífero es un ser humano. En un aspecto, el ser humano padece sensibilidad al gluten o enfermedad celíaca. En un aspecto, se contempla que la sensibilidad intestinal a la proteína intestinal antigénica se correlaciona, directa o indirectamente, con trastorno por déficit de atención e hiperactividad, autismo, artritis reumatoide, fibromialgia y/o dermatitis herpetiforme. Se contempla además que la eliminación de tales proteínas intestinales antigénicas del intestino usando composiciones de esta invención tendrá un efecto positivo sobre el trastorno por déficit de atención e hiperactividad, el autismo, la artritis reumatoide, la fibromialgia y/o la dermatitis herpetiforme. En una realización preferida, el ser humano padece enfermedad celíaca.

En un aspecto, esta descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas. En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende neprosina o una variante y/o sal de las mismas. En una realización preferida adicional, la composición farmacéutica comprende además al menos una enzima de *Nepenthes* adicional. En una realización, la enzima de *Nepenthes* adicional comprende nepentesina I, nepentesina II, una variante de las mismas y/o una sal de las mismas.

Sin ceñirnos a la teoría, se cree que la nepentesina I, la nepentesina II y la neprosina son menos activas o sustancialmente inactivas a pH de neutro o básico. Esto puede ser importante cuando hay posibilidad de una digestión no deseable por la una o más enzimas. Por ejemplo, cuando la composición farmacéutica se administra por vía oral, el tamponamiento de la composición a pH 6,5 o superior puede dar como resultado una forma menos activa de la una o más enzimas, de tal manera que la mucosa oral, la mucosa esofágica y otras células que pueden entrar en contacto con la composición no serán digeridas por la una o más enzimas contenidas en la misma. Asimismo, cuando la composición se añade a un alimento, la una o más enzimas tamponadas no serán capaces (o serán menos capaces) de digerir el alimento antes de consumirlo. En tales situaciones, la introducción de la composición en el entorno ácido del estómago dará como resultado una disminución del pH y la activación de la una o más enzimas.

En una realización, la composición farmacéutica se tampona a aproximadamente pH 6,5 o superior. En una realización preferida, la composición se tampona de aproximadamente pH 6,5 a aproximadamente pH 8,5. En una realización, la composición está en forma líquida. En una realización, la composición está en forma sólida. En una realización, el pH de la composición se ajusta en forma líquida y la composición se seca para formar un sólido.

En una realización, la composición farmacéutica comprende una o más proteasas adicionales. En una realización, la una o más proteasas adicionales son una proteasa aspártica, una serina proteasa, una treonina proteasa, una cisteína proteasa, una ácido glutámico proteasa o una metaloproteasa. En una realización, la composición farmacéutica comprende una o más exoproteasas adicionales, tales como leucina aminopeptidasas y carboxipeptidasas. En una realización, la una o más proteasas adicionales son tripsina. En una realización preferida, la una o más proteasas adicionales son activas a pH ácido (p. ej., pH 2-6).

En un aspecto, la invención se refiere a una formulación que comprende la composición farmacéutica de la invención, donde la una o más enzimas están presentes en un vehículo de liberación retardada de tal manera que la una o más enzimas se liberan continuamente mientras la formulación está presente en el estómago. En una realización, la formulación tiene un pH superior a aproximadamente 5 antes de entrar en contacto con los ácidos del estómago. En una realización, la formulación comprende un tampón biológicamente aceptable, de tal manera que el pH de la composición permanece a aproximadamente pH 5 o 6 durante al menos un período de tiempo tras entrar en contacto con los ácidos del estómago.

En una realización, la descripción se refiere a una formulación de dosis unitaria de la composición farmacéutica. Por ejemplo, y sin limitación, la dosis unitaria puede estar presente en un comprimido, una cápsula y similares. La dosis unitaria puede estar en forma sólida, líquida, en polvo o en cualquier otra forma. Sin ceñirnos a la teoría, se prevé que una formulación de dosis unitaria de la composición farmacéutica permitirá la administración correcta (p. ej., en base a la cantidad de proteína inmunogénica ingerida) evitando al mismo tiempo los posibles efectos secundarios negativos de administrar una cantidad excesiva de la composición.

En una realización, la descripción se refiere a una forma proenzimática de la nepentesina I, nepentesina II, neprosina y/o a una variante de las mismas. En una realización, está presente un propéptido en la enzima. En una realización preferida, el propéptido se elimina mediante pH ácido, activando de ese modo la enzima. En una realización, el propéptido comprende la secuencia aminoacídica del propéptido de origen natural para la enzima. En una realización, el propéptido es un propéptido artificial o un propéptido meterólogo (es decir, un propéptido lábil en ácidos de una proteína y/o especie diferentes).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **Figura 1** muestra una alineación de las secuencias proteicas para nepentesina I de *Nepenthes mirabilis* (SEQ ID NO: 5), *Nepenthes alata* (SEQ ID NO: 6), *Nepenthes gracilis* (SEQ ID NO: 7), *Zea mays* (SEQ ID NO: 10) y *Oryza sativa* (SEQ ID NO: 11), y nepentesina II de *Nepenthes mirabilis* (SEQ ID NO: 8), *Nepenthes gracilis* (SEQ ID NO: 9), *Oryza sativa* (SEQ ID NO: 12) y *Zea mays* (SEQ ID NO: 13).

La **Figura 2** indica los tamaños de las proteínas de nepentesina recombinantes. A: Gel de nepentesina I teñido con Coomassie. B: Análisis mediante espectrometría de masas MALDI-TOF de nepentesina I activada con ácido. C: Gel de nepentesina II teñido con Coomassie. D: Análisis mediante espectrometría de masas MALDI-TOF de nepentesina II activada con ácido.

La **Figura 3** indica los tamaños de la nepentesina I y nepentesina II naturales (agrupadas a partir de 2-3 especies) mediante espectrometría de masas MALDI-TOF.

La **Figura 4** es una fotografía de un gel de SDS-PAGE teñido con Coomassie que indica los pesos moleculares de los fragmentos de gluten después de la digestión con nepentesina II recombinante, extracto de *Nepenthes* o pepsina.

La **Figura 5A** es una fotografía de viales que contienen una suspensión de proteína del gluten digerida con pepsina (40 µg) o con la cantidad indicada de nepentesina I recombinante o nepentesina II recombinante. La **Figura 5B** es una fotografía de viales que contienen una suspensión de proteína del gluten digerida con pepsina (40 µg) o con la cantidad indicada de extracto de *Nepenthes*. Los viales incubados con nepentesina o extracto de *Nepenthes* son menos turbios que el vial de pepsina, lo que demuestra la digestión más enérgica del gluten.

La **Figura 6** muestra la longitud promedio de todos los péptidos identificados a partir de la digestión de gliadina de trigo con fluido de *Nepenthes* enriquecido, usando CL-EM/EM, después de 1, 5, 10, 15, 30, 60, 130, 360 u 810 minutos a 37 °C. Se usó un límite de corte de confianza de 95 % ($p < 0,05$) en las puntuaciones para REDUCIR la identificación de falsos positivos. La desviación estándar relativa de la longitud de los péptidos se muestra en la figura insertada.

La **Figura 7** muestra el número de péptidos identificados mediante CL-EM/EM después de 1, 5, 10, 15, 30, 60, 130, 360 u 810 minutos de digestión a 37 °C, agrupados por longitud. Datos como en la **Figura 6**.

La **Figura 8** muestra los mismos datos que la **Figura 6**, como una probabilidad acumulada de obtener una cierta longitud después de 10, 60, 120, 360 u 810 minutos de digestión a 37 °C.

La **Figura 9** muestra las preferencias de escisión en (A) el lado PI o aminoterminal del sitio de escisión y en (B) el lado P1' o carboxiterminal del sitio de escisión para las enzimas indicadas. Las barras de la izquierda para cada residuo indican digestión con extracto de *Nepenthes*, las barras del medio indican digestión con extracto de *Nepenthes* purificado y las barras de la derecha con nepentesina I recombinante. El % de escisión representa el número de escisiones observadas en el residuo dado, con respecto al número total de péptidos presentes. Los datos se obtuvieron a partir de productos de la digestión de gliadina.

La **Figura 10** muestra el perfil de purificación por intercambio iónico para fluido de *Nepenthes*. Los picos correspondientes a la neprosina y la nepentesina se indican mediante flechas. La región enmarcada indica las fracciones recogidas.

La **Figura 11** muestra los pesos corporales de los ratones durante el ciclo del tratamiento. Los animales de control negativo (●) no se expusieron a gliadina. Los animales de control positivo (■) se expusieron a gliadina digerida por pepsina. Los animales del tratamiento 1 (▲) se expusieron a gliadina digerida con extracto de *Nepenthes*. Los animales del tratamiento 2 (▼) se expusieron a gliadina digerida con nepentesina II recombinante.

La **Figura 12** es una fotografía de la inmunohistoquímica para los IEL positivos para CD3 en el intestino de los ratones tratados.

La **Figura 13** muestra el número medio de linfocitos intraepiteliales (IEL) positivos para CD3 por 100 enterocitos en el intestino para cada grupo de tratamiento. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

La **Figura 14** muestra las proporciones promedio de vellosidades a criptas para cada grupo de tratamiento.

La **Figura 15A** presenta un muestreo de las porciones de gliadina que son digeridas por la neprosina, como se detectan mediante CL-EM/EM dependiente de los datos.

La **Figura 15B** muestra el perfil de digestión de la gliadina después de la digestión con neprosina. Los puntos indican sitios de escisión.

La **Figura 16** muestra la ubicación de los polimorfismos en la secuencia aminoacídica de la neprosina de diferentes especies de *Nepenthes*.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

La descripción detallada de la invención se divide en varias secciones sólo por conveniencia del lector y la descripción encontrada en cualquier sección se puede combinar con la de otra sección.

I. Definiciones

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en esta memoria tienen los mismos significados que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. A continuación, se describen los procedimientos, dispositivos y materiales preferidos. Nada de lo contenido en esta memoria se debe interpretar como una admisión de que esta invención no está legitimada para preceder a tal descripción en virtud de la invención anterior.

Como se emplean en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto lo dicte claramente de otro modo.

Como se emplea en esta memoria, el término “que comprende” está destinado a significar que las composiciones y los procedimientos incluyen los elementos mencionados, pero no excluyen otros. “Que consiste esencialmente en”, cuando se usa para definir composiciones y procedimientos, significará excluir otros elementos de cualquier importancia esencial para la combinación. Por ejemplo, una composición que consiste esencialmente en los elementos como se definen en esta memoria no excluiría otros elementos que no afecten materialmente a la una o más características básicas y novedosas de la invención reivindicada. “Que consiste en” significará excluir más de una traza de otros ingredientes y las etapas importantes del procedimiento mencionadas. Las realizaciones definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de esta invención.

Como se emplea en esta memoria, un “alimento o proteína potencialmente antigénicos” es cualquier alimento o proteína que puede provocar una respuesta inmunitaria y/o inflamatoria en el intestino de un individuo sensible. En una realización preferida, el individuo es un ser humano y el alimento es un alimento destinado al consumo humano. Los alimentos potencialmente antigénicos incluyen, sin limitación, trigo, centeno, cebada, cacahuètes, nueces y semillas. En una realización, las proteínas potencialmente antigénicas de estos alimentos incluyen proteínas de prolamina, albúminas 2S, proteínas de transferencia de lípidos no específicas, inhibidores bifuncionales de α -amilasas/proteasas, proteína hidrófoba de soja, indolinas, gluten, serpinas, purininas, inhibidores de alfa-amilasas/proteasas, globulinas y farininas. En una realización preferida, la proteína (o el péptido) potencialmente antigénica es rica en residuos de prolina y/o glutamina. En una realización especialmente preferida, la proteína potencialmente antigénica es gluten. En otra realización preferida, la proteína potencialmente antigénica es una proteína del trigo.

Como se emplea en esta memoria, el término “gluten” se refiere en general a las proteínas presentes en el trigo o especies de granos relacionadas, que incluyen cebada y centeno, que tienen un efecto potencialmente perjudicial para ciertos individuos. Las proteínas del gluten incluyen gliadinas, tales como α -gliadinas, β -gliadinas, γ -gliadinas y ω -gliadinas, que son proteínas monoméricas, y gluteninas, que son mezclas muy heterogéneas de agregados de subunidades peso molecular alto y peso molecular bajo unidas mediante enlaces disulfuro. Se han caracterizado muchas proteínas del gluten de trigo. Véase, por ejemplo, Woychik y col., Amino Acid Composition of Proteins in Wheat Gluten, J. Agric. Food Chem., 9 (4), 307-310 (1961). El término gluten, como se emplea en esta memoria, también incluye oligopéptidos que se pueden obtener de la digestión humana normal de proteínas del gluten de alimentos que contienen gluten y provocan la respuesta inmunitaria anómala. Algunos de estos oligopéptidos son resistentes a las enzimas digestivas normales. Se cree que el gluten, lo que incluye las proteínas y los oligopéptidos antes mencionados, actúa como un antígeno para los linfocitos T (p. ej., IEL) en pacientes con intolerancia al gluten (p. ej., esprúe celíaco). El término gluten también se refiere a gluten desnaturalizado, tal como se encontraría en los

productos horneados.

Como se emplea en esta memoria, la expresión “sensibilidad al gluten y afecciones relacionadas” se refiere a cualquier afección derivada de la intolerancia o sensibilidad a proteínas o péptidos del gluten. Estas incluyen, sin limitación, esprúe celíaco (enfermedad celíaca), alergia al trigo, sensibilidad al gluten, enteropatía sensible al gluten, sensibilidad idiopática al gluten y dermatitis herpetiforme. Las afecciones relacionadas también incluyen, sin limitación, autismo, trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), artritis reumatoide, fibromialgia, enfermedad de Crohn, mala absorción de nutrientes y síndrome del intestino irritable (SII).

El término “neprosina” se refiere a una prolil endoproteasa con un peso molecular de aproximadamente 29 kilodalton (kDa). La neprosina se puede aislar a partir de las secreciones de la jarra de la especie *Nepenthes*. La neprosina escinde proteínas carboxiterminales a la prolina, con especificidad alta. La enzima es activa de aproximadamente pH 2 a aproximadamente pH 6. En una realización, la neprosina tiene la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1. La secuencia aminoacídica de la neprosina no es homóloga a ninguna otra proteína conocida. En una realización, la neprosina está codificada por la secuencia de ADNc de SEQ ID NO: 2. En una realización, la neprosina comprende una secuencia señal. En una realización, la secuencia señal comprende la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 3. En una realización, la neprosina no comprende una secuencia señal.

Neprosina incluye todas las isoformas, isotipos y variantes de la neprosina, la neprosina recombinante y sales de las mismas. Sales se refiere a aquellas sales formadas por la neprosina con una o más bases o uno o más ácidos que conservan la efectividad biológica y las propiedades de la neprosina libre, y que no son biológicamente, o de otro modo, no deseables. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico básicas, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, 2-dietilaminoetanol, dicitlohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilenodiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina, poliamina y similares. Los ácidos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares.

Los ejemplos de proteasas incluyen, sin limitación, proteasas aspárticas, serina proteasas, treonina proteasas, cisteína proteasas, ácido glutámico proteasas y metaloproteasas. Las proteasas que pueden ser útiles en la presente invención incluyen, sin limitación, BACE, cathepsina D, cathepsina E, quimosina (o “renina”), napsina, pepsina, plasmepsina, presenilina, renina, tripsina, quimiotripsina, elastasa y cisteína endoproteasa (EP) B2 (también conocida como EPB2). Las proteasas incluyen las descritas, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos n.º 7 320 788; 7 303 871; 7 320 788; 7 628 985; 7 910 541 y 7 943 312; y las patentes PCT de n.º de publicación 2005/107786; 2008/115428; 2008/115411; 2010/021752; 2010/042203; 2011/097266. En una realización preferida, la al menos una proteasa adicional es activa a pH ácido, tal como el encontrado en el estómago (p. ej., pH 1,5 a 3,5).

El término “nepentesina” se refiere a la proteasa aspártica que tiene el número de la Comisión de Enzimas EC 3.4.23.12, e incluye todas las isoformas, isotipos y variantes de la nepentesina tales como nepentesina I y nepentesina II, isoformas de la nepentesina y nepentesina recombinante, y sales de las mismas. La nepentesina (EC 3.4.23.12) es una proteasa aspártica de origen vegetal que se puede aislar o concentrar a partir de un abanico de fuentes vegetales, tales como las secreciones de la jarra de *Nepenthes*, una planta de jarra carnívora, conocida como habitualmente como copas de mono en las regiones tropicales. La nepentesina se describe pormenorizadamente en la solicitud de patente de los Estados Unidos de n.º de serie 13/843 369, depositada el 15 de marzo de 2013. La alineación de secuencias de las secuencias proteicas de nepentesina conocidas (y las secuencias proteicas putativas de nepentesina) se muestra en la **Figura 1**.

En una realización, “cantidad efectiva” se refiere a la cantidad de una composición que da como resultado la inhibición o mejora de los síntomas en un sujeto o un resultado biológico deseado, p. ej., signos clínicos mejorados, aparición retardada de la enfermedad, etc. La cantidad efectiva puede ser determinada por un experto en la materia. El nivel de dosis seleccionado puede depender de la gravedad de la afección que se está tratando y de la afección y los antecedentes médicos del mamífero que se está tratando. Por ejemplo, un experto en la materia iniciará las dosis de la composición a niveles inferiores a los necesarios para conseguir el efecto terapéutico deseado y aumentará gradualmente la dosis hasta conseguir el efecto deseado.

El término “manifestaciones de la enfermedad celíaca” se refiere a cualquiera de los síntomas o presentaciones clínicas de la enfermedad celíaca. Tales manifestaciones incluyen, sin limitación, inflamación intestinal, “mente confusa”, depresión, ansiedad, comportamiento similar al TDAH, dolor abdominal, hinchazón, diarrea, estreñimiento, cefaleas, migrañas, dolor de huesos o articulaciones, fatiga crónica, lesión del intestino delgado, desarrollo de anticuerpos contra la transglutaminasa tisular (tTG), acné extenso, vómitos, pérdida de peso, irritabilidad, anemia

ferropénica, artritis, hormigueo, entumecimiento en las extremidades, infertilidad y úlceras aftosas en la boca. Las manifestaciones incluyen además atrofia de las vellosidades de la mucosa del intestino delgado con hiperplasia de las criptas, inflamación de la mucosa del intestino, mala absorción de nutrientes, distensión abdominal, así como un riesgo sustancialmente mayor de desarrollo de osteoporosis y neoplasias intestinales malignas (linfoma y carcinoma).

“Administración simultánea” o “cotratamiento”, como se emplean en esta memoria, incluye la administración de los agentes juntos, o antes o después uno de otro.

Los términos “modular”, “atenuar” o “mejorar” significan cualquier tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto, tal como un mamífero, lo que incluye:

☐ impedir o proteger contra la enfermedad o el trastorno, es decir, hacer que la reacción biológica anómala o los síntomas no se desarrollen;

☐ inhibir la enfermedad o el trastorno, es decir, detener o impedir el desarrollo de reacciones biológicas anómalas y/o síntomas clínicos; y/o

☐ aliviar la enfermedad o el trastorno, es decir, provocar la regresión de las reacciones biológicas anómalas y/o los síntomas.

Como se emplean en esta memoria, los términos “impedir” o “inhibir” se refieren al tratamiento profiláctico de un sujeto que lo necesita. El tratamiento profiláctico se puede lograr proporcionando una dosis apropiada de un agente terapéutico a un sujeto con riesgo de padecer una dolencia, evitando sustancialmente de ese modo la aparición de la dolencia.

Como se emplea en esta memoria, el término “afección” se refiere a una enfermedad para la que se usan los compuestos, las composiciones y los procedimientos proporcionados en esta memoria.

Como se emplean en esta memoria, los términos “paciente” o “sujeto” se refieren a mamíferos e incluyen seres humanos y mamíferos no humanos. En realizaciones particulares de esta memoria, el paciente o sujeto es un ser humano.

El término “aproximadamente”, cuando se usa antes de un valor numérico, indica que el valor puede variar dentro de un intervalo razonable: $\pm 5\%$, $\pm 1\%$ o $\pm 0,2\%$.

Un polinucleótido o una región polinucleotídica (o un polipéptido o una región polipeptídica) que tiene un cierto porcentaje (por ejemplo, 80 %, 85 %, 90 %, o 95 %) de “identidad de secuencia” con otra secuencia significa que, cuando se alinean, ese porcentaje de bases (o aminoácidos) son iguales al comparar las dos secuencias. La alineación y el porcentaje de homología o identidad de secuencia se pueden determinar usando programas de software conocidos en la técnica, por ejemplo, los descritos en Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel y col., Eds. 1987) Suplemento 30, apartado 7.7.18, Tabla 7.7.1. Preferiblemente, se usan los parámetros predeterminados para la alineación. Un programa de alineación es BLAST, que usa parámetros predeterminados. Los ejemplos de los programas incluyen BLASTN y BLASTP que usan los parámetros predeterminados siguientes: código genético = estándar; filtro = ninguno; cadena = ambas; corte = 60; esperado = 10; matriz = BLOSUM62; descripciones = 50 secuencias; ordenar por = PUNTUACIÓN ALTA; bases de datos = no redundantes, GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + traducciones de CDS de GenBank + Swiss-Prot + Spupdate + PIR. Los detalles de estos programas se pueden encontrar en la dirección de Internet siguiente: ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST.

“Homología” o “identidad” o “similitud” se refiere a la similitud de secuencia entre dos péptidos o entre dos moléculas de ácido nucleico. La homología se puede determinar comparando una posición en cada secuencia que se puede alinear con fines comparativos. Cuando una posición en la secuencia comparada está ocupada por la misma base o aminoácido, entonces las moléculas son homólogas en esa posición. El porcentaje de homología entre secuencias es función del número de posiciones coincidentes u homólogas compartidas por las secuencias. Una secuencia “no relacionada” o “no homóloga” comparte menos de 40 % de identidad, o alternativamente menos de 25 % de identidad, con una de las secuencias de la presente descripción.

II. Procedimientos

En un aspecto, esta descripción se refiere a procedimientos para modular una afección mediada por la intolerancia al gluten en un paciente, que comprenden administrar al paciente una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende una enzima de *Nepenthes*. En una realización preferida, la afección es enfermedad celíaca o una alergia al trigo.

En otro aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir la producción y/o el reclutamiento de IEL en el intestino debido a la presencia de un antígeno alimentario peptídico en un intestino de un mamífero. En una realización, el procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una

composición farmacéutica que comprende una enzima de *Nepenthes*. En una realización, la proteína del gluten es degradada por la composición farmacéutica para atenuar o impedir la producción y/o el reclutamiento de IEL en el intestino.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir la inflamación intestinal debida a la presencia de un antígeno alimentario peptídico en el intestino de un mamífero. En una realización, el procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende una enzima de *Nepenthes*. En una realización, el antígeno alimentario peptídico es degradado por la una o más enzimas para atenuar o impedir la inflamación intestinal.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir la linfocitosis intraepitelial debida a la presencia de un antígeno alimentario peptídico en un intestino de un mamífero. En una realización, el procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende una enzima de *Nepenthes*. En una realización, el antígeno alimentario peptídico es degradado por la composición farmacéutica para atenuar o impedir la linfocitosis intraepitelial en el intestino.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un procedimiento para atenuar o impedir la atrofia de las vellosidades debida a la presencia de un antígeno alimentario peptídico en un intestino de un mamífero. En una realización, el procedimiento comprende administrar al mamífero una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende una enzima de *Nepenthes*. En una realización, el antígeno alimentario peptídico es degradado por la composición farmacéutica para atenuar o impedir la atrofia de las vellosidades en el intestino. En una realización, la atrofia de las vellosidades es un resultado de la inflamación del intestino.

En una realización, la enzima de *Nepenthes* es nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas. En una realización preferida, la formulación farmacéutica es una formulación de liberación prolongada.

En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEC ID NO: 7, SEC ID NO: 8, SEC ID NO: 9, SEC ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21. En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1. En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 5. En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 6. En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 7. En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 8. En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9. En una realización, la variante es una proteína que tiene una amina o secuencia de ácido que tiene al menos 85 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 20. En una realización, la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica que tiene al menos 85 % de homología con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 21.

En una realización, la composición farmacéutica comprende un extracto de fluido de jarra de *Nepenthes*. En una realización, la composición farmacéutica comprende nepentesina I, nepentesina II y/o neprosina purificadas a partir de un extracto de fluido de jarra de *Nepenthes*. En una realización, al menos una de nepentesina I, nepentesina II, neprosina o una variante de las mismas es una proteína recombinante. En una realización, la composición farmacéutica está entre aproximadamente pH 5 y aproximadamente pH 8 antes de la administración. Las composiciones farmacéuticas para uso en los procedimientos descritos en esta memoria se analizan más pormenorizadamente a continuación.

En una realización preferida, el mamífero es un ser humano. En una realización, el ser humano padece una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en intolerancia al gluten, enfermedad celíaca, trastorno por déficit de atención e hiperactividad, autismo, artritis reumatoide, fibromialgia y dermatitis herpetiforme. En una realización, el ser humano padece una alergia alimentaria.

En una realización, la composición farmacéutica se administra por vía oral antes, durante o inmediatamente después del consumo de un alimento que contiene gluten.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra al sujeto antes de la ingestión por el sujeto del alimento que comprende gluten o se sospecha que comprende gluten. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra dentro de un período en el que la enzima es al menos parcialmente efectiva (por ejemplo, al menos aproximadamente 10 %, 20 %, 50 %, 70 %, 90 % de la actividad original) para degradar el gluten en el alimento que ingerirá el sujeto. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra como máximo aproximadamente 4 horas, 3 horas, 2 horas, 1 hora o 30 minutos antes de la ingestión del alimento por el sujeto.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra al sujeto simultáneamente a la ingestión por el sujeto del alimento potencialmente inmunogénico. En algunas realizaciones, la composición enzimática se administra con el alimento. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra independientemente del alimento.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra al sujeto poco después de la ingestión por el sujeto del alimento potencialmente inmunogénico. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra dentro de un período en el que al menos parte (por ejemplo, al menos aproximadamente 10 %, 20 %, 50 %, 70 %, 90 %) del uno o más antígenos del alimento están todavía en el estómago del sujeto. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra como máximo 4 horas, 3 horas, 2 horas, 1 hora o 30 minutos después de la ingestión del alimento por el sujeto.

Habitualmente, la composición farmacéutica se administra en una cantidad que es segura y suficiente para producir el efecto deseado de desintoxicación del uno o más antígenos alimentarios peptídicos. La dosis de la composición farmacéutica puede variar en función de muchos factores, tales como la enzima particular administrada, la sensibilidad del sujeto al alimento, la cantidad y los tipos de alimentos que contienen antígeno ingeridos, las propiedades farmacodinámicas de la enzima, el modo de administración, la edad, salud y peso del receptor, la naturaleza y magnitud de los síntomas, la frecuencia del tratamiento y el tipo de tratamiento simultáneo, si lo hay, y la tasa de depuración de la enzima. Un experto en la materia puede determinar la dosis apropiada en base a los factores anteriores. La composición se puede administrar inicialmente en una dosis adecuada que se puede ajustar según proceda, en función de la respuesta clínica. Se pueden emplear opcionalmente ensayos *in vitro* para ayudar a identificar los intervalos de dosis óptimos. La dosis exacta que se debe emplear en la formulación también dependerá de la vía de administración y/o la gravedad de la enfermedad o el trastorno, y se debe decidir según el juicio del facultativo y las circunstancias de cada sujeto.

La dosis o pauta posológica de un sujeto adulto puede ajustarse proporcionalmente para niños y lactantes, y también ajustarse para otra administración u otros formatos, en proporción, por ejemplo, al peso molecular o la respuesta inmunitaria. La administración o los tratamientos se pueden repetir a intervalos apropiados, a discreción del facultativo.

Generalmente, la composición farmacéutica se administra cuando se necesita, tal como cuando el sujeto consumirá, está consumiendo o ha consumido un alimento que comprende una proteína antigénica o se sospecha que comprende una proteína antigénica. En cualquier caso, se puede administrar en dosis de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 1000 mg de enzima por kg de peso corporal al día, o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 g por dosis para una persona promedio. En algunas realizaciones, la enzima se puede administrar a 0,001; 0,01; 0,1; 1, 5, 10, 50, 100, 500 o 1000 mg/kg peso corporal al día, y a intervalos entre cualesquiera dos de estos valores (incluidos los extremos). En algunas realizaciones, la enzima se puede administrar a 1 mg, 10 mg, 100 mg, 200 mg, 500 mg, 700 mg, 1 g, 10 g, 20 g, 50 g, 70 g, 100 g por dosis, y a intervalos entre cualesquiera dos de estos valores (incluidos los extremos). En algunas realizaciones, se puede administrar una, dos, tres veces, etc., al día, en función del número de veces que el sujeto ingiere un alimento que comprende una proteína antigénica y/o de la cantidad de tal alimento que consume. La cantidad de enzima mencionada en esta memoria se puede referir a la enzima total o a cada enzima de la composición.

En algunas realizaciones, la cantidad de composición farmacéutica administrada es dependiente de la cantidad (o cantidad aproximada) de sustrato (p. ej., gluten y/u otra proteína o proteína potencialmente antigénica) consumido/que se va a consumir. En una realización, se administra de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1 g de enzima por 1 g de sustrato. En una realización, se administra de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 1 g de enzima por 1 g de sustrato. En una realización, se administra de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1 g de enzima por 1 g de sustrato. En una realización, se administra de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1 g de enzima por 1 g de sustrato. En una realización, se administra de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg de enzima por 1 g de sustrato. En una realización, se administra de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 250 mg de enzima por 1 g de sustrato. En una realización, se administra de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg de enzima por 1 g de sustrato. En una realización, se administra de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg de enzima por 1 g de sustrato. Esto incluye cualquier valor en estos intervalos (incluidos los extremos), y subintervalos entre cualesquiera dos de estos valores.

En una realización, la proporción de sustrato a enzima administrada es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 10 000:1. En una realización preferida, la proporción de sustrato a enzima es de aproximadamente 10:1 a aproximadamente 1000:1. En una realización, la proporción de sustrato a enzima es de aproximadamente 10:1 a aproximadamente 100:1.

La composición farmacéutica de esta invención se puede administrar como único agente activo o se puede administrar en combinación con otros agentes (simultánea, secuencial o independientemente, o mediante coformulación), que incluyen otros compuestos que presentan una actividad terapéutica igual o similar y que se ha determinado que son seguros y eficaces para tal administración combinada.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra con una enzima adicional, tal como una proteasa gástrica, una proteasa aspártica (tal como pepsina, pepsinógeno o las descritas por Chen y col., Aspartic proteases gene family in rice: Gene structure and expression, predicted protein features and phylogenetic relation, Gene 442:108-118 (2009)) y enzimas tales como otra prolil endopeptidasa (PEP), dipeptidil peptidasa IV (DPP IV) y dipeptidil carboxipeptidasa (DCP) o cisteína proteinasa B (descritas en la patente de los Estados Unidos n.º 7 910 541). En una realización, la otra enzima se administra en forma de bacterias que producen y/o secretan la enzima adicional. En una realización, las bacterias están diseñadas para producir y/o secretar nepentesina I, nepentesina II, neprosina y/o una variante de las mismas.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra al sujeto con otro agente. Los ejemplos no limitantes de agentes que se pueden administrar con la composición farmacéutica incluyen inhibidores de la transglutaminasa tisular, agentes antiinflamatorios tales como amilasas, glucoamilasas, endopeptidasas, inhibidores de la HMG-CoA reductasa (p. ej., compactina, lovastatina, simvastatina, pravastatina y atorvastatina), antagonistas del receptor de leucotrienos (p. ej., montelukast y zafirlukast), inhibidores de la COX-2 (p. ej., celecoxib y rofecoxib), inhibidores de la MAP cinasa p38 (p. ej., BIRB-796); agentes estabilizadores de los mastocitos tales como cromoglicato de sodio (cromolín), pemirolast, proxicromil, repirinast, doxantrazol, amlexanox nedocromil y probicromil, agentes antiulcerosos, agentes antialérgicos tales como agentes antihistamínicos (p. ej., acrivastina, cetirizina, desloratadina, ebastina, fexofenadina, levocetirizina, loratadina y mizolastina), inhibidores de la transglutaminasa 2 (TG2), agentes anti-TNFα y antibióticos. En otra realización, el agente adicional es un probiótico. Los probióticos incluyen, sin limitación, especies y cepas de lactobacilos, levaduras, bacilos o bifidobacterias. En una realización, el otro agente es elafina. En una realización, el otro agente se administra en forma de bacterias que producen y/o secretan el agente adicional.

En algunas realizaciones, el otro agente comprende una enzima (p. ej., proteasa) que es activa en el intestino. Sin ceñirnos a la teoría, se cree que tales enzimas pueden actuar sinérgicamente con la una o más enzimas de la composición farmacéutica para degradar adicionalmente las proteínas inmunogénicas.

También se proporciona en esta memoria el uso de una composición enzimática que comprende nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas y/o una sal de las mismas en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una de las afecciones y enfermedades antes mencionadas.

III. Composiciones Farmacéuticas

La composición farmacéutica se puede administrar en un abanico de composiciones sola o con vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables apropiados.

Por consiguiente, en otro aspecto de la descripción, se proporciona en esta memoria una composición que comprende nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas y/o una sal de las mismas. En algunas realizaciones, la composición es una composición farmacéutica. Las composiciones se pueden formular en formas sólidas, semisólidas o líquidas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, pomadas, soluciones, inyecciones, geles y microesferas. La administración de la composición se puede conseguir de diversas maneras, por ejemplo, mediante administración oral.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas o una mezcla de las mismas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de los Estados Unidos u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "vehículo" hace referencia a un diluyente, adyuvante, excipiente o portador con el que se administra el agente terapéutico. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tal como agua y aceites, que incluyen los derivados del petróleo, de origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. También se pueden emplear soluciones salinas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos.

Los excipientes farmacéuticos aceptables incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, carbonato de calcio, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades pequeñas de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponadores del pH. Estas composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación prolongada y similares. Los ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martin. Tales composiciones contendrán una cantidad terapéuticamente efectiva de la una o más enzimas, preferiblemente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo para proporcionar la forma para la administración correcta al paciente. La formulación se debe adecuar al modo de administración.

Para administración oral, la composición farmacéutica se puede usar sola o en combinación con aditivos apropiados

para fabricar comprimidos, polvos, gránulos, cápsulas, jarabes, líquidos, suspensiones, etc. Por ejemplo, las formas orales sólidas de la composición se pueden preparar con aditivos convencionales, desintegrantes, lubricantes, diluyentes, agentes tamponadores, agentes humectantes, conservantes y aromatizantes. Los ejemplos no limitantes de excipientes incluyen lactosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, celulosa cristalina, derivados de celulosa, goma arábica, almidón de maíz, carboximetilcelulosa de sodio, talco, estearato de magnesio, aromas y colorantes. En algunas realizaciones, la formulación libera la una o más enzimas en el estómago del sujeto de manera que el uno o más antígenos alimentarios peptídicos puedan ser degradados por la una o más enzimas.

La composición se puede liofilizar a partir de una solución acuosa, opcionalmente en presencia de tampones (p. ej., tampones de fosfato, citrato, histidina, imidazol) y excipientes (p. ej., crioprotectores tales como sacarosa, lactosa, trehalosa) apropiados. Las tortas liofilizadas pueden mezclarse opcionalmente con excipientes y prepararse en diferentes formas.

En otro aspecto de la descripción, se proporcionan procedimientos para tratar la intolerancia al gluten o una afección asociada, tal como enfermedad celíaca, alergia al trigo, sensibilidad al gluten y dermatitis herpetiforme, en un paciente que lo necesita, que comprenden tratar un alimento que comprende gluten o se sospecha que comprende gluten con una cantidad efectiva de la composición antes del consumo por el paciente. En algunas realizaciones, el alimento se combina con una cantidad efectiva de la composición durante su preparación. En una realización, la composición se añade después de cualquier etapa de calentamiento en la preparación del alimento. En una realización, la composición se añade antes de una o más etapas de calentamiento en la preparación del alimento.

La nepentesina I, la nepentesina II y la neprosina se presentan como proenzimas en *Nepenthes* antes de la activación. Es decir, la proteína incluye un propéptido que se escinde para activar la enzima en el fluido de la jarra. En una realización, la composición comprende nepentesina I, nepentesina II, neprosina, una variante de las mismas y/o una sal de las mismas que comprende un propéptido. En una realización, el propéptido es adyacente al extremo amino de la enzima. En una realización, el propéptido es el propéptido de origen natural de la enzima. En una realización, el propéptido es un propéptido heterólogo (p. ej., de una proteína o especie diferentes, o sintético). En una realización, el propéptido se escinde mediante condiciones ácidas. En una realización, el propéptido se escinde mediante una enzima. En una realización, la presencia del propéptido da como resultado actividad retardada de la enzima en el estómago (p. ej., debido al tiempo necesario para eliminar el propéptido y producir la enzima madura). En una realización, el propéptido está diseñado para ser eliminado más lentamente con el fin de retardar la actividad de la enzima en el estómago. En una realización, el propéptido está diseñado para ser eliminado más rápidamente con el fin de acelerar la actividad de la enzima en el estómago.

En una realización preferida, la formulación es una formulación de liberación controlada. El término "formulación de liberación controlada" incluye formulaciones de liberación prolongada y de liberación a lo largo del tiempo. Las formulaciones de liberación controlada son muy conocidas en la técnica. Estas incluyen excipientes que permiten la liberación prolongada, periódica, pulsada o retardada del fármaco. Las formulaciones de liberación controlada incluyen, sin limitación, incorporación del fármaco en una matriz; revestimientos entéricos; microencapsulación; geles e hidrogeles; y cualquier otra formulación que permita la liberación controlada de un fármaco.

En algunas realizaciones, la composición se administra como un aditivo alimentario junto con un alimento que comprende o se sospecha que comprende una proteína alimentaria potencialmente antigénica. En una realización, el alimento comprende o se sospecha que comprende gluten, por ejemplo, pan, pasta, cereales y similares, preparados a partir de trigo, centeno y cebada, etc. En algunas realizaciones, la composición se añade como un ingrediente en tal alimento. En algunas realizaciones, la composición se dispersa en un alimento antes del consumo, opcionalmente a un pH al que es inactiva, tal como un pH de aproximadamente 5 o superior. En algunas realizaciones, la composición se puede preparar o incorporar en un polvo, una crema para untar, un espray, una salsa, una salsa para mojar, una nata montada, etc., que se puede aplicar al alimento cuando el alimento está siendo consumido por el paciente. En algunas realizaciones, la composición se puede preparar en formas que despiertan el apetito, tales como caramelos, chicles, complementos nutricionales masticables, jarabe, etc. para una administración fácil. En algunas realizaciones, la composición se puede mezclar con alimentos habituales, tales como azúcar, sal, aderezos para ensaladas, especias, queso, mantequilla, margarinas, cremas para untar, mantequilla, grasas comestibles para freír, mayonesas, productos lácteos, mantequillas de nueces, mantequillas de semillas, mantequillas de almendra, mantequilla de cacahuete, etc. Preferiblemente, los alimentos o aditivos que comprenden la composición no necesitan calentamiento antes de ser ingeridos por un paciente, de manera que se puede minimizar la posible pérdida de actividad de la una o más enzimas debido a la temperatura elevada.

En una realización, la una o más enzimas de la composición se activan tras entrar en contacto con el ácido (es decir, en el estómago).

En otro aspecto de la descripción, se proporciona un producto alimentario que comprende neprosina, nepentesina I, nepentesina II, una variante de las mismas o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, el producto alimentario comprende gluten o se sospecha que comprende gluten, tal como productos para horneado (p. ej., tartas, magdalenas, donuts, pasteles, panecillos y pan), pasta, galletas saladas, nachos, cereales, etc. hechos de trigo, centeno y cebada. En algunas realizaciones, el producto alimentario se puede consumir con otro producto alimentario

que comprende gluten o se sospecha que comprende gluten. Los ejemplos no limitantes de tal alimento incluyen un polvo, una crema para untar, un spray, una salsa, una salsa para mojar, una nata montada, caramelos, chicles, jarabe, azúcar, sal, aderezos para ensaladas, especias, queso, mantequilla, margarinas, cremas para untar, mantequilla, grasas comestibles para freír, mayonesas, productos lácteos, mantequillas de nueces, mantequillas de semillas, mantequillas de almendras, mantequilla de cacahuete, etc.

En algunas realizaciones, la composición que comprende neprosina, nepentesina I, nepentesina II, una variante de las mismas o una combinación de las mismas se mezcla con alimentos o se usa para pretratar alimentos que contienen gluten. La composición presente en los alimentos puede ser enzimáticamente activa para reducir el nivel de gluten en el alimento antes de, o durante, la ingestión.

En un aspecto de la descripción, se añade una composición que comprende neprosina, nepentesina I, nepentesina II, una variante de las mismas o una combinación de las mismas se añade al alimento antes de consumir el alimento. En una realización, la descripción se refiere a un dispensador que comprende un excipiente interno y una cantidad efectiva de la composición farmacéutica para digerir el gluten. En una forma de realización, la composición farmacéutica y/o el excipiente interno se añaden al alimento antes de consumir el alimento. En una realización, el alimento comprende gluten o se sospecha que comprende gluten. En una realización, el excipiente interno comprende cloruro de sodio o yoduro de sodio, o una mezcla de los mismos. En una realización, la composición farmacéutica y/o el excipiente interno están en forma granular, dimensionados para dispensar eficientemente desde dicho dispensador.

En algunas realizaciones, la composición (tal como la composición farmacéutica o la composición comestible) o el producto alimentario comprende de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 20 % a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 % de la una o más enzimas. En algunas realizaciones, la cantidad de enzima en la composición (tal como la composición farmacéutica o la composición comestible) o el producto alimentario es aproximadamente 0,01 %, aproximadamente 0,1 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 1 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 95 % de la composición total o el producto alimenticio, o un intervalo entre cualesquiera dos de los valores (incluidos los extremos).

En algunas realizaciones, la composición comprende neprosina y nepentesina, o una variante de las mismas. En algunas realizaciones, la nepentesina es nepentesina I y/o nepentesina II, o una variante de las mismas. En algunas realizaciones, la nepentesina es nepentesina I recombinante y/o nepentesina II recombinante, o una variante de las mismas. En algunas realizaciones, la nepentesina es nepentesina I recombinante y nepentesina II recombinante, o una variante de cada una de las mismas. En algunas realizaciones, la neprosina es neprosina recombinante o una variante de la misma. En una realización preferida, la composición comprende nepentesina I, nepentesina II y/o neprosina que comprenden la una o más secuencias aminoacídicas de la nepentesina I, nepentesina II, y/o neprosina de una especie de *Nepenthes*, o una o más variantes de las mismas.

Se han descrito las secuencias de ARNm/ADNc de nepentesina I de varias especies de *Nepenthes*, por ejemplo, *Nepenthes mirabilis* (n.º de entrada de GenBank JX494401), *Nepenthes gracilis* (n.º de entrada de GenBank AB114914) y *Nepenthes alata* (n.º de entrada de GenBank AB266803). Se han descrito las secuencias de ARNm/ADNc de nepentesina II de varias especies de *Nepenthes*, por ejemplo, *Nepenthes mirabilis* (número de acceso de GenBank JX494402) y *Nepenthes gracilis* (número de acceso de GenBank AB114915).

Se han descrito las secuencias proteicas de nepentesina I de varias especies de *Nepenthes*, por ejemplo, *Nepenthes mirabilis* (n.º de acceso de GenBank AFV26024; SEC ID NO: 5), *Nepenthes gracilis* (n.º de acceso de GenBank BAD07474; SEC ID NO: 7) y *Nepenthes alata* (n.º de acceso de GenBank BAF98915; SEC ID NO: 6). Se han descrito las secuencias proteicas de nepentesina II de varias especies de *Nepenthes*, por ejemplo, *Nepenthes mirabilis* (n.º de acceso de GenBank AFV26025; SEQ ID NO: 8) y *Nepenthes gracilis* (n.º de acceso de GenBank BAD07475; SEQ ID NO: 9). Las secuencias también se encuentran en la solicitud de patente de los estados Unidos de n.º de publicación 2014/0186330.

En algunas realizaciones, la nepentesina es una variante de nepentesina que tiene al menos aproximadamente 85 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina I (p. ej., SEQ ID NO: 5; SEC ID NO: 6; SEC ID NO: 7 o SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 90 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina I. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 95 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina I. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 96 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina I. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 97 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina I. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos 98 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina I. En algunas

realizaciones, la variante tiene al menos 99 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina I. En una realización, la nepentesina comprende la secuencia aminoacídica de SEC ID NO: 5; SEC ID NO: 6; SEC ID NO: 7 o SEQ ID NO: 21.

5 En algunas realizaciones, la nepentesina es una variante de nepentesina que tiene al menos aproximadamente 85 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina II (p. ej., SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 90 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina II. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 95 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina II. En algunas
10 realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 96 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina II. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 97 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina II. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 98 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica de nepentesina II. En algunas realizaciones, la variante tiene al menos aproximadamente 99 % de homología de secuencia con una
15 secuencia aminoacídica de nepentesina II. En una realización, la nepentesina comprende la secuencia aminoacídica de nepentesina I de SEQ ID NO: 8; SEC ID NO: 9 o SEQ ID NO: 22 que conserva actividad de glutenasa. En una realización particularmente preferida, la secuencia codifica una variante de nepentesina I que degrada al menos un péptido tóxico del gluten.

20 En un aspecto de la descripción, la proporción de neprosina a nepentesina I y/o II en la composición es tal que el antígeno alimentario peptídico se escinde en fragmentos suficientemente pequeños y/o inocuos para impedir la intolerancia al gluten, enfermedad celíaca, alergia al trigo o dermatitis herpetiforme, la inflamación, la proliferación o el reclutamiento de IEL, la linfocitosis intraepitelial y/o la atrofia de las vellosidades, o cualquier síntoma de las mismas, en un intestino del sujeto. En algunas realizaciones, la proporción de neprosina:nepentesina es de aproximadamente
25 1:100 a aproximadamente 100:1.

En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina (nepentesina I y/o II) de al menos aproximadamente 100:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 90:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 70:1. En algunas realizaciones, la
30 composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 60:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 50:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 40:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 30:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 20:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 10:1. En algunas realizaciones, la
35 composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 5:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 4:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 3:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 2:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:2. En algunas realizaciones, la
40 composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:3. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:4. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:5. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:10. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:20. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:30. En algunas realizaciones, la
45 composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:40. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:50. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:60. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:70. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:80. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:90. En algunas realizaciones, la
50 composición comprende una proporción de neprosina a nepentesina de al menos aproximadamente 1:100.

60 En un aspecto de la descripción, la proporción de nepentesina I a nepentesina II en la composición es tal que el antígeno alimentario peptídico se escinde en fragmentos suficientemente pequeños y/o inocuos para impedir la inflamación, la proliferación o el reclutamiento de IEL, la linfocitosis intraepitelial y/o la atrofia de las vellosidades en un intestino del sujeto. En algunas realizaciones, la proporción de nepentesina I:nepentesina II es de aproximadamente
65 1:100 a aproximadamente 100:1.

En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 100:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 90:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 70:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 60:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 50:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 40:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 30:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 20:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 10:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 5:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 4:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 3:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 2:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:1. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:2. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:3. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:4. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:5. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:10. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:20. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:30. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:40. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:50. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:60. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:70. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:80. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:90. En algunas realizaciones, la composición comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:100.

IV. Procedimientos de preparación

Se contempla que la nepentesina y/o la neprosina se pueden concentrar (o extraer) o purificar mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo (pero no limitados a) filtración o purificación por afinidad basada en pepstatina inmovilizada, de una fuente natural, lo que incluye secreciones de las jarras de plantas tales como *Nepenthes*. También se puede usar cromatografía de proteínas clásica, tal como cromatografía de exclusión por tamaños (también conocida como cromatografía de permeación en gel) y/o cromatografía de cromatografía de intercambio, para concentrar (o extraer) o purificar nepentesina y/o neprosina. El cromatografía de intercambio se puede usar antes o después de la exclusión por tamaños. La nepentesina I, la nepentesina II y la neprosina se encuentran en cantidades relativamente pequeñas en las secreciones vegetales naturales. La producción de nepentesina I, nepentesina II y/o neprosina se puede aumentar, por ejemplo, usando tecnologías de bioingeniería para crear plantas transgénicas que expresen y/o secretan cantidades aumentadas de la una o más enzimas deseadas, o una variante de las mismas.

Además de aislarla de una fuente vegetal, la enzima de *Nepenthes* o variante de la misma se puede preparar mediante síntesis química. La síntesis química se puede conseguir acoplando los aminoácidos según la secuencia de la enzima o variante deseada. Se dispone de diversos procedimientos de acoplamiento peptídico y aparatos de síntesis peptídica comerciales para sintetizar péptidos o proteínas, por ejemplo, los sintetizadores automáticos de Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA, Beckman y otros fabricantes.

En otro aspecto de la descripción, se proporciona un procedimiento para preparar una enzima de *Nepenthes* o variante de la misma usando sistemas de producción recombinante transformando o transfectando una célula con el ADN (p. ej., ADNc) y/o ARN mensajero de la una o más enzimas de manera que la célula sea capaz de producir la una o más enzimas. Por ejemplo, se puede producir nepentesina creando sistemas de vector hospedador en organismos tales como *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Lactobacillus*, *Bacilli*, *Aspergilli* y cultivos de células vegetales, tales como células de tabaco, etc.

También se proporcionan vectores y células hospedadoras, tales como *E. coli*, que comprenden polinucleótidos y composiciones que contienen cualquiera de los polinucleótidos o polipéptidos como se describen en esta memoria.

En otro aspecto de la descripción, se proporciona un procedimiento para producir enzima de *Nepenthes* recombinante

(nepentesina I, nepentesina I y/o neprosina, o una variante de las mismas) que comprende expresar en un organismo hospedador elegido una secuencia de ácido nucleico que codifica dicha enzima e insertar la secuencia de ácido nucleico en un vector diseñado apropiadamente. En un aspecto de la descripción, la enzima recombinante es nepentesina I o una variante de la misma. En un aspecto de la descripción, la enzima recombinante es nepentesina II o una variante de la misma. En un aspecto de la descripción, la enzima recombinante es neprosina o una variante de la misma. En un aspecto de la descripción, la enzima recombinante es una mezcla de nepentesina I, nepentesina II y/o neprosina, o una variante de las mismas.

En otro aspecto de la descripción, se proporciona una composición que comprende nepentesina recombinante, tal como nepentesina I y/o nepentesina II o una variante de las mismas. En un aspecto de la descripción, la nepentesina recombinante es nepentesina I o una variante de la misma. En un aspecto de la descripción, la nepentesina recombinante es nepentesina II o una variante de la misma. En un aspecto de la descripción, la nepentesina recombinante es una mezcla de nepentesina I y nepentesina II o variantes de las mismas.

En un aspecto, esta descripción se refiere a un ADNc como se describe en esta memoria. En una realización, esta descripción se refiere a un vector que comprende un ADNc como se describe en esta memoria. En una realización, el vector es un vector de expresión. En una realización, esta descripción se refiere a una célula que expresa nepentesina I recombinante, nepentesina II recombinante, neprosina recombinante, una variante o una mezcla de las mismas.

En algunas realizaciones, la biosíntesis de una o más enzimas de *Nepenthes* se puede conseguir transformando una célula con un vector que comprende un ADNc que codifica nepentesina I, por ejemplo, la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, n.º de acceso de GenBank JX494401, n.º de acceso de GenBank AB114914 o n.º de acceso de GenBank AB266803. En algunas realizaciones, la biosíntesis de nepentesina se puede conseguir transformando una célula con un vector que comprende una secuencia homóloga a un ADNc que codifica nepentesina I, esta secuencia codifica una proteína con actividad de proteasa. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 60 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 70 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 85 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 90 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 95 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 96 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 97 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 98 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 99 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina I. En una realización preferida, la secuencia codifica una variante de nepentesina I que conserva actividad de glutenasa. En una realización particularmente preferida, la secuencia codifica una variante de nepentesina I que degrada al menos un péptido tóxico del gluten.

En algunas realizaciones, la biosíntesis de una o más enzimas de *Nepenthes* se puede conseguir transformando una célula con un vector que comprende un ADNc que codifica nepentesina II, por ejemplo, la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, n.º de acceso de GenBank JX494402 o n.º de acceso de GenBank AB114915. En algunas realizaciones, la biosíntesis de nepentesina se puede conseguir transformando una célula con un vector que comprende una secuencia homóloga a un ADNc que codifica nepentesina II, esta secuencia codifica una proteína con actividad de proteasa. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 60 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 70 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 80 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 85 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 90 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 95 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 96 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 97 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 98 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 99 % de homología con un ADNc que codifica nepentesina II. En una realización preferida, la secuencia codifica una variante de nepentesina II que conserva actividad de glutenasa. En una realización particularmente preferida, la secuencia codifica una variante de nepentesina II que degrada al menos un péptido tóxico del gluten.

En algunas realizaciones, la biosíntesis de una o más enzimas de *Nepenthes* se puede conseguir transformando una célula con un vector que comprende un ADNc que codifica neprosina, por ejemplo, la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la biosíntesis de neprosina se puede conseguir transformando una célula con un vector que comprende una secuencia homóloga a un ADNc que codifica neprosina, esta secuencia codifica una proteína con actividad de proteasa. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 60 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 70 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 80 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 85 % de homología con un ADNc que

codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 90 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 95 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 96 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 97 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 98 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. La secuencia puede tener al menos aproximadamente 99 % de homología con un ADNc que codifica neprosina. En una realización preferida, la secuencia codifica una variante de neprosina que conserva actividad de prolil endoproteasa. En una realización especialmente preferida, la secuencia codifica una variante de nepentesina II que conserva actividad de glutenasa. En una realización particularmente preferida, la secuencia codifica una variante de neprosina que degrada al menos un péptido tóxico del gluten.

Sin ceñirnos a la teoría, se cree que la respuesta inflamatoria al gluten en los intestinos de individuos afectados es debida a la hidrólisis incompleta de las proteínas del gluten, lo que conduce a la formación de péptidos tóxicos (inmunotóxicos) del gluten. Se conocen varios péptidos inmunotóxicos y/o potencialmente inmunotóxicos del gluten. Estos incluyen, pero no se limitan a, el 33-mer (SEQ ID NO: 15, LQLQPF(PQPQLPY)₃PQPQPF) y p31-49 (SEQ ID NO: 16, LGQQQPFPQPYPQPQPF) de α -gliadina; Gly-156 (SEQ ID NO: 17, QQQQPPFSQQQSPFSQQQQ) de glutenina de bajo peso molecular; y la repetición de nonapéptidos (SEQ ID NO: 18, GYYPTSPQQ) y la repetición de hexapéptidos (SEQ ID NO: 19, PGQGQQ) de glutenina de alto peso molecular.

En algunas realizaciones, se sintetiza nepentesina I, nepentesina II, neprosina y/o una variante de las mismas transfectando, infectando o transformando una célula con uno o más vectores que comprenden una secuencia de ADNc de cada enzima deseada. Es decir, se puede diseñar una única célula, línea celular u organismo para producir dos o más enzimas. En algunas realizaciones, las enzimas deseadas se sintetizan mediante células independientes y se combinan en la composición farmacéutica. En una realización preferida, la nepentesina I, nepentesina II, neprosina y/o una variante de las mismas recombinantes no están glucosiladas. En una realización, la nepentesina I, nepentesina II, neprosina recombinantes y/o una variante de las mismas tienen un patrón de glucosilación diferente a la enzima natural (es decir, nepentesina I, nepentesina II o neprosina aisladas de una planta de *Nepenthes*).

La una o más enzimas de *Nepenthes* sintéticas (p. ej., recombinantes) se pueden concentrar o purificar según procedimientos conocidos, tales como aquellos para aislar una o más enzimas de *Nepenthes* del líquido de la jarra de la planta.

En algunas realizaciones, el producto proteico aislado de una fuente natural o una fuente sintética (p. ej., recombinante) comprende al menos 20 % en peso de al menos una enzima de *Nepenthes* o una variante de la misma. En algunas realizaciones, el producto proteico aislado comprende al menos aproximadamente 50 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 % en peso de la enzima de *Nepenthes* o variante de la misma. En algunas realizaciones, el producto proteico aislado comprende al menos 99 % en peso de la enzima de *Nepenthes* o variante de la misma.

En algunas realizaciones, la enzima de *Nepenthes* recombinante o variante de la misma comprende sustancialmente solo nepentesina recombinante o una variante de la misma. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante o variante de la misma comprende sustancialmente solo nepentesina I recombinante o una variante de la misma. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante o variante de la misma comprende sustancialmente solo nepentesina II o una variante de la misma. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante o variante de la misma comprende nepentesina I y nepentesina II, o una variante de las mismas. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante o una variante de la misma comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II (o una variante de cada una de las mismas) de al menos aproximadamente 100:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 90:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 70:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 60:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 50:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 40:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 30:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 20:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 10:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 5:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 4:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 3:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 2:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:1. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:2. En algunas realizaciones, la nepentesina

recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:3. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:4. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:5. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:10. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:20. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:30. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:40. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:50. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:60. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:70. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:80. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:90. En algunas realizaciones, la nepentesina recombinante comprende una proporción de nepentesina I a nepentesina II de al menos aproximadamente 1:100.

[illegible]

proteasa original de la nepentesina II. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende nepentesina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 80 % de la actividad de proteasa original de la nepentesina II. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende nepentesina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 90 % de la actividad de proteasa original de la nepentesina II. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende nepentesina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 100 % de la actividad de proteasa original de la nepentesina II.

En algunas realizaciones, el producto proteico aislado de una fuente natural o una fuente sintética comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 10 % de la actividad de proteasa original de la neprosina de *Nepenthes*. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 20 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 30 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 40 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 50 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 60 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 70 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 80 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con al menos aproximadamente 90 % de la actividad de proteasa original de la neprosina. En algunas realizaciones, el producto proteico comprende neprosina o una variante de la misma con más de aproximadamente 100 % de la actividad de proteasa original de la neprosina.

A menos que se indique de otro modo, las abreviaturas usadas a lo largo de esta memoria descriptiva tienen los significados siguientes:

g	= gramo
kDa	= kilodalton
kg	= kilogramo
L	= litro
CL	= cromatografía líquida
mg	= miligramo
min	= minuto
mL	= mililitro
mm	= milimolar
EM	= espectrometría de masas
nM	= nanomolar
pM	= picomolar
d.e.	= desviación estándar
μCi	= microcurio
μg	= microgramo
μL	= microlitro
μM	= micromolar
μm	= micrómetro
°C	= grado Celsius

Estos símbolos de una letra tienen el significado siguiente cuando representan aminoácidos:

A	= alanina
R	= arginina
N	= asparagina
D	= ácido aspártico
C	= cisteína
E	= ácido glutámico
Q	= glutamina
G	= glicina

	H	= histidina
	I	= isoleucina
5	L	= leucina
	K	= lisina
	M	= metionina
10	F	= fenilalanina
	P	= prolina
15	S	= serina
	T	= treonina
	W	= triptófano
20	Y	= tirosina
	V	= valina

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Preparación del extracto de nepentesina

Productos químicos

Se compró agua y acetonitrilo, de grado HPLC Burdick & Jackson, de VWR. Se compró ácido fórmico, Tris y glicina de Sigma Aldrich.

Cultivo vegetal

Se compraron trasplantes de *Nepenthes rafflesiana*, *Nepenthes ampularia*, *Nepenthes mirabilis*, y *Nepenthes globosa* se compraron de Keehns Carnivores (www.keehnscarnivores.ca). Estos se colocaron en macetas con corteza de madera, perlita, turba en polvo y humus (40, 35, 10, 5 %, respectivamente). Las condiciones de crecimiento implicaron 14 horas de luz al día, 80 % humedad y temperatura en el intervalo de 23 °C a 28 °C con 2 a 3 riegos a la semana. Tras la madurez de la jarra, las plantas se alimentaron con una o dos *Drosophila* por jarra y el fluido de la jarra se recogió una semana después. Se dejó que las jarras y sus secreciones se recuperaran durante una semana antes de una segunda ronda de alimentación y extracción.

Preparación de extracto

Se recogió fluido de la jarra de las cuatro especies de plantas y se combinó. El fluido de la jarra bruto se aclaró primero a través de un filtro de 0,22 µm, a continuación se concentró de 80 a 100 veces usando un filtro de corte de peso molecular de 10 kDa de ultracentrífuga Amicon (ambos de Millipore). Antes de usarlo en las digestiones, el concentrado se activó con ácido con glicina·HCl 100 mM (pH 2,5) durante 3 horas, a continuación se lavó 3X con glicina-HCl 100 mM (pH 2,5) en el dispositivo de filtración, usando un volumen de fluido de 10X para cada lavado. Las bacterias aisladas finales se rediluyeron a continuación a una concentración de 11X en base al muestreo original de fluido de la jarra.

Caracterización del extracto de fluido de jarra

Las secreciones de fluido de la planta de jarra se concentraron y las enzimas de digestión se activaron mediante reducción del pH (pH 2,5). El impacto del procedimiento de enriquecimiento y la activación sobre el proteoma del fluido se determinó usando procedimientos proteómicos. Primero, para confirmar la presencia de enzima nepentesina, el concentrado inactivo se separó mediante SDS-PAGE. Siete zonas de gel contiguas con tinción de Coomassie muy tenue se digirieron con tripsina y se analizaron mediante nanoCL-EM/EM usando procedimientos convencionales. No cabe esperar que este sea un catálogo completo del proteoma del fluido activado, pero el análisis confirmó la presencia de la proteasa aspártica nepentesina I/II, así como de una glucanasa, quitinasa, carboxipeptidasa y peroxidasa de origen vegetal, además de niveles moderados de *Drosophila* y contaminación bacteriana. La baja complejidad del proteoma del fluido es compatible con los análisis recientes, Hatano N, Hamada T (2012) Proteomic analysis of secreted protein induced by a component of prey in pitcher fluid of the carnivorous plant *Nepenthes alata*. Journal of

Proteomics 3;75(15):4844-52 (publicación electrónica de 15 de junio de 2012), pero se encontró nepentesina-I distribuida a lo largo de un intervalo de masas mucho más amplio en este análisis (40-70 kDa).

El fluido activado con ácido se procesó y analizó de una manera similar. El procedimiento de activación redujo el rendimiento total de proteínas y también pareció simplificar la composición. Aparte de nepentesina-I, solo se observó una contaminación pequeña de queratina y actina. Estos análisis indican la baja complejidad del fluido enriquecido, en el que la nepentesina es el componente principal. La concentración total de proteínas del fluido activado y enriquecido 80X se midió mediante un ensayo de BCA y se determinó que era 22 ng/ μ L. Este valor es compatible con un estudio anterior que describe el enriquecimiento del fluido. Tokes ZA, y col., Digestive Enzymes Secreted by Carnivorous Plant *Nepenthes-Macfarlanei*-L. Planta 119(1):39-46 (1974).

Ejemplo 2: Purificación de extracto de nepentesina

Purificación de extracto

Se equilibró pepstatina inmovilizada en sefarsa en una columna de 50 x 2 cm de DI en glicina-HCl 20 mM, pH 2,5-3. El fluido de la jarra filtrado (preparado como se describe en el Ejemplo 1) se sometió a dos ciclos a través de la columna y la columna se lavó con 100 mL de tampón de equilibrio (glicina-HCl 20 mM, pH 2,5). La columna se eluyó con bicarbonato de amonio 100 mM a pH 8,7 y se recogieron las fracciones. Con el fin de conservar al máximo la actividad enzimática, el pH se disminuyó a 4 inmediatamente después de la recogida de las fracciones con glicina-HCl 2 M, pH 2,5. La actividad se verificó usando un ensayo de digestión y las fracciones más activas se combinaron y concentraron hasta aproximadamente 80x, en base al volumen original de fluido.

Las únicas endoproteasas encontradas a niveles detectables en el fluido y/o extracto de *Nepenthes* son proteasas aspárticas y prolil endoproteasa.

Ejemplo 3: Nepentesina I recombinante

El gen para la nepentesina I (SEQ ID NO: 4; que codifica los residuos aminoácidos 20-413, de *N. gracilis*, sin la secuencia señal de la planta) se preparó a partir de ADNc de nepentesina I y se colocó entre los sitios de restricción NdeI y HindIII. Esta secuencia se clonó en pET21a, usando T4 ADN ligasa (1 U) (New England Bio, NEB), tampón de T4 ADN ligasa (NEB), ATP (0,5 mM) (NEB), 0,5 μ g de vector pET21a y 2 μ g de ADNc de nepentesina I. Esta se incubó a 18 °C durante 4 horas. La mezcla de ligación (5 μ L) se añadió a 200 μ L de células competentes NovaBlue y se incubó en hielo durante 15 minutos. Las células se transformaron mediante choque térmico (45 segundos a 42 °C, a continuación inmediatamente en hielo, con 1 ml de medio LB), se incubaron durante 1 hora a 37 °C y se sembraron en placas con antibióticos (tetraciclina y ampicilina). Después de confirmar la presencia de genes en varias colonias blancas, se eligió una colonia representativa para Maxiprep. El plásmido recombinante resultante pET21a/R.NepI se transformó en C41 de *E. coli* mediante choque térmico como anteriormente, para expresión con inducción por IPTG. Aquí, las células se hicieron crecer a una DO₆₀₀ de 0,6 y se indujeron con IPTG 0,1 mM durante cuatro horas a 37 °C. La proteína expresada fue a cuerpos de inclusión.

Los cuerpos de inclusión se aislaron como se indica a continuación. Las células se centrifugaron, se añadió tampón de lisis de sacarosa (25 % de sacarosa, TrisCl 50 mM pH 7,4, EDTA 1 mM, NaN₃ 1 mM e inhibidores de proteasas) y las células se sometieron a cuatro rondas de congelación/descongelación y sonicación. Esto fue seguido de adición de ADNasa y ARNasa durante una incubación de 30 min a temperatura ambiente. El preparado se centrifugó (~15 min a 5000 x g) para sedimentar los cuerpos de inclusión y los fragmentos de membrana. Este sedimento se resuspendió en tampón Triton (TrisCl 50 mM pH 7,4, NaCl 10 mM, β -mercaptoetanol 1 mM, NaN₃ 1 mM, 0,5 % de Triton X100 + inhibidores de proteasas) y se realizó la sonicación en hielo. Se centrifugó de nuevo, para sedimentar los cuerpos de inclusión, y el sedimento se lavó dos veces en hielo (con mezcla y sonicación) en un tampón exento de Triton (TrisCl 50 mM pH 7,4, NaCl 10 mM, β -mercaptoetanol 1 mM, NaN₃ 1 mM, inhibidores de proteasas).

El sedimento proteico se sometió a continuación a replegamiento. Se suspendió un g de cuerpos de inclusión en 1 L de CAPS 50 mM pH 10,5, urea 8 M, EDTA 1 mM, glicina 1 mM, NaCl 500 mM, β -mercaptoetanol 300 mM y se agitó durante 1 h. La suspensión se dializó contra Tris 50 mM, pH 11, dos veces durante 1 hora cada vez, seguido de un día de diálisis contra Tris 50 mM, pH 7,5 y, por último, diálisis contra tampón de fosfato con NaCl 300 mM, pH 7,0.

La solución se centrifugó a alta velocidad (10 000 x g durante 15 min) para eliminar toda la proteína no replegada y el sobrenadante se filtró a través de una membrana de 0,22 μ m. La nepentesina I se activó a pH 2,5 (glicina-HCl) durante la noche a 4 °C. Los rendimientos varían de 10 a 100 mg de proteína activada plegada, partiendo de 1 L de cultivo celular.

Ejemplo 4: Nepentesina II recombinante

El ADNc de nepentesina II (véase la SEQ ID NO: 14) de *N. gracilis*, sin la secuencia señal de la planta) se usó para preparar ADNc de nepentesina II. Esta secuencia se clonó en pET21a entre los sitios de restricción NdeI y HindIII, usando T4 ADN ligasa (1 U) (New England Bio, NEB), tampón de T4 ADN ligasa (NEB), ATP (0,5 mM) (NEB), 0,5 μ g

de vector pET21a y 2 µg del ADNc de nepentesina II. Esta se incubó a 18 °C durante 4 horas. La mezcla de ligación (5 µL) se añadió a 200 µL de células competentes NovaBlue y se incubó en hielo durante 15 minutos. Las células se transformaron mediante choque térmico (45 segundos a 42 °C, a continuación inmediatamente en hielo, con 1 ml de medio LB), se incubaron durante 1 hora a 37 °C y se sembraron en placas con antibióticos (tetraciclina y ampicilina). Después de confirmar la presencia de genes en varias colonias blancas, se eligió una colonia representativa para Maxiprep. El plásmido recombinante resultante pET21a/R.Nepl se transformó en C41 de *E. coli* mediante choque térmico como anteriormente, para expresión con inducción por IPTG. Aquí, las células se hicieron crecer a una DO₆₆₀ de 0,6 y se indujeron con IPTG 0,1 mM durante cuatro horas a 37 °C. La proteína expresada fue a cuerpos de inclusión.

Los cuerpos de inclusión se aislaron como se indica a continuación. Las células se centrifugaron, se añadió tampón de lisis de sacarosa (25 % de sacarosa, TrisCl 50 mM pH 7,4, EDTA 1 mM, NaN₃ 1 mM e inhibidores de proteasas) y las células se sometieron a cuatro rondas de congelación/descongelación y sonicación. Esto fue seguido de adición de ADNasa y ARNasa durante una incubación de 30 min a temperatura ambiente. El preparado se centrifugó (~15 min a 5000 x g) para sedimentar los cuerpos de inclusión y los fragmentos de membrana. Este sedimento se resuspendió en tampón Triton (TrisCl 50 mM pH 7,4, NaCl 10 mM, β-mercaptoetanol 1 mM, NaN₃ 1 mM, 0,5 % de Triton X100 + inhibidores de proteasas) y se realizó la sonicación en hielo. Se centrifugó de nuevo, para sedimentar los cuerpos de inclusión, y el sedimento se lavó dos veces en hielo (con mezcla y sonicación) en un tampón exento de Triton (TrisCl 50 mM pH 7,4, NaCl 10 mM, β-mercaptoetanol 1 mM, NaN₃ 1 mM, inhibidores de proteasas).

El sedimento proteico se sometió a continuación a replegamiento. Se suspendió un g de cuerpos de inclusión en 1 L de CAPS 50 mM pH 10,5, urea 8 M, EDTA 1 mM, glicina 1 mM, NaCl 500 mM, β-mercaptoetanol 300 mM y se agitó durante 1 h. La suspensión se dializó contra Tris 50 mM, pH 11, dos veces durante 1 hora cada vez, seguido de un día de diálisis contra Tris 50 mM, pH 7,5 y, por último, diálisis contra tampón de fosfato con NaCl 300 mM, pH 7,0.

La solución se centrifugó a alta velocidad (10 000 x g durante 15 min) para eliminar toda la proteína no replegada y el sobrenadante se filtró a través de una membrana de 0,22 µm. La nepentesina II se activó a pH 2,5 (glicina-HCl) durante la noche a 4 °C. Los rendimientos varían de 10 a 100 mg de proteína activada plegada, partiendo de 1 L de cultivo celular.

Ejemplo 5. Glucosilación de enzimas de *Nepenthes*

La producción recombinante de nepentesina I (A) y II (C) a partir del replegamiento de cuerpos de inclusión de *E. coli* purificados se muestra en la **Figura 2**. Se monitorizó cada etapa del procedimiento de replegamiento y se muestran como: proteína total solubilizada de cuerpos de inclusión de *E. coli* purificados (carril 1), nepentesina replegada después de la diálisis final (carril 2), activación con ácido durante 24 horas (glicina-HCl 100 mM, pH 2,5) del producto replegado (carril 3). Se realizó el análisis mediante espectrometría de masas MALDI-TOF en las enzimas nepentesina I (B) y II (D) activadas con ácido durante 24 horas. Los análisis de CL/EM-EM de los productos de la digestión en gel de las bandas activadas con ácido (A y C, carriles 3) confirmaron la presencia de nepentesina I y II puras, respectivamente.

Se realizaron análisis mediante MALDI-TOF de las nepentesinas naturales (agrupadas a partir de 2-3 especies). Los resultados se muestran en la **Figura 3**. Se cree que la masa a 37 200 es nepentesina II y la masas a 38 951 es nepentesina I. En cualquier caso, son diferentes a las masas de las enzimas recombinantes, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Masa de las nepentesinas recombinantes frente a las naturales

Nepentesina I	Masa (Daltons)*	Nepentesina II	Masa (Daltons)*
recombinante	37 460	recombinante	37 506
natural	38 949	natural	37 199
Diferencia:	1489		-307
* Se resta 1 Dalton por el protón añadido por la MALDI.			

Si ceñirnos a la teoría, creemos que esto confirma que la nepentesina I es de naturaleza glucosilada. La enzima madura activa de nepentesina II recombinante es más grande que la que existe en la naturaleza. Sigue siendo posible que la nepentesina II natural sea incluso más pequeña en cuanto a la secuencia proteica, pero tenga algo de glucosilación. Las masas de las enzimas naturales descritas en esta memoria difieren de las de *Athauda* y col., probablemente porque la espectrometría de masas es una técnica más exacta que la SDS-PAGE para determinar la masa de una molécula.

Ejemplo 6. Comparación de las enzimas de *Nepenthes* con la pepsina

Se realizó SDS-PAGE en gliadina digerida por la enzima indicada. La SDS-PAGE realiza un perfil aproximado de las proteínas según el peso molecular. La digestión de gliadina con pepsina, extracto de *Nepenthes* purificado o

La Tabla 2 muestra los residuos preferidos, de baja probabilidad y prohibidos para la escisión carboxiterminal mediante pepsina, nepentesina I y II recombinantes y extracto de *Nepenthes*. La especificidad de la escisión carboxiterminal, la manera clásica en que se clasifican las enzimas, se resume en base a una gran colección de sustratos proteicos. Las nepentesinas son bastante diferentes de la pepsina en cuanto a especificidad de escisión, lo que indica que la nepentesina y la pepsina son enzimas muy diferentes. Los datos de la pepsina proporcionados en la Tabla 2 se resumen de la bibliografía (p. ej., “Determining the Specificity of Pepsin for Proteolytic Digestion”, una tesis de Melissa Palashoff disponible en: books.google.ca/books?id=7O1nU4-6T-wC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false). Los datos de las enzimas de *Nepenthes* se resumen a partir de estudios de digestiones tales como el descrito en la solicitud de patente de los Estados Unidos de n.º de publicación 2014/0186330.

	Pepsina	Nepentesina I y II	<i>Extracto de Nepenthes</i>
Preferidos	F, L, M	F, L, M, K, R, D, E, C, Y, A	F, L, M, K, R, D, E, C, Y
De baja probabilidad	W, C, Y, D, E, G, Q, N, S, T	W, G, N, Q, V, T	H, I, A, P, N, Q
“Prohibidos”	I, V, K, R, P, H, G	G, I, S, P	G, S, T, W, V

La Tabla 3 proporciona la digestión del fragmento resistente a la pepsina de la proteína del gluten que se denomina “33-mer” (LQLQFPQPQLPYQPQLPYQPQLPYQPQPF) SEQ ID NO: 15. Esta secuencia está fuertemente ligada a la enfermedad celíaca y a menudo se denomina péptido tóxico del gluten. Como todas las proteínas de gluten, el 33-mer es rico en los aminoácidos Q, P y L. Los tiempos de digestión prolongados usando solo pepsina no tuvieron mucho efecto sobre este péptido, fue muy resistente a la digestión con pepsina. En cambio, la nepentesina I, la nepentesina II y la fracción de alto peso molecular (>aprox. 10 kDa) de extracto de *Nepenthes* (fluido) presentaron la capacidad de digerir este péptido. Los datos se proporcionan como % de control (33-mer sin enzima).

Enzima para la digestión	Área de pico relativa (%)
Control	100,0
<i>Fluido de Nepenthes</i>	0,0
Nepentesina I	78,7
Nepentesina II	34,0
Pepsina	93,2

Estos datos demuestran que los productos de la digestión de la proteína gliadina son diferentes entre las enzimas de *Nepenthes* y la pepsina a nivel de gel (que presenta los productos de digestión “más grandes”), a nivel de péptido (procesamiento del 33-mer) y a nivel de suspensión (aclarando la solución). La pepsina, la neprosina y la nepentesina son proteínas muy diferentes, con especificidades de escisión distintas, particularmente en lo que respecta a las proteínas del gluten. En pocas palabras, la pepsina no digiere adecuadamente el gluten de una manera que evite la toxicidad del gluten, mientras que las enzimas de *Nepenthes* sí lo hacen.

Ejemplo 7. Digestión de gliadina por extracto de *Nepenthes*

Se realizaron digestiones de gliadina por nepentesina en solución usando un inyector de muestras automático LEAP HTX-PAL y un sistema de dosificación diseñado para aplicaciones de intercambio de hidrógeno/deuterio (HDX). Los datos se recogieron usando un espectrómetro de masas QqTOF Triple-TOF 5600 de AB Sciex. Los péptidos se identificaron usando Mascot (v2.3) a partir de datos de EM/EM. Brevemente, se mezclaron 12 pmol de gliadina cruda (comprados en Sigma Aldrich) con 2 µL de extracto concentrado 100x, producido como se describe en el Ejemplo 1. Después de la digestión, se inyectó todo el volumen en un sistema de CL de fase inversa conectado al espectrómetro de masas. Los péptidos se atraparon en una columna Magic C18 de 7 cm, 150 µm de d.i. y se eluyeron con un gradiente de acetonitrilo de 10 % a 40 % en 10 o 30 minutos. Los péptidos detectados en estos análisis se seleccionaron para fragmentación CID en múltiples adquisiciones de espectros EM/EM dependientes de la información. Se buscaron espectros en una base de datos en miniatura que contenía las secuencias de todas las proteínas gliadina de trigo identificadas (α , β , γ , ω) más la glutenina de alto y bajo peso molecular.

La **Figura 6** muestra la longitud promedio de todos los péptidos identificados a partir de la digestión de gliadina de trigo con extracto de *Nepenthes*, usando CL-EM/EM, después de 1, 5, 10, 15, 30, 60, 130, 360 u 810 minutos a 37 °C. Se usó un límite de corte de confianza de 95 % ($p < 0,05$) en las puntuaciones para reducir la identificación de falsos positivos. La desviación estándar relativa de la longitud de los péptidos se muestra en la figura insertada.

La **Figura 7** muestra el número de péptidos identificados mediante CL-EM/EM después de 1, 5, 10, 15, 30, 60, 130, 360 u 810 minutos de digestión a 37 °C, agrupados por longitud. Datos como en la **Figura 6**.

La **Figura 8** muestra los mismos datos que la Figura 6, como una probabilidad acumulada de obtener una cierta longitud después de 10, 60, 120, 360 u 810 minutos de digestión a 37 °C.

Para la cartografía de la digestión, se realizó la digestión de gliadina como se describió anteriormente, excepto que la proporción de sustrato a enzima fue aproximadamente 1000:1. La gliadina se digirió a 37 °C durante 2 h con extracto de nepentesina, extracto de nepentesina purificado o nepentesina I recombinante.

La preferencia de escisión de PI de la nepentesina I recombinante es muy similar a la del extracto de fluido concentrado, así como a la fracción purificada del extracto (**Figura 9A**). Sorprendentemente, el extracto presentó una preferencia superior por la glutamina que el extracto purificado o la nepentesina I recombinante.

La preferencia de escisión de P1' de la nepentesina I recombinante es muy similar a la del extracto de fluido concentrado, así como a la fracción purificada del extracto (**Figura 9B**). Sorprendentemente, el extracto presentó una preferencia superior por la prolina que el extracto purificado o la nepentesina I recombinante.

El extracto contiene nepentesina I, nepentesina II y neprosina, pero la estrategia de purificación recupera más nepentesina I que las otras dos enzimas. Sin desear cefiarnos a la teoría, se cree que la escisión intensificada en la posición de la glutamina PI y la posición de la prolina P1' por el extracto se debe a la neprosina, la nepentesina II y/o a la sinergia entre dos o más de las enzimas.

Ejemplo 8. Preparación de extracto de neprosina

Se extrajo neprosina del fluido de digestión de la especie *Nepenthes*. El fluido se recogió de la jarra de la planta 5 días después de alimentarla con moscas de la fruta congeladas. El líquido recogido se filtró para eliminar los insectos muertos y se lavó repetidamente con acetato de amonio 20 mM pH 5,0 mediante múltiples ciclos de concentración/filtración a través de una membrana de corte de peso molecular de 10 kDa.

La neprosina se purificó parcialmente de la nepentesina en una columna Mono P 5/50 GL. Se inyectaron 5 mL de fluido concentrado 1,5X en la columna Mono P equilibrada a fuerza iónica baja (acetato de amonio 20 mM pH 6). Las proteínas se eluyeron con un gradiente de NaCl de 40 min (0 a 1 M) a 0,5 ml/min. Las fracciones se recogieron cada 0,5 ml. La actividad de la neprosina se evaluó en cada fracción digiriendo una proteína rica en prolina intrínsecamente desordenada, APLF. Los péptidos generados se separaron en una columna C8 y se analizaron mediante CL-EM/EM en un tripleTOF 5600 (AB Sciex). Las fracciones 19-22 se enriquecieron en neprosina (**Figura 10**) y se denominan extracto de neprosina bruto; la neprosina es distinta de la nepentesina, que se enriqueció en fracciones posteriores.

Ejemplo 9. Eficacia de las enzimas de *Nepenthes* para inhibir la inflamación en los intestinos de ratones intolerantes al gluten

Objetivo: analizar la eficacia de la digestión *in vitro* de gliadina usando extracto de *Nepenthes* o nepentesina II recombinante para impedir el daño inducido por la gliadina *in vivo* usando ratones NOD-DQ8 sensibilizados con gliadina.

Diseño experimental: se sensibilizaron ratones NOD DQ8 con toxina del cólera (CT) y gliadina para romper la

tolerancia oral a la gliadina. Los controles negativos se trataron con CT y gliadina, pero se dejaron exentos de exposiciones posteriores a gliadina oral. Las exposiciones a gliadina se realizaron con productos de la digestión de gliadina con una proteasa porcina (pepsina) que contenía un abanico de péptidos derivados tóxicos e inmunogénicos. Los grupos de tratamiento se expusieron a gliadina predigerida con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II recombinante (durante 90 minutos a 37 grados Celsius). Se ha planteado la hipótesis de que los productos de la digestión de gliadina con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II recombinante serán menos inmunogénicos *in vivo* que los productos de la digestión de gliadina con pepsina.

Grupos:

Control positivo (n=8) sensibilizado y expuesto a gliadina. Los ratones se sensibilizaron con toxina del cólera (CT) y pepsina-gliadina (P-G) (1 vez a la semana durante 3 semanas). Durante el período experimental, los ratones se alimentaron por sonda con P-gliadina (3 veces a la semana durante 3 semanas).

Control negativo (n=8) sensibilizado (a continuación, exento de gliadina). Los ratones se sensibilizaron con toxina del cólera (CT) y pepsina-gliadina (P-G) (1 vez a la semana durante 3 semanas). Durante el período experimental, los ratones se alimentaron por sonda con vehículo (3 veces a la semana durante 3 semanas).

Tratamiento 1 (n = 8): extracto de *Nepenthes*. Los ratones se sensibilizaron con toxina del cólera (CT) y pepsina-gliadina (P-G) (1 vez a la semana durante 3 semanas). Durante el período experimental, los ratones se alimentaron con gliadina digerida con extracto de *Nepenthes* (3 veces a la semana durante 3 semanas).

Tratamiento 2 (n = 8): los ratones se sensibilizaron con toxina del cólera (CT) y pepsina-gliadina (P-G) (1 vez a la semana durante 3 semanas). Durante el período experimental, los ratones se alimentaron por sonda con gliadina digerida por nepentesina II (3 veces a la semana durante 3 semanas).

Resultados:

Los 4 grupos de ratones se sensibilizaron con productos de la digestión de gliadina con pepsina más toxina del cólera. Los controles negativos se dejaron exentos de exposición a gliadina después de la sensibilización. Los controles positivos y los grupos de tratamiento se expusieron por vía oral a gliadina después de la sensibilización. La diferencia en los grupos tratados fue que la gliadina se predigerió con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II. De esta manera, los "controles negativos" no estuvieron totalmente libres de la exposición a gliadina (ya que fueron expuestos durante la fase de sensibilización), y así simulaban la situación clínica de un paciente celíaco que entraba en remisión mientras seguía una dieta exenta de gluten.

Efectos clínicos/tóxicos: se evaluó el aspecto general de los ratones (movimiento, apertura de ojos, aseo). No se observaron efectos nocivos en ninguno de los grupos de tratamiento o control. Se registraron los pesos corporales a lo largo de los experimentos y no se observó pérdida de peso en ninguno de los grupos (Figura 11).

Cambios inmunitarios intrínsecos a la exposición a gliadina: se realizó inmunohistoquímica para analizar los linfocitos intraepiteliales CD3+ en los intestinos de los ratones de cada grupo de tratamiento (Figura 12). Este es un marcador inmunitario intrínseco rápido y precoz de la exposición intestinal a gliadina en el modelo. La exposición a gliadina dio como resultado recuentos de IEL aumentados en comparación con los ratones de control negativo y con los ratones expuestos a gliadina que fue predigerida con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II (Figura 13). No se observaron diferencias en los recuentos de IEL entre los grupos tratados con extracto de *Nepenthes* y nepentesina II.

Proporciones de vellosidades a criptas: se observaron tendencias no significativas a proporciones de vellosidades a criptas (V/C) inferiores en el grupo de control positivo (Figura 14). Los grupos tratados con extracto de *Nepenthes* y nepentesina II tuvieron una tendencia a proporciones superiores en comparación con los controles positivos y negativos.

Interpretación/análisis de los resultados:

Una exposición de tres semanas a gliadina predigerida con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II fue segura y no indujo disminuciones a corto plazo en el peso corporal ni ningún acontecimiento clínico adverso en los ratones.

Las exposiciones orales a gliadina condujeron a aumentos significativos en los recuentos de IEL en el intestino delgado en ratones previamente sensibilizados. El aumento de IEL no se observó en ratones que fueron expuestos a gliadina que se había predigerido con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II. Esto sugiere una antigenicidad luminal inferior de la gliadina tratada con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II.

La reducción en las proporciones V/C fue muy moderada en el grupo de control positivo. Sin embargo, hubo tendencias no significativas a proporciones V/C superiores en los ratones que fueron expuestos a gliadina que fue predigerida con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II. La reducción en las proporciones V/C en este modelo animal es moderada y varía con la duración y la dosis de exposición a gliadina. Las diferencias son más evidentes entre los controles

positivos y negativos cuando estos últimos no han sido expuestos en absoluto a gliadina/gluten (no sensibilizados). Se cree que las diferencias en las proporciones V/C usando extracto de *Nepenthes* nepentesina II predigeridos en un entorno más crónico y/o en comparación con los ratones que no han sido expuestos en absoluto a gliadina (no sensibilizados) serían más pronunciadas.

Conclusión general: los resultados demuestran un efecto de la predigestión de gliadina con extracto de *Nepenthes* o nepentesina II para reducir la antigenicidad de los péptidos de gliadina en el intestino delgado de los ratones NOD/DQ8 sensibilizados.

Ejemplo 10. Digestión de gliadina por la neprosina

Se incubó extracto bruto de neprosina con gliadina a pH 2,5 y los fragmentos peptídicos resultantes se analizaron mediante EM. Los resultados se muestran en las **Figuras 15A y 15B** (un punto [.] indica un sitio de escisión). La cobertura de la secuencia proteica por el extracto fue 61 %. Aproximadamente 57 % de los sitios potenciales de escisión de prolina (P) (carboxiterminales) en la gliadina fueron procesados por el extracto de neprosina bruto. Sin ceñirnos a la teoría, se cree que al menos una porción de los sitios de escisión de la glutamina fueron debidos a una pequeña cantidad de contaminación del extracto con proteínas de nepentesina.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> NEPETX, LLC

5 <120> COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS PARA TRATAR LA INTOLERANCIA AL GLUTEN Y LOS TRASTORNOS DERIVADOS DE LA MISMA

<130> 16411-37

10 <140> PCT/CA2015/000389

<141> 16/06/2015

<150> 62/118 396

<151> 19/02/2015

15 <150> 62/012 865

<151> 16/06/2014

<160> 150

20 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 380

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético

30 <400> 1

```

Met Gln Ala Lys Phe Phe Thr Phe Val Ile Leu Ser Ser Val Phe Tyr
1          5          10          15

Phe Asn Tyr Pro Leu Ala Glu Ala Arg Ser Ile Gln Ala Arg Leu Ala
          20          25          30

Asn Lys Pro Lys Gly Thr Ile Lys Thr Ile Lys Gly Asp Asp Gly Glu
          35          40          45

Val Val Asp Cys Val Asp Ile Tyr Lys Gln Pro Ala Phe Asp His Pro
          50          55          60

Leu Leu Lys Asn His Thr Leu Gln Met Gln Pro Ser Ser Tyr Ala Ser
65          70          75          80

Lys Val Gly Glu Tyr Asn Lys Leu Glu Gln Pro Trp His Lys Asn Gly
          85          90          95

Glu Cys Pro Lys Gly Ser Ile Pro Ile Arg Arg Gln Val Ile Thr Gly
          100          105          110

Leu Pro Val Val Lys Lys Gln Phe Pro Asn Leu Lys Phe Ala Pro Pro
          115          120          125

```

ES 2 883 347 T3

Ser Ala Asn Thr Asn His Gln Tyr Ala Val Ile Ala Tyr Phe Tyr Gly
130 135 140

Asn Ala Ser Leu Gln Gly Ala Asn Ala Thr Ile Asn Ile Trp Glu Pro
145 150 155 160

Asn Leu Lys Asn Pro Asn Gly Asp Phe Ser Leu Thr Gln Ile Trp Ile
165 170 175

Ser Ala Gly Ser Gly Ser Ser Leu Asn Thr Ile Glu Ala Gly Trp Gln
180 185 190

Val Tyr Pro Gly Arg Thr Gly Asp Ser Gln Pro Arg Phe Phe Ile Tyr
195 200 205

Trp Thr Ala Asp Gly Tyr Thr Ser Thr Gly Cys Tyr Asp Leu Thr Cys
210 215 220

Pro Gly Phe Val Gln Thr Asn Asn Tyr Tyr Ala Ile Gly Met Ala Leu
225 230 235 240

Gln Pro Ser Val Tyr Gly Gly Gln Gln Tyr Glu Leu Asn Glu Ser Ile
245 250 255

Gln Arg Asp Pro Ala Thr Gly Asn Trp Trp Leu Tyr Leu Trp Gly Thr
260 265 270

Val Val Gly Tyr Trp Pro Ala Ser Ile Tyr Asn Ser Ile Thr Asn Gly
275 280 285

Ala Asp Thr Val Glu Trp Gly Gly Glu Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Thr
290 295 300

Gly Gly Phe His Thr Thr Thr Gln Met Gly Ser Gly His Phe Pro Thr
305 310 315 320

Glu Gly Tyr Gly Lys Ala Ser Tyr Val Arg Asp Leu Gln Cys Val Asp
325 330 335

Thr Tyr Gly Asn Val Ile Ser Pro Thr Ala Asn Ser Phe Gln Gly Ile
340 345 350

Ala Pro Ala Pro Asn Cys Tyr Asn Tyr Gln Phe Gln Gln Gly Ser Ser
355 360 365

Glu Leu Tyr Leu Phe Tyr Gly Gly Pro Gly Cys Gln
370 375 380

<210> 2
<211> 1480
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético

<220>
<221> base_modificada

ES 2 883 347 T3

<222> (1448)..(1449)

<223> a, c, t, g, desconocida u otra

5 <400> 2

```

    acatggggac ggcctaatta gtaatctcaa gtttgatgtt taaaaggctt caactatgca      60
    agctaagttt ttcacatttg ttatactttc ctctgtattt tatttcaact atcctttggc      120
    tgaagcaaga tcgattcaag caagattagc caataaacca aagggtacta tcaaaaccat      180
    aaaggagat gatggagagg tggttgattg tgttgatata tataagcaac cagcttttga      240
    ccaccactt ttaaaaaatc acactttaca gatgcaaccc agttcatacg catccaaggt      300
    cggatgaatac aataagcttg aacaacccatg gcataaaaat ggtgagtgcc ctaaagggtc      360
    aatcccaatt agaaggcaag ttatcactgg tctccccgtc gtgaaaaaac aatttcctaa      420
    cttgaaattt gccccaccaa gtgcaaatac aaaccaccag tatgctgtca ttgcatactt      480
    ttacggcaat gcatcattgc aaggagcaaa tgcaaccatt aacatatggg agcccaattt      540
    gaaaaaccct aacggggact tcagtcttac tcaaatttgg atctctgctg gcagtggatc      600
    cagcttgaat accattgagg caggatggca agtgtatcca ggaagaacag gtgactcaca      660
    gccaaagattt ttcatatatt ggacagccga tggttatact tcgacgggtt gctatgattt      720
    aacatgcccc ggatttgtgc aaactaacia ctattatgcc attggtatgg cgttacaacc      780
    ctctgtgtac ggcggacaac aatatgagtt aaacgaatcc atacaaaggg acccagcgac      840
    cggaaactgg tggctctacc tgtgggggac tgttgtcgga tactggccgg cgtcgatata      900
    caactccata actaacggtg ccgataccgt agaatgggga ggagagattt acgactcgtc      960
    cggaaccggt ggattccaca cgacaactca gatgggaagc ggtcattttc cgaccgaagg     1020
    ttatggaaaa gcaagctacg tacgtgatct tcaatgcgta gatacctacg ggaatgtcat     1080
    atctccgacg gcgaacagct tccagggaat agctcctgcg ccgaattggt ataactatca     1140
    gtttcagcaa ggcagctctg aactgtatct cttttacggt ggccctggat gccagtgaat     1200
    gaactataat attgcaggcc tctgataata agagggggag agagagagag aggggggcag     1260
    ctggctagcc tataaataag tccacacact gtagctttgt gtttctttga caataatgca     1320
    gcggtcatga aggatgttga acgcactagg gctttttctt ccgttcaact ctgatttgaa     1380
    tggatcgaga agacagcatt gaactgtatg acctaaattt ttttctatth attttgatat     1440
    caatgggnna aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1480

```

10

<210> 3

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 3

20

ES 2 883 347 T3

Gln Ala Lys Phe Phe Thr Phe Val Ile Leu Ser Ser Val Phe Tyr Phe
1 5 10 15

Asn Tyr Pro Leu Ala Glu Ala
20

<210> 4

<211> 1234

<212> **ADN**

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético

<400> 4

```
acgtcaagaa cagctctcaa tcaccgtcac gaagccaaag taacgggctt tcagataatg      60
cttgaacatg ttgattcggg caaaaactta accaaattcc agctcttaga acgtgctatc      120
gaaaggggta gtcgtagatt gcagaggctc gaagccatgt taaatggccc ctccgggtgtg      180
gaaacttccg tctacgccgg agatggcgaa tatctgatga acttatcgat tggaactccg      240
gcacaacctt tctccgcaat catggatacc ggtagcgatc ttatctggac gcagtgccag      300
ccttgcactc agtggttttaa tcaatcaacg cccatattta atcctcaagg atcatcctcc      360
ttctccaccc tcccttgctc aagccaactc tgtcaagccc tttcaagccc gacatgctct      420
aataatttct gccaatcac ctacgggtat ggggacgggt ccgaaacca aggatccatg      480
ggcactgaga ctctcacttt cgggtcgggt tccatcccta atatcacatt cggctgcggg      540
gaaaacaacc aagggttttg gcaaggaaac ggggcaggct tgggtgggat gggtcggggc      600
cctctgtcgc ttccttctca actcgtcgtg accaaattct ctactgcat gacccccatt      660
ggtagctcaa cccctagcac tcttctattg ggatcactgg ctaattctgt caccgccggg      720
agtcctaata caacccta at ccaaagctct caaataccaa ctttctatta tattactctc      780
aacgggttga gtgttggttc aactcgttg cccattgatc cgagtgcttt tgcacttaat      840
agcaataatg gaacaggagg gataataata gactctggaa cgacacttac ttacttcggt      900
aacgcttatc aatctgtaag gcaagagttc atctcccaga ttaatctacc cgtcgtaa at      960
ggttcctcct cgggctttga tctgtgcttc cagacgcctt ctgatccgtc aaacctgcag      1020
ataccacact ttgtgatgca ttttgacggg ggagatttgg agttgcccag tgagaattat      1080
ttcatctccc caagcaacgg gctgatttgc ttggcgatgg ggagttcgtc gcaggggatg      1140
tccatttttg ggaatattca gcagcaaaac atgctagtcg tttacgacac cggaatttcg      1200
gtggtttcat tcgcttctgc tcaatgtggg gcgt      1234
```

<210> 5

<211> 437

<212> PRT

<213> Nepenthes mirabilis

<400> 5

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

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

- 5 <210> 6
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> Nepenthes alata
 10 <400> 6

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Gly Phe Gly Gln Gly Asn Gly Ala Gly Leu Val Gly Met Gly Arg Gly
 210 215 220
 Pro Leu Ser Leu Pro Ser Gln Leu Asp Val Thr Lys Phe Ser Tyr Cys
 225 230 235 240
 Met Thr Pro Ile Gly Ser Ser Asn Ser Ser Thr Leu Leu Leu Gly Ser
 245 250 255
 Leu Ala Asn Ser Val Thr Ala Gly Ser Pro Asn Thr Thr Leu Ile Gln
 260 265 270
 Ser Ser Gln Ile Pro Thr Phe Tyr Tyr Ile Thr Leu Asn Gly Leu Ser
 275 280 285
 Val Gly Ser Thr Pro Leu Pro Ile Asp Pro Ser Val Phe Lys Leu Asn
 290 295 300
 Ser Asn Asn Gly Thr Gly Gly Ile Ile Ile Asp Ser Gly Thr Thr Leu
 305 310 315 320
 Thr Tyr Phe Val Asp Asn Ala Tyr Gln Ala Val Arg Gln Ala Phe Ile
 325 330 335
 Ser Gln Met Asn Leu Ser Val Val Asn Gly Ser Ser Ser Gly Phe Asp
 340 345 350
 Leu Cys Phe Gln Met Pro Ser Asp Gln Ser Asn Leu Gln Ile Pro Thr
 355 360 365
 Phe Val Met His Phe Asp Gly Gly Asp Leu Val Leu Pro Ser Glu Asn
 370 375 380
 Tyr Phe Ile Ser Pro Ser Asn Gly Leu Ile Cys Leu Ala Met Gly Ser
 385 390 395 400
 Ser Ser Gln Gly Met Ser Ile Phe Gly Asn Ile Gln Gln Gln Asn Leu
 405 410 415
 Leu Val Val Tyr Asp Thr Gly Asn Ser Val Val Ser Phe Leu Ser Ala
 420 425 430
 Gln Cys Gly Ala Ser
 435

<210> 7
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> *Nepenthes gracilis*
 <400> 7

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

```

Met Thr Pro Ile Gly Ser Ser Thr Pro Ser Asn Leu Leu Leu Gly Ser
      245                      250                      255

Leu Ala Asn Ser Val Thr Ala Gly Ser Pro Asn Thr Thr Leu Ile Gln
      260                      265                      270

Ser Ser Gln Ile Pro Thr Phe Tyr Tyr Ile Thr Leu Asn Gly Leu Ser
      275                      280                      285

Val Gly Ser Thr Arg Leu Pro Ile Asp Pro Ser Ala Phe Ala Leu Asn
      290                      295                      300

Ser Asn Asn Gly Thr Gly Gly Ile Ile Ile Asp Ser Gly Thr Thr Leu
      305                      310                      315                      320

Thr Tyr Phe Val Asn Asn Ala Tyr Gln Ser Val Arg Gln Glu Phe Ile
      325                      330                      335

Ser Gln Ile Asn Leu Pro Val Val Asn Gly Ser Ser Ser Gly Phe Asp
      340                      345                      350

Leu Cys Phe Gln Thr Pro Ser Asp Pro Ser Asn Leu Gln Ile Pro Thr
      355                      360                      365

Phe Val Met His Phe Asp Gly Gly Asp Leu Glu Leu Pro Ser Glu Asn
      370                      375                      380

Tyr Phe Ile Ser Pro Ser Asn Gly Leu Ile Cys Leu Ala Met Gly Ser
      385                      390                      395                      400

Ser Ser Gln Gly Met Ser Ile Phe Gly Asn Ile Gln Gln Gln Asn Met
      405                      410                      415

Leu Val Val Tyr Asp Thr Gly Asn Ser Val Val Ser Phe Ala Ser Ala
      420                      425                      430

Gln Cys Gly Ala Ser
      435

```

<210> 8
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> *Nepenthes mirabilis*

 <400> 8

```

Met Ala Ser Pro Leu His Ser Val Val Leu Gly Leu Ala Ile Val Ser
1      5      10      15

```

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Ser Ser Leu Asn Pro Thr Tyr Tyr Tyr Ile Thr Leu Gln Gly Ile Thr
275 280 285

Val Gly Gly Asp Asn Leu Gly Ile Pro Ser Ser Thr Phe Gln Leu Gln
290 295 300

Asp Asp Gly Thr Gly Gly Met Ile Ile Asp Ser Gly Thr Thr Leu Thr
305 310 315 320

Tyr Leu Pro Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Val Ala Gln Ala Phe Thr Asp
325 330 335

Gln Ile Asn Leu Ser Pro Val Asp Glu Ser Ser Ser Gly Leu Ser Thr
340 345 350

Cys Phe Gln Leu Pro Ser Asp Gly Ser Thr Val Gln Val Pro Glu Ile
355 360 365

Ser Met Gln Phe Asp Gly Gly Val Leu Asn Leu Gly Glu Glu Asn Val
370 375 380

Leu Ile Ser Pro Ala Glu Gly Val Ile Cys Leu Ala Met Gly Ser Ser
385 390 395 400

Ser Gln Gln Gly Ile Ser Ile Phe Gly Asn Ile Gln Gln Gln Glu Thr
405 410 415

Gln Val Leu Tyr Asp Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Phe Val Pro Thr
420 425 430

Gln Cys Gly Ala Ser
435

<210> 9
<211> 438
<212> PRT
<213> Nepenthes gracilis

<400> 9

Met Ala Ser Pro Leu Tyr Ser Val Val Leu Gly Leu Ala Ile Val Ser
1 5 10 15

Ala Ile Val Ala Pro Thr Ser Ser Thr Ser Arg Gly Thr Leu Leu His
20 25 30

His Gly Gln Lys Arg Pro Gln Pro Gly Leu Arg Val Asp Leu Glu Gln
35 40 45

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Gln Asp Asp Gly Thr Gly Gly Met Ile Ile Asp Ser Gly Thr Thr Leu
305 310 315 320

Thr Tyr Leu Pro Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Val Ala Gln Ala Phe Thr
325 330 335

Asp Gln Ile Asn Leu Pro Thr Val Asp Glu Ser Ser Ser Gly Leu Ser
340 345 350

Thr Cys Phe Gln Gln Pro Ser Asp Gly Ser Thr Val Gln Val Pro Glu
355 360 365

Ile Ser Met Gln Phe Asp Gly Gly Val Leu Asn Leu Gly Glu Gln Asn
370 375 380

Ile Leu Ile Ser Pro Ala Glu Gly Val Ile Cys Leu Ala Met Gly Ser
385 390 395 400

Ser Ser Gln Leu Gly Ile Ser Ile Phe Gly Asn Ile Gln Gln Gln Glu
405 410 415

Thr Gln Val Leu Tyr Asp Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Phe Val Pro
420 425 430

Thr Gln Cys Gly Ala Ser
435

<210> 10
<211> 472
<212> PRT
<213> Zea mays

<400> 10

Met Ala Phe His Ser Cys Thr Ile Ile Pro Ala Ser His His Ser Ser
1 5 10 15

Met Ser Ser Ser Thr Ser Gln Met Ala Ser Leu Ala Val Leu Val Phe
20 25 30

Leu Val Val Cys Ala Thr Leu Ala Ser Gly Ala Ala Ser Val Arg Val
35 40 45

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

Val Arg Asp Ala Leu Arg Arg Asp Met His Arg Gln Arg Ser Arg Ser
65 70 75 80

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Asp Gly Thr Gly Gly Leu Ile Ile Asp Ser Gly Thr Thr Ile Thr Ser
 340 345 350
 Leu Ala Asn Ala Ala Tyr Gln Gln Val Arg Ala Ala Val Lys Ser Gln
 355 360 365
 Leu Val Thr Thr Leu Pro Thr Val Asp Gly Ser Asp Ser Thr Gly Leu
 370 375 380
 Asp Leu Cys Phe Ala Leu Pro Ala Pro Thr Ser Ala Pro Pro Ala Val
 385 390 395 400
 Leu Pro Ser Met Thr Leu His Phe Asp Gly Ala Asp Met Val Leu Pro
 405 410 415
 Ala Asp Ser Tyr Met Ile Ser Gly Ser Gly Val Trp Cys Leu Ala Met
 420 425 430
 Arg Asn Gln Thr Asp Gly Ala Met Ser Thr Phe Gly Asn Tyr Gln Gln
 435 440 445
 Gln Asn Met His Ile Leu Tyr Asp Val Arg Glu Glu Thr Leu Ser Phe
 450 455 460
 Ala Pro Ala Lys Cys Ser Thr Leu
 465 470

<210> 11
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Oryza sativa
 <400> 11

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

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Ala Val Leu Ala Glu Val Val Arg Ala Phe Arg Ser Gln Leu Arg Leu
340 345 350

Pro Phe Ala Asn Gly Ser Ser Pro Asp Asp Gly Val Cys Phe Ala Ala
355 360 365

Pro Ala Val Ala Ala Gly Gly Gly Arg Met Ala Arg Gln Val Ala Val
370 375 380

Pro Arg Met Val Phe His Phe Gln Gly Ala Asp Leu Asp Leu Pro Arg
385 390 395 400

Glu Asn Tyr Val Leu Glu Asp His Arg Arg Gly His Leu Cys Val Leu
405 410 415

Leu Gly Asp Ser Gly Asp Asp Gly Ala Thr Ile Gly Asn Phe Val Gln
420 425 430

Gln Asp Met Arg Val Val Tyr Asp Leu Glu Arg Glu Thr Leu Ser Phe
435 440 445

Ala Pro Val Glu Cys
450

<210> 12
<211> 486
<212> PRT
<213> Oryza sativa
<400> 12

Met Ala Asp Arg Ile Thr Val Leu Ala Ile Ala Leu Leu Val Leu Ile
1 5 10 15

Leu Ser Pro Gln Met Ala Val Gln Gly Lys Pro Ala Ala Gly Asn Thr
20 25 30

Ala Ser Pro Arg Pro Lys Gln Gln Gln Leu Gly Asn Phe Phe Lys Lys
35 40 45

His Gly Ser Asp Ile Ala Gly Leu Phe Pro Arg His Arg Asn Gly Gly
50 55 60

Ser Ser Gly Ser Tyr Ser Gly Gln Ala Val Pro Ala Asp Gly Gly Glu
65 70 75 80

Asn Gly Gly Gly Gly Gln Ser Gln Asp Pro Ala Thr Asn Thr Gly Met
85 90 95

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Gly Ser Glu Leu Gly Leu Asp Leu Cys Tyr Thr Ser Glu Ser Leu Ala
355 360 365

Thr Ala Lys Val Pro Ser Met Ala Leu Val Phe Ala Gly Gly Ala Val
370 375 380

Met Glu Leu Glu Met Gly Asn Tyr Phe Tyr Met Asp Ser Thr Thr Gly
385 390 395 400

Leu Glu Cys Leu Thr Ile Leu Pro Ser Pro Ala Gly Asp Gly Ser Leu
405 410 415

Leu Gly Ser Leu Ile Gln Val Gly Thr His Met Ile Tyr Asp Ile Ser
420 425 430

Gly Ser Arg Leu Val Phe Glu Ser Leu Glu Gln Ala Pro Pro Pro Pro
435 440 445

Ser Gly Ser Ser Arg Gln Ser Ser Arg Arg Arg Ser Ser Ser Ala Pro
450 455 460

Pro Pro Leu Thr Ser Pro Ala Val Val Val Ile His Leu Met Leu Val
465 470 475 480

Val Val Tyr Met Phe Leu
485

<210> 13
<211> 471
<212> PRT
<213> Zea mays
<400> 13

Met Ala Met Met Ala Cys Asn Asn Thr Arg Pro Arg Lys Leu Ser Leu
1 5 10 15

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

Phe Leu Ala Ala Ser Thr Ala Val Val Val Gly Lys Glu Pro Gln Pro
35 40 45

Pro Ser Ser Ser Gly Gly Gly Cys His Tyr Arg Phe Glu Leu Thr His
50 55 60

Val Asp Ala Asn Leu Asn Leu Thr Ser Asp Glu Leu Met Arg Arg Ala
65 70 75 80

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Asn Met Phe Val Asp Thr Gly Ala Ser Phe Thr Arg Leu Glu Gly Thr
340 345 350

Val Phe Ala Lys Leu Val Thr Glu Leu Asp Arg Ile Met Lys Glu Arg
355 360 365

Lys Tyr Val Lys Glu Gln Pro Gly Arg Asn Asn Gly Gln Ile Cys Tyr
370 375 380

Ser Pro Pro Ser Thr Ala Ala Asp Glu Ser Ser Lys Leu Pro Asp Met
385 390 395 400

Val Leu His Phe Ala Asp Ser Ala Asn Met Val Leu Pro Trp Asp Ser
405 410 415

Tyr Leu Trp Lys Thr Thr Ser Lys Leu Cys Leu Ala Ile Tyr Lys Ser
420 425 430

Asn Ile Lys Gly Gly Ile Ser Val Leu Gly Asn Phe Gln Met Gln Asn
435 440 445

Thr His Met Leu Leu Asp Thr Gly Asn Glu Lys Leu Ser Phe Val Arg
450 455 460

Ala Asp Cys Ser Lys Val Ile
465 470

<210> 14
<211> 1317
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: polinucleótido sintético

<400> 14

atggcctcac cactatactc tgtggtactt ggcttagcaa tagtttctgc cattgttgca	60
ccaacaagct ccacctcaag aggaaccctt cttcatcatg gtcagaaaag gccacaaccc	120
ggccttcgtg ttgatctcga gcaggtcgat tcgggcaaga atttgaccaa atacgagctc	180
atcaaacgtg ctatcaagcg tggggagagg aggatgcgaa gcattaatgc tatgttgag	240
agctcctccg gtattgaaac tcctgtttat gcgggagacg gtgaatatct aatgaacgta	300
gcaattggta ctccgatag ttctttctcg gccattatgg ataccggcag tgatctcatt	360
tggacgcaat gcgagccatg tacgcagtgc ttcagtcaac ctacgcccatt tttcaaccca	420
caggactcgt cttccttctc tacccttctt tgcgagagcc agtattgcca agatcttccg	480

ES 2 883 347 T3

```

agcgaaacct gcaataataa tgaatgccaa tatacatacg gatacggaga cggttccaca      540
acccaaggtt atatggcaac cgagaccttc actttcgaga cgagctccgt gccgaatata      600
gcgttcggtt gcggggaaga caaccaggga ttcgggcaag gcaacggggc tggcctgata      660
gggatgggtt ggggcccggt atcgcttcct tctcaactcg gcgtgggtca gttctcttac      720
tgcatacact cctatggaag ctctcaccac agcactctcg cacttgatc cgagccagt      780
ggagtgcctg aaggctcccc gagtacgacc ctcatccata gttctttgaa tccaacgtac      840
tattatatta cgctccaagg tataacggtt ggtggcgata atttgggtat tccatcgagt      900
acttttcaac ttcaagacga tggaactggc gggatgataa ttgactccgg gacaacgctc      960
acttatcttc cacaagacgc ttacaatgcg gtagcacaag cgttcactga ccagataaat     1020
ctccccaccg tcgatgaatc ctcgagcggc ctcagtagct gcttcagca accgtccgac     1080
ggatcaaccg tgcaagttcc ggagatttca atgcagtttg atgggtgggt gctgaactta     1140
ggggaacaga atatattgat ctctccagct gaaggggtga tatgcttggc gatgggaagt     1200
tcatcgcagc tggaatttc catttttggg aatatccagc agcaagaaac gcaggtgctc     1260
tatgaccttc agaatttggc cgtgtcgttc gttcctactc agtgtggtgc gtcgtag      1317

```

<210> 15
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético
 <400> 15

```

Leu Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro
1          5          10          15

```

```

Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro
          20          25          30

```

Phe

<210> 16
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 16

```

Leu Gly Gln Gln Gln Pro Phe Pro Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro
1          5          10          15

```

Gln Pro Phe

<210> 17
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 17

Gln Gln Gln Gln Pro Pro Phe Ser Gln Gln Gln Gln Ser Pro Phe Ser
1 5 10 15

Gln Gln Gln Gln
20

5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <400> 18

Gly Tyr Tyr Pro Thr Ser Pro Gln Gln
1 5

<210> 19

20 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 19

Pro Gly Gln Gly Gln Gln
1 5

30

<210> 20

<211> 359

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 20

40

Gln Ser Ser Ser Gly Ile Glu Thr Pro Val Tyr Ala Gly Asp Gly Glu

ES 2 883 347 T3

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

ES 2 883 347 T3

Thr Asp Gln Ile Asn Leu Pro Thr Val Asp Glu Ser Ser Ser Gly Leu
260 265 270

Ser Thr Cys Phe Gln Gln Pro Ser Asp Gly Ser Thr Val Gln Val Pro
275 280 285

Glu Ile Ser Met Gln Phe Asp Gly Gly Val Leu Asn Leu Gly Glu Gln
290 295 300

Asn Ile Leu Ile Ser Pro Ala Glu Gly Val Ile Cys Leu Ala Met Gly
305 310 315 320

Ser Ser Ser Gln Leu Gly Ile Ser Ile Phe Gly Asn Ile Gln Gln Gln
325 330 335

Glu Thr Gln Val Leu Tyr Asp Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Phe Val
340 345 350

Pro Thr Gln Cys Gly Ala Ser
355

<210> 21

<211> 359

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético

<400> 21

Asn Gly Pro Ser Gly Val Glu Thr Ser Val Tyr Ala Gly Asp Gly Glu
1 5 10 15

Tyr Leu Met Asn Leu Ser Ile Gly Thr Pro Ala Gln Pro Phe Ser Ala
20 25 30

Ile Met Asp Thr Gly Ser Asp Leu Ile Trp Thr Gln Cys Gln Pro Cys
35 40 45

Thr Gln Cys Phe Asn Gln Ser Thr Pro Ile Phe Asn Pro Gln Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Phe Ser Thr Leu Pro Cys Ser Ser Gln Leu Cys Gln Ala Leu
65 70 75 80

Ser Ser Pro Thr Cys Ser Asn Asn Phe Cys Gln Tyr Thr Tyr Gly Tyr
85 90 95

Gly Asp Gly Ser Glu Thr Gln Gly Ser Met Gly Thr Glu Thr Leu Thr

ES 2 883 347 T3

	100		105		110
Phe Gly Ser Val Ser Ile Pro Asn Ile Thr Phe Gly Cys Gly Glu Asn	115		120		125
Asn Gln Gly Phe Gly Gln Gly Asn Gly Ala Gly Leu Val Gly Met Gly	130		135		140
Arg Gly Pro Leu Ser Leu Pro Ser Gln Leu Asp Val Thr Lys Phe Ser	145		150		155
Tyr Cys Met Thr Pro Ile Gly Ser Ser Thr Pro Ser Asn Leu Leu Leu	165		170		175
Gly Ser Leu Ala Asn Ser Val Thr Ala Gly Ser Pro Asn Thr Thr Leu	180		185		190
Ile Gln Ser Ser Gln Ile Pro Thr Phe Tyr Tyr Ile Thr Leu Asn Gly	195		200		205
Leu Ser Val Gly Ser Thr Arg Leu Pro Ile Asp Pro Ser Ala Phe Ala	210		215		220
Leu Asn Ser Asn Asn Gly Thr Gly Gly Ile Ile Ile Asp Ser Gly Thr	225		230		235
Thr Leu Thr Tyr Phe Val Asn Asn Ala Tyr Gln Ser Val Arg Gln Glu	245		250		255
Phe Ile Ser Gln Ile Asn Leu Pro Val Val Asn Gly Ser Ser Ser Gly	260		265		270
Phe Asp Leu Cys Phe Gln Thr Pro Ser Asp Pro Ser Asn Leu Gln Ile	275		280		285
Pro Thr Phe Val Met His Phe Asp Gly Gly Asp Leu Glu Leu Pro Ser	290		295		300
Glu Asn Tyr Phe Ile Ser Pro Ser Asn Gly Leu Ile Cys Leu Ala Met	305		310		315
Gly Ser Ser Ser Gln Gly Met Ser Ile Phe Gly Asn Ile Gln Gln Gln	325		330		335
Asn Met Leu Val Val Tyr Asp Thr Gly Asn Ser Val Val Ser Phe Ala	340		345		350
Ser Ala Gln Cys Gly Ala Ser			355		

5 <210> 22
 <211> 319
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético

ES 2 883 347 T3

<400> 22

```

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

Ala Thr Thr Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn
 20           25           30

Pro Ser Gln Gln Gln Pro Gln Glu Gln Val Pro Leu Val Gln Gln Gln
 35           40           45

Gln Phe Pro Gly Gln Gln Gln Gln Phe Pro Pro Gln Gln Pro Tyr Pro
 50           55           60

Gln Pro Gln Pro Phe Pro Ser Gln Gln Pro Tyr Leu Gln Leu Gln Pro
 65           70           75           80

Phe Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro
 85           90           95

Gln Ser Phe Pro Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Gln Gln Pro Gln Tyr
100           105           110

Leu Gln Pro Gln Gln Pro Ile Ser Gln Gln Gln Ala Gln Gln Gln Gln
115           120           125

Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Ile Leu Gln Gln Ile
130           135           140

Leu Gln Gln Gln Leu Ile Pro Cys Arg Asp Val Val Leu Gln Gln His
145           150           155           160

Asn Ile Ala His Ala Ser Ser Gln Val Leu Gln Gln Ser Thr Tyr Gln
165           170           175

Leu Leu Gln Gln Leu Cys Cys Gln Gln Leu Leu Gln Ile Pro Glu Gln
180           185           190

Ser Gln Cys Gln Ala Ile His Asn Val Ala His Ala Ile Ile Met His

```

ES 2 883 347 T3

195	200	205
Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Glu Gln Lys Gln Gln Leu Gln Gln Gln		
210	215	220
Gln Gln Gln Gln Gln Gln Leu Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln		
225	230	235
Gln Pro Ser Ser Gln Val Ser Phe Gln Gln Pro Gln Gln Gln Tyr Pro		
245	250	255
Ser Ser Gln Val Ser Phe Gln Pro Ser Gln Leu Asn Pro Gln Ala Gln		
260	265	270
Gly Ser Val Gln Pro Gln Gln Leu Pro Gln Phe Ala Glu Ile Arg Asn		
275	280	285
Leu Ala Leu Gln Thr Leu Pro Ala Met Cys Asn Val Tyr Ile Pro Pro		
290	295	300
His Cys Ser Thr Thr Ile Ala Pro Phe Gly Ile Ser Gly Thr Asn		
305	310	315

<210> 23
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 23

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln
 1 5

<210> 24
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 24

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln
 1 5

<210> 25
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 25

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu
 1 5

5 <210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 10 <400> 26

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu
 1 5

 15 <210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <400> 27

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln
 1 5 10

 25 <210> 28
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <400> 28

 35 <210> 29
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <400> 29

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln
 1 5 10

 50 <210> 30
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 60 <400> 30

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln
 1 5 10

5 <210> 31
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 10 <400> 31
 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn
 1 5 10
 15 <210> 32
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 32
 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser
 1 5 10 15
 25 <210> 33
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 33
 35 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser
 1 5 10 15
 40 <210> 34
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 34
 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser
 1 5 10 15
 50 <210> 35
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 35
 60 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser
 1 5 10 15

<210> 36
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 36
 10
 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser
 1 5 10 15
 <210> 37
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 20
 <400> 37
 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser
 1 5 10 15
 25
 <210> 38
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 38
 35
 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Gln Gln Pro Gln
 20
 40
 <210> 39
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <400> 39
 Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Gln Gln Pro Gln
 20
 50
 <210> 40
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 40

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln
1 5 10 15

Gln Gln Pro Gln
20

<210> 41

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 41

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln
1 5 10 15

Gln Gln Pro Gln
20

<210> 42

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 42

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln
1 5 10 15

Gln Gln Pro Gln
20

<210> 43

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 43

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln
1 5 10 15

Gln Gln Pro Gln
20

<210> 44

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 44

Ala Val Arg Val Pro Val Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln
1 5 10 15

Gln Gln Pro Gln
20

5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <400> 45

Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser

1

5

20

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 46

30

Pro Gln Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln Gln Gln Pro Gln
1 5 10

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40

<400> 47

Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln Gln Gln Pro Gln
1 5 10

45

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 48

Leu Gln Pro Gln Asn Pro Ser Gln Gln Gln Pro Gln
1 5 10

55

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5

<400> 49

Leu	Gln	Pro	Gln	Asn	Pro	Ser	Gln	Gln	Gln	Pro	Gln
1				5					10		

10

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 50

Leu	Gln	Pro	Gln	Asn	Pro	Ser	Gln	Gln	Gln	Pro	Gln
1				5					10		

20

<210> 51

<211> 10

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30

<400> 51

Pro	Gln	Asn	Pro	Ser	Gln	Gln	Gln	Pro	Gln
1				5					10

35

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 52

Pro	Gln	Asn	Pro	Ser	Gln	Gln	Gln	Pro	Gln
1				5					10

45

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 53

55

Pro	Gln	Glu	Gln	Val	Pro	Leu
1				5		

<210> 54

<211> 7

60

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <400> 54

Pro Gln Glu Gln Val Pro Leu

1

5

10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 55

20

Pro Gln Glu Gln Val Pro Leu

1

5

<210> 56

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30

<400> 56

Pro Gln Glu Gln Val Pro Leu

1

5

35

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 57

Pro Gln Glu Gln Val Pro Leu Val

1

5

45

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55

<400> 58

Gln Val Pro Leu Val Gln Gln Gln Gln

1

5

60

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <400> 59

Pro Leu Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro
1 5

<210> 60

10 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 60

Pro Leu Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
1 5 10

20 <210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 61

30 <210> 62

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

Pro Leu Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
1 5 10

35 <210> 63

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 62

Pro Leu Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
1 5 10

45 <210> 64

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 63

55 Pro Leu Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly Gln Gln Gln Gln Phe Pro
1 5 10 15

Pro Gln

60 <210> 64

<211> 18

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 64

Pro Leu Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly Gln Gln Gln Gln Phe Pro
1 5 10 15

Pro Gln

10

<210> 65

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 65

20

Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
1 5

<210> 66

<211> 8

25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30

<400> 66

Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
1 5

35

<210> 67

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 67

Val Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
1 5

45

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

50

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55

<400> 68

Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
1 5

<210> 69

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 69

10

Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
 1 5

<210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 70

20

Gln Gln Gln Gln Phe Pro Gly
 1 5

<210> 71
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 71

30

Gln Gln Phe Pro Gly Gln Gln Gln Gln Phe Pro Pro Gln
 1 5 10

35

<210> 72
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 72

45

Gln Gln Gln Gln Phe Pro Pro Gln Gln
 1 5

<210> 73
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 7

55

Gln Gln Gln Phe Pro Pro Gln Gln Pro Tyr
 1 5 10

60

<210> 74
 <211> 10

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 74

Gln Gln Gln Phe Pro Pro Gln Gln Pro Tyr
1 5 10

<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 75

Gln Gln Gln Phe Pro Pro Gln Gln Pro Tyr
1 5 10

<210> 76
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 76

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln
1 5

<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 77

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln
1 5

<210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 78

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5

<400> 79

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro Gln
1 5

10

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 80

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro Gln
1 5

20

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30

<400> 81

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro Phe
1 5 10

35

<210> 82

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 82

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro
1 5 10

45

<210> 83

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 83

55

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Ser Gln
1 5 10

60

<210> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <400> 84

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Ser Gln Gln Pro
1 5 10 15

Tyr

<210> 85

10 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 85

Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Ser Gln Gln Pro Tyr
1 5 10

20 <210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 86

30 <210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 87

35 <210> 88

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 88

40 <210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 88

45 <210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 89

50 <210> 90

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

Ser Gln Gln Pro Tyr Leu Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln
1 5 10 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 89

Ser	Gln	Gln	Pro	Tyr	Leu	Gln	Leu	Gln	Pro	Phe	Pro	Gln	Pro	Gln
1				5					10					15

10

<210> 90

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 90

Gln	Gln	Pro	Tyr	Leu	Gln	Leu	Gln	Pro	Phe	Pro	Gln	Pro	Gln
1				5					10				

20

<210> 91

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 91

30

Pro	Tyr	Leu	Gln	Leu	Gln	Pro	Phe	Pro	Gln	Pro	Gln
1				5					10		

35

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 92

Pro	Tyr	Leu	Gln	Leu	Gln	Pro	Phe	Pro	Gln	Pro	Gln
1				5					10		

45

<210> 93

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 93

55

Tyr	Leu	Gln	Leu	Gln	Pro	Phe	Pro	Gln	Pro	Gln
1				5					10	

60

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5

<400> 94

Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln
1 5

10

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 95

Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln
1 5

20

<210> 96

<211> 8

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30

<400> 96

Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln
1 5

35

<210> 97

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 97

Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Pro Gln
1 5 10

45

<210> 98

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 98

55

Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Pro Gln
1 5 10

60

<210> 99

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <400> 99

Pro Phe Pro Gln Pro Gln Pro Phe Pro Pro Gln Leu Pro Tyr
1 5 10

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 100

Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln
1 5

20 <210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 101

30 Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln
1 5

<210> 102
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 102

Pro Gln Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln Ser Phe Pro Pro Gln
1 5 10

45 <210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 103

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Gln Gln
1 5

55 <210> 104
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

60

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Gln Gln Pro Gln
1 5 10

 $\langle 211 \rangle$ 11

10

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15

Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Gln Gln Pro Gln
1 5 10

20

<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Gln Gln Pro Gln
1 5 10

30

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40

Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Gln Gln Pro Gln
1 5 10

45

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

Pro Gln Tyr Leu Gln Pro Gln
1 5

55

<210> 109
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

60

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 109

5		Pro	Gln	Gln	Pro	Ile	Ser	Gln	Gln	Gln	Ala
		1				5					10

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <400> 110

	Pro	Gln	Gln	Pro	Ile	Ser	Gln	Gln	Gln	Ala
	1				5					10

<210> 111

20 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 111

	Pro	Gln	Gln	Pro	Ile	Ser	Gln	Gln	Gln	Ala	Gln
	1				5					10	

30 <210> 112

<211> 11

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 112

40 <210> 113

	Pro	Gln	Gln	Pro	Ile	Ser	Gln	Gln	Gln	Ala	Gln
	1				5					10	

<211> 14

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <400> 113

	Pro	Gln	Gln	Pro	Ile	Ser	Gln	Gln	Gln	Ala	Gln	Gln	Gln	Gln
	1				5					10				

55 <210> 114

<211> 25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

60 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 114

Pro Gln Gln Pro Ile Ser Gln Gln Gln Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln
1 5 10 15

Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
20 25

5

<210> 115

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 115

15

Gln Gln Gln Ile Leu Gln Gln Ile Leu Gln Gln
1 5 10

<210> 116

<211> 9

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25

<400> 116

Gln Gln Ile Leu Gln Gln Ile Leu Gln
1 5

30

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 117

Gln Gln Gln Gln Gln Leu Gln Gln Gln Gln
1 5 10

40

<210> 118

<211> 13

<212> PRT

45

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50

<400> 118

Leu Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Ser
1 5 10

55

<210> 119

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 119

5 Leu Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Ser Ser
 1 5 10

<210> 120

<211> 12

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <400> 120

 Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro Ser
 1 5 10

20 <210> 121

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 121

30 Ser Ser Gln Val Ser Phe Gln Gln Pro Gln
 1 5 10

<210> 122

<211> 10

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <400> 122

 Ser Ser Gln Val Ser Phe Gln Gln Pro Gln
 1 5 10

45 <210> 123

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

50 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 123

 Ser Phe Gln Gln Pro Gln Gln Gln Tyr
 1 5

55 <210> 124

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

60 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 124

	Pro	Gln	Gln	Gln	Tyr	Pro	Ser	Ser	Gln	Val
5	1				5					10

<210> 125

<211> 10

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <400> 125

	Pro	Gln	Gln	Gln	Tyr	Pro	Ser	Ser	Gln	Val
	1				5					10

<210> 126

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 126

	Pro	Gln	Gln	Gln	Tyr	Pro	Ser	Ser	Gln	Val
	1				5					10

30 <210> 127

<211> 15

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 127

	Pro	Gln	Gln	Gln	Tyr	Pro	Ser	Ser	Gln	Val	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser
40	1				5					10					15

<210> 128

<211> 16

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <400> 128

	Pro	Gln	Gln	Gln	Tyr	Pro	Ser	Ser	Gln	Val	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser	Gln
	1				5					10					15	

55 <210> 129

<211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

60 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 129

Pro Gln Gln Gln Tyr Pro Ser Ser Gln Val Ser Phe Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Leu Asn Pro Gln
20

5

<210> 130

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 130

15

Gln Val Ser Phe Gln Pro Ser Gln Leu Asn Pro Gln
1 5 10

<210> 131

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25

<400> 131

Phe Gln Pro Ser Gln Leu Asn Pro Gln Ala Gln Gly Ser Val Gln Pro
1 5 10 15

Gln

30

<210> 132

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 132

Pro Ser Gln Leu Asn Pro Gln Ala Gln Gly Ser Val Gln Pro Gln
1 5 10 15

40

<210> 133

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 133

50

Ser Gln Leu Asn Pro Gln Ala Gln Gly Ser Val Gln Pro Gln
1 5 10

55

<210> 134

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 134

	Leu	Asn	Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ser	Val	Gln	Pro	Gln
10	1				5					10		

<210> 135

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 135

20		Asn	Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ser	Val	Gln	Pro	Gln
		1				5					10	

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 136

30		Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ser	Val	Gln	Pro	Gln
		1				5					10

35 <210> 137

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 137

45		Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ser	Val	Gln	Pro	Gln
		1				5					10

<210> 138

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 138

55		Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ser	Val	Gln	Pro	Gln
		1				5					10

<210> 139

<211> 10

<212> PRT

60

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5

<400> 139

Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ser	Val	Gln	Pro	Gln
1				5					10

10

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 140

Pro	Gln	Ala	Gln	Gly	Ser	Val	Gln	Pro	Gln
1				5					10

20

<210> 141

<211> 7

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30

<400> 141

Pro	Gln	Gln	Leu	Pro	Gln	Phe
1				5		

35

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 142

Pro	Gln	Gln	Leu	Pro	Gln	Phe	Ala
1				5			

45

<210> 143

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 143

55

Pro	Gln	Phe	Ala	Glu	Ile	Arg	Asn
1				5			

60

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <400> 144

Pro Gln Phe Ala Glu Ile Arg Asn Leu
1 5

<210> 145

10 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 145

Pro Gln Phe Ala Glu Ile Arg Asn Leu Ala
1 5 10

20 <210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 146

30 <210> 147

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 147

Glu Ile Arg Asn Leu Ala Leu Gln Thr Leu Pro
1 5 10

40 <210> 148

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 148

50 <210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 148

Arg Asn Leu Ala Leu Gln Thr Leu Pro Ala
1 5 10

60 <210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 149

5

Arg	Asn	Leu	Ala	Leu	Gln	Thr	Leu	Pro	Ala
1				5					10

<210> 150

<211> 8

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15

<400> 150

Leu	Ala	Leu	Gln	Thr	Leu	Pro	Ala
1				5			

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende neprosina o una variante de la misma con al menos 85 % de homología de secuencia con la misma, y opcionalmente una enzima seleccionada del grupo que consiste en nepentesina I, nepentesina II, variantes de las mismas con al menos 85 % de homología de secuencia con las mismas y mezclas de las mismas, para uso en la atenuación o prevención de la inflamación intestinal debida a la presencia de antígenos alimentarios peptídicos en un intestino de un paciente.
- 10 2. La composición para uso de la reivindicación 1, donde el paciente padece una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en sensibilidad al gluten y enfermedad celíaca.
- 15 3. La composición para uso de la reivindicación 1, donde la nepentesina I, la nepentesina II, la neprosina, variantes de las mismas con al menos 85 % de homología de secuencia con las mismas o una mezcla de las mismas es una proteína recombinante.
- 20 4. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde una dosis unitaria de la composición farmacéutica comprende entre 1 mg y 25 g de la enzima.
- 25 5. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la composición farmacéutica está entre pH 5 y pH 8.
- 30 6. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la variante es una proteína que tiene una secuencia aminoacídica con al menos 85 % de homología de secuencia con una secuencia aminoacídica seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21.
- 35 7. Una composición farmacéutica que comprende neprosina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde la neprosina es una proteína que comprende una secuencia aminoacídica que tiene al menos 90 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1.
- 40 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, donde la secuencia aminoacídica de la neprosina comprende una secuencia aminoacídica que tiene al menos 90 % de homología de secuencia con la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1 sin una secuencia señal.
- 45 9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, que comprende además al menos una enzima de *Nepenthes* adicional o una variante de la misma con al menos 85 % de homología de secuencia con la misma.
- 50 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, donde la al menos una enzima de *Nepenthes* adicional o variante de la misma es nepentesina I, nepentesina II y/o una variante de las mismas con al menos 85 % de homología de secuencia con las mismas.
- 55 11. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 7-10, que es una formulación de liberación prolongada.
12. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, donde la neprosina y/o una o más enzimas de *Nepenthes* comprenden un propéptido.
13. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, donde la composición se mantiene a pH neutro.
14. Una formulación farmacéutica que comprende la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 7-13, donde la neprosina está presente en múltiples capas de tal manera que la neprosina se libera continuamente mientras la formulación está presente en el estómago.
15. Una formulación farmacéutica que comprende la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 7-14, que comprende además un tampón farmacéuticamente aceptable, de tal manera que el pH de la neprosina permanece a pH 5 o 6 tras entrar en contacto con los ácidos en el estómago.

nep I de mirabilis -----MASSLYSFLALSIWIFVAPHTSTR-TALNHHEPKVAG-----FQIMLEHVDSGKNTKFELLERAVERSRRLQR-----LEA
 nep I de alata -----MASSLYSFLALSIWIFVAPHTSTR-TALNHHEPKVAG-----FQIMLEHVDSGKNTKFELLERAVERSRRLQR-----LEA
 nep I de gracilis -----MASSLYSFLALSIWIFVAPHTSTR-TALNHHEAVTG-----FQIMLEHVDSGKNTKFQLLRAIERSRRLQR-----LEA
 nep II de mirabilis -----MASPLHSVVLGLAIVSAIVAPTSSTSRGTLHHQKRPQG-----LRWLLEQVDSGMNLTKEYELTKRAIKRERRMRS-----INA
 nep II de gracilis -----MASPLYSVVLGLAIVSAIVAPTSSTSRGTLHHQKRPQG-----LRVDLEQVDSGKNTKEYELTKRAIKRERRMRS-----INA
 nep I de mays -----MAFHSCITIPASHHSSMSSSTQMASLAVLVLCMLCGCPVAGEAAAFAG-----DIRVDLTHVDAGKELPKRELIRRAMQSKARAAALSVVRNGGGF
 nep I de sativa -----MRGVSUVLVLIACMLCGCPVAGEAAAFAG-----DIRVDLTHVDAGKELPKRELIRRAMQSKARAAALSVVRNGGGF
 nep II de sativa -----MADRITVLAIALLVLTLSQMAVQKPAAGNTASPRKQQLGNFFKHGSDIAGLFPRHNGGSSGSSYGQAVPAD
 nep II de mays -----MAMMACNTRPRKLSLPCRTRTFQALILSTAVFLAASTAVVVGKRPQPPSSGGGCHYREFELTHVDANLNTSDELHRRAYDRSLRAAS-----L

 nep I de mirabilis -----MLNGPSGVETPVYAGD-----GEYLMNLSIG--TPAQFSAIMDTGSDLIWTQCPC-TQCFNQSTPIFNP-----QGSSSFSTLPCSSQLCQALQSPT
 nep I de alata -----MLNGPSGVETPVYAGD-----GEYLMNLSIG--TPAQFSAIMDTGSDLIWTQCPC-TQCFNQSTPIFNP-----QGSSSFSTLPCSSQLCQALQSPT
 nep I de gracilis -----MLNGPSGVETPVYAGD-----GEYLMNLSIG--TPAQFSAIMDTGSDLIWTQCPC-TQCFNQSTPIFNP-----QGSSSFSTLPCSSQLCQALQSPT
 nep II de mirabilis -----MLQSSSGTETPVYAGS-----GEYLMNVAIG--TPASSLSAIMDTGSDLIWTQCEPC-TQCFSQPTPIFNP-----QDSSSFSTLPCESQYCDLPS
 nep II de gracilis -----MLQSSSGTETPVYAGD-----GEYLMNVAIG--TPASSLSAIMDTGSDLIWTQCEPC-TQCFSQPTPIFNP-----QDSSSFSTLPCESQYCDLPS
 nep I de mays -----LAESDGRITSITVSARTKOLPNGGEYLMTLAIG--TPPLPYAAVADTGSDLIWTQCAPGTQCFEQPAPLYNP-----ASSTTFSVLPCNSLSMCAGALA
 nep I de sativa -----YGSIAQAREREREPMGMAVRASGDLEWVLDLAVG--TPPQPTALLDTGSDLIWTQCDTC-TACLRPDPLFSP-----RMSSEYPMRCAGQLCGDILHHS
 nep II de sativa -----GGENGSGSQDPATN-----TGMVLSFSVG--TPPQVVTGVLDITSDFVMMQCSACATCGADAPAAATSPFFYAFLSSTIREVRCANRGCCQLVPQT
 nep II de mays -----AAYS DGRHGRVSIPTD-----ASYIITFYLGNOQRPEDNISAVVDTGSDIIFWTTEKESRSKTRSM L PCCSP-----KCEQRASC GCGRSELKA

 nep I de mirabilis -----CSNNSCQYTYGYGDSGTQSGMGTETLTFGS-----VSIPNITFCGE--NNQFGQGNGAGLVGMGRGPLSLPSQLDVTKFSCYCMTPIGSS-
 nep I de alata -----CSNNSCQYTYGYGDSGTQSGMGTETLTFGS-----VSIPNITFCGE--NNQFGQGNGAGLVGMGRGPLSLPSQLDVTKFSCYCMTPIGSS-
 nep I de gracilis -----CSNNFCQYTYGYGDSGTQSGMGTETLTFGS-----VSIPNITFCGE--NNQFGQGNGAGLVGMGRGPLSLPSQLDVTKFSCYCMTPIGSS-
 nep II de mirabilis -----CYN-DCQYTYGYGDSGTQGYMATETFTET-----SSVPIAFECGE--DNQFGQGNGAGLVGMGRGPLSLPSQLGVQGFSCYCMTSSGSS-
 nep II de gracilis -----CNNECQYTYGYGDSGTQGYMATETFTET-----SSVPIAFECGE--DNQFGQGNGAGLVGMGRGPLSLPSQLGVQGFSCYCMTSSGSS-
 nep I de mays -----GAAPPGCCACMYQTYGTG-WTAGVQSETFTFGSSA-----ADQARVPGVAFGCSN-ASSSDWNG-SAGLVGLGRGSLSLVSQLGAGRFSYCLTPFQDTN
 nep I de sativa -----CVRPDTCTYRYSYGDGTTTLGYATERFTFASS-----GETQSVPLGFGGT-MNVG-SLNNASGIVGFGDPLSLVSQLIRRFYCLTPYASS-
 nep II de sativa -----CSADSPCGYSYVYGGGAANTTAGLLAVDAFAFAT-----YRADGVTFGCYAV-ATEG-----DIGGVTLGRGELSPVSQLIGRFSYCLTPYAPDAVD
 nep II de mays -----EAEKETKCTYAITIYGGNANDSTAGVNYEDKLTIVAVASKAVPSSQFKEVAIGCSTSATLKFKDPSIKGVFGLGRSATSLPRQLNFSKFSYCLSSYQEPD

FIGURA 1

nep I de mirabilis TSSTLLGLSLANS-----VTAGSPNTTLIES---SQIPTFYWITLNGLSVGTPLPIDPSVFKLNSNNGTGGIIDSGLTLYFADNAYQAVRQAFISQM
 nep I de alata NSSTLLGLSLANS-----VTAGSPNTTLIQS---SQIPTFYWITLNGLSVGTPLPIDPSVFKLNSNNGTGGIIDSGLTLYFADNAYQAVRQAFISQM
 nep I de gracilis TPSNLLGLSLANS-----VTAGSPNTTLIQS---SQIPTFYWITLNGLSVGTPLPIDPSAFALNSNNGTGGIIDSGLTLYFVNNAYQSVRQEFISQI
 nep II de mirabilis SPSTLALGSAASG-----VPEGSPSTTLIHS---SLNPTYVYITLQGITVGGNGLIPSSSTFQLQ--DDGTGGMIIIDSGTTLTYLPQDAYNAVAQAFTDQI
 nep II de gracilis SPSTLALGSAASG-----VPEGSPSTTLIHS---SLNPTYVYITLQGITVGGNGLIPSSSTFQLQ--DDGTGGMIIIDSGTTLTYLPQDAYNAVAQAFTDQI
 nep I de mays STSTLLGPSAAL-----NGTGVRSPTFVASPARAPMSTYYVNLGTISLGAALPISPGAFSLK--PDGTGGLIIDSGLTTLTYLPQDAYNAVAQAFTDQI
 nep I de sativa RKSTLQFGLADVGLYDDATGPVQTTPILOQ---AQNPTFYVAVFTGVTVGARRLRIPASAFALR--PDGSGGVIIIDSGTALTLPVAVLAEVVRAFRSQL
 nep II de sativa VGSFILFLDDAKP-----RTSRAVSTPLVAS---RASRLYYVELAGIRVDGEDLAIPRGTFDLQ--ADGSGGWLSIITPVTFLDAGAYKVVWRQAMASKI
 nep II de mays LPSYLLLTAAAPDMATGAVGGAAVATTALQP--NSDYKTLVYHLQNISIGTRFPAYS-----TKSGGNMFVDTGASFTRLLEGTVFAKLVTELDRIIM
 nep I de mirabilis N--LSVNGS--SSGFDLCFQMPSDQSN-----LQIPTFVWHFDG--GDLVLPSEN--YFISPSNGLICLAWGSSSQ--GMSIFGNIQQQNLLVYDTGNS
 nep I de alata N--LSVNGS--SSGFDLCFQMPSDQSN-----LQIPTFVWHFDG--GDLVLPSEN--YFISPSNGLICLAWGSSSQ--GMSIFGNIQQQNLLVYDTGNS
 nep I de gracilis N--LPVNGS--SSGFDLCFQTPSDPSN-----LQIPTFVWHFDG--GDLELPSEN--YFISPSNGLICLAWGSSSQ--GMSIFGNIQQQNMLVYDTGNS
 nep II de mirabilis N--LSPVDES--SSGLSTCFQLPSDGT-----VQVPEISWQFDG--GVLNLGEEN--VLISPAEGVICLAWGSSSQGSGISIFGNIQQQETQVLYDLQNL
 nep II de gracilis N--LPTVDES--SSGLSTCFQPSDGT-----VQVPEISWQFDG--GVLNLGEEN--VLISPAEGVICLAWGSSSQGSGISIFGNIQQQETQVLYDLQNL
 nep I de mays VTTLPTVDGSDSTGLDLCFALPAPTSAP-----PAVLPSMTLHFDG--ADMVLPADS---YMWISGS--GVMCLAMRNQTDGAMSTFGNYQQQNMHILYDYREE
 nep I de sativa R--LPFANGS--SPDGVCFAPAVAAAGGGRMARQVAVPRMVHFHQG--ADLDLPREN--YVLEDHRRGHLCVLLGDSGDDGATIGNFVQQDMRWVYDLERE
 nep II de sativa E--LRAADGS--ELGDLCTYTESLATAK-----VPSNALVFAG--GAVMELEMGNFYMDSTTGLECLTILPSPAGDGSLLGSLIQVGTHTMIYDISGS
 nep II de mays KERKYVKEQPGRNNGQICYSPPSTADE-----SSKLPDMVLFHADSANMVLPMDS--YLMWKTTSKLCCLATYKSNIXGGSISVLGNFQMNTMHLDTGNE
 nep I de mirabilis VVSFLFAQCGAS-----SEQ ID NO.: 5
 nep I de alata VVSFLSAQCGAS-----SEQ ID NO.: 6
 nep I de gracilis VVSFASAQCGAS-----SEQ ID NO.: 7
 nep II de mirabilis AVSFVPTQCGAS-----SEQ ID NO.: 8
 nep II de gracilis AVSFVPTQCGAS-----SEQ ID NO.: 9
 nep I de mays TLSFAPAKCSTL-----SEQ ID NO.: 10
 nep I de sativa TLSFAPVEK-----SEQ ID NO.: 11
 nep II de sativa RLVFESLEQAPPPSGSSRRSSAPPPLTSPAVVYTHMLVVMFL-----SEQ ID NO.: 12
 nep II de mays KLSFVRADCSKVI-----SEQ ID NO.: 13

FIGURA 1 (Continuación)

FIGURA 2

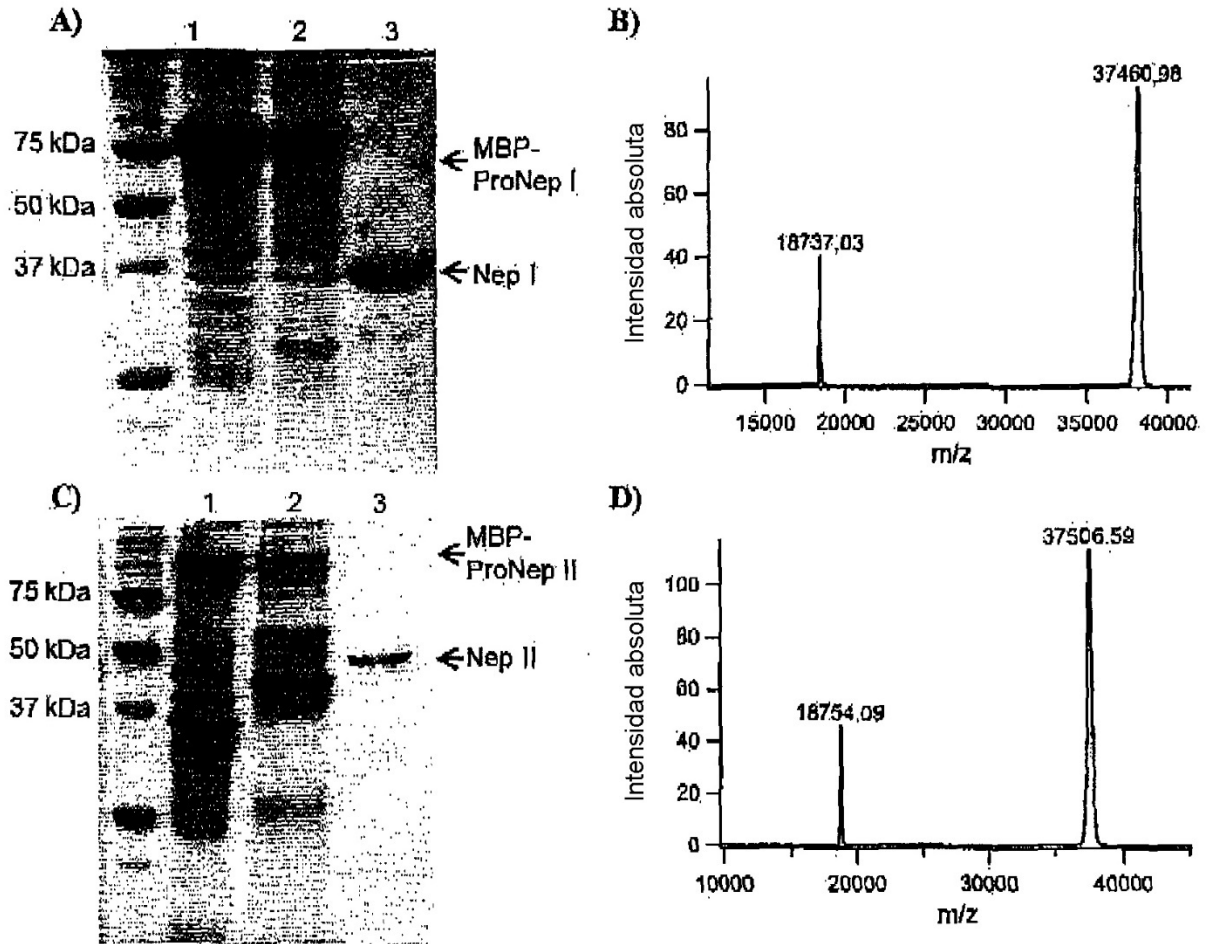


FIGURA 3

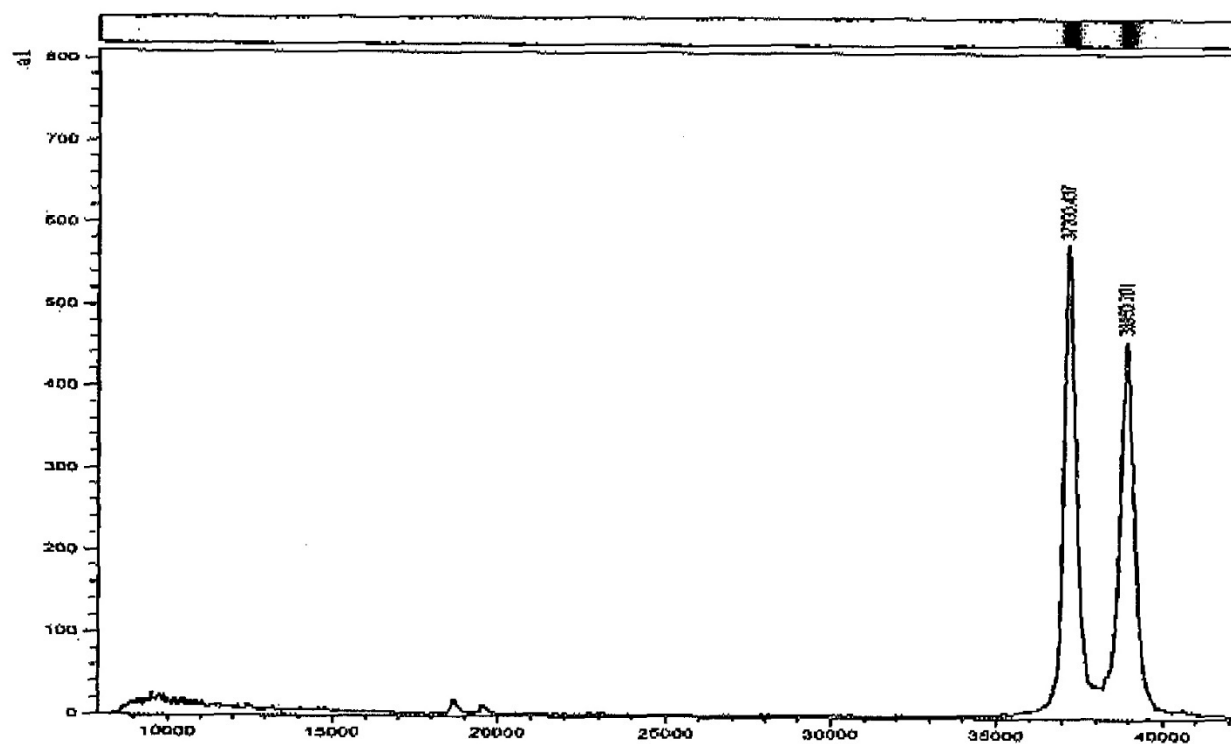


FIGURA 4

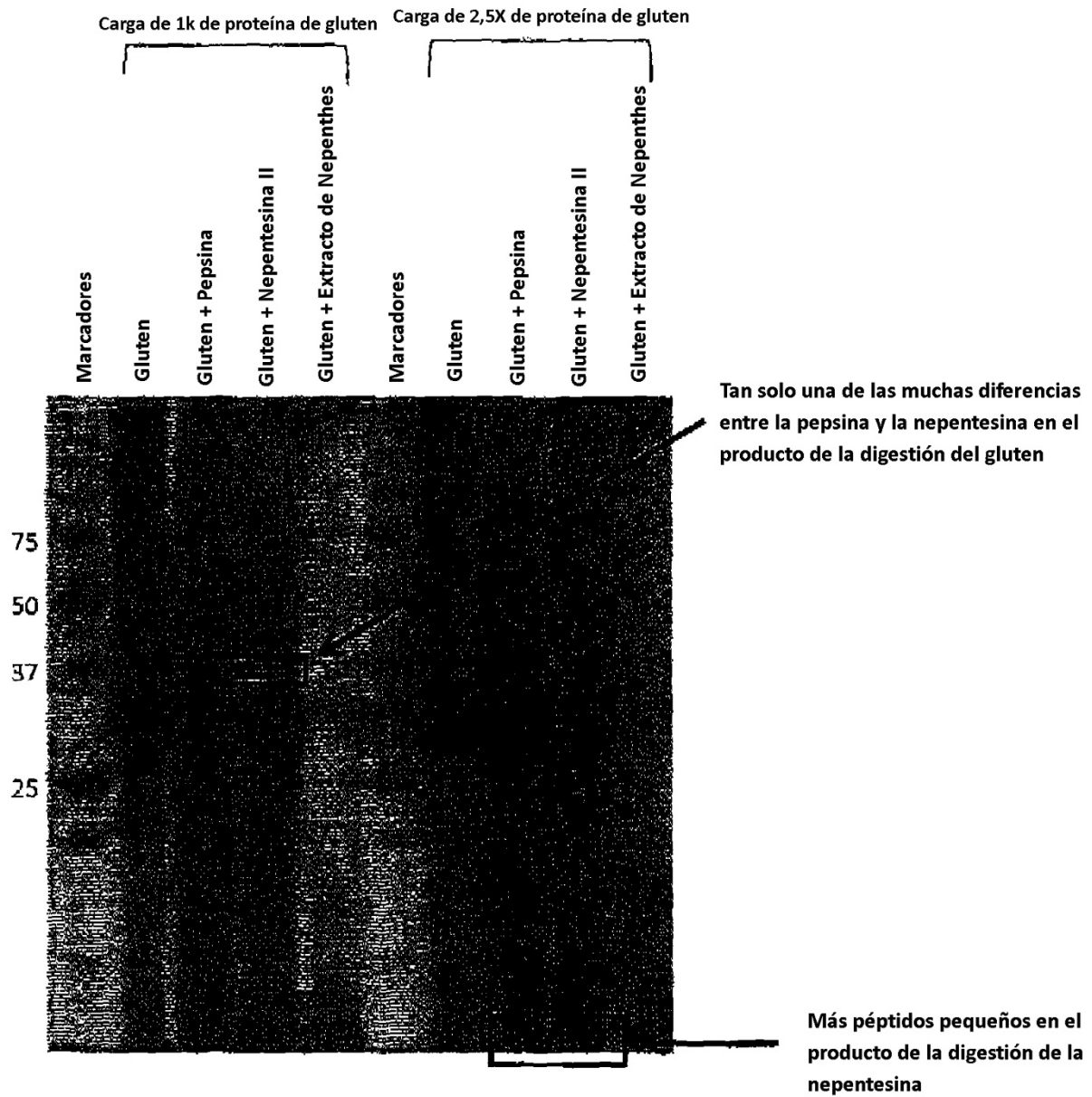


FIGURA 5A

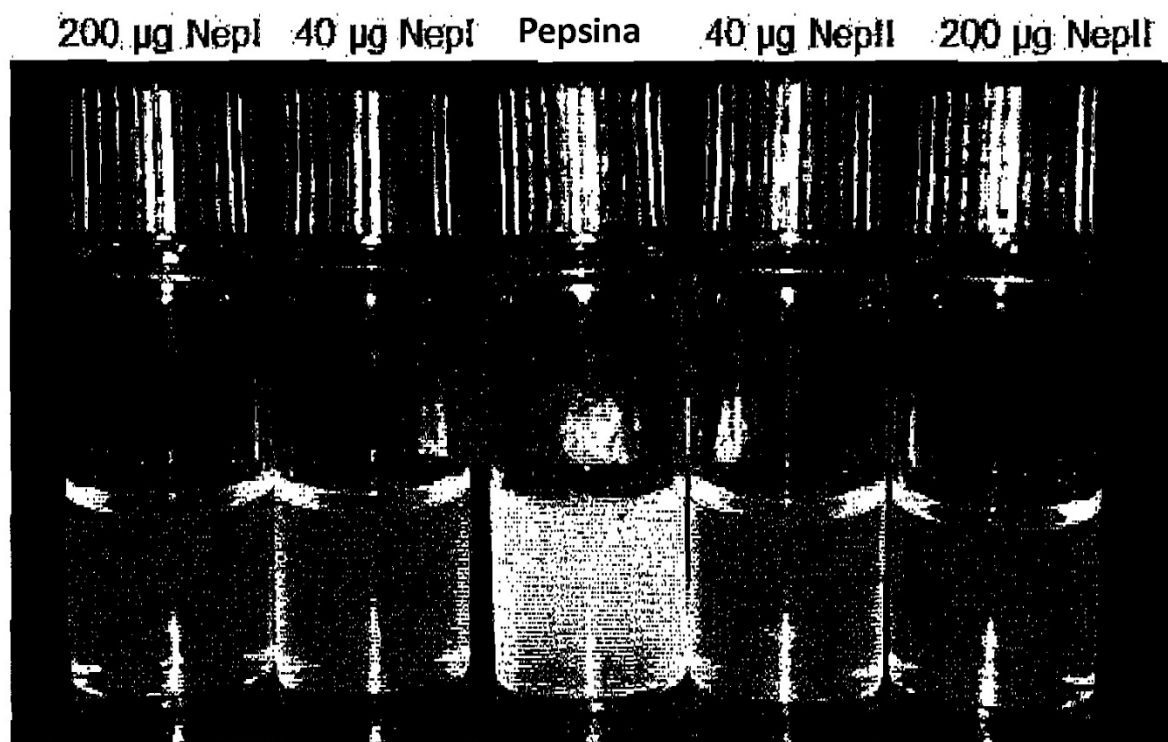
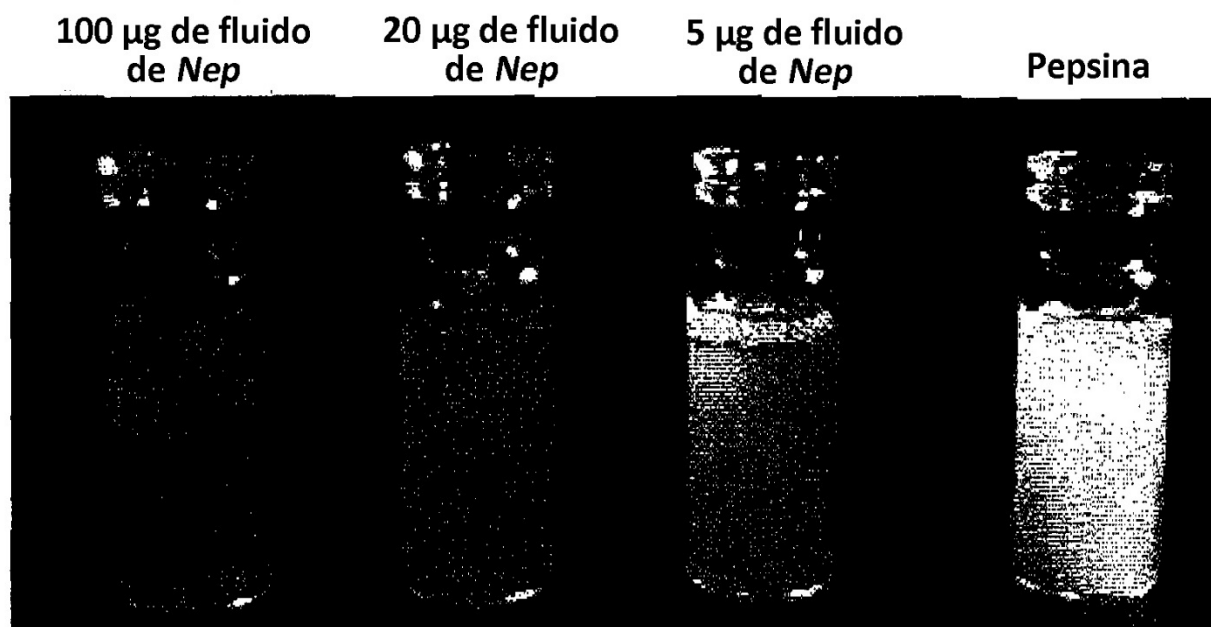


FIGURA 5B



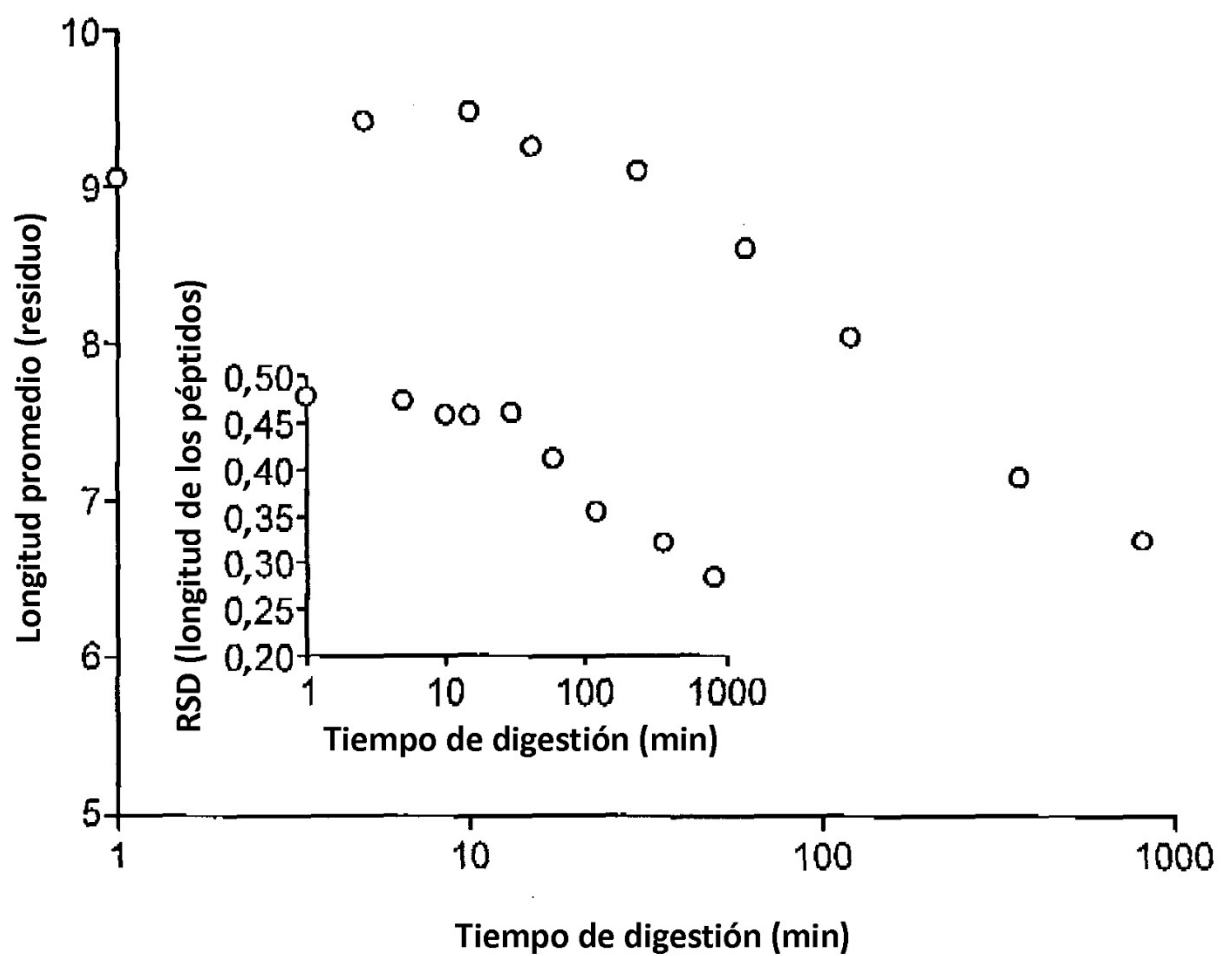


FIGURA 6

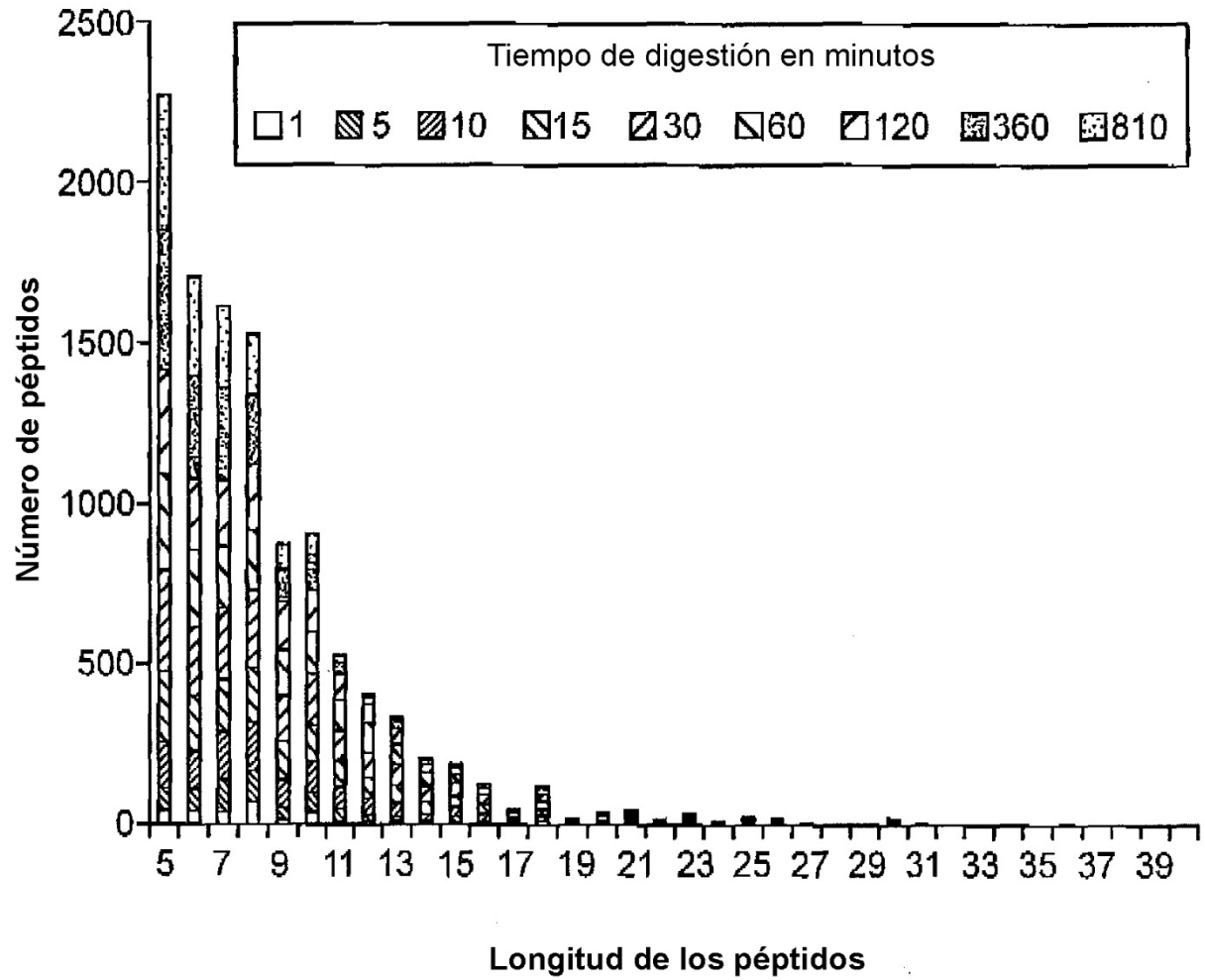


FIGURA 7

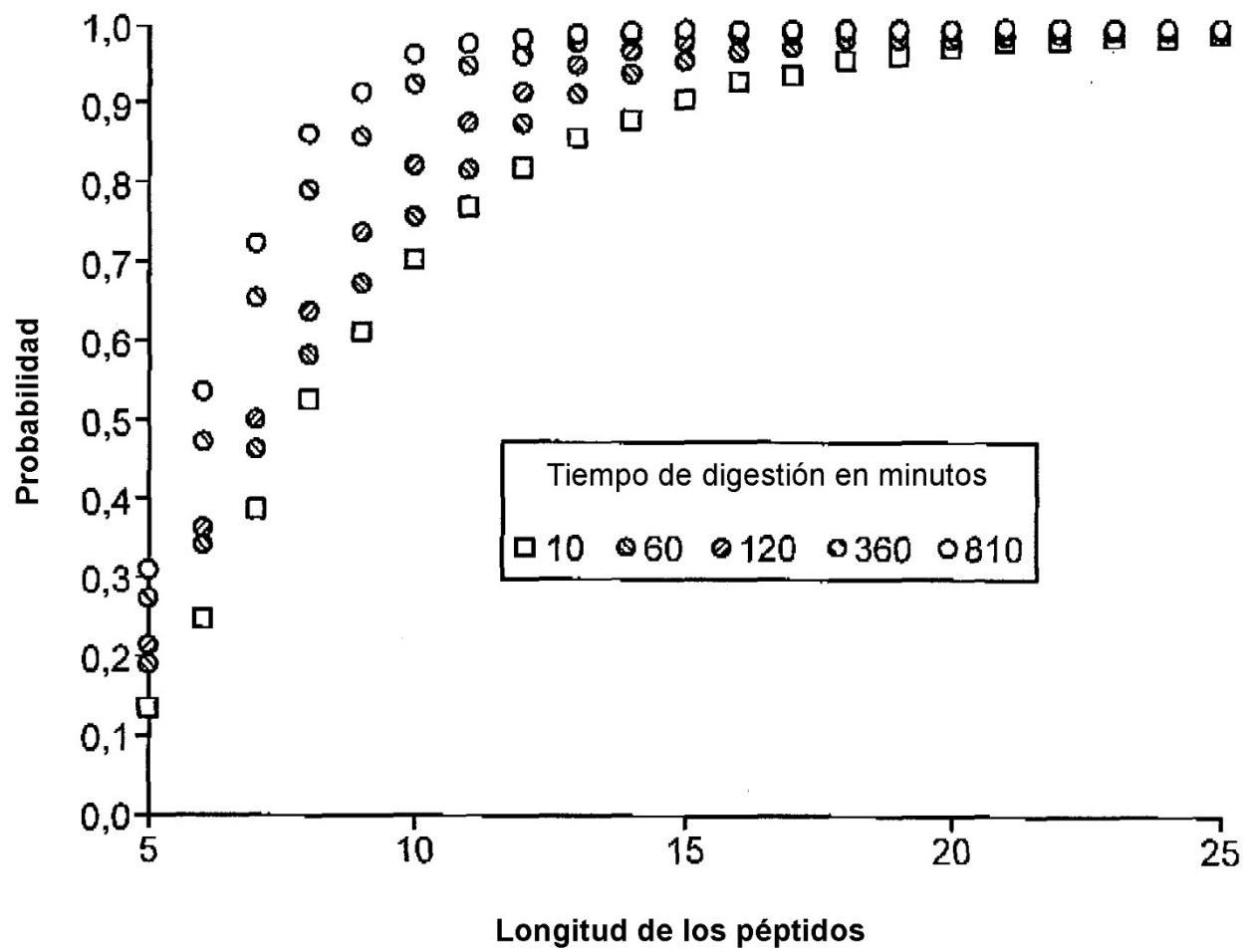
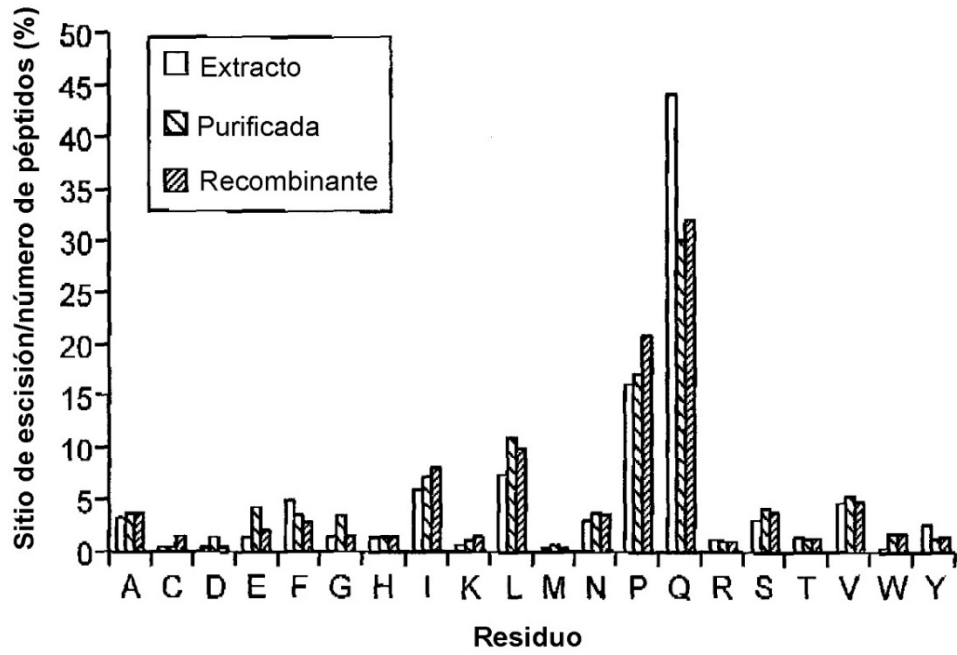


FIGURA 8

A



B

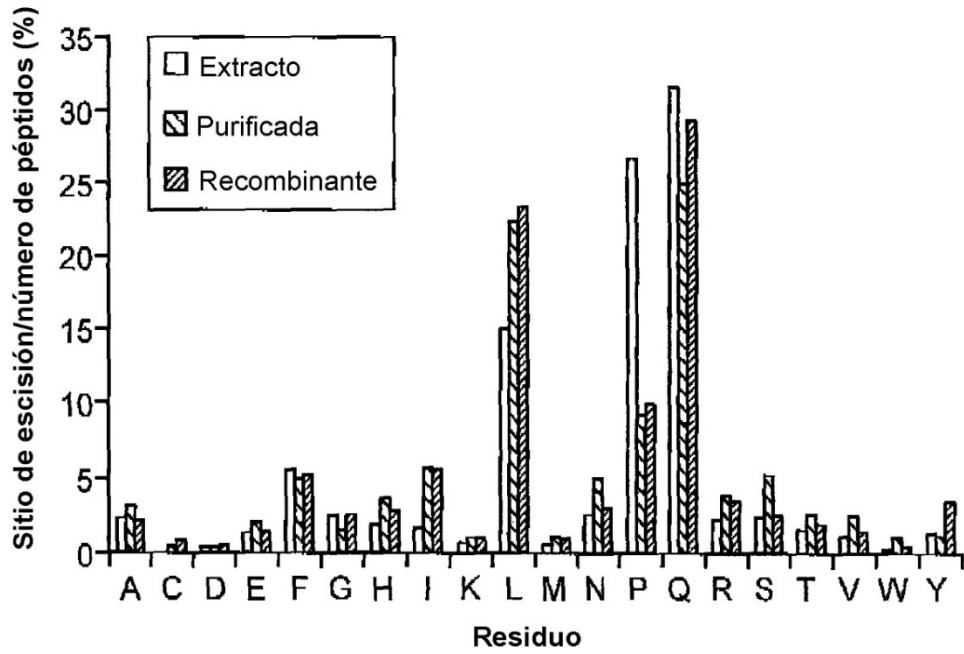


FIGURA 9

FIGURA 10

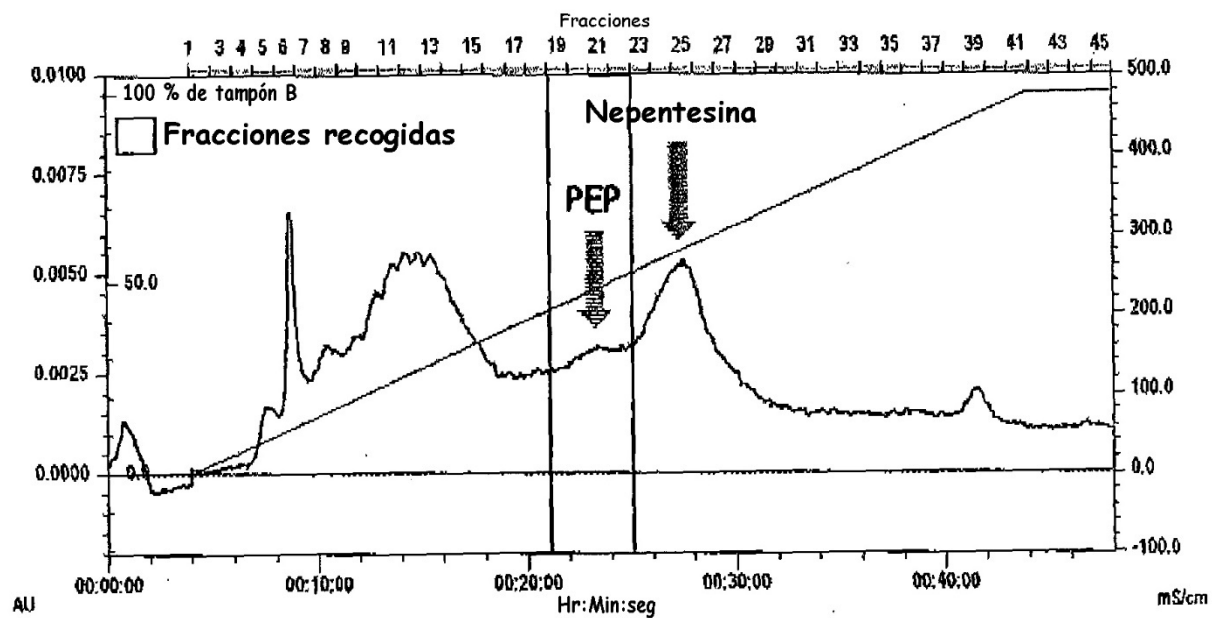


FIGURA 11

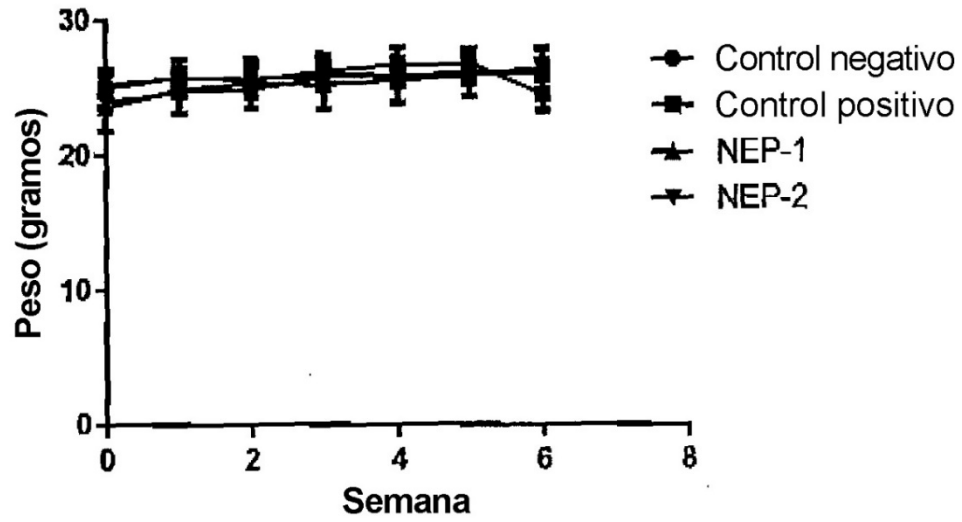


FIGURA 12

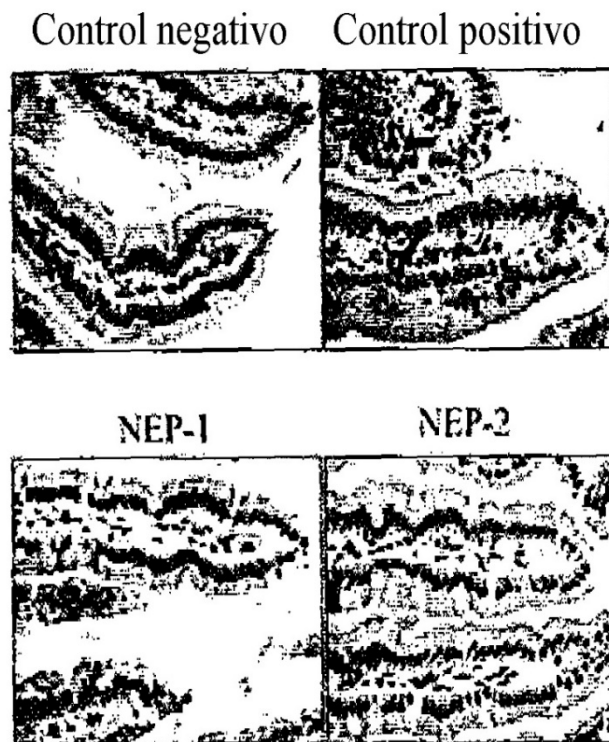


FIGURA 13

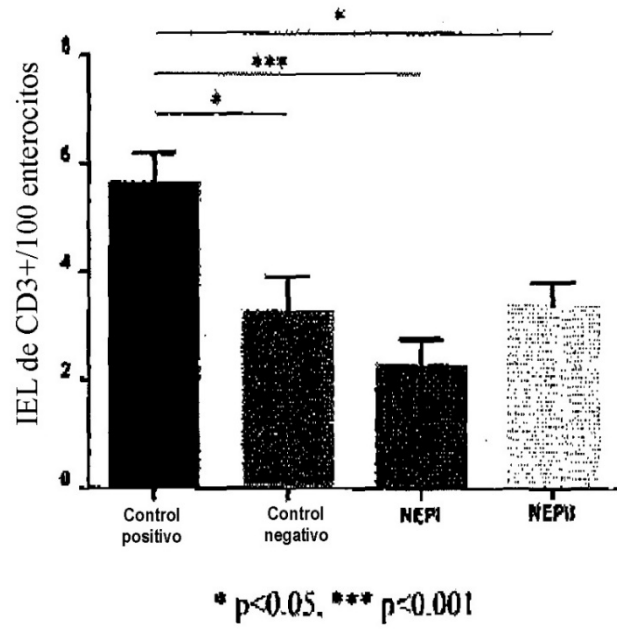


FIGURA 14

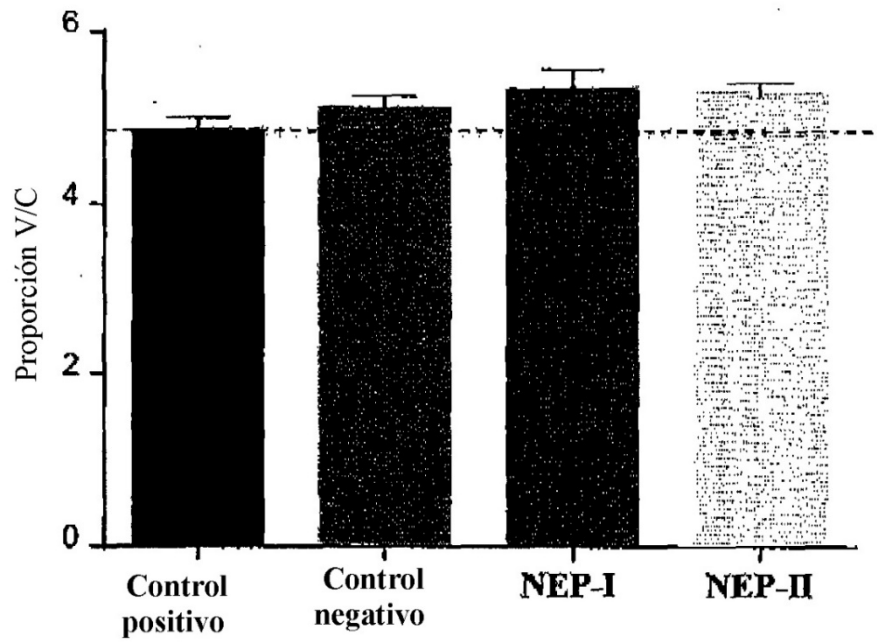


FIGURA 15A

Cobertura de la secuencia proteica: 61 %

Los péptidos coincidentes se muestran en rojo y en negrita

```

1  MKTFELILALL AIVATTATTA VRVVFVQLQP QNFSQQQEQE QVFLVQQQF
51  EQQQQQFFPQ QPYFQPQFFF SQQFYLLQLP FFQPQPFFPQ LPYPQPQSEF
101 PQQFYPPQQF QYLPQQPIS QQAQQQQQQ QQQQQQQQQI LQILQQQLI
151 PCRDVVLQOH NIAHASSQVL QSTYQLLQ LCCQQLLQIF EQSQCAIHN
201 VAHAIIIMHQ QQQQQEQKQQ LQQQQQQQQQ LQQQQQQQQQ QPSSQVSEQQ
251 PQQQYFSSQV SFQPSQLNFP AQGSVQEQQL FQFAEIRNLA LQTLPAMCNV
301 YIPPHCSTTI AFGISGTN

```

FIGURA 15B

Consulta	Inicio-Fin	Observada	Mr (esp.)	Mr (calc.)	ppm	M	Puntuación Esperada	Clasificación	Péptido	
<u>160</u>	21 - 26	333.7181	665.4216	665.4225	-1.21	0	30	0.0011	1 1	A.VRVFVP.Q
<u>161</u>	21 - 26	333.7184	665.4222	665.4225	-0.31	0	30	0.0011	1 1	A.VRVFVP.Q
<u>179</u>	21 - 27	397.7472	793.4798	793.4810	-1.49	0	28	0.0018	1 1	A.VRVFVPQ.L
<u>180</u>	21 - 27	397.7476	793.4806	793.4810	-0.49	0	32	0.00064	1 1	A.VRVFVPQ.L
<u>400</u>	21 - 28	454.2898	906.5680	906.5651	-0.031	0	38	0.00016	1 1	A.VRVFVPQL.Q
<u>891</u>	21 - 30	566.8454	1131.6762	1131.6764	-0.17	0	35	0.00031	1 1	A.VRVFVPQLQF.Q
<u>892</u>	21 - 30	566.8456	1131.6766	1131.6764	0.19	0	37	0.00021	1 1	A.VRVFVPQLQF.Q
<u>893</u>	21 - 30	566.8456	1131.6766	1131.6764	0.19	0	37	0.0002	1 1	A.VRVFVPQLQF.Q
<u>1126</u>	21 - 31	630.8743	1259.7340	1259.7330	-0.77	0	30	0.0011	1 1	A.VRVFVPQLQFQ.N
<u>1445</u>	21 - 33	491.2839	1470.8299	1470.8307	-0.57	0	24	0.0037	1 1	A.VRVFVPQLQFQNP.S
<u>1446</u>	21 - 33	736.4225	1470.8304	1470.8307	-0.17	0	37	0.00022	1 1	A.VRVFVPQLQFQNP.S
<u>1447</u>	21 - 33	491.2841	1470.8305	1470.8307	-0.16	0	24	0.004	1 1	A.VRVFVPQLQFQNP.S
<u>1448</u>	21 - 33	736.4227	1470.8308	1470.8307	0.098	0	38	0.00016	1 1	A.VRVFVPQLQFQNP.S
<u>1449</u>	21 - 33	736.4230	1470.8314	1470.8307	0.51	0	43	5.4e-005	1 1	A.VRVFVPQLQFQNP.S
<u>1450</u>	21 - 33	736.4232	1470.8318	1470.8307	0.78	0	37	0.00021	1 1	A.VRVFVPQLQFQNP.S
<u>1946</u>	21 - 38	680.7040	2039.0902	2039.0912	-0.52	0	30	0.0012	1 1	A.VRVFVPQLQFQNPSSQQF.Q
<u>1947</u>	21 - 38	680.7043	2039.0911	2039.0912	-0.078	0	25	0.0035	1 1	A.VRVFVPQLQFQNPSSQQF.Q
<u>1948</u>	21 - 38	680.7045	2039.0917	2039.0912	0.22	0	30	0.001	1 1	A.VRVFVPQLQFQNPSSQQF.Q
<u>1949</u>	21 - 38	680.7047	2039.0923	2039.0912	0.51	0	32	0.00075	1 1	A.VRVFVPQLQFQNPSSQQF.Q
<u>1950</u>	21 - 38	1020.5536	2039.0926	2039.0912	0.69	0	27	0.0022	1 1	A.VRVFVPQLQFQNPSSQQF.Q
<u>1951</u>	21 - 38	1020.5545	2039.0944	2039.0912	1.58	0	25	0.0036	1 1	A.VRVFVPQLQFQNPSSQQF.Q
<u>1952</u>	21 - 38	1020.5551	2039.0956	2039.0912	2.17	0	20	0.01	1 1	A.VRVFVPQLQFQNPSSQQF.Q
<u>222</u>	27 - 33	412.7167	823.4188	823.4188	0.049	0	24	0.0049	1 1	P.QLQFQNP.S
<u>1304</u>	27 - 38	696.8468	1391.6792	1391.6793	-0.064	0	22	0.0086	1 1	P.QLQFQNPSSQQF.Q
<u>926</u>	29 - 38	576.2766	1150.5386	1150.5367	1.78	0	36	0.00033	1 1	L.QFQNPSSQQF.Q
<u>927</u>	29 - 38	576.2771	1150.5396	1150.5367	2.56	0	35	0.00058	1 1	L.QFQNPSSQQF.Q
<u>928</u>	29 - 38	576.2772	1150.5398	1150.5367	2.74	0	43	8.9e-005	1 1	L.QFQNPSSQQF.Q
<u>929</u>	29 - 38	576.2773	1150.5404	1150.5367	3.26	0	24	0.0066	1 1	L.QFQNPSSQQF.Q
<u>434</u>	31 - 38	463.7203	925.4260	925.4254	0.75	0	42	0.00017	1 1	P.QNPSSQQF.Q
<u>435</u>	31 - 38	463.7204	925.4262	925.4254	0.97	0	34	0.00035	1 1	P.QNPSSQQF.Q
<u>4</u>	39 - 43	300.6529	599.2912	599.2915	-0.40	0	17	0.018	1 1	P.QEQVP.L
<u>5</u>	39 - 43	300.6532	599.2918	599.2915	0.60	0	21	0.0082	1 1	P.QEQVP.L
<u>6</u>	39 - 43	300.6533	599.2920	599.2915	0.93	0	16	0.025	1 1	P.QEQVP.L
<u>7</u>	39 - 43	300.6533	599.2920	599.2915	0.93	0	20	0.01	1 1	P.QEQVP.L
<u>89</u>	39 - 44	357.1943	712.3740	712.3755	-2.11	0	26	0.0023	1 1	P.QEQVEL.V
<u>137</u>	42 - 48	406.2371	810.4396	810.4600	-0.39	0	26	0.003	1 1	Q.VPLVQQ.Q
<u>363</u>	44 - 50	445.7400	889.4654	889.4650	-0.37	0	16	0.03	1 1	P.LVQQQFP.P
<u>584</u>	44 - 51	494.2657	986.5168	986.5185	-1.71	0	16	0.023	1 1	P.LVQQQFP.P

FIGURA 15B (Continuación)

Consulta	Inicio-Fin	Observada	Mr (esp.)	Mr (calc.)	ppm	M	Puntuación	Esperado	Clasificación	Péptido
0585	44 - 51	494.2664	986.5182	986.5185	-0.29 0	23	0.0055	1	1	P.LVQQQQFF.G
0586	44 - 51	494.2665	986.5184	986.5185	-0.092 0	24	0.0042	1	1	P.LVQQQQFF.G
0586	44 - 59	633.3234	1896.9484	1896.9483	0.032 0	30	0.0012	1	1	P.LVQQQQFFGQQQQFFP.Q
0587	44 - 59	633.3239	1896.9489	1896.9483	0.84 0	18	0.021	1	1	P.LVQQQQFFGQQQQFFP.Q
0586	46 - 51	388.1900	774.3654	774.3661	-0.79 0	20	0.022	1	1	V.QQQQFF.G
0589	46 - 51	388.1901	774.3656	774.3661	-0.53 0	22	0.013	1	1	V.QQQQFF.G
0587	46 - 51	388.1903	774.3660	774.3661	-0.013 0	22	0.016	1	1	V.QQQQFF.G
0589	47 - 51	324.1609	646.3072	646.3075	-0.36 0	19	0.047	1	1	Q.QQQFF.G
0590	47 - 51	324.1609	646.3072	646.3075	-0.36 0	18	0.056	1	1	Q.QQQFF.G
0591	47 - 51	324.1609	646.3072	646.3075	-0.36 0	21	0.029	1	1	Q.QQQFF.G
0599	49 - 59	651.3184	1300.6222	1300.6201	1.69 0	17	0.024	1	1	Q.QFQQQQFFP.Q
0594	54 - 60	436.7163	871.4180	871.4188	-0.89 0	14	0.16	1	1	Q.QQQFFP.Q
0592	55 - 62	485.2424	968.4702	968.4716	-1.38 0	20	0.058	1	1	Q.QQFFPQQP.Y
0593	55 - 62	485.2426	968.4706	968.4716	-0.97 0	14	0.24	1	1	Q.QQFFPQQP.Y
0595	55 - 62	485.2428	968.4710	968.4716	-0.56 0	20	0.069	1	1	Q.QQFFPQQP.Y
0593	60 - 64	316.6554	631.2962	631.2966	-0.51 0	21	0.044	1	1	F.QQFFP.Q
0594	60 - 64	316.6555	631.2964	631.2966	-0.19 0	25	0.021	1	1	P.QQFFP.Q
0590	60 - 65	380.6655	759.3564	759.3551	1.71 0	17	0.053	1	1	P.QQFFP.Q
0592	60 - 66	429.2106	856.4066	856.4079	-1.48 0	15	0.11	1	1	P.QQFFP.Q
0593	60 - 66	429.2112	856.4078	856.4079	-0.076 0	23	0.019	1	1	P.QQFFP.Q
0598	60 - 68	541.7669	1081.5192	1081.5193	-0.0083 0	33	0.0016	1	1	P.QQFFPQQP.F
0597	60 - 69	615.3012	1228.5878	1228.5877	0.14 0	26	0.0056	1	1	P.QQFFPQQP.F
0599	60 - 71	707.3434	1412.6722	1412.6725	-0.16 0	40	0.00034	1	1	P.QQFFPQQPFFS.Q
0592	60 - 74	803.9276	1765.8408	1765.8424	-0.99 0	28	0.0027	1	1	P.QQFFPQQPFFSQQP.Y
0595	65 - 74	577.2856	1152.5566	1152.5564	0.23 0	17	0.067	1	1	P.QQFFPQQP.Y
0597	67 - 74	464.7300	927.4454	927.4450	0.44 0	28	0.0045	1	1	P.QQFFPQQP.Y
0598	67 - 74	464.7302	927.4458	927.4450	0.87 0	30	0.0026	1	1	P.QQFFPQQP.Y
0594	72 - 84	528.6124	1582.8154	1582.8144	0.63 0	23	0.0046	1	1	S.QQFFLQFFPQQP.Q
0597	72 - 84	792.4166	1582.8186	1582.8144	2.70 0	19	0.012	1	1	S.QQFFLQFFPQQP.Q
0596	73 - 84	728.3838	1454.7530	1454.7528	-1.89 0	16	0.046	1	1	Q.QFFLQFFPQQP.Q
0597	75 - 84	615.8306	1229.6466	1229.6445	1.78 0	41	0.00011	1	1	P.LQLQFFPQQP.Q
0598	75 - 84	615.8311	1229.6476	1229.6445	2.60 0	29	0.0018	1	1	P.LQLQFFPQQP.Q
0594	76 - 84	534.2983	1066.5820	1066.5811	0.86 0	33	0.0007	1	1	Y.LQLQFFPQQP.Q
0597	78 - 84	413.7264	825.4382	825.4385	-0.30 0	33	0.00083	1	1	Q.LQLQFFPQQP.Q
0598	78 - 84	413.7272	825.4398	825.4385	1.64 0	34	0.00078	1	1	Q.LQLQFFPQQP.Q
0598	79 - 84	357.1844	712.3542	712.3544	-0.26 0	21	0.051	1	1	L.QFFPQQP.Q
0595	79 - 89	640.3262	1278.6378	1278.6397	-1.47 0	39	0.0003	1	1	U.L.QFFPQQPQQFFP.Q
0596	79 - 89	640.3282	1278.6418	1278.6397	1.66 0	31	0.0018	1	1	U.L.QFFPQQPQQFFP.Q
0597	81 - 92	696.8708	1391.7270	1391.7238	2.34 0	14	0.077	1	1	U.P.QFFPQQPQQP.Y
0597	90 - 96	421.7240	841.4334	841.4334	0.063 0	20	0.03	1	1	P.QLFFPQQP.Q
0597	90 - 96	421.7242	841.4338	841.4334	0.54 0	20	0.025	1	1	P.QLFFPQQP.Q
0597	90 - 101	699.8577	1397.7008	1397.6980	2.07 0	16	0.042	1	1	P.QLFFPQQPQQFFP.Q
0596	102 - 108	444.7143	887.4140	887.4137	0.36 0	36	0.00035	1	1	P.QQFFPQQP.Q
0597	102 - 110	557.2696	1112.5246	1112.5251	-0.38 0	49	2.6e-005	1	1	P.QQFFPQQP.Q
0598	102 - 110	557.2698	1112.5250	1112.5251	-0.020 0	54	5e-006	1	1	P.QQFFPQQP.Q
0597	103 - 110	493.2389	984.4632	984.4665	-3.30 0	25	0.0085	1	1	Q.QFFPQQP.Q
0598	103 - 110	493.2394	984.4642	984.4665	-2.38 0	22	0.014	1	1	Q.QFFPQQP.Q
0592	111 - 116	324.6718	647.3290	647.3279	1.83 0	15	0.065	1	1	U.P.QLQP.Q
0596	116 - 123	478.7443	955.4740	955.4723	1.82 0	14	0.076	1	1	P.QQFFSQQP.A
0597	116 - 123	478.7444	955.4742	955.4723	2.03 0	28	0.0032	1	1	P.QQFFSQQP.A
0598	116 - 124	514.2623	1026.5100	1026.5094	0.62 0	30	0.0013	1	1	P.QQFFSQQP.A
0598	116 - 124	514.2626	1026.5106	1026.5094	1.20 0	33	0.00082	1	1	P.QQFFSQQP.A
0597	116 - 127	706.3503	1410.6860	1410.6852	0.64 0	21	0.015	1	1	P.QQFFSQQPQQP.Q
0598	116 - 138	940.7863	2819.3371	2819.3295	2.68 0	22	0.009	1	1	P.QQFFSQQPQQPQQPQQPQQP.Q
0591	138 - 146	556.3278	1110.6410	1110.6397	1.22 0	14	0.13	1	1	Q.QQFFLQFFPQQP.Q
0591	139 - 145	428.2692	854.5238	854.5225	1.53 0	24	0.004	1	1	Q.QLQQLQ.L.Q
0597	227 - 234	514.7601	1027.5056	1027.5047	0.95 0	16	0.077	1	1	Q.QQQLQQLQ.L.Q
0594	232 - 242	698.8342	1395.6538	1395.6491	3.40 0	16	0.039	1	1	L.QQQLQQLQQLQ.L.Q
0594	232 - 243	742.3493	1482.6840	1482.6811	1.96 0	17	0.02	1	1	L.QQQLQQLQQLQ.L.Q
0594	233 - 242	634.8032	1267.5918	1267.5905	1.04 0	13	0.055	1	1	Q.QQQLQQLQQLQ.L.Q
0594	244 - 251	460.7264	919.4382	919.4400	-1.86 0	32	0.00069	1	1	S.QQVFFPQQP.Q
0594	244 - 251	460.7265	919.4384	919.4400	-1.64 0	48	1.6e-005	1	1	S.QQVFFPQQP.Q
0591	248 - 254	452.2192	902.4238	902.4246	-0.87 0	22	0.0058	1	1	S.QQVFFPQQP.Y
0593	252 - 259	483.2206	964.4266	964.4280	1.69 0	18	0.018	1	1	P.QQVFFPQQP.Y
0594	252 - 259	483.2208	964.4270	964.4250	2.10 0	24	0.0042	1	1	P.QQVFFPQQP.Y
0595	252 - 259	483.2208	964.4270	964.4250	2.10 0	17	0.021	1	1	P.QQVFFPQQP.Y
0590	252 - 264	762.3586	1522.7046	1522.7052	-0.38 0	14	0.11	1	1	U.P.QQVFFPQQP.Y
0594	252 - 265	805.8761	1609.7376	1609.7373	0.24 0	36	0.00099	1	1	U.P.QQVFFPQQP.Y
0592	252 - 269	688.3322	2061.9748	2061.9756	-0.39 0	46	5.1e-005	1	1	U.P.QQVFFPQQP.Y
0597	260 - 269	558.7882	1115.5618	1115.5611	0.65 0	27	0.002	1	1	U.Q.VFFPQQP.Y
0596	263 - 277	789.8979	1577.7812	1577.7798	0.93 0	28	0.0026	1	1	U.Q.VFFPQQP.Y
0591	265 - 277	677.3416	1352.6686	1352.6684	0.15 0	36	0.00036	1	1	U.S.QLQFFPQQP.Y
0591	266 - 277	633.8250	1265.6384	1265.6364	-0.76 0	80	1.5e-008	1	1	U.S.QLQFFPQQP.Y
0594	268 - 277	513.2538	1024.4930	1024.4938	-0.71 0	54	8e-006	1	1	L.NFFPQQP.Y
0594	269 - 277	456.2332	910.4518	910.4509	1.10 0	42	0.00011	1	1	N.FQVFFPQQP.Q
0592	270 - 277	407.7069	813.3982	813.3981	1.43 0	15	0.094	1	1	P.QQVFFPQQP.Q
0593	270 - 277	407.7071	813.3996	813.3981	1.92 0	39	0.00038	1	1	P.QQVFFPQQP.Q

FIGURA 15B (Continuación)

Consulta	Inicio-Fin	Observada	Mr (esp.)	Mr (calc.)	ppm	MPuntuación	Esperado	Clasifi- cación	U	Péptido
<u>204</u>	270 - 277	407.7072	813.3998	813.3981	2.16 0	26	0.006	1		P.QAQQSVQP.Q
<u>205</u>	270 - 277	407.7072	813.3998	813.3981	2.16 0	37	0.00047	1		P.QAQQSVQP.Q
<u>206</u>	270 - 277	407.7072	813.3998	813.3981	2.16 0	38	0.00038	1		P.QAQQSVQP.Q
<u>17</u>	278 - 282	307.1691	612.3236	612.3231	0.86 0	15	0.11	1		P.QQLPQ.F
<u>141</u>	278 - 283	380.7031	759.3916	759.3915	0.14 0	24	0.0099	1		P.QQLPQ.F.A
<u>143</u>	282 - 287	382.2074	762.4002	762.4024	-2.85 0	37	0.0002	1		P.QFAEIR.N
<u>331</u>	282 - 288	439.2299	876.4452	876.4453	-0.11 0	32	0.00068	1		P.QFAEIR.N.L
<u>601</u>	282 - 289	495.7718	989.5290	989.5294	-0.36 0	37	0.00019	1		P.QFAEIR.N.L.A
<u>602</u>	282 - 289	495.7720	989.5294	989.5294	0.044 0	28	0.0017	1		P.QFAEIR.N.L.A
<u>708</u>	286 - 294	521.3239	1040.6332	1040.6342	-0.92 0	36	0.00024	1		E.IRNALQLTLP.V
<u>319</u>	288 - 295	435.2585	868.5024	868.5018	0.74 0	21	0.0072	1		R.NLALQLTLP.A
<u>320</u>	288 - 295	435.2585	868.5024	868.5018	0.74 0	33	0.00051	1		R.NLALQLTLP.A
<u>41</u>	290 - 295	321.6943	641.3740	641.3748	-1.20 0	25	0.0032	1		L.ALQLTLP.A

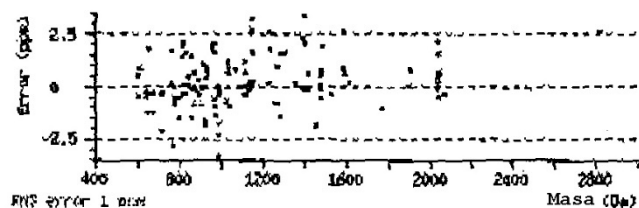


FIGURA 16

```

NVEN      1      MQAKFFTEVILSSVFYFNYP LAE  SIQARLANPKG  53
                                     **
NVEN     54      [REDACTED]  113
                                     *           *           ^ * *
NVEN    114      [REDACTED]  IAYFYGNASLQGANATINIWEPNLKNPNNGDFSLTQ  173
                                     **           *
NVEN    174      IWISAGSGSSLNTIEAGWQVYPGRTGDSQPRFFLYWTADGYTSTGCDLTCPGFVQTNNY  233
                                     ^           *
NVEN    234      YAIGMALQPSVYGGQQYELNESIORDPATGNWWLYLWGTVVGYPASLYNSITNGADIVE  293
                                     ^           ^
NVEN    194      WGGELYDSSGTGGFHTTTQMGSGHFEPTGEGYKASYVRDL  332
                                     **           ^           *           ^           *
NVEN    333      QCVDTYGNVISPTANSFQGIAPAPNCYNYQFOQGSSELYLFYGGPGCQ  380

```

^ Similar; * No similar, diferencias

-enlazador- DUF239 (156-387)

Evidencia de polimorfismos:

21/380 = 5,5% Total

14/380 = 3,7% no similar, diferencias