

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 857 773**

51 Int. Cl.:

C07K 14/005 (2006.01)

C12N 15/10 (2006.01)

C12N 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2012 E 16196258 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **22.11.2023 EP 3147295**

54 Título: **Nuevas proteínas de la cápside de AAV para la transferencia de ácidos nucleicos**

30 Prioridad:

24.08.2011 US 201161526688 P

10.10.2011 US 201161545488 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente modificada:
04.06.2024

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (100.0%)
Office of the General Counsel, Building 170, Third
Floor, Main Quad, P.O. Box 20386
Stanford, CA 94305-2038, US**

72 Inventor/es:

**LISOWSKI, LESZEK y
KAY, MARK A.**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 857 773 T5

DESCRIPCIÓN

Nuevas proteínas de la cápside de AAV para la transferencia de ácidos nucleicos

Introducción

El contenido descrito en la presente memoria se refiere a la selección *in vitro* e *en vivo* de secuencias de una biblioteca de secuencias que codifican proteínas de la cápside viral de virus adeno-asociados (AAV) recombinantes y a métodos para generar las bibliotecas. El contenido también se refiere a secuencias de nucleótidos aisladas de las bibliotecas y a las proteínas de la cápside de AAV codificadas por estas secuencias, y a su utilidad como proteínas de la cápside en vectores de AAV recombinantes para diversas aplicaciones de transferencia de ácidos nucleicos. El contenido se refiere a plásmidos y virus que comprenden las secuencias identificadas, que proporcionan preferiblemente una alta eficiencia de transducción y un bajo nivel de neutralización por parte del sistema inmune humano.

Antecedentes

En los últimos años se han desarrollado y ensayado en ensayos clínicos múltiples vectores de transferencia de genes recombinantes basados en diferentes tipos de virus. Los vectores de transferencia de genes basados en virus adeno-asociados (AAV), es decir, los vectores de AAV se han convertido en vectores favorecidos debido a características tales como la capacidad para transducir diferentes tipos de células en división y no en división de diferentes tejidos y la capacidad para establecer una expresión transgénica estable a largo plazo. Si bien los vectores basados en otros virus, tales como los adenovirus y retrovirus, pueden poseer ciertas características deseables, el uso de otros vectores se ha asociado con toxicidad o algunas enfermedades humanas. Estos efectos secundarios no se han detectado con vectores de transferencia génica basados en AAV (Manno *et al.*, *Nature Medicine*, 12(3):342 (2006)). Además, se ha desarrollado la tecnología para producir y purificar los vectores de AAV sin un esfuerzo excesivo.

Se han identificado, clonado, secuenciado y convertido en vectores al menos once serotipos de AAV, y se han aislado al menos 100 nuevas variantes de AAV de no primates, primates y seres humanos. Sin embargo, la mayoría de los datos preclínicos hasta la fecha que implican vectores de AAV se han generado con vectores basados en el serotipo AAV-2 humano, considerado el prototipo de AAV.

Los vectores de AAV-2 usados actualmente presentan varias desventajas. Por ejemplo, varios tipos de células y tejidos clínicamente relevantes no se transducen eficazmente con estos vectores. Además, un gran porcentaje de la población humana es inmune al AAV-2 debido a una exposición previa al virus AAV-2 de tipo salvaje. Se ha estimado que hasta el 96 % de los seres humanos son seropositivos para AAV-2, y hasta el 67 % de los individuos seropositivos portan anticuerpos anti-AAV-2 neutralizantes que podrían eliminar o reducir en gran medida la transducción por los vectores de AAV-2. Además, se ha informado que AAV-2 causa una respuesta inmune mediada por células en pacientes cuando se administra por vía sistémica (Manno *et al.*, *Nature Medicine*, 12(3):342 (2006)).

Se han propuesto métodos para superar las limitaciones de los vectores de AAV-2. Por ejemplo, se ha propuesto mutagenizar aleatoriamente la secuencia de nucleótidos que codifica la cápside de AAV-2 mediante PCR propensa a errores como un método para generar mutantes de AAV-2 que puedan escapar de los anticuerpos neutralizantes que afectan al AAV-2 de tipo salvaje. Sin embargo, se espera que sea difícil generar variantes de AAV-2 significativamente mejoradas con mutaciones puntuales aleatorias únicas, ya que los serotipos de origen natural tienen, como máximo, solo aproximadamente un 85 % de homología en la secuencia de nucleótidos de la cápside.

También se han desarrollado métodos para usar una mezcla de construcciones de serotipos de AAV para vectores de AAV. Los vectores quiméricos resultantes poseen proteínas de la cápside de diferentes serotipos e, idealmente, tienen propiedades de los diferentes serotipos usados. Sin embargo, la relación de las diferentes proteínas de la cápside es diferente de un vector a otro y no puede controlarse o reproducirse de manera consistente (debido a la ausencia de moldes genéticos), lo cual es inaceptable para uso clínico y no es satisfactorio para uso experimental.

Un tercer enfoque para modificar la cápside de AAV-2 son las bibliotecas de inserción de péptidos, en las que se incorporan oligonucleótidos aleatorios que codifican hasta 7 aminoácidos en una localización definida dentro de la cápside de AAV-2. La presentación de estos péptidos en la superficie de la cápside de AAV-2 se puede aprovechar para volver a dirigir las partículas a células o tejidos que de otro modo serían refractarios a la infección con el virus AAV-2 de tipo salvaje. Sin embargo, debido a que el conocimiento de la estructura de la cápside atómica es un requisito previo para este tipo de modificación de AAV, este método generalmente se restringe al serotipo 2 de AAV. Además, las bibliotecas de inserción de péptidos normalmente no pueden abordar los problemas de inmunogenicidad de las partículas de AAV o la eficiencia de la transducción.

Por tanto, sigue existiendo la necesidad de nuevos vectores de AAV y un método para generar nuevos vectores de AAV. En particular, existe la necesidad de vectores basados en AAV que se puedan usar eficazmente con una variedad de tipos de células y tejidos, y que no reaccionen con una inmunidad humana anti-AAV preexistente que podría neutralizar o inactivar los vectores. También se necesitan vectores que transduzcan diferentes tipos de células *in vivo* e *in vitro* y que ofrezcan una biodistribución más restringida o una biodistribución más promiscua, dependiendo del uso pretendido. En particular, sigue existiendo la necesidad de vectores capaces de transducir una variedad de tipos de células, tales como células madre hematopoyéticas o células madre embrionarias, además de tener propiedades deseables.

Un vector de AAV recombinante conocido como "AAV-DJ" se ha informado y descrito en la Solicitud de Patente de EE. UU. con número de serie 12/538.791, publicada como US 20100047174. EP2298926 describe secuencias de cápsides de virus adeno-asociados, tales como AAV3-3, y vectores y células huésped que contienen estas secuencias. US7749492 también describe vectores de virus adeno-asociados con proteínas de la cápside modificadas y materiales y métodos para su preparación y uso.

Los ejemplos anteriores de la técnica relacionada y las limitaciones relacionadas con la misma pretenden ser ilustrativos y no exclusivos. Otras limitaciones de la técnica relacionada resultarán evidentes para los expertos en la técnica tras la lectura de la memoria descriptiva y el estudio de los dibujos.

Breve resumen

Los siguientes aspectos y realizaciones de los mismos, descritos e ilustrados a continuación, pretenden ser ejemplares e ilustrativos, no limitativos en su alcance.

En un aspecto, se proporcionan proteínas de la cápside recombinantes y métodos para generar proteínas de la cápside recombinantes. Las proteínas de la cápside incluyen regiones o dominios que se derivan de diferentes serotipos de AAV. Los serotipos de AAV pueden ser humanos o no humanos. También se proporcionan AAV recombinantes que comprenden las proteínas de la cápside y los plásmidos que codifican las proteínas de la cápside.

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de la cápside, en donde la secuencia de nucleótidos comprende la SEQ ID NO: 4. Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona una secuencia de proteína de la cápside definida por una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 99 % a la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 31, secuencia que, como parte de una partícula de AAV que codifica eGFP bajo el control de un promotor hEF1, confiere a la partícula de AAV una capacidad para transducir células Huh7.5 al menos 10 veces mejor que una partícula de AAV correspondiente que comprende la cápside AAV-DJ descrita en US2010/0047174.

La proteína de la cápside puede comprender una primera secuencia de aminoácidos similar o idéntica a una secuencia de aminoácidos contigua de un primer serotipo de AAV, y una segunda secuencia de aminoácidos similar o idéntica a una secuencia de aminoácidos contigua de al menos un segundo serotipo de AAV.

La proteína de la cápside puede comprender adicionalmente una secuencia de residuos de aminoácidos similar o idéntica a una secuencia de aminoácidos contigua de un tercer serotipo de AAV.

En un aspecto, se proporcionan la proteína de la cápside recombinante y métodos para generar proteínas de la cápside recombinante. Las proteínas de la cápside incluyen regiones o dominios que se derivan de diferentes serotipos de AAV. Los serotipos de AAV pueden ser humanos o no humanos. También se proporcionan AAV recombinantes que comprenden las proteínas de la cápside y plásmidos que codifican las proteínas de la cápside.

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona una secuencia nucleotídica que codifica una proteína de la cápside, en donde la secuencia nucleotídica comprende SEQ ID NO:4.

Como se divulga en el presente documento, pero no conforme a la invención, está una secuencia de proteína de la cápside definida mediante una secuencia de aminoácidos al menos 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 31, secuencia que, como parte de una partícula de AAV que codifica eGFP bajo el control de un promotor hEF1, dota a la partícula de AAV de una capacidad de transducir células Huh7.5 al menos 10 veces mejor que una partícula de AAV correspondiente que comprende la AAV-DJ de la cápside divulgada en el documento US2010/0047174.

En la presente memoria se describe una proteína de la cápside codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo de secuencias que consiste en las SEQ ID NO: 1-28, o una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con las mismas.

En una realización, la proteína de la cápside comprende una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos identificada por la SEQ ID NO: 4.

En algunas realizaciones se contempla una partícula viral que comprende una secuencia de proteína de la cápside como se ha descrito anteriormente. En la presente memoria se describe un género de partículas virales que comprenden las proteínas de la cápside codificadas por las secuencias de nucleótidos identificadas por las SEQ ID NO: 1-28 del listado de secuencias, o una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con dichas secuencias.

También se describe un plásmido que comprende la secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo de secuencias que consiste en las SEQ ID NO: 1-28, o una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con las mismas.

También se describe un vector de AAV recombinante (AAVr), que comprende una proteína de la cápside que tiene una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo de secuencias que consiste en las SEQ ID NO: 1-28, o una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con las mismas.

Se describe un método para expresar un gen de interés en un mamífero. La presente descripción también proporciona un método de transferencia de un ácido nucleico de interés a un mamífero, que comprende introducir un vector de AAV recombinante en un mamífero, codificando el vector de AAV recombinante un gen de interés que está encapsidado en una proteína de la cápside codificada por una secuencia de nucleótidos. seleccionada del grupo de

5

secuencias que consiste en las SEQ ID NO: 1-28, o una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con las mismas.

Según un aspecto adicional, se proporciona una composición para su uso en la transferencia de un gen de interés a un mamífero, que comprende un vector de AAV recombinante que codifica el gen de interés que está encapsidado en una proteína de la cápside codificada por la secuencia de nucleótidos descrita en la presente memoria.

10

Según un aspecto adicional, se proporciona una composición para su uso en la transferencia de un gen de interés a un mamífero, que comprende un vector de AAV recombinante que codifica el gen de interés que está encapsidado en una proteína de la cápside que comprende la secuencia de aminoácidos descrita en la presente memoria.

Se describe un método para generar una biblioteca de plásmidos de AAV recombinantes, comprendiendo el método: aislar secuencias de nucleótidos de la cápside de AAV de dos o más serotipos de AAV; digerir las secuencias de nucleótidos de la cápside de AAV en fragmentos; reensamblar los fragmentos usando PCR para formar productos de PCR; y clonar los productos de PCR reensamblados en plásmidos para generar una biblioteca de plásmidos de AAV recombinantes.

15

La presente descripción también proporciona un método para generar una biblioteca de plásmidos de AAV recombinantes, que comprende (a) aislar secuencias de nucleótidos de la cápside de AAV de dos o más serotipos de AAV; (b) digerir las secuencias de nucleótidos de la cápside de AAV en fragmentos; (c) reensamblar los fragmentos usando PCR para formar productos de PCR; y (d) clonar los productos de PCR reensamblados en un genoma viral de tipo salvaje para generar una biblioteca de vectores de AAV recombinantes (AAVr).

20

El método puede comprender transfectar células con los plásmidos para producir una biblioteca viral, preferiblemente una biblioteca viral de AAV. El método puede comprender además (e) infectar células *in vitro* con los AAVr; (f) subcultivar los AAVr seleccionados en las células *in vitro* en presencia de una condición astringente e identificar una cápside de AAVr que sobrevive a dicho subcultivo; y, opcionalmente, (g) repetir (b) a (f) una o más veces. El método puede comprender además (h) infectar un mamífero de laboratorio *in vivo* con los AAVr seleccionados; (i) subcultivar los AAVr seleccionados en un mamífero de laboratorio *in vivo* capaz de infectar y propagarse en dicho mamífero de laboratorio e identificar una cápside de AAVr que sobreviva a dicho subcultivo; y, opcionalmente, (j) repetir (h) e (i) una o más veces.

25

30

El adenovirus tiene un amplio rango de huéspedes, es decir, puede infectar muchas líneas celulares o células primarias humanas y de otros mamíferos, incluyendo células tanto replicativas como no replicativas. Algunas líneas celulares linfoides pueden ser más resistentes a la infección por adenovirus y, por lo tanto, pueden necesitar grandes cantidades de virus para lograr niveles de infección suficientes. Los tipos de células que pueden usarse en los métodos descritos en la presente memoria incluyen, pero no están limitadas a, células CHO, monocitos, células dendríticas (DC), DC mieloides de sangre humana recién aisladas, DC plasmocitoides y DC derivadas de monocitos, células de Langerhans y DC dérmicas, células DND-41 de leucemia de células T humanas, células cancerosas deficientes en p53, células tumorales que retienen p53 de tipo salvaje, células tumorales con estado de p53 desconocido, células epiteliales basales alveolares humanas adenocarcinómicas, también conocidas como "células A549", células KB humanas, células de riñón bovino de Madin Darby (MDBK), fibroblastos embrionarios de ratón (células MEF), células endoteliales de la arteria pulmonar humana (hPAEC), células NIH-3T3, células Huh-7.5, células Hep G2, células HEp-2, células HeLa, células Dempsey, células 293 de riñón embrionario humano (también conocidas como "HEK 293" o "células 293"), células de riñón de mono rhesus fetal (FRhK-4), células H4TG de hepatoma de rata, células epiteliales de hepatoma de pollo LMH, hepatocitos humanos primarios y queratinocitos humanos primarios. En algunos aspectos, el AAVr se usa para infectar células 293. En algunos aspectos, el AAVr se usa para infectar células hPAEC. En algunos aspectos, el AAVr se usa para infectar células Huh-7.5. En algunas realizaciones se usa un adenovirus auxiliar.

35

40

45

Los ratones FRG humanizados se pueden transfectar con una biblioteca seleccionada de AAV *in vitro*. Alternativamente, los ratones FRG no humanizados se pueden transfectar una biblioteca seleccionada de AAV *in vitro*.

El método puede incluir adicionalmente, después de la transfección, el subcultivo de la biblioteca viral en un tipo celular seleccionado en presencia de una condición astringente, y la selección de las cápsides de AAV que sobrevivan al subcultivo. El subcultivo puede ser para varios o múltiples subcultivos, por ejemplo, entre 2-5 o 2-10 subcultivos.

50

El método puede incluir adicionalmente, después de transfectar un modelo animal, el subcultivo de la biblioteca de AAV a través de modelos animales adicionales, para la selección posterior de aislados de AAV particulares.

Una condición astringente puede comprender la presencia de inmunoglobulina humana.

55

Se describe una biblioteca preparada según los métodos descritos anteriormente. La biblioteca puede estar compuesta por plásmidos de genes de la cápside de longitud completa mezclados y puede estar compuesta por partículas virales obtenidas transfectando toda o una parte de la biblioteca de plásmidos en una célula seleccionada, opcionalmente en

combinación con un plásmido auxiliar adenoviral. Las nuevas proteínas de la cápside de AAV seleccionadas descritas en la presente memoria son útiles para aplicaciones *ex vivo* o *in vivo* de transferencia de genes, terapia génica y edición del genoma, por ejemplo.

También se describe una biblioteca preparada según estos métodos.

- 5 Además de los aspectos y realizaciones ejemplares descritos anteriormente, otros aspectos y realizaciones resultarán evidentes por referencia a los dibujos y mediante el estudio de las siguientes descripciones.

Breve descripción de las figuras

La Fig. 1 es un esquema que muestra un proceso para generar una biblioteca de AAV recombinante;

- 10 La Fig. 2 es un diagrama de flujo que resume un método para generar una biblioteca de cápsides de AAV usando la selección de la biblioteca combinada de AAV.

La Fig. 3 muestra las rondas 1 y 2 de la selección de la biblioteca combinada de AAV *in vitro*;

La Fig. 4 muestra las rondas 2 y 3 de la selección de la biblioteca combinada de AAV *in vitro*;

La Fig. 5 muestra las rondas 3 y 4 de la selección de la biblioteca combinada de AAV *in vitro*;

La Fig. 6 compara la proporción de clones en la biblioteca con la proporción en cada ronda de selección *in vitro*;

- 15 La Fig. 7 compara porciones de varios serotipos de AAV y una proteína de la cápside de AAV recombinante en la biblioteca (AAV-PAEC);

Fig. 8: compara las sustituciones de aminoácidos en dos AAVr;

Fig. 9: muestra varias vistas de una estructura 3-D predicha de AAV-PAEC;

Fig. 10: ilustra un diseño experimental de un proceso usado para cribar una biblioteca combinada de AAV *in vivo*;

- 20 Fig. 11: ilustra un experimento real usado para cribar una biblioteca combinada de AAV *in vivo*;

Fig. 12: muestra aislados amplificados por PCR del cribado de la biblioteca combinada de AAV *in vivo*;

Fig. 13: compara las proporciones de clones individuales en la biblioteca con la proporción de clones individuales en la selección de las rondas 1 y 4 de *in vivo*;

Fig. 14: muestra sustituciones de aminoácidos en un AAVr seleccionado (AAV-LK01);

- 25 Fig. 15: muestra varias vistas de una estructura predicha de AAV-LK01;

Fig. 16: compara residuos implicados en la unión de heparina en AAV-2 con residuos en nuevos AAVr;

Fig. 17: compara varios serotipos de AAV con varias proteínas de la cápside de AAVr aisladas usando selección *in vivo*;

Fig. 18: muestra sustituciones de aminoácidos en un AAVr seleccionado (AAV-LK02);

Fig. 19: muestra varias vistas de una estructura predicha de AAV-LK02;

- 30 Fig. 20: muestra sustituciones de aminoácidos en un AAVr seleccionado (AAV-LK03);

Fig. 21 y 22: comparan la relación de los AAVr seleccionados con los AAV de tipo salvaje en el nivel de ADN y el nivel de aminoácidos, respectivamente;

Fig. 23A y 23B: muestran las titulaciones en hibridación sobre mancha de los AAVr en comparación con los AAV de tipo salvaje;

- 35 Fig. 24A y 24B: comparan las titulaciones de transducción de los AAVr con los AAV de tipo salvaje en células Huh7.5;

Fig. 25A, 25B y 25C: comparan la eficiencia de la transducción por genoma de vector de AAV (vg) de los AAVr con los AAV de tipo salvaje en células Huh7.5;

Fig. 26: compara la eficiencia de la transducción de los AAVr con los AAV de tipo salvaje en células 293;

Fig. 27: compara la eficiencia de la transducción de los AAVr con los AAV de tipo salvaje en células NIH3T3;

- 40 Fig. 28: compara la eficiencia de la transducción de aislados de AAVr seleccionados con los AAV de tipo salvaje en células MEF;

Fig. 29: muestra las titulaciones en hibridación sobre mancha de ciertos aislados de AAVr en comparación con los AAV de tipo salvaje;

Fig. 30: ilustra los efectos neutralizantes del factor de crecimiento de hepatocitos en algunos aislados de AAV y AAVr.

5 Fig. 31: muestra la eficiencia de la transducción de hepatocitos humanos primarios por aislados de AAV de tipo salvaje y AAVr seleccionados;

Fig. 32: compara los niveles de expresión del factor IX humano recombinante (FIX) en ratones C57/BL6 inmunocompetentes a los que se inyectan varios AAV que expresan FIX;

Fig. 33: compara la capacidad de aislados de AAVr seleccionados y de AAV de tipo salvaje para evitar la neutralización por inmunoglobulina humana (IVIG);

10 Fig. 34: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células 293;

Fig. 35: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células Huh 7.5;

Fig. 36: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células PAEC;

Fig. 37: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en queratinocitos humanos primarios;

15 Fig. 38: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células DND-41;

Fig. 39: compara la eficiencia de la transducción de aislados de AAVr particulares con los AAV de tipo salvaje en células DND-41;

Fig. 40: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células 3T3;

Fig. 41: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células HeLa;

20 Fig. 42: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células MEF;

Fig. 43: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células H4TG;

Fig. 44: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células LMH;

Fig. 45: compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células FRhK-4;

Fig. 46: compara la transducción de varias líneas celulares por varios serotipos de AAV de tipo salvaje y recombinante;

25 Fig. 47: muestra la relación de los AAV de tipo salvaje con los aislados de AAVr obtenidos por selección en células PAEC humanas a nivel de ADN y nivel de aminoácidos; y

Fig. 48: muestra la titulación y la eficiencia de la transducción de los aislados de AAVr obtenidos por selección en células PAEC humanas en comparación con los AAV de tipo salvaje.

Breve descripción de las secuencias

30 La SEQ ID NO: 1 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC.

La SEQ ID NO: 2 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK01.

35 La SEQ ID NO: 3 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK02.

La SEQ ID NO: 4 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK03.

La SEQ ID NO: 5 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK04.

40 La SEQ ID NO: 6 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK05.

La SEQ ID NO: 7 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK06.

La SEQ ID NO: 8 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK07.

La SEQ ID NO: 9 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK08.

5 La SEQ ID NO: 10 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK09.

La SEQ ID NO: 11 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK10.

10 La SEQ ID NO: 12 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK11.

La SEQ ID NO: 13 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK12.

La SEQ ID NO: 14 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK13.

15 La SEQ ID NO: 15 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK14.

La SEQ ID NO: 16 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK15.

20 La SEQ ID NO: 17 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK16.

La SEQ ID NO: 18 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK17.

La SEQ ID NO: 19 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK18.

25 La SEQ ID NO: 20 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -LK19.

La SEQ ID NO: 21 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC2.

30 La SEQ ID NO: 22 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC4.

La SEQ ID NO: 23 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC6.

La SEQ ID NO: 24 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC7.

35 La SEQ ID NO: 25 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC8.

La SEQ ID NO: 26 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC11.

40 La SEQ ID NO: 27 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC12.

La SEQ ID NO: 28 es una secuencia de nucleótidos que codifica una nueva proteína de la cápside de AAV recombinante, denominada en la presente memoria AAV -PAEC13.

La SEQ ID NO: 29 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 2 (AAV-LK01).

La SEQ ID NO: 30 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 3 (AAV-LK02).

45 La SEQ ID NO: 31 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 4 (AAV-LK03).

La SEQ ID NO: 32 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 5 (AAV-LK04).

- La SEQ ID NO: 33 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 6 (AAV-LK05).
- La SEQ ID NO: 34 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 7 (AAV-LK06).
- La SEQ ID NO: 35 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 8 (AAV-LK07).
- La SEQ ID NO: 36 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 9 (AAV-LK08).
- 5 La SEQ ID NO: 37 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 10 (AAV-LK09).
- La SEQ ID NO: 38 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 11 (AAV-LK10).
- La SEQ ID NO: 39 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 12 (AAV-LK11).
- La SEQ ID NO: 40 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 13 (AAV-LK12).
- La SEQ ID NO: 41 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 14 (AAV-LK13).
- 10 La SEQ ID NO: 42 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 15 (AAV-LK14).
- La SEQ ID NO: 43 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 16 (AAV-LK15).
- La SEQ ID NO: 44 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 17 (AAV-LK16).
- La SEQ ID NO: 45 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 18 (AAV-LK17).
- La SEQ ID NO: 46 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 19 (AAV-LK18).
- 15 La SEQ ID NO: 47 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 20 (AAV-LK19).
- La SEQ ID NO: 48 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 1 (PAEC).
- La SEQ ID NO: 49 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 28 (PAEC-13).
- La SEQ ID NO: 50 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 25 (PAEC-8).
- La SEQ ID NO: 51 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 27 (PAEC-12).
- 20 La SEQ ID NO: 52 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 23 (PAEC-6).
- La SEQ ID NO: 53 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 24 (PAEC-7).
- La SEQ ID NO: 54 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 26 (PAEC-11).
- La SEQ ID NO: 55 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 22 (PAEC-4).
- La SEQ ID NO: 56 es una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 21 (PAEC-2).
- 25 Debe entenderse que cada una de las secuencias de nucleótidos descritas en la presente memoria puede traducirse para predecir una secuencia de aminoácidos que representa una proteína de la cápside de AAVr.

Descripción detallada

- Varios aspectos de la presente descripción se describen con detalle a continuación en la presente memoria. Estos aspectos pueden tomar muchas formas diferentes y no deben interpretarse como limitados a los aspectos expuestos explícitamente en la presente memoria. Más bien, estos aspectos se proporcionan para que esta descripción sea minuciosa y completa, y transmita completamente el alcance de la presente descripción a los expertos en la técnica.
- 30

I. Definiciones

- Quando se proporciona un rango de valores, se entiende que también se describe específicamente cada valor interviniente, hasta el décimo de la unidad del límite inferior, a no ser que el contexto indique claramente otra cosa, entre los límites superior e inferior de ese rango. Cada rango más pequeño entre cualquier valor establecido o valor interviniente en un rango establecido y cualquier otro valor establecido o interviniente en ese rango establecido está englobado dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos rangos más pequeños pueden incluirse o excluirse independientemente en el rango, y cada rango en el que ninguno o ambos límites están incluidos en los rangos más pequeños también está englobado dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el rango indicado. Cuando el rango indicado incluye uno o ambos límites, también se incluyen en la invención los rangos que excluyen uno o ambos de los límites incluidos.
- 35
- 40

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el

mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria puede usarse en la práctica o ensayo de la presente invención, ahora se describen algunos métodos y materiales potenciales y preferidos.

Debe observarse que, tal y como se usa en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referentes en plural a no ser que el contexto indique claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a "una proteína" incluye más de una proteína y la referencia a "un compuesto" incluye más de un compuesto. Al describir y reivindicar la presente invención, se usará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones expuestas a continuación.

Un polinucleótido se compone típicamente de una secuencia específica de cuatro bases de nucleótidos: adenina (A); citosina (C); guanina (G); y timina (T) (uracilo (U) por timina (T) cuando el polinucleótido es ARN). A menos que se defina específicamente, los nucleótidos abreviados pueden ser ribonucleósidos o 2'-desoxirribonucleósidos. Los nucleósidos pueden especificarse como ribonucleósidos o 2'-desoxirribonucleósidos de forma individual o agregada. Cuando se especifica sobre una base individual, la abreviatura de una letra está precedida por una "d" o una "r", donde "d" indica que el nucleósido es un 2'-desoxirribonucleósido y "r" indica que el nucleósido es un ribonucleósido. Por ejemplo, "dA" designa 2'-desoxirriboadenosina y "rA" designa riboadenosina. Cuando se especifica sobre una base agregada, el ácido nucleico o polinucleótido particular se identifica como una molécula de ARN o una molécula de ADN. Los nucleótidos se abrevian añadiendo una "p" para representar cada fosfato, así como si los fosfatos están unidos a la posición 3' o a la posición 5' del azúcar. Por lo tanto, los nucleótidos 5' se abrevian como "pN" y los nucleótidos 3' se abrevian como "Np", donde "N" representa A, G, C, T o U. Cuando las secuencias de ácido nucleico se presentan como una cadena de abreviaturas de una letra, las secuencias se presentan en la dirección 5'→ 3' de acuerdo con la convención común, y los fosfatos no están indicados. Por tanto, el término secuencia de polinucleótidos es la representación alfabética de una molécula de polinucleótido. Esta representación alfabética puede introducirse en bases de datos en un ordenador que tenga una unidad central de procesamiento y usarse para aplicaciones bioinformáticas tales como genómica funcional y búsqueda de homología.

Una molécula de "polinucleótido aislado" es una molécula de ácido nucleico separada y discreta del organismo completo con el que se encuentra la molécula en la naturaleza; o una molécula de ácido nucleico desprovista, total o parcialmente, de secuencias normalmente asociadas con ella en la naturaleza; o una secuencia, tal como existe en la naturaleza, pero que tiene secuencias heterólogas asociadas con ella.

También se conocen en la técnica técnicas para determinar la "identidad de secuencia" de ácidos nucleicos y aminoácidos. Típicamente, dichas técnicas incluyen determinar la secuencia de nucleótidos del ARNm para un gen y/o determinar la secuencia de aminoácidos codificada por el mismo, y comparar estas secuencias con una segunda secuencia de nucleótidos o aminoácidos. En general, "identidad" se refiere a una correspondencia exacta de nucleótido a nucleótido o aminoácido a aminoácido de dos polinucleótidos o secuencias de polipéptidos, respectivamente. Se pueden comparar dos o más secuencias (polinucleótidos o aminoácidos) determinando su "porcentaje de identidad". El porcentaje de identidad de dos secuencias, ya sean secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos, es el número de coincidencias exactas entre dos secuencias alineadas dividido por la longitud de las secuencias más cortas y multiplicado por 100. El porcentaje de identidad también puede determinarse, por ejemplo, comparando la información de secuencias usando el programa informático avanzado BLAST, incluyendo la versión 2.2.9, disponible en los Institutos Nacionales de Salud. El programa BLAST se basa en el método de alineamiento de Karlin y Altschul. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 2264-2268 (1990) y como se discute en Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990); Karlin y Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5873-5877 (1993); y Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402 (1997). Brevemente, el programa BLAST define la identidad como el número de símbolos alineados idénticos (es decir, nucleótidos o aminoácidos), dividido por el número total de símbolos en la secuencia más corta de las dos. El programa se puede usar para determinar el porcentaje de identidad sobre la longitud completa de las proteínas que se comparan. Se proporcionan parámetros por defecto para optimizar las búsquedas con secuencias de búsqueda cortas, por ejemplo, en blastp con el programa. El programa también permite el uso de un filtro SEG para enmascarar los segmentos de las secuencias de búsqueda según lo determinado por el programa SEG de Wootton y Federhen, *Computers and Chemistry* 17: 149-163 (1993). Los rangos de grados deseados de identidad de secuencia son aproximadamente del 80 % al 100 % y valores enteros entre ellos. Típicamente, las identidades porcentuales entre una secuencia descrita y una secuencia reivindicada son al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o al menos el 98 %.

Alternativamente, el grado de similitud de secuencia entre polinucleótidos puede determinarse mediante hibridación de polinucleótidos en condiciones que formen dúplex estables entre regiones homólogas, seguido de digestión con nucleasa(s) específica(s) de cadena única y la determinación del tamaño de los fragmentos digeridos. Dos secuencias de ADN o de polipéptidos son "sustancialmente homólogas" entre sí cuando las secuencias exhiben al menos aproximadamente un 80-85 %, preferiblemente un 85-90 %, más preferiblemente un 90-95 % y lo más preferiblemente un 98-100 % de identidad de secuencia con la secuencia de referencia sobre una longitud definida de las moléculas, como se determina usando los métodos anteriores. Tal y como se usa en la presente memoria, sustancialmente homólogo también se refiere a secuencias que muestran una identidad completa con la secuencia de ADN o polipéptido especificada. Las secuencias de ADN que son sustancialmente homólogas pueden identificarse en un experimento de hibridación Southern bajo, por ejemplo, condiciones estrictas, como se define para ese sistema particular. La definición de las condiciones de hibridación apropiadas está dentro del conocimiento de la técnica.

En células huésped de mamíferos, se pueden utilizar varios sistemas de expresión basados en virus. En los casos en los que se usa un adenovirus como vector de expresión, una secuencia codificante puede ligarse a un complejo de control de la transcripción/traducción de adenovirus, p. ej., el promotor tardío y la secuencia líder tripartita. Este gen quimérico puede insertarse luego en el genoma del adenovirus mediante recombinación *in vitro* o *in vivo*. La inserción en una región no esencial del genoma viral (p. ej., la región E1 o E3) dará como resultado un virus recombinante que es viable y capaz de expresar péptidos en huéspedes infectados. (p. ej., véase Logan y Shenk, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 3655-3659). Alternativamente, se puede usar el promotor de vaccinia 7.5 K, (véase, p. ej., Mackett *et al.*, 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 7415-7419; Mackett *et al.*, 1984, *J. Virol.* 49: 857-864; Panicali *et al.*, 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 4927-4931).

En la presente descripción, se proporciona una biblioteca de vectores de AAV recombinantes. Mientras que los AAV de tipo salvaje (en los que se basa la biblioteca) pueden replicarse en las células, los aislados seleccionados *in vitro* e *in vivo* de la presente descripción son no replicables y no infecciosos. En otras palabras, los virus en la biblioteca contienen solo los genes Rep y Cap de los virus de tipo salvaje y no contienen ninguna otra secuencia informadora tal como GFP. Después de la selección del virus de interés según los métodos establecidos en la presente memoria, los genes Cap recombinantes de los nuevos aislados se clonan en plásmidos para expresar las proteínas Cap recombinantes y empaquetar y producir vectores no replicantes y no infecciosos (un proceso también conocido como "vectorización").

II. Cápside quimérica de AAV

En la presente memoria se describen proteínas de la cápside con regiones o dominios o aminoácidos individuales que se derivan de dos o más serotipos diferentes de AAV. Una proteína de la cápside puede tener una primera región que se deriva de o que tiene altos niveles de similitud o identidad de secuencia con un primer serotipo de AAV o proteína de la cápside de AAV recombinante conocida (p. ej., AAV-DJ), una segunda región derivada de manera similar o que tiene niveles altos de similitud o identidad de secuencia con un segundo serotipo de AAV o proteína de la cápside de AAV recombinante conocida, así como regiones tercera, cuarta, quinta, sexta, séptima y octava, etc. derivadas de o que tienen altos niveles de similitud o identidad de secuencia con otro serotipo de AAV o proteína de la cápside de AAV recombinante conocida. Los serotipos de AAV pueden ser serotipos de AAV humanos o serotipos de AAV no humanos, tales como serotipos de AAV bovinos, aviares y caprinos. En particular, pueden usarse los serotipos de AAV de mamíferos no primates, tales como las secuencias de AAV de roedores (p. ej., de ratones, ratas, conejos y hámsteres) y carnívoros (p. ej., de perros, gatos y mapaches). Mediante la inclusión de aminoácidos individuales o regiones de múltiples serotipos de AAV en una proteína de la cápside, se pueden obtener proteínas de la cápside que tienen múltiples propiedades deseadas que se derivan por separado de los múltiples serotipos de AAV.

Se describe una proteína de la cápside, denominada en la presente memoria "AAV-DJ", que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende una primera región que se deriva de un primer serotipo de AAV (AAV-2), una segunda región que se deriva de un segundo serotipo de AAV (AAV-8) y una tercera región que se deriva de un tercer serotipo de AAV (AAV-9). La proteína de la cápside AAV-DJ se identificó a partir de una biblioteca de proteínas de la cápside, usando un método que se describe a continuación, así como en la Solicitud de Patente de EE. UU. con número de serie 12/538.791, publicada como Solicitud de Patente de EE. UU. No. 20100047174. Se apreciará que la proteína AAV-DJ es simplemente un ejemplo de las proteínas de la cápside beneficiosas que se pueden obtener a partir de una biblioteca generada según las enseñanzas de la presente memoria, donde las proteínas de la cápside beneficiosas tienen preferiblemente múltiples propiedades deseadas que se derivan de múltiples serotipos de AAV.

AAV-DJ tiene cuatro faltas de concordancia con los dos epítomos de células T en AAV-2 que se han identificado recientemente como implicados en una respuesta de linfocitos T citotóxicos (CTL) anti-AAV en seres humanos. Por tanto, los vectores de AAV recombinantes que incluyen la proteína de la cápside AAV-DJ o un derivado de la misma son probablemente menos inmunogénicos en los seres humanos que los vectores de AAV-2 que incluyen la cápside de AAV-2.

Se realizaron estudios para confirmar que se pueden formar partículas virales infecciosas con AAV-DJ como cápside. En un primer estudio, la secuencia de nucleótidos de AAV-DJ se insertó en un plásmido auxiliar de AAV que también expresa el gen rep de AAV-2. Después, se cotransfectaron células de riñón 293 con el plásmido auxiliar de AAV y un plásmido auxiliar adenoviral, así como un plásmido de vector que expresa *gfp*. A modo de comparación, se usaron dos versiones diferentes de un auxiliar de AAV-2 (denominado AAV-2 "antiguo" y AAV-2 "nuevo") que difieren en los niveles de expresión de proteínas virales. Tres días después de la cotransfección, la transferencia Western (con 303.9 (Rep) y B1 (proteína de la cápside)) de los extractos de células 293 reveló la presencia de proteínas Rep y de la cápside a niveles comparables a los encontrados en las células cotransfectadas con plásmidos que expresan las proteínas de la cápside de AAV-2, AAV-8 o AAV-9.

En otro estudio, se comparó la infectividad de las partículas y la capacidad de evitar la neutralización por la inmunoglobulina humana (IVIG) del clon AAV-DJ con los tipos salvajes AAV-2, AAV-8 y AAV-9. Se usaron dos versiones diferentes de un auxiliar de AAV-2 (denominado AAV-2 antiguo y AAV-2 nuevo) que difieren en los niveles de expresión de proteínas virales. Los AAV recombinantes con las cápsides AAV-DJ, AAV-2, AAV-8 o AAV-9 se produjeron mediante la triple transfección de células con un plásmido que codifica *gfp* flanqueado por repeticiones terminales invertidas (ITR) de AAV, un plásmido que codifica genes auxiliares adenovirales y un plásmido que codifica el gen Rep de AAV-2 y la proteína de la cápside AAV-DJ, AAV-2, AAV-8 o AAV-9, y lisando después las células por congelación-descongelación. A continuación, cada lisado que contenía virus se neutralizó usando una dosis alta

(volumen 1:1) de dos lotes diferentes de inmunoglobulina humana (IVIG1 e IVIG2) (células 293); (células Huh-7)), o tres dosis menores decrecientes (1:2 (alta), 1:10 (media) y 1:25 (baja) de antisuero/virus de los dos lotes diferentes de inmunoglobulina humana (IVIG1 e IVIG2), o un anticuerpo monoclonal A20 (células 293), o un suero policlonal anti-AAV-8 ("A8"). El A20 es un anticuerpo monoclonal que se generó contra las cápsides de AAV-2 ensambladas y el anti-AAV-8 es un suero de conejo policlonal generado contra las cápsides de AAV-8 ensambladas. Se usaron como control lisados tratados con PBS. Los lisados que contienen virus se neutralizaron incubando los lisados con la inmunoglobulina humana o el anticuerpo durante un período de tiempo (una hora a temperatura ambiente (20-25 °C)) e infectando después las células en presencia de adenovirus auxiliar. La actividad restante de los virus después del período de neutralización se determinó titulando las unidades de expresión de *gfp* en las células.

En ausencia de IVIG1, IVIG2 y A20, el virus AAV-DJ fue al menos tan infeccioso en las células 293 como el AAV-2 y varias veces más infeccioso que el AAV-2 en las células Huh-7. Se demostró que el virus AAV-DJ y AAV-8 pudieron escapar parcialmente de la neutralización por IVIG, mientras que AAV-2 no. El AAV-9 tuvo resultados de IVIG intermedios en relación con AAV-DJ/AAV-8 y AAV-2, y se neutralizó con dosis altas de IVIG. El AAV-2 fue neutralizado por el anticuerpo A20, pero el anticuerpo A20 no afectó significativamente a AAV-DJ, AAV-8 o AAV-9. El antisuero policlonal anti-AAV-8 neutralizó las cuatro cápsides en dosis altas o medias, mientras que AAV-2 y AAV-DJ escaparon parcialmente de la neutralización con la dosis baja.

En resumen, se descubrió anteriormente que el virus AAV-DJ era más infeccioso para las células Huh-7 que el AAV más eficiente conocido anteriormente en las células Huh-7 (AAV-2), incluso en presencia de altas concentraciones de inmunoglobulina humana. Además, se encontró que el virus AAV-DJ tiene una resistencia mejorada a la neutralización por inmunoglobulina humana en relación con AAV-2. Dicha resistencia es razonable, dado que la cápside de AAV-DJ se seleccionó de una biblioteca basándose parcialmente en su capacidad para producir virus que resistan la neutralización por inmunoglobulina humana. Sin embargo, la resistencia mejorada del virus AAV-DJ al anticuerpo A20 fue sorprendente e inesperada, porque (i) no era parte del esquema de selección descrito a continuación que se usó para aislar AAV-DJ; y (ii) AAV-DJ comparte una identidad sustancial con AAV-2, que es neutralizado por el anticuerpo A20.

En otro estudio más usando células de melanoma humano, la infectividad *in vitro* de vectores que expresan *gfp* del gen de la cápside de AAV-DJ se comparó con la infectividad *in vitro* de ocho AAV de tipo salvaje de uso común, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-8 o AAV-9. Las células de melanoma se infectaron con 2×10^9 partículas de AAV recombinantes de cada serotipo y la expresión de *gfp* se visualizó tres días después. Los resultados se cuantificaron, expresados como la expresión de *gfp* en UI/ml, a partir de la titulación del virus en las células de melanoma (en placas de 96 pocillos) y el vector AAV-DJ fue superior a los vectores de tipo salvaje y, notablemente, sustancialmente mejor que AAV-2.

Varias líneas celulares se infectaron con diluciones seriadas de diez veces de cada serotipo, o AAV-DJ o el mutante de heparina DJ DJ/8, discutido a continuación, que expresan un gen informador *gfp*. Las preparaciones de vector se normalizaron para contener 2×10^9 partículas totales (que contienen ADN del vector) por mL antes de la infección. Tres días después, se contaron las células que expresaban *gfp* y se determinaron las titulaciones infecciosas, teniendo en cuenta el factor de dilución. Los vectores de AAV-DJ mostraron la mayor infectividad en muchas líneas celulares, y las relaciones de partículas totales a infecciosas estuvieron frecuentemente muy por debajo de 500, destacando la eficiencia extrema de AAV-DJ *in vitro*, y sugiriendo su particular utilidad para las aplicaciones de transferencia génica *ex vivo*.

También se ensayaron vectores preparados con la cápside AAV-DJ *in vivo* para la expresión de un gen de interés. En un primer estudio, se produjeron los AAV que expresan el factor IX humano recombinante (FIX) con las cápsides AAV-DJ, AAV-2, AAV-8 o AAV-9 mediante una técnica de transfección triple. Se inyectaron periféricamente dosis de 5×10^{10} , 2×10^{11} y 1×10^{12} (bajo, medio y alto, respectivamente) partículas virales recombinantes en ratones inmunocompetentes (C57/BL6) y se monitorizó el hFIX plasmático hasta cuatro meses después de la inyección. Los niveles plasmáticos de la proteína FIX se cuantificaron mediante ELISA.

Los niveles de FIX superiores al 1 % se consideran terapéuticos en hemofílicos. Los vectores de AAV-8, -9 o -DJ superaron el nivel del 100 % ya en la dosis más baja. Se observó una expresión dependiente de la dosis de la cápside de AAV-DJ a niveles equivalentes a AAV-8 y -9, los dos AAV identificados de forma natural informados en el hígado. Los tres virus superaron fácilmente al prototipo de AAV-2 en cualquier dosis y expresaron más del 100 % de los niveles normales de hFIX a partir de una inyección intravenosa de 5×10^{10} partículas, mientras que la expresión de AAV-2 superó el 100 % de los niveles normales de hFIX solo a una dosis de 1×10^{12} .

En otro estudio, se prepararon AAV que expresan alfa-1-antitripsina humana recombinante (hAAT), a partir de las cápsides de AAV-DJ, AAV-2, AAV-8 o AAV-9. El gen hAAT estaba bajo un promotor RSV. Se inyectaron a los ratones (C57/BL6) mediante infusiones en la vena de la cola de 2×10^{11} partículas y los niveles plasmáticos de hAAT se determinaron mediante ELISA específico 3, 7 y 14 días después de la inyección. AAV-8, AAV-9 y AAV-DJ se expresaron de manera eficiente e igualmente superaron al vector con una cápside de AAV-2.

En otro estudio *in vivo*, se cuantificó la transducción hepática en presencia de suero humano, para evaluar la capacidad de AAV-DJ para evadir la neutralización *in vivo*. Los ratones se inmunizaron pasivamente con 4 o 20 mg de IVIG antes de la infusión de AAV-2, -8, -9 o -DJ que expresaban hFIX. Los niveles plasmáticos de hFIX para cada serotipo de AAV se expresaron como porcentaje del nivel de virus correspondiente en ratones de control tratados con disolución

salina tamponada con fosfato en lugar de IVIG en función del tiempo después de la infusión. La expresión de AAV-2 se suprimió por completo, sin embargo, la transducción con AAV-DJ, -8 o -9 se inhibió de una manera dependiente de la dosis, con AAV-DJ mostrando una resistencia intermedia en la dosis alta y evasión eficiente (similar a AAV-8 y AAV-9) a la dosis baja de IVIG. Estos resultados se confirmaron con un segundo lote de IVIG independiente de otro proveedor (Carimune 12 %, Behring AG, datos no mostrados).

En otro estudio, se evaluó la viabilidad de administrar repetidamente los diferentes virus a ratones, para evaluar la neutralización cruzada de la cápside. No se observó expresión génica tras la reinfusión de cualquiera de las cápsides en animales ya tratados con el mismo serotipo. Sin embargo, AAV-8 y -9 también se bloquearon eficientemente entre sí, lo que corrobora los datos previos (Gao, G. *et al.*, *J. Virol.*, **78**: 6381-6388 (2004)). Este resultado podría oponerse al uso de vectores basados en estos tipos salvajes en los protocolos de readministración, aunque podrían combinarse con AAV-2. Por el contrario, la infusión primaria de AAV-DJ permitió la expresión posterior (hasta un 18 %) de AAV-2, -8 o -9, probablemente debido al hecho de que AAV-DJ solo comparte un número limitado de epítomos con cada virus de tipo salvaje. En el experimento inverso, los vectores de AAV-DJ se inhibieron en animales inmunizados con AAV-8 o -9, mientras que proporcionaban una expresión detectable en ratones tratados con AAV-2. Esto implicaba una respuesta inmune más fuerte o más amplia a partir de la infusión primaria de los serotipos 8 o 9. AAV-DJ fue más resistente a los correspondientes sueros de ratón en cultivo. Se observó una menor reactividad cruzada entre AAV-8 y -9.

AAV-DJ, así como otras cápsides de proteínas recombinantes identificadas en la biblioteca discutida a continuación, retuvo un dominio de unión a heparina (HBD) del AAV-2 parental. Este dominio funciona en la unión al proteoglicano del sulfato de heparina del receptor primario de AAV-2 (Summerford, C. *et al.*, *J. Virol.*, **72**: 1438-1445 (1998)). Para investigar el papel del HBD de AAV-DJ, dos residuos de arginina cruciales (Kern, A. *et al.*, *J. Virol.*, **77**: 11072-11081 (2003)) se mutaron a los residuos respectivos en AAV-8 o -9, y se denominan en la presente memoria AAV-DJ/8 y AAV-DJ/9. La expresión de *gfp* se redujo en varios órdenes de magnitud y fue tan baja como la observada con los serotipos AAV-8 o AAV-9.

Se demostró que la caída de la infectividad se correlacionaba con una unión reducida a las células. Una titulación de las partículas infecciosas en células de riñón 293 ilustró el papel del HBD para la infección en cultivo, como se ve por la reducción de la infectividad en los mutantes de HBD AAV-DJ/8 y AAV-DJ/9. Se prepararon y ensayaron mutantes adicionales, y se identifican en la presente memoria como AAV-2/8 (HBD negativo), AAV-8/2 (HBD positivo) y AAV-9/2 (HBD positivo). Los ensayos de unión celular confirmaron el papel del HBD en la unión a las células cultivadas, donde la caída en la unión con los mutantes se correlacionó con los datos de transducción. Los mutantes de AAV-8 y AAV-9 positivos para HBD se unieron varias veces más eficientemente que AAV-2 en células HeLa, pero se transdujeron menos eficientemente. Por tanto, la unión a las células por sí sola no puede explicar la infectividad inusual de AAV-DJ. En su lugar, se contempla un efecto sinérgico de compartir propiedades beneficiosas de los AAV-DJ parentales, lo que da como resultado la mejora de múltiples etapas en la transducción de AAV-DJ. También se mostró que el HBD influye en la biodistribución, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Transducción relativa de tejidos no hepáticos con vectores de AAV

		Pulmón	Corazón	Riñón	Bazo	Cerebro	Páncreas	Intestino	Músculo
AAV-2	1e12	nd	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,2 ± 0,0	nd	nd	nd	nd
	7e12	nd	1,5 ± 0,3	2,0 ± 0,3	1,0 ± 0,2	nd	nd	nd	nd
AAV-8	1e12	0,5 ± 0,0	1,2 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,7 ± 0,1
	7e12	2,5 ± 0,3	2,5 ± 0,2	2,6 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,9 ± 0,2
AAV-9	1e12	0,7 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,8 ± 0,1
	7e12	2,6 ± 0,3	3,6 ± 0,4	3,8 ± 0,4	1,5 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,9 ± 0,2	3,0 ± 0,3
AAV-DJ	1e12	0,2 ± 0,0	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,5 ± 0,1	nd	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0
	7e12	0,6 ± 0,1	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,8 ± 0,1
AAV-DJ/8	1e12	0,6 ± 0,0	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,7 ± 0,1
	7e12	2,6 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,3 ± 0,3	1,6 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2

El número de copias de los vectores (por equivalente genómico diploide) se determinó mediante análisis de barrido de Phosphorimager de transferencias Southern. Se analizaron al menos tres ratones independientes por dosis. Los números de copias se muestran en porcentaje (redondeados a un decimal, más desviaciones estándar) en relación con los del hígado dentro de cada grupo, lo que permite la comparación entre vectores y dosis. Para AAV-2, la mayoría de las señales estaban por debajo del límite de detección de los análisis de transferencia Southern (~ 0,03 copias de ADN de AAV bicatenario por célula), lo que evita el cálculo de la transducción relativa en estos casos (nd = no determinado). Las sombras grises resaltan las dosis/tejidos en los que la transducción relativa de AAV-DJ difiere en

al menos 2 veces de los serotipos 8 y 9, así como del mutante AAV-DJ de HBD.

AAV-8 y -9 (negativos para HBD) demostraron un tropismo no restringido, transduciendo fácilmente todos los tejidos ensayados a 1×10^{12} partículas por ratón. En contraste llamativo, AAV-2 e igualmente AAV-DJ (ambos positivos para HBD) estaban restringidos al hígado y, en menor grado, al corazón, riñón y bazo, y cerca o por debajo del límite de detección en otros tejidos. La cuantificación del ADN del vector bicatenario (usando el hígado como estándar interno en cada grupo) mostró que AAV-DJ transducía pulmón, cerebro, páncreas e intestino de 2 a 4 veces menos eficientemente que los tipos salvajes 8 o 9. El efecto del HBD en el tropismo viral se ejemplificó mejor comparando AAV-DJ con el mutante DJ/8: la delección de HBD alivió la restricción hepática y expandió la transducción a tejidos no hepáticos, idénticos a AAV-8 y -9, e incluyendo el cerebro. Estos hallazgos corroboran y explican una serie de informes sobre la amplia diseminación tisular de vectores basados en serotipos naturales negativos para HBD (AAV-1 y -4 a -9) en ratones, perros y monos, en contraste con el AAV-2 positivo para HBD. Notablemente, AAV-DJ también transdujo tejidos no hepáticos a la dosis máxima de 7×10^{12} partículas, pero aún en menor grado que los virus negativos para HBD, en particular AAV-9. Incluso con esta dosis, la transducción del cerebro y también del pulmón permaneció marginal.

Si bien los aspectos descritos anteriormente se refieren principalmente a una proteína de la cápside de AAVr, se reconoce que se pueden usar y contemplar cápsides que tienen secuencias de aminoácidos y/o nucleótidos que son similares en secuencia y que tienen la misma función. En un aspecto, se contempla una proteína de la cápside recombinante que tiene al menos aproximadamente un 60 % de identidad de secuencia, además al menos aproximadamente un 70 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 75 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 80 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 85 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 90 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 95 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 96 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 97 % de identidad de secuencia, al menos aproximadamente un 98 % de identidad de secuencia, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos identificadas en el listado de secuencias.

Se apreciará que las sustituciones conservativas de aminoácidos pueden estar en la secuencia polipeptídica, para lograr proteínas que tengan, por ejemplo, un 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con un polipéptido codificado por una secuencia de nucleótidos descrita en la presente memoria, y preferiblemente con retención de la actividad de la secuencia nativa. Las sustituciones conservativas de aminoácidos, como se conocen en la técnica y como se hace referencia en la presente memoria, implican la sustitución de aminoácidos en una proteína con aminoácidos que tienen cadenas laterales similares en términos de, por ejemplo, estructura, tamaño y/o propiedades químicas. Por ejemplo, los aminoácidos dentro de cada uno de los siguientes grupos pueden intercambiarse con otros aminoácidos del mismo grupo: aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas, que incluyen glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; aminoácidos que tienen cadenas laterales no aromáticas que contienen hidroxilo, tales como serina y treonina; aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas, tales como ácido aspártico y ácido glutámico; aminoácidos que tienen cadenas laterales de amida, que incluyen glutamina y asparagina; aminoácidos básicos, que incluyen lisina, arginina e histidina; aminoácidos que tienen cadenas laterales de anillos aromáticos, que incluyen fenilalanina, tirosina y triptófano; y aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre, que incluyen cisteína y metionina. Además, los aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas, tales como ácido aspártico y ácido glutámico, se consideran en la presente memoria intercambiables con aminoácidos que tienen cadenas laterales de amida, tales como asparagina y glutamina.

Se ha desarrollado un sistema modelo de ratón que es severamente inmunodeficiente. Estos ratones con deficiencia de fumarilacetoacetato hidrolasa (Fah) se pueden pretratar con un adenovirus que exprese uroquinasa y luego injertar en gran medida (hasta un 90 %) con hepatocitos humanos de múltiples fuentes, incluyendo biopsias de hígado. Además, las células humanas se pueden trasplantar en serie de donantes primarios y repoblar el hígado durante al menos cuatro rondas sucesivas. Las células expandidas mostraron el típico metabolismo de los fármacos en seres humanos. Este sistema proporciona una plataforma sólida para producir hepatocitos humanos de alta calidad para el cultivo de tejidos. También puede ser útil para ensayar la toxicidad de los metabolitos de fármacos y para evaluar patógenos que dependen de las células hepáticas humanas para su replicación. (Azuma, *et al.*, (2007) *Nature Biotech.* 25: 903-910).

Se ha diseñado un modelo de ratón humanizado, conocido como ratones FRG (Yecuris Corporation, Portland, OR), para permitir que los investigadores crezcan y expandan poblaciones de hepatocitos humanos *in vivo* para investigación y ensayo de fármacos. El modelo FRG tiene los genes Fah, Rag e Ilrg inactivados. La inactivación de Fah produce daño hepático en el ratón, la ausencia de Rag elimina la parte del sistema inmune innato que rechaza otras células de ratón y la inactivación de Ilrg inactiva la parte del sistema inmune que evitaría el injerto de células de otras especies, incluyendo los seres humanos. Por tanto, el ratón FRG puede repoblar con células de donante humano de elección o repoblarse a partir de un grupo de donantes precalificados. Los animales pueden recibir hepatocitos humanos que oscilan entre el 5-95 % de la masa total del hígado. Los ratones FRG no repoblados también están disponibles para su uso como controles de estudio.

La proteína de la cápside de AAV recombinante puede estar compuesta por una primera secuencia de residuos de aminoácidos de un primer serotipo de AAV y al menos una segunda secuencia de residuos de aminoácidos de un segundo serotipo de AAV. La primera secuencia es un conjunto conservado de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos contigua del primer serotipo de AAV. La segunda secuencia es un conjunto conservado de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos contigua del segundo serotipo de AAV. Un "conjunto conservado" de aminoácidos

se refiere a una secuencia de aminoácidos contigua que es idéntica o muy homóloga a una secuencia de aminoácidos en el serotipo de AAV. En una realización, la homología cercana significa al menos aproximadamente un 80 % de identidad de secuencia. En una realización, la homología cercana significa al menos aproximadamente un 90 % de identidad de secuencia. Una secuencia de aminoácidos contigua en dicho grupo conservado puede tener una longitud de 2 a 500, 2 a 400, 2 a 300, 2 a 200, 2 a 100 o 2 a 50 residuos de aminoácidos.

También se apreciará que los vectores recombinantes descritos en la presente memoria se contemplan para su uso en métodos para expresar un gen de interés en una variedad de células y en un mamífero. La transducción en líneas celulares además de las líneas celulares descritas en la presente memoria son ejemplares, y se contemplan otras líneas celulares, particularmente células madre. En términos del uso *in vivo*, el método comprende preferiblemente introducir un AAV recombinante (AAVr) en un mamífero, el vector de AAV recombinante que codifica el gen de interés y comprende una proteína de la cápside que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencias identificadas en el listado de secuencias que acompaña a la presente descripción. El vector que expresa un gen de interés se introduce en el mamífero, típicamente mediante inyección, por vía intravenosa, subcutánea, parenteral o similar. El gen de interés puede ser cualquier gen, y un experto en la técnica identifica fácilmente muchos genes adecuados para la expresión con fines terapéuticos o no terapéuticos. La secuencia de nucleótidos del gen de interés está típicamente "unida operativamente" a una o más de otras secuencias de nucleótidos, que incluyen, pero no están limitadas a, el gen de una proteína de la cápside seleccionada, un promotor y potenciador, y similares.

Un gen está "unido operativamente" a otra secuencia de nucleótidos cuando se coloca en una relación funcional con otra secuencia de nucleótidos. Por ejemplo, si una secuencia codificante está unida operativamente a una secuencia promotora, esto generalmente significa que el promotor puede promover la transcripción de la secuencia codificante. Unido operativamente significa que las secuencias de ADN que se unen son típicamente contiguas y, cuando es necesario para unir dos regiones codificantes de proteínas, contiguas y en marco de lectura. Sin embargo, dado que los potenciadores pueden funcionar cuando están separados del promotor por varias kilobases y las secuencias intrónicas pueden tener una longitud variable, algunas secuencias de nucleótidos pueden estar unidas operativamente pero no ser contiguas. Además, como se define en la presente memoria, se pretende que una secuencia de nucleótidos se refiera a una matriz lineal y secuencial natural o sintética de nucleótidos y/o nucleósidos, y derivados de los mismos. Los términos "que codifica" y "codifica" se refieren al proceso mediante el cual una secuencia de nucleótidos, a través de los mecanismos de transcripción y traducción, proporciona la información a una célula a partir de la cual una serie de aminoácidos se puede ensamblar en una secuencia de aminoácidos específica para producir un polipéptido.

III. Generación de una biblioteca de nuevas cápsides de AAV

Se describe un método para generar una biblioteca de nuevas cápsides de AAV. También se describe un método para aislar un plásmido de AAV recombinante que incluye una nueva cápside de AAV.

La presente descripción proporciona un método para generar una biblioteca de nuevas cápsides de AAVr, que incluye las figuras y el listado de secuencias. Los ácidos nucleicos aislados que codifican genes de la cápside se obtienen usando cebadores diseñados para incluir una parte específica de serotipo fusionada con regiones distintivas comunes que flanquean la secuencia de ácido nucleico de la cápside. Después, los ácidos nucleicos aislados se digieren o fragmentan, tal como con DNaseI, en fragmentos de, por ejemplo, entre aproximadamente 0,2 y aproximadamente 1,0 kb. A continuación, los fragmentos se vuelven a ensamblar en piezas más grandes mediante la realización de PCR, como con la polimerasa Taq, en ausencia de cebadores adicionales. Debido a la naturaleza relacionada de los genes fragmentados, los fragmentos de genes tienen regiones superpuestas de homología que permiten que los fragmentos se autoceben en ausencia de un cebador adicional. Después de múltiples rondas de PCR, se obtienen productos que tienen una longitud aproximadamente igual a la de los genes de la cápside original. Los productos de PCR incluyen productos híbridos que contienen nuevas regiones de la cápside de AAVr.

Los productos de PCR de longitud completa se amplifican entonces por PCR, con polimerasa Platino Pfx u otra polimerasa, usando cebadores que se unen a las regiones distintivas que están contenidas en los productos de PCR de longitud completa porque estaban presentes en los cebadores originales usados para aislar las secuencias de ácido nucleico de la cápside. Los productos de PCR de esta etapa de amplificación se clonan entonces en un plásmido convencional, para proporcionar una biblioteca de nuevos genes de cápside de AAV. Los genes de la cápside se pueden clonar en un plásmido de AAV que contiene una ITR de rep, para crear posteriormente la biblioteca viral real.

Un método para aislar un AAV recombinante que incluye una nueva cápside de AAV recombinante, es decir, se aísla una "cápside de AAVr" como se ha descrito anteriormente. Las secuencias de la cápside híbrida se clonan en un plásmido que es capaz de producir un genoma de AAV infeccioso, tal como un plásmido que comprende el gen rep de AAV-2, así como las dos ITR de AAV-2. La biblioteca de plásmidos se puede transfectar en células con un plásmido auxiliar adenoviral para producir virus. A continuación, el virus se amplifica en células en presencia de un virus auxiliar, como el virus auxiliar adenovirus-5 de tipo salvaje. El virus puede amplificarse en presencia de una o más formas de presión selectiva, tal como en presencia de inmunoglobulina humana. Los virus que sobreviven a múltiples subcultivos bajo presión selectiva se eligen para su posterior estudio o uso.

Este enfoque se usó para generar una biblioteca para la selección *in vitro* en células hPAEC. Brevemente, el gen de la cápside de diez serotipos diferentes de AAV (AAV-1, AAV-2, AAV-3B, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-8, AAV-9, AAV

aviar y AAV bovino) se fragmentó y los productos de PCR se clonaron romos en el plásmido pCR4-TOPO, disponible en Invitrogen. Se secuenciaron veinticuatro (24) subclones para confirmar que se crearon secuencias de cápside que son un híbrido de diferentes serotipos. Las secuencias de los diez serotipos estaban representadas en los subclones. Típicamente, las secuencias de la cápside híbrida incluían secuencias de al menos dos, y con frecuencia, más de seis, de los serotipos. Las secuencias de la cápside en el plásmido pCR4-TOPO se subclonaron entonces en un plásmido que comprendía el gen rep de AAV-2, así como las dos ITR de AAV-2, que se usó entonces para transformar bacterias. Se estima que se obtuvo aproximadamente una biblioteca de 3×10^4 variantes de genes de la cápside híbridos de AAV a partir de una sola reacción y de 10 placas de bacterias. El aumento de escala (incluyendo la siembra en placas en 100 placas de bacterias) dio como resultado una biblioteca de plásmidos de aproximadamente $6,9 \times 10^5$ clones. Esta biblioteca de plásmidos se cotransfectó a continuación en células de riñón embrionario humano 293 junto con un plásmido auxiliar adenoviral, para producir una biblioteca viral de partículas híbridas de AAV.

Se incubaron diversas cantidades de AAV mezclado purificado con células PAEC en un rango de MOI (multiplicidad de infección), y posteriormente se infectaron con el virus auxiliar necesario para la replicación del AAV (en este caso, adenovirus humano de tipo salvaje). Idealmente, el adenovirus lisaría las células en tres días, proporcionando al AAV tiempo suficiente para replicarse y que el virus Ad recién sintetizado se liberara en el medio. El medio se recogió 3 días después de la infección y se usó directamente para el análisis por transferencia Western usando anticuerpos específicos para las proteínas CAP de AAV VP1, VP2 y VP3. Con el fin de evitar el empaquetamiento cruzado (un fenómeno específico de los AAV estrechamente relacionados), se seleccionó la muestra con el nivel más bajo, pero detectable, de proteínas VP sobre la base de la transferencia Western, para la siguiente ronda de selección. Esto ayudó a optimizar la astringencia de la biblioteca en cada ronda de amplificación, al garantizar que se administrara un único genoma viral a cada célula y, posteriormente, se empaquetara en la cápside expresada a partir de su propio genoma. Antes de la siguiente ronda de selección, el sobrenadante se calentó a 65 °C durante 30 minutos, para inactivar el virus Ad más sensible a la temperatura sin afectar los AAV presentes en la muestra.

La biblioteca seleccionada de variantes de la cápside de AAV se coinfectó entonces con el virus auxiliar adenovirus-5 de tipo salvaje y se amplificó con éxito en varias líneas celulares posibles conocidas en la técnica. La amplificación exitosa de la biblioteca viral se confirmó mediante transferencias Western de extractos de células completas usando el anticuerpo B1 que reconoce un epítipo de ocho aminoácidos que se conserva en gran medida en la mayoría de los serotipos de AAV conocidos y, por lo tanto, debería estar presente en la mayoría de los AAV híbridos descritos en la presente memoria. Se detectaron partículas replicantes de AAV en todas las líneas celulares ensayadas durante hasta cinco subcultivos consecutivos. Se usaron extractos de células completas de congelación-descongelación para infectar células frescas cada vez. Hasta la fecha, la biblioteca viral también se ha subcultivado con éxito seis veces en hepatocitos humanos primarios, que son notoriamente difíciles de infectar con vectores basados en AAV de tipo salvaje.

La biblioteca viral también se amplificó en células Huh-7 humanas en presencia de inmunoglobulina humana (IVIG). Se encontró que la IVIG específica usada (IVIG Gamimune®N 10 % de Bayer) contenía abundantes anticuerpos neutralizantes frente a AAV-2 y AAV-3, así como algunos anticuerpos frente a AAV-1, AAV-4, AAV-5 y AAV-6. Por lo tanto, la amplificación en células Huh-7 humanas en presencia de IVIG proporcionó una presión selectiva para los híbridos de AAV que comprenden dominios de diferentes serotipos, ya que la selección para una infección de alta eficiencia de las células Huh-7 favorece los dominios de AAV-2, mientras que la selección para escapar de la neutralización por IVIG favorece los dominios de AAV-8 y AAV-9. La selección fue exitosa, ya que se encontró que con subcultivos crecientes de la biblioteca, se conseguía una tolerancia creciente a IVIG. Después del cuarto subcultivo, el virus superviviente pudo amplificarse en presencia de 500 µL de IVIG, mientras que después del primer subcultivo, el virus superviviente sólo pudo amplificarse en presencia de aproximadamente 10 µL de IVIG.

Después del 5º subcultivo, las secuencias de la cápside híbrida se amplificaron por PCR y se clonaron romos en pCR4-TOPO. Se secuenciaron las secuencias de la cápside de 96 colonias y se encontró que eran idénticas. La secuencia de la cápside híbrida es la secuencia de AAV-DJ descrita anteriormente.

Por lo tanto, se creó una biblioteca de plásmidos usando el mezclado de familias de ADN (Cramer *et al.*, *Nature*, 391: 288-291 (1998)) de los genes de la cápside de AAV parental. Posteriormente, se generó una biblioteca viral, mediante la transfección de la biblioteca de plásmidos en células junto con un plásmido auxiliar adenoviral. Esta segunda biblioteca viral se sometió entonces a presión de selección para aislar candidatos específicos. A partir de ellos, se aislaron y subclonaron genes de la cápside mezclados seleccionados en un plásmido auxiliar de AAV, para producir vectores de AAV recombinantes que comprenden la cápside híbrida. Más particularmente, se usó el mezclado de familias de ADN para crear una biblioteca compleja de partículas híbridas de diez tipos salvajes diferentes. La amplificación en serie en células humanas enriqueció híbridos de una multitud de serotipos de AAV. Se descubrió que la quimera AAV-2-8-9 a la que se hace referencia como AAV-DJ es superior a los AAV naturales en células cultivadas y superó al prototipo de AAV-2 en tejido *in vivo*. Los vectores con una cápside de AAV-DJ fueron superiores *in vitro* y proporcionaron un rendimiento sólido y específico *in vivo* y proporcionaron la capacidad de evadir la neutralización humoral por el suero humano. Además, se encontró que varios aislados de las bibliotecas de AAV seleccionados *in vitro* e *in vivo* generadas según los métodos descritos en la presente memoria superan a la cápside de AAV-DJ descrita anteriormente.

Después de varias rondas de selección, se observó un solo clon. Este nuevo aislado de AAV se denominó "AAV-PAEC". Posteriormente, se aislaron AAV-PAEC adicionales, y en la presente memoria se identifican los aislados de AAV-PAEC2, AAV-PAEC4, AAV-PAEC6, AAV-PAEC7, AAV-PAEC8, AAV-PAEC11, AAV-PAEC12 y AAV-PAEC13.

También se cribó la biblioteca de AAV *in vivo* en ratones FRG humanizados. Se inyectaron a los animales diferentes cantidades de biblioteca de AAV, seguido de una inyección de una cantidad fija de virus Ad5 de tipo salvaje. Después de tres días, los animales se sacrificaron y sus hígados se extrajeron, homogeneizaron y congelaron en partes alícuotas. Se usó una parte alícuota de cada animal para el análisis por transferencia Western usando el anticuerpo anti-VP1-2-3 CAP para la detección. Una vez que se identificó al animal con la señal más baja, pero detectable, se procesó otra parte alícuota congelada del hígado de ese animal y se inyectó lisado de hígado aclarado en diferentes cantidades en otro grupo de animales. Como en el experimento *in vitro* descrito en el Ejemplo 1, con el fin de inactivar el hAd5 presente en el lisado, el lisado de hígado se incubó a 65 °C durante 30 minutos, antes de la inyección en otra cohorte de animales.

Con cada ronda de selección, se secuenciaron 100-150 clones. El ADN de AAV se aisló del lisado de hígado y se usó para secuenciar los genes CAP presentes en el conjunto. Se descubrió que la biblioteca era muy variable en las etapas tempranas de selección *in vivo*, mientras que en las últimas rondas de selección, se produjo claramente una selección positiva para ciertos clones de AAV en la biblioteca de AAV.

Se identificaron y secuenciaron varios AAVr nuevos con alta eficiencia. También son valiosos los nuevos serotipos específicos de AAVr seleccionados *in vitro* en células endoteliales arteriales pulmonares humanas.

IV. Ejemplos

Los siguientes ejemplos son de naturaleza ilustrativa y de ninguna manera pretenden ser limitantes. Para los procedimientos técnicos, se puede hacer referencia a la Solicitud de Patente de EE. UU. con número de serie 12/538.791, publicada como US 20100047174, así como a Grimm, D. *et al.*, (*Blood*, 102: 2412-2419 (2003)).

Ejemplo 1

Generación de bibliotecas de cápsides de AAV

A. Plásmidos para la generación de bibliotecas de cápsides de AAV

Se obtuvieron plásmidos que contenían genes de cápside (cap) de longitud completa de diez serotipos diferentes de AAV de tipo salvaje (wt), a saber, AAV-1, -2, -3B, -4, -5, -6, -8, -9, AAV aviar y bovino y AAV de cabra, que se sintetizó parcialmente (GeneArt, Regensburg, Alemania) como un fragmento de 888 nt (nt 1023 a 1910). Este subclon abarca toda la mitad derecha de la proteína de la cápside de AAV de cabra, que comprende las 42 diferencias reportadas entre AAV de cabra y AAV-5. Estos genes cap se amplificaron inicialmente mediante PCR y se subclonaron en pBlueScript II SK (Stratagene). (Véase la Figura 1). El propósito era flanquear todos los genes cap con sitios para las enzimas de restricción únicas Pac I (5') o Asc I (3'), para facilitar la clonación posterior de genes cap "mezclados" en un plásmido de AAV de tipo salvaje. Todos los cebadores también contenían un sitio Hind III (5') o Spe I (3'), para permitir la clonación dirigida en pBlueScript (ninguna de las cuatro enzimas de restricción corta en ningún gen cap parental). Se insertó una región de firma de 20 nt entre los dos sitios de restricción en cada cebador, para proporcionar sitios de unión del cebador conservados para la posterior amplificación por PCR de genes mezclados.

En paralelo, se preparó por ingeniería un plásmido receptor de cap de tipo salvaje para contener los elementos de empaquetamiento (ITR) de AAV-2 que flanquean el gen rep de AAV-2 (que codifica proteínas de replicación de AAV), junto con los sitios Pac I y Asc I para la clonación de cap, y el sitio de poliadenilación de AAV-2. Por lo tanto, el rep de AAV-2 (nt 191 a 2189) se amplificó por PCR usando cebadores que contenían sitios Bgl II y luego se subclonó en pTRUF3 (que portaba las ITR de AAV-2 con sitios Bgl II adyacentes).

B. Mezclado de familias de ADN de genes de la cápside de AAV

Para el mezclado de ADN de los genes de la cápside de AAV, se usó un protocolo de 2 etapas en el que los genes parentales se fragmentaron primero con la enzima ADNasa I y luego se reensamblaron en nuevos genes de longitud completa mediante PCR sin cebador. Esto fue seguido por una segunda PCR que incluía cebadores que se unían fuera de los genes cap, lo que permitió su subclonación en el plásmido ITR/rep receptor de tipo salvaje para empaquetarlo en una biblioteca de AAV. Inicialmente, todos los genes cap se aislaron de los subclones mediante digestión con Hind III/Spe I (Eco RI para AAV de cabra) y luego se optimizaron las condiciones de reacción como sigue. Se ensayaron varias concentraciones de ADNasa I y tiempos de incubación, con el objetivo de obtener un conjunto de fragmentos con un tamaño de entre 0,2 y 1,0 kb. Las condiciones óptimas encontradas fueron: 1 µg por gen cap, 1 µL de ADNasa I prediluida 1:200 (10 U/µL, Roche), Tris Cl 50 mM pH 7,4, MgCl₂ 1 mM, volumen total de 50 µL. La reacción se incubó durante 2 min a temperatura ambiente y luego se detuvo mediante inactivación por calor a 80 °C durante 10 min. Se aislaron fragmentos de los tamaños deseados ejecutando toda la reacción en un gel de agarosa al 1 % (volumen final total ~60 µl). La reacción de PCR de reensamblaje se optimizó entonces ensayando varias ADN polimerasas (Pfx Platinum, Stratagene; DeepVent, NEB; Taq, Amersham) y las condiciones respectivas. Los mejores resultados se obtuvieron usando Lechos de PCR PuReTaq Ready-To-Go (Amersham) y las siguientes condiciones: 25 µL de fragmentos de cap purificados, programa: 4 min 95 °C, 40 ciclos (1 min 95 °C, 1 min 50 °C, 3 min 72 °C), 10 min 72 °C, 10 min 4 °C. El análisis en gel de agarosa (1 %) de 1 µL de esta reacción mostró típicamente una mancha de hasta 5 kb y sin bandas distintas. A continuación, se evaluaron las mismas tres polimerasas anteriores para la segunda PCR que contiene el cebador, y se encontró que las siguientes condiciones eran óptimas: 1 µL de

Pfx Platinum, 2 µL de producto de la primera PCR, MgSO₄ 1 mM, 1 µg de cada cebador (véase más abajo), 0,3 mM cada dNTP, volumen total 50 µL, programa: 5 min 94 °C, 40 ciclos (30 seg 94 °C, 1 min 55 °C, 3 minutos 68 °C), 10 min 68 °C, 10 min 4 °C. Los cebadores usados se unieron a las regiones de firma de 20 nt descritas en el capítulo anterior. Esta reacción proporcionó una banda de cap de longitud completa de ~2,2 kb distinta (gel de agarosa al 1 %), que se purificó (60 µL en total) y se clonó (4 µL) usando el kit de clonación de PCR Zero Blunt TOPO (con células TOP10 electrocompetentes) (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.). Esta etapa de clonación intermedia mejoró significativamente el rendimiento de genes cap mezclados, en comparación con los esfuerzos para clonar directamente el producto de PCR por medios convencionales (datos no mostrados). A continuación, los genes cap mezclados se liberaron del plásmido TOPO mediante una doble digestión con Pac I y Asc I y se clonaron en el plásmido receptor ITR/rep digerido de forma apropiada. Realizando estas reacciones en condiciones mínimas (volúmenes y cantidades), se obtuvo una biblioteca de aproximadamente 3×10^4 colonias bacterianas. El aumento de escala de cada etapa (incluido la siembra en placas final en placas de 100 x 15 cm) dio como resultado una biblioteca final de $\sim 6,9 \times 10^5$ clones de plásmido. Su integridad, diversidad genética y funcionalidad se confirmaron por secuenciación de ADN y estudios de expresión a pequeña escala. A partir de estos últimos, se determinó por extrapolación que la biblioteca viral (a continuación) retuvo >90 % de viabilidad.

C. Amplificación selectiva *in vitro* de la biblioteca de cápsides

Diseño experimental:

Se incubaron diversas cantidades de AAV mezclado purificado con diferentes líneas celulares (en placas de 6 cm), junto con cantidades variables de adenovirus auxiliar tipo 5. Idealmente, el adenovirus lisaría las células en tres días, proporcionando al AAV tiempo suficiente para replicarse. Las cantidades de AAV se ajustaron para obtener señales mínimas en los análisis de transferencia Western de extractos celulares. Esto ayudó a optimizar la astringencia de la biblioteca en cada ronda de amplificación, al garantizar que se administrara un único genoma viral a cada célula y, posteriormente, se empaquetara en la cápside expresada a partir de su propio genoma.

En el presente estudio, las células de interés (células PAEC) se infectaron con una biblioteca de AAV en un rango de MOI (multiplicidad de infección) y posteriormente se infectaron con el virus auxiliar necesario para la replicación de AAV (en este caso, adenovirus humano de tipo salvaje). La replicación de AAV depende de la replicación del virus Ad. El virus Ad conduce a la lisis celular y a la liberación de virus Ad recién sintetizados en el medio. Este proceso libera también virus AAV recién sintetizados. El medio se recogió 3 días después de la infección y se usó directamente para el análisis de transferencia Western usando anticuerpos específicos para las proteínas CAP de AAV VP1, VP2 y VP3. Con el fin de evitar el empaquetamiento cruzado (un fenómeno específico de los AAV estrechamente relacionados), se seleccionó la muestra con el nivel más bajo, pero detectable, de proteínas VP sobre la base de la transferencia Western para la siguiente ronda de selección. Antes de la siguiente ronda de selección, el sobrenadante se calentó a 65 °C durante 30 minutos, para inactivar el virus Ad más sensible a la temperatura sin afectar los AAV presentes en la muestra.

D. Análisis de proteínas de AAV

Los análisis de transferencia Western e inmunofluorescencia se llevaron a cabo como se ha reportado (Grimm, D. *et al.*, *Blood*, 102: 2412-2419 (2003)) usando el anticuerpo monoclonal B1 para la detección de proteínas de la cápside de AAV inmovilizadas, útil porque su epítipo de ocho aminoácidos está conservado en gran medida en los serotipos de AAV conocidos.

En la Figura 3 se muestran las transferencias Western de la Ronda-1 y la Ronda-2 de la selección de la biblioteca de AAV en células PAEC humanas. En el cribado se usaron dos bibliotecas de AAV, llamadas "Biblioteca 1" o "Lib1" y "Biblioteca 2/3" o "Lib2/3". La Biblioteca 1 tuvo una titulación significativamente más baja que la Biblioteca 2/3. En la Fig. 3, los números sobre cada carril indican la cantidad en microlitros [µL] de cada biblioteca usados por 500 µL de infección total, y "+ Ad" y "- Ad" indican (-) Grupos de control de biblioteca tratados (+) o no tratados (-) con Ad, respectivamente. Las muestras seleccionadas para las siguientes rondas de selección de la biblioteca de AAV se indican mediante cuadros, así como en negrita y subrayado.

De manera similar, la Figura 4 muestra las transferencias Western de la Ronda-2 y la Ronda-3 de la selección de la biblioteca de AAV. Se puede ver que la señal específica en las muestras de la Biblioteca 2/3 es débil, mientras que la señal específica en las muestras de la Biblioteca 1 es fuerte. La Figura 5 muestra los datos de la Ronda-3 y la Ronda-4 final de la selección de la biblioteca AAV en células hPAEC.

En cada ronda de selección, el sobrenadante recogido se usó para aislar el ADN de AAV para el análisis por secuenciación de los genes CAP presentes en el conjunto. Se secuenciaron de veinticinco a treinta clones aleatorios en cada ronda, incluyendo la Biblioteca 1 inicial. Los resultados se muestran en la Figura 6, que indica el porcentaje del conjunto que representa cada clon diferente, en cada ronda de selección. Como puede verse en la Fig. 6, los veinticinco clones secuenciados de la Biblioteca 1 eran diferentes, mientras que con cada ronda de selección se puede observar la acumulación específica de un solo clon. Después de la Ronda-4, los treinta clones secuenciados tenían una secuencia idéntica. Este nuevo aislado de AAV se denominó "AAV-PAEC".

Las Figuras 7 y 8 muestran la relación del AAV-PAEC con los serotipos de AAV de tipo salvaje. La Figura 7 ilustra que el AAV-PAEC está más estrechamente relacionado con AAV1 y AAV6, con la mayor parte de la región 5' del gen CAP

(o región N de la proteína) derivada de AAV-3B. AAV1 y AAV6 son muy similares entre sí a nivel de aminoácidos y, por lo tanto (como se ilustra en la Fig. 8), es posible considerar AAV-PAEC como si se derivara de AAV-3B y AAV1, o de AAV-3B y AAV6; en cada caso, tres aminoácidos difieren en AAV-PAEC en comparación con AAV1 o AAV6.

- 5 La Figura 9 muestra una estructura 3D predicha de AAV-PAEC (basada en la estructura resuelta de parte de la proteína VP3 de AAV2), asumiendo que AAV-PAEC está compuesto por secuencias de AAV3B y AAV6 (véase la Figura 8). Las 3 mutaciones en las posiciones 418, 531 y 584 están sombreadas en gris.

Ejemplo 2

Estudios *in vivo*

- 10 La biblioteca de AAV generada según el ejemplo anterior y cribada para seleccionar nuevos aislados de AAV *in vitro* en células endoteliales de la arteria pulmonar humana (hPAEC) se cribó entonces *in vivo* en ratones FRG humanizados, según los métodos descritos a continuación.

Diseño experimental de la selección de bibliotecas de AAV *in vivo*

- 15 Similar al esquema de selección de AAV *in vitro* descrito en el Ejemplo 1, la biblioteca combinada de AAV se cribó en ratones FRG. Como se muestra en la Figura 10, a los animales se les inyectaron diferentes cantidades de biblioteca de AAV, seguido de la inyección de una cantidad fija de virus Ad5 de tipo salvaje. Después de tres días, los animales se sacrificaron y sus hígados se extrajeron, homogeneizaron y congelaron en partes alícuotas. Se usó una parte alícuota de cada animal para el análisis por transferencia Western usando el anticuerpo anti-VP1-2-3 CAP para la detección. Una vez que se identificó al animal con la señal más baja, pero detectable, se procesó otra parte alícuota congelada de hígado de ese animal y se inyectó lisado de hígado aclarado en diferentes cantidades en otro grupo de animales. Como en el experimento *in vitro* descrito en el Ejemplo 1, con el fin de inactivar el hAd5 presente en el lisado, el lisado de hígado se incubó a 65 °C durante 30 minutos antes de la inyección en otra cohorte de animales.

- 25 El diseño experimental que se muestra en la Figura 10 se modificó para que en cada ronda de selección se usaran uno o dos animales FRG humanizados (Figura 11). Los lisados de hígado de cada animal en la selección de AAV *in vivo* se analizaron mediante PCR específica de CAP. Como puede verse en la Figura 12, la banda específica de CAP (~2,2 kb) estaba presente en todos los animales FRG humanizados usados en el estudio, y la intensidad de la señal es fuerte en todas las muestras. En los animales FRG de control no humanizados, la señal específica de CAP se pierde después de 3 rondas de selección, lo que indica que no se observó una amplificación específica de AAV en esos animales (esto era de esperar, ya que el virus Ad5 humano requerido para la replicación de AAV no infecta/replica en células de ratón, sino solo en células humanas, apoyando así la replicación de AAV solo en hepatocitos humanos presentes en animales FRG humanizados). Este control muestra además que en animales FRG humanizados la selección de AAV tuvo lugar en hepatocitos humanos pero no en células de ratón.

- 35 Con cada ronda de selección, el ADN de AAV se aisló del lisado de hígado y se usó para secuenciar los genes CAP presentes en el conjunto. La Figura 13 compara los datos para (1) la biblioteca de AAV inyectada en el primer animal, (2) el lisado obtenido del primer animal y (3) el lisado del cuarto animal. En cada ronda, se secuenciaron 100-150 clones. La mayoría de los clones secuenciados de la biblioteca y de Ratón-1 eran diferentes entre sí, mostrando una alta variabilidad de la biblioteca en las primeras etapas de la selección *in vivo* (se identificó un número tan grande de clones diferentes en la biblioteca y en Ratón-1 que se representan como una barra negra sólida en la representación gráfica que se muestra aquí). En Ratón-4, sin embargo, más del 24 % de los clones secuenciados tenían una secuencia idéntica, mostrando una selección positiva para ciertos clones de AAV presentes en la biblioteca de AAV.

- 40 Después de la selección *in vivo* de serotipos de AAVr en hepatocitos humanos en un ratón con un hígado humanizado, se identificaron y secuenciaron varios AAVr nuevos con alta eficiencia. También son valiosos los nuevos serotipos específicos de AAVr seleccionados *in vitro* en células endoteliales arteriales pulmonares humanas (tales como, por ejemplo, pero sin limitarse a, los aislados de AAV-PAEC2, AAV-PAEC4, AAV-PAEC6, AAV-PAEC7, AAV-PAEC8, AAV-PAEC11, AAV-PAEC12 y AAV-PAEC13).

- 45 La Figura 14 ilustra una reconstrucción de la relación genealógica entre uno de los aislados *in vivo*, AAV-LK01 y los AAV de tipo salvaje usados para generar la biblioteca (tal como se muestra en la Figura 1). AAV-LK01 está más estrechamente relacionado con AAV8. La parte inferior de la Fig. 14 representa gráficamente el origen predicho de diversas regiones del nuevo aislado basándose en la identidad de ciertos residuos de aminoácidos en estas regiones que corresponden a residuos dentro de los AAV de tipo salvaje.

- 50 La Figura 15 muestra una estructura 3-D predicha de AAV-LK01 (basada en la estructura resuelta de parte de la proteína VP3 de AAV2). Las mutaciones puntuales indicadas en la Figura 14 están sombreadas en gris en el modelo 3D.

- 55 Con el fin de predecir mejor las características de los nuevos aislados de AAV seleccionados *in vivo* y para obtener información sobre el receptor usado por dichos aislados para unirse a/entrar en las células, comparamos sus secuencias con las de AAV-2 de tipo salvaje, observando específicamente los aminoácidos responsables de la unión de heparina. Los residuos implicados en la unión de heparina en AAV2 se compararon con residuos en los nuevos aislados AAV-PAEC y AAV-LK01. Las fuentes de AAV de los aminoácidos en los nuevos AAV en las posiciones

indicadas se proporcionan entre paréntesis en la Figura 16. La región completa del AAV-LK1 donde se encuentran esos residuos se derivó de AAV8, y por lo tanto, se puede predecir que AAV-LK01 se parecerá mucho a AAV8 cuando se trata de la elección de un receptor. AAV-PAEC, por otro lado, difería significativamente de AAV2, y cada uno de los residuos podría haberse derivado de varios otros AAV, con AAV1 y AAV6 contribuyendo a cada uno de los 6 residuos implicados en la unión de heparina. Por tanto, podría predecirse que AAV-PAEC usará el mismo receptor o un receptor similar que AAV1 y/o AAV6.

La Figura 17 muestra una reconstrucción de la relación genealógica entre los tres primeros aislados seleccionados *in vivo*, AAV-LK01, AAV-LK02 y AAV-LK03 y los AAV de tipo salvaje usados para generar la biblioteca. Se encontró que AAV-LK01 estaba más estrechamente relacionado con AAV8, AAV-LK02 con AAV1 y AAV6, y AAV-LK03 con AAV3B.

La Figura 18 representa gráficamente la secuencia de AAV-LK02 y la identidad de los residuos de aminoácidos correspondientes en el nuevo aislado en comparación con los diversos AAV de tipo salvaje. AAV-LK02 parece derivar principalmente de AAV1 (o AAV6, - debido a un % de homología muy alto entre AAV y AAV6), con la excepción de una región hipervariable de 50 aminoácidos (aa) entre los aminoácidos no. 450-500. La tabla muestra cada una de las mutaciones en la región de 50 aa en la columna de la izquierda, e indica el AAV de tipo salvaje parental posible del que se derivó este residuo en la columna de la derecha. Varias mutaciones no se pueden rastrear hasta ninguno de los AAV parentales, y muy probablemente fueron causadas por mutaciones aleatorias durante la PCR usada para generar la biblioteca, o se introdujeron durante la replicación viral y, por lo tanto, son el resultado de un proceso de evolución viral natural.

La Figura 19 muestra una estructura 3-D predicha de AAV-LK02 (basada en la estructura resuelta de parte de la proteína VP3 de AAV2). Las mutaciones puntuales identificadas en la Figura 18 están sombreadas en gris en este modelo 3-D.

La Figura 20 representa gráficamente la secuencia de AAV-LK03 y la identidad de los residuos de aminoácidos correspondientes en el nuevo aislado en comparación con los diversos AAV de tipo salvaje. AAV-LK03 parece derivarse principalmente de AAV3B con la excepción de una región hipervariable en el 5' del gen y una mutación puntual única en el extremo 3' del gen. La tabla muestra cada una de las mutaciones en el lado izquierdo columna, e indica el posible AAV de tipo salvaje parental del que se derivó este residuo. Varias mutaciones no se pueden rastrear hasta ninguno de los AAV parentales, y muy probablemente fueron causadas por mutaciones aleatorias durante la PCR usada para generar la biblioteca, o se introdujeron durante la replicación viral y, por lo tanto, son el resultado del proceso de evolución viral natural.

La Figura 21 presenta una reconstrucción de la relación genealógica (a nivel de ADN) entre los AAV identificados durante la selección de la biblioteca *in vivo*, y los AAV de tipo salvaje usados para generar la biblioteca.

La Figura 22 presenta una reconstrucción de la relación genealógica (a nivel de aminoácidos) entre los AAV identificados durante la selección de la biblioteca *in vivo*, y los AAV de tipo salvaje usados para generar la biblioteca.

Las Figuras 23A y 23B muestran una comparación de los nuevos aislados (de la selección en células PAEC, así como de la selección *in vivo*), que fueron vectorizados (es decir, empaquetados en vectores recombinantes no infecciosos, no replicantes) y estudiados más a fondo en una comparación paralela. Cada aislado de AAV y los diez AAV de tipo salvaje usados para generar bibliotecas se produjeron en tres producciones independientes a pequeña escala ($n = 3$) y la titulación de cada vector se determinó extrayendo el ADN del vector y cuantificándolo mediante hibridación sobre mancha usando una cantidad conocida de ADN como estándar. Se determinaron las titulaciones por hibridación sobre mancha para los aislados, así como para los AAV de tipo salvaje. La Figura 23B presenta estos datos en forma gráfica.

Como se muestra en la Figura 24A, los aislados de AAV vectorizados y los AAV de tipo salvaje preparados en las tres producciones independientes a pequeña escala se usaron para transducir células Huh7.5 y se determinaron las titulaciones de la transducción. Los vectores expresaban eGFP bajo un promotor hEF1. La titulación de la transducción se calculó usando la siguiente fórmula: $(\% \text{ GFP}/100) \times \text{factor de dilución} \times \text{número de células}$. La Figura 24B presenta una representación gráfica de las titulaciones de la transducción en células Huh7.5. A partir de los datos, se puede ver que AAV-DJ es significativamente mejor en la transducción de células Huh7.5 que cualquiera de los AAV de tipo salvaje. De los nuevos aislados, se encontró que AAV-LK03 transduce células Huh7.5 al menos 10 veces mejor que AAV-DJ, y casi dos logs mejor que cualquiera de los AAV de tipo salvaje. AAV-PAEC también es significativamente mejor en la transducción de células Huh7.5 que cualquiera de los AAV de tipo salvaje.

La titulación por hibridación sobre mancha es una titulación física que no depende del tipo de célula, sino que representa el número de partículas de AAV intactas que contienen el genoma de AAV en la preparación del vector. Usando la titulación por hibridación sobre mancha y el número de μl de cada preparación usados para transducir las células, se puede calcular la eficiencia de la transducción por número de genomas virales usados para la transducción (titulación de la transducción/vg). Con el fin de comparar mejor la eficiencia de la transducción de los nuevos aislados de AAV en células Huh7.5, se normalizó la eficiencia de la transducción con respecto a las titulaciones de vector obtenidas a partir de una hibridación sobre mancha. Los resultados se presentan en la Figura 25A. Los resultados también se pueden representar normalizando uno de los vectores a un valor de 1 (asignando un valor de 1 al vector con la transducción/vg más baja). Los resultados representados de esta manera se muestran en la Figura 25B. La Fig.

- 25B es una representación gráfica de la transducción/vg en células Huh7.5 normalizadas con respecto al vector con la transducción/vg más baja (en este caso AAV-LK04). Así presentado, el gráfico de la Fig. 25B muestra las veces de incremento en la transducción/vg en comparación con AAV-LK04 al que se le asignó el valor 1. La Figura 25C es una representación gráfica de la transducción/vg para los aislados de AAV y los AAV de tipo salvaje, sin normalizar el aislado más débil. A partir de estos datos, se puede ver que AAV-LK03 es 30 veces mejor para transducir células Huh7.5 que AAV-DJ.
- La Figura 26 es una representación gráfica de la transducción/vg para diversos aislados de AAV y los AAV de tipo salvaje en células 293 (los datos se muestran sin normalizar con respecto al aislado más débil). Estos datos muestran que AAV-LK06 es 30 veces mejor para transducir células Huh7.5 que AAV-DJ.
- La Figura 27 es una representación gráfica de la transducción/vg para aislados de AAV y los AAV de tipo salvaje en células NIH3T3 (los datos se muestran sin normalizar con respecto al aislado más débil). Estos datos muestran claramente que AAV-DJ y AAV-PAEC son los vectores más eficientes para transducir células NIH3T3.
- La Figura 28 es una representación gráfica de la transducción/vg para aislados de AAV seleccionados y los AAV de tipo salvaje en células de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF) (los datos se muestran sin normalizar con respecto al aislado más débil). Estos datos muestran claramente que AAV-DJ es el vector más eficiente para transducir células MEF.
- Los resultados de otra titulación por hibridación sobre mancha de varios aislados de AAVr en comparación con los AAV de tipo salvaje se presentan en la Figura 29.
- En la Figura 30 se ilustran los efectos neutralizantes del factor de crecimiento de hepatocitos en algunos AAV y aislados de rAAV.
- La Figura 31 muestra la eficiencia de la transducción de hepatocitos humanos primarios por aislados de AAV de tipo salvaje y AAVr seleccionados.
- La Figura 32 compara los niveles de expresión del factor IX humano recombinante (FIX) en ratones C57/BL6 inmunocompetentes a los que se inyectaron diversos AAV que expresaban FIX.
- La Figura 33 compara la capacidad de los aislados de AAVr seleccionados y los AAV de tipo salvaje para evitar la neutralización por la inmunoglobulina humana (IVIG).
- La Figura 34 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células 293.
- La Figura 35 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células Huh 7.5.
- La Figura 36 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células PAEC.
- La Figura 37 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en queratinocitos humanos primarios.
- La Figura 38 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células DND-41.
- La Figura 39 compara la eficiencia de la transducción de aislados de AAVr particulares con los AAV de tipo salvaje en células DND-41.
- La Figura 40 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células 3T3.
- La Figura 41 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células HeLa.
- La Figura 42 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células MEF.
- La Figura 43 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células H4TG.
- La Figura 44 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células LMH.
- La Figura 45 compara la eficiencia de la transducción de ciertos aislados de AAVr con los AAV de tipo salvaje en células FRhK-4.

La Figura 46 compara la transducción de diversas líneas celulares por varios vectores de AAV de tipo salvaje y recombinante que portan un casete de expresión de eGFP. La titulación de la transducción [TU/ml] se normalizó con respecto a la titulación de hibridación sobre mancha [vg/ml]. Para cada línea celular, al vector con la transducción normalizada más baja [TU/vg] se le asignó el valor 1 y se usó como base para la normalización de todos los demás vectores. El vector con el nivel de transducción normalizado más alto para cada línea celular se muestra en negrita. Se ensayaron diecinueve clones seleccionados de hepatocitos humanos.

Se identificaron varios AAVr mediante la selección en células PAEC humanas; estos fueron designados como AAV-PAEC2, AAV-PAEC4, AAV-PAEC6, AAV-PAEC7, AAV-PAEC8, AAV-PAEC11, AAV-PAEC12 y AAV-PAEC13. La Figura 47 presenta un esquema de la relación genealógica a nivel de ADN y a nivel de aminoácidos entre algunos de estos recombinantes de AAV-PAEC y los AAV de tipo salvaje usados para generar la biblioteca.

La Figura 48 muestra la titulación y la eficiencia de la transducción de varios aislados de AAVr obtenidos por la selección en células PAEC humanas en comparación con los AAV de tipo salvaje.

En resumen, se descubrió que varios de los AAVr tenían una mayor eficiencia de transducción de muchos tipos de células, incluyendo los hepatocitos humanos primarios y los queratinocitos humanos primarios, en comparación con el AAV-DJ eficiente y previamente conocido. En algunas realizaciones, se encontró que los AAVr tienen una eficiencia de la transducción al menos 10 a 50 veces mayor que AAV-DJ. Además, se encontró que los vectores AAVr tienen una resistencia mejorada a la neutralización por inmunoglobulina humana combinada en relación con AAV-2 (usado actualmente en entornos clínicos) y AAV-DJ. Dicha resistencia es razonable, dado que la cápside de AAVr se seleccionó de una biblioteca basándose parcialmente en su capacidad para producir virus que resisten la neutralización por inmunoglobulina humana. Los métodos de selección de la cápside de AAV y los nuevos AAVr identificados en la presente memoria y el uso de estos métodos resuelven el problema de la falta de eficacia exhibida por muchos enfoques de terapia génica y transferencia génica.

Listado de secuencias

<110> Lisowski, Leszek
Kay, Mark A.

<120> NUEVAS PROTEÍNAS DE LA CÁPSIDE DE AAV PARA LA TRANSFERENCIA DE ÁCIDOS NUCLEICOS

<130> STA-C-P1699EPD1

<140> desconocido

<141> 23-08-2012

<150> US 61/545.488

<151> 10-10-2011

<150> US 61/545.065

<151> 07-10-2011

<150> US 61/526.688

<151> 24-08-2011

<160> 56

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 2211

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 1

ES 2 857 773 T5

atggctgctg acggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctttctga aggcattcgt	60
gagtgggtggg ctctgaaacc tggagtcctt caacccaaag cgaaccaaca acaccaggac	120
aaccgtcggg gtcttgctgt tccgggttac aaatacctcg gacccggtta cggactcgac	180
aaaggagagc ccgtcaacgc ggcggatgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cggcgagttt	300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttcag	360
gccaagaaga gggttctcga accttttggg ctggttgagg aagggtgctaa gacggctcct	420
ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctcctc gggcatcggc	480
aagacaggcc agcagcccg ctaaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
tcagtccccg acccacaacc tctcggagaa cctccagcaa ccccgctgc tgtgggacct	600
actacaatgg cttcaggcgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cggcgacgga	660
gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
accaccagca ccgcacctg ggccttgccc acctacaata accacctcta caagcaaata	780
tccagtgcct caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag cccccctgg	840
gggtattttg atttcaacag attccactgc catttctcac cactgactg gcagcgactc	900
atcaacaaca attggggatt ccggcccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa	960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag cttccgtacg tcctcggctc tgcgcaccag	1080
ggctgcctcc ctcggttccc ggcggacgtg ttcatgattc cgcaatacgg ctacctgacg	1140
ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcatcctttt actgcctgga atatttccct	1200
tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacctttga ggaagtgcct	1260
ttccacagca gctacgcgca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatcgac	1320
caatacctgt attacctgaa cagaactcaa aatcagtcgg gaagtgccca aaacaaggac	1380
ttgctgttta gccgtgggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct	1440
ggaccctggt atcggcgacga gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat	1500
tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac ctcaatgggc gtgaatccat catcaacct	1560
ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgtgtc	1620
atgatttttg gaaaagagag gcgcggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatt	1680
acagacgaag aggaaattaa agccactaac cctgtggcca ccgaaagatt tgggaccgtg	1740
gcagtcaatt tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgttatggga	1800
gccttacctg gaatgggtgt gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc tatttgggcc	1860
aaaattcctc acacggatgg acactttcac ccgtctcctc tcatgggcgg ctttggactt	1920
aagcaccgc ctcctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcttcgcaa tcctccggca	1980
gagttttcgg ctacaaagtt tgcttcattc atcaccaggt attccacagg acaagtgagc	2040
gtggagattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaaac gctggaatcc cgaagtgcag	2100
tatacatcta actatgcaaa atctgccaac gttgatttca ctgtggacaa caatggactt	2160
tatactgagc ctgcgcccat tggcaccggt tacctcaccg gtcccctgta a	2211

<210> 2
 <211> 2214
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia recombinante

<400> 2
 atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca accttagtga aggaattcgc 60
 gagtgggtggg ctttgaaacc tggagcccct caaccaagg caaatcaaca acatcaagac 120
 aacgctcgag gtcttggtct tccgggttac aaataccttg gaccggcaa cggactcgac 180
 aaggggggagc cgggtcaacgc agcagacgcg gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac 240

ES 2 857 773 T5

cagcagctgc agggcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccgagttt 300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc ttggcagagc agtcttccag 360
gccaaaaaga ggatccttga gcctcttggt ctggttgagg aagcagctaa aacggctcct 420
ggaaagaaga ggctcttaga tcagtctcct caggaaccgg actcatcatc tgggtgttggc 480
aaatcgggca aacagcctgc cagaaaaaga ctaaatttgc gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtcccag accctcaacc tctcggagaa ccaccagcag ccccccacaag tttgggatct 600
aatacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaggg tgccgatggg 660
gtgggtagtt cctcgggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctggggga cagagtcato 720
accaccagca ccgaacctg ggccctgccc acctacaaca atcacctcta caagcaaato 780
tccaacggga catcgggagg agccaccaac gacaacacct acttcggcta cagcaccccc 840
tgggggtatt ttgactttta cagattccac tgccactttt caccacgtga ctggcagcga 900
ctcatcaaca acaactgggg attccggccc aagagactca gcttcaagct cttcaacatc 960
caggtcaagg aggtcacgca gaatgaaggc accaagacca tcgccaataa cctcaccagc 1020
accatccagg tgtttacgga ctcgagtagc cagctgccgt acgttctcgg ctctgcgcac 1080
cagggctgcc tccctccgtt cccggcggac gtgttcatga ttccgcaata cggctacctg 1140
acgtcacaaca atggcagcca agccgtggga cgttcatcct tttactgcct ggaatatctc 1200
ccttctcaga tgctgagaac gggcaacaac tttaccttca gctacacctt tgaggaagtg 1260
cctttccaca gcagctacgc gcacagccag agcttggacc ggctgatgaa tcctctgatt 1320
gaccagtacc tgtactactt gtctcggact caaacaacag gaggcacggc aaatacgcag 1380
actctgggct tcagccaagg tgggcctaata acaatggcca atcaggcaaa gaactggctg 1440
ccaggacctt gttaccgcca acaacgcgtc tcaacgacaa cggggcaaaa caacaatagc 1500
aactttgcct ggactgctgg gaccaaatac catctgaatg gaagaaattc attggctaata 1560
cctggcatcg ctatggcaac acacaaagac gacgaggagc gtttttttcc cagtaacggg 1620
atcctgattt ttggcaaaca aaatgctgcc agagacaatg cggattacag cgatgtcatg 1680
ctcaccagcg aggaagaat caaaaccact aacctgtgg ctacagagga atacggtatc 1740
gtggcagata acttgacgca gcaaaacacg gctcctcaa ttggaactgt caacagccag 1800
ggggccttac ccggtatggt ctggcagaac cgggacgtgt acctgcaggg tcccatctgg 1860
gccaagattc ctcacacgga cggcaacttc caccctctc cgctgatggg cggttttggc 1920
ctgaaacatc ctccgcctca gatcctgac aagaacacgc ctgtacctgc ggatcctccg 1980
accaccttca accagtcaaa gctgaactct ttcacacgc aatacagcac cggacaggtc 2040
agcgtggaga tcgagtggga gctgcagaag gaaaacagca agcgtggaa cccggagatc 2100
cagtacactt ccaactatta caagtctaata aatgttgaat ttgctgttaa tactgaaggt 2160
gtatatagtg aaccccgccc cattggcacc agatacctga ctcgtaatct gtaa 2214

- 5 <210> 3
- <211> 2211
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 10 <223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 3

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
gagtgggggg acttgaaacc tggagccccg aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac	120
gacggccggg gtctgggtgct tcttggttac aagtacctcg gaccttcaa cggactcgac	180
aagggggagc ccgtcaacgc ggcggacgca gcggccctcg agcagacaaa ggcctacgac	240
cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgcagagttt	300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag	360
gccaagaagc gggttctcga acctctcggt ctggttgagg aaggcgctaa gacggctcct	420
ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgccca caagagccag actcctcctc gggcatcggc	480
aagacaggcc agcagcccg ctaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
tcagtccccg acccacaacc tctcggagaa cctccagcaa ccccgctgc tgtgggacct	600
actacaatgg cttcaggcgg tggcgacca atggcagaca ataacgaag cgcgcagcga	660
gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac	720
accaccagca cccgaacatg ggccttgccc acctataaca accacctcta caagcaaac	780
tccagtgcct caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag cccccctgg	840
gggtattttg atttcaacag attccactgc catttctcac cacgtgactg gcagcgactc	900
atcaacaaca attggggatt ccggcccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa	960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ctgccgtacg ttctcggctc tgcccaccag	1080
ggctgcctgc ctccgttccc ggcggacgtg ttcatgattc cccagtacgg ctacctaaca	1140
ctcaacaacg gtagtcaggc cgtgggacgc tctccttct actgcctgga atactttcct	1200
tcgcagatgc tgagaaccgg caacaacttc cagtttactt acaccttcga ggacgtgcct	1260
ttccacagca gctacgccc cagccagagc ttggaccggc tgatgaatcc tctgattgac	1320
cagtacctgt actacttgtc toggactcaa acaacaggag gcacggcaaa tacgcagact	1380
ctgggcttca gccaagggtg gcctaataca atggccaatc aggcaaagaa ctggctgcca	1440
ggacctgtt accgccaaca acgcgtctca acgacaaccg ggcaaaacaa caatagcaat	1500

ES 2 857 773 T5

```

tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac ctcaatgggc gtgaatccat catcaaccct 1560
ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc 1620
atgatttttg gaaaagagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatt 1680
acagacgaag aggaaattaa agccactaac cctgtggcca ccgaaagatt tgggaccgtg 1740
gcagtcaatt tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgctatggga 1800
gcattacctg gcatggtgtg gcaagataga gacgtgtacc tgcaggggcc catttgggcc 1860
aaaattcctc acacagatgg acactttcac ccgtctcctc ttatgggcgg ctttggaactc 1920
aagaaccgcg ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttctgcgaa tctccggcg 1980
gagttttcag ctacaaagtt tgcttcattc atcacccaat actccacagg acaagtgagt 2040
gtggaaattg aatgggagct gcagaaagaa aacacgaagc gctggaatcc cgaagtgcag 2100
tacacatcca attatgcaaa atctgccaac gttgatttta ctgtggacaa caatggactt 2160
tatactgagc ctgcgcccat tggcaccggt tacctcaccg gtcccctgta a 2211

```

<210> 4

<211> 2211

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 4

```

atggctgctg acggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctttctga aggcattcga 60
gagtgggtgg cgctgcaacc tggagcccct aaacccaagg caaatcaaca acatcaggac 120
aacgctcggg gtcttgtgct tccgggttac aaatacctcg gacccggcaa cggactcgac 180
aagggggaac ccgtcaacgc agcggacgcg gcagccctcg agcacgacaa ggcctacgac 240
cagcagctca aggcgggtga caaccctac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc 300
caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag 360
gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggg ctggttgagg aagcggctaa gacggctcct 420
ggaaagaaga ggcctgtaga tcagtctcct caggaaccgg actcatcatc tgggtgtggc 480
aatcgggca aacagcctgc cagaaaaaga ctaaatttcg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtcccag acctcaacc tctcgagaa ccaccagcag ccccccacaag tttgggatct 600
aatacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaggg tgccgatgga 660
gtgggtaatt cctcaggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctgggcga cagagtcac 720
accaccagca ccagaacctg ggccctgccc acttacaaca accatctcta caagcaaata 780
tccagccaat caggagcttc aaacgacaac cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
tattttgact ttaacagatt ccactgccac ttctcaccac gtgactggca gcgactcatt 900

```

ES 2 857 773 T5

```

aacaacaact ggggattccg gccaagaaa ctacagttca agctcttcaa catccaagtt 960
aaagagggtca cgcagaacga tggcacgacg actattgcc aataaccttac cagcacggtt 1020
caagtgttta cggactcgga gtatcagctc ccgtacgtgc tcgggtcggc gcaccaaggc 1080
tgtctccgc cgtttccagc ggacgtcttc atggtccttc agtatggata cctcacctcg 1140
aacaacggaa gtcaagcggg gggacgctca tccttttact gcctggagta cttcccttgc 1200
cagatgctaa ggactggaaa taacttccaa ttacagctata ctttcgagga tgtacctttt 1260
cacagcagct acgctcacag ccagagtttg gatcgcttga tgaatcctct tattgatcag 1320
tatctgtact acctgaacag aacgcaagga acaacctctg gaacaaccaa ccaatcacgg 1380
ctgcttttta gccaggctgg gcctcagctc atgtctttgc aggccagaaa ttggctacct 1440
gggccttgc accggcaaca gagactttca aagactgcta acgacaacaa caacagtaac 1500
tttccttggg cagcggccag caaatatcat ctcaatggcc gcgactcgct ggtgaatcca 1560
ggaccagcta tggccagtc caaggacgat gaagaaaaat ttttccttat gcacggcaat 1620
ctaataattg gcaaagaagg gacaacggca agtaacgcag aattagataa tgtaatgatt 1680
acggatgaag aagagattcg taccaccaat cctgtggcaa cagagcagta tggaactgtg 1740
gcaaataact tgcaagctc aaatacagct cccacgacta gaactgtcaa tgatcagggg 1800
gccttacctg gcatggtgtg gcaagatcgt gacgtgtacc ttcaaggacc tatctgggca 1860
aagattcctc acacggatgg acactttcat ccttctctc tgatgggagg ctttggactg 1920
aaacatccgc ctctcaaat catgatcaa aatactccg taccggcaaa tcctccgacg 1980
actttcagcc cggccaagtt tgcttcatat atcactcagt actccactgg acaggtcagc 2040
gtggaaattg agtgggagct acagaaagaa aacagcaaac gttggaatcc agagattcag 2100
tacacttcca actacaacaa gtctgttaat gtggacttta ctgtagacac taatggtgtt 2160
tatagtgaac ctgcgcccat tggcaccgt taccttacc gtccctgtg a 2211

```

<210> 5

<211> 2211

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 5

```

atggctgccg atggttatct tcagattgg ctgaggaca accttagtga aggaattcgc 60
gagtgtggg ctttgaaacc tggagccct caaccaagg caaatcaaca acatcaagac 120
aacgctcgag gtcttgtgtc tcgggttac aaataccttg gaccggcaa cggactcgac 180
aagggggagc cggccaacgc agcagacgcg gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac 240

```

10

ES 2 857 773 T5

cagcagctca aggccggaga caaccggtac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc 300
caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttcag 360
gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggt ctggttgagg aagcggctaa gacggctcct 420
ggaaagaaga gaccggtaga gccatcacc cagcgttctc cagactcctc tacgggcac 480
ggcaagaag gccaacagcc cgctaaaaag agactcaatt ttggtcagac tggcgactca 540
gagtcagtcc ccgaccacaca acctctcgga gaacctccag caacccccgc tgctgtggga 600
cctactacaa tggcttcagg cgggtggcgca ccaatggcag acaataacga ggggtgccgat 660
ggagtgggta attcctcagg aaattggcat tgcgattccc aatggctggg cgacagagtc 720
atcaccacca gcaccagaac ctggggccctg cccacttaca acaaccatct ctacaagcaa 780
atctccagcc aatcaggagc ttcaaacgac aaccactact ttggctacag cacccttgg 840
gggtattttg actttaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcaaagactc 900
atcaacaaca actggggatt ccgacccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa 960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg 1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ttgcggtacg tctcggctc tgcgcaccag 1080
ggctgcctcc ctccgttccc ggcggacgtg ttcattgatc cgcagtacgg ctacctaacg 1140
ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcatcctttt actgcctgga atatttcct 1200
tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacttttga ggacgttcct 1260
ttccacagca gctacgctca cagccagagt ctggaccgtc tcatgaatcc tctcatcgac 1320
cagtacctgt attacttgag cagaacaaac actccaagtg gaaccaccac gcagtcaagg 1380
cttcagtttt ctccaggccg agcgagtgaac attcgggacc agtctaggaa ctggcttctc 1440
ggaccctgtt accgccagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat 1500
tttacctgga ctgggtgctc aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaaccct 1560
ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc 1620
atgatttttg gaaaagagag cgcgggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatt 1680
acagacgaag aggaaattaa agccactaac cctgtggcca ccgaaagatt tgggaccgtg 1740
gcagtcaatt tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgttatggga 1800
gccttacctg gaatgggtgt gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc tatttgggcc 1860
aaaattcctc acacggatgg acactttcac ccgtctcctc ttatgggagg ctttggaactc 1920
aagaacccgc ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttcctgcgaa tcctccggcg 1980
gagttttcag ctacaaagtt tgcttcattc atcaccat actccacagg acaagtgagt 2040
gtggaaattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaagc gctggaatcc cgaagtgcag 2100
tacacatoca attatgcaaa atctgccaac gttgatttta ctgtggacaa caatggactt 2160
tatactgagc ctgcgcccat tggcaccogt taccttaccg gtccctgtg a 2211

<210> 6
<211> 2211
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

ES 2 857 773 T5

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 6

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
gagtgtgtggg acttgaaacc tggagcccct aaacccaagg caaatcaaca acatcaggac	120
aacgctcgag gtcttgtgct tccgggttac aaataccttg gacccggcaa cggactcgac	180
aagggggagc cggccaacgc agcagacgcg gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
cagcagctca aggcgggaga caacccttac ctcaagtaca accacgccga cgcagagttc	300
caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag	360
gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggt ctggttgagg aagcggctaa gacggctcct	420
ggaaagaaga gaccggtaga gccatcacc cagcgttctc cagactcctc tacgggcatc	480
ggcaagaag gccaacagcc cgctaaaaag agactcaatt ttggtcagac tggcgactca	540
gagtcagtcc ccgaccaca acctctcgga gaacctccag caacccccgc tgctgtggga	600
cctactacaa tggcttcagg cgggtggcgca ccaatggcag acaataacga ggggtgccgat	660
ggagtgggta attcctcagg aaattggcat tgcgattccc aatggctggg cgacagagtc	720
atcaccacca gcaccagaac ctggggccctg ccacttaca acaaccatct ctacaagcaa	780
atctccagcc aatcaggagc ttcaaacgac aaccactact ttggctacag cacccttggt	840
gggtattttg actttaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcaaagactc	900
atcaacaaca actggggatt ccgacccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa	960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ttgccgtacg tcctcggctc tgcgcaccag	1080
ggctgcctcc ctccgttccc ggcggacgtg ttcatgattc cgcagtacgg ctacctaacg	1140
ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcatcctttt actgcctgga atatttccct	1200
tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacttttga ggacgttcct	1260
ttccacagca gctacgctca cagccagagt ctggaccgtc tcatgaatcc cctcatcgac	1320
cagtacctgt attacttgag cagaacaaac actccaagtg gaaccaccac gcagtcaagg	1380
cttcagtttt ctcaggccgg agcgagtgc attcgggacc agtctaggaa ctggcttcct	1440
ggaccctgtt accggcgaca gcgcgtttct aaaacaaaa cagacaacaa caacagcaac	1500

ES 2 857 773 T5

tttacctgga	ctggtgcttc	aaaatataac	cttaatgggc	gtgaatctat	aatcaaccct	1560
ggcactgcta	tggcctcaca	caaagacgac	gaagacaagt	tctttcccat	gagcgggtgc	1620
atgatttttg	gaaaggagag	cgccggagct	tcaaacactg	cattggacaa	tgtcatgac	1680
acagacgaag	aggaaatcaa	agccactaac	cccgtggcca	ccgaaagatt	tgggactgtg	1740
gcagtcaatc	tccagagcag	cagcacagac	cctgcgaccg	gagatgtgca	tgttatggga	1800
gccttacctg	gaatgggtgtg	gcaagacaga	gacgtgtacc	tgcaggggcc	tatttgggcc	1860
aaaattcctc	acacggatgg	acactttcac	ccgtctcctc	tcatgggcgg	ctttggactt	1920
aagcaccggc	ctcctcagat	cctcatcaaa	aacacgcctg	ttcctgcgaa	tcctccggca	1980
gagttttcgg	ctacaaagtt	tgcttcattc	atcaccaggt	attccacagg	acaagtgagt	2040
gtggaaattg	aatgggagct	gcagaaagaa	aacacgaagc	gctggaatcc	cgaagtgcag	2100
tacacatcca	attatgcaaa	atctgccaac	gttgatttta	ctgtggacaa	caatggactt	2160
tatactgagc	ctcgcccat	tggcaccggt	tacctcacc	gtccctgta	a	2211

<210> 7

<211> 2214

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 7

atggctgccg	atggttatct	tcagattgg	ctcgaggaca	accttagtga	aggaattcgc	60
gagtgggtggg	ctttgaaacc	tggagccct	caacccaagg	caaatcaaca	acatcaagac	120
aacgctcgag	gtcttgtgct	tccgggttac	aaataccttg	gacccggcaa	cggaactcgac	180
aagggggagc	cggtcaacgc	agcagacgcg	gcgccctcgc	agcagacaaa	ggcctacgac	240
cagcagctgc	aggcgggtga	caatccgtac	ctgcggtata	accacgccga	cgccgagttt	300
caggagcgtc	tgcaagaaga	tacgtctttt	gggggcaacc	ttggcagagc	agtcttccag	360
gccaaaaaga	ggatccttga	gcctcttgg	ctggttgagg	aagcagctaa	aacggctcct	420
ggaaagaaga	ggcctgtaga	tcagtctcct	caggaaccgg	actcatcatc	tgggtgtggc	480
aatcgggca	aacagcctgc	cagaaaaaga	ctaaatttcg	gtcagactgg	cgactcagag	540
tcagtcccag	accctcaacc	tctcggagaa	ccaccagcag	ccccacaaag	tttgggatct	600
aatacaatgg	cttcaggcgg	tggcgcacca	atggcagaca	ataacgaggg	tgccgatggg	660
gtgggtagtt	cctcgggaaa	ttggcattgc	gattcccaat	gactggggga	cagagtcac	720
accaccagca	cccgaacctg	ggccctgccc	acctacaaca	atcacctcta	caagcaaata	780
tccaacggga	catcgggagg	agccaccaac	gacaacacct	acttcggcta	cagcaccccc	840
tgggggtatt	ttgactttta	cagattccac	tgccactttt	caccacgtga	ctggcagcga	900

ctcatcaaca acaactgggg attccggccc aagagactca gcttcaagct cttcaacatc 960
caggtcaagg aggtcacgca gaatgaaggc accaagacca tcgccaataa cctcaccagc 1020
accatccagg tgtttacgga ctcgaggtac cagctgccgt acgttctcgg ctctgcgcac 1080
cagggctgcc tcctccggtt cccggcgagc gtgttcatga ttccgcaata cggctacctg 1140
acgctcaaca atggcagcca agccgtggga cgttcatcct tttactgcct ggaatatttc 1200
ccttctcaga tgctgagaac gggcaacaac tttaccttca gctacacctt tgaggaagtg 1260
cctttccaca gcagctacgc gcacagccag agcttgagcc ggctgatgaa tcctctgatt 1320
gaccagtacc tgtactactt gtctcggact caaacaacag gaggcacggc aaatacgcag 1380
actctgggct tcagccaagg tgggcctaata acaatggcca atcaggcaaa gaactggctg 1440
ccaggaccct gttaccgcca acaacgcgtc tcaacgacaa ccgggcaaaa caacaatagc 1500
aactttgcct ggactgctgg gaccaaatac catctgaatg gaagaaattc attggctaata 1560
cctggcatcg ctatggcaac acacaaagac gacgaggagc gtttttttcc cagtaacggg 1620
atcctgattt ttggcaaaca aaatgctgcc agagacaatg cggattacag cgatgtcatg 1680
ctcaccagcg aggaagaaat caaaaccact aaccctgtgg ctacagagga atacggtatc 1740
gtggcagata acttgacgca gcaaaacacg gctcctcaaa ttggaactgt caacagccag 1800
ggggccttac ccggtatggt ctggcagaac cgggacgtgt acctgcaggg tcccatctgg 1860
gccaagattc ctcacacgga cggcaacttc caccctgtct cgtctgatgg cggctttggc 1920
ctgaaacatc ctccgcctca gatcctgatc aagaacacgc ctgtacctgc ggatcctccg 1980
accaccttca accagtcaaa gctgaactct ttcacacgc aatacagcac cggacaggtc 2040
agcgtggaga tcgagtggga gctgcagaag gaaaacagca agcgttgga cccggagatc 2100
cagtacactt ccaactatta caagtctaata aatgttgaat ttgctgttaa tactgaaggt 2160
gtatatagtg aaccccgccc cattggcacc agatacctga ctcgtaatat gtaa 2214

<210> 8

<211> 2214

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 8

atggctgcgc atggttatct tcagattgg ctcgaggaca accttagtga aggaattcgc 60
gagtgtggg ctttgaaacc tggagccct caaccaagg caaatcaaca acatcaagac 120
aacgctcgag gtcttgtgct tcgggttac aaataccttg gaccggcaa cggactcgac 180
10 aagggggagc cggccaacgc agcagacgcg gcggccctcg agcacgacaa ggctacgac 240

ES 2 857 773 T5

cagcagctgc aggcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgcgagttt 300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc ttggcagagc agtcttccag 360
gccaaaaaga ggatccttga gcctcttggg ctgggttgagg aagcagctaa aacggctcct 420
ggaaagaaga ggctgtaga tcagtctcct caggaaccgg actcatcatc tgggtttggc 480
aaatcgggca aacagcctgc cagaaaaaga ctaaatttcg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtcccag accctcaacc tctcggagaa ccaccagcag cccccacaag tttgggatct 600
aatacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaggg tgcgatggg 660
gtgggtagtt cctcgggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctggggga cagagtcac 720
accaccagca cccgaacctg ggccctgcc acctacaaca atcacctcta caagcaaact 780
tccaacggga catcgggagg agccaccaac gacaacacct acttcggcta cagcaccccc 840
tgggggtatt ttgactttaa cagattccac tgccactttt caccacgtga ctggcagcga 900
ctcatcaaca acaactgggg attccggccc aagagactca gcttcaagct cttcaacatc 960
caggtcaagg aggtcacgca gaatgaaggc accaagacca tcgccaataa cctcaccagc 1020
accatccagg tgtttacgga ctcggtgtac cagctgccgt acgttctcgg ctctgcgcac 1080
cagggctgcc tccctccgtt cccggcgac gtgttcatga ttccgcaata cggtacctg 1140
acgtcaaca atggcagcca agcgtggga cgttcatcct tttactgcct ggaatatttc 1200
ccttctcaga tgctgagaac gggcaacaac ttaccttca gctacacctt tgaggaagtg 1260
ccttttcaca gcagctacgc gcacagccag agcttgacc ggctgatgaa tcctctgatt 1320
gaccagtacc tgtactactt gtctcggact caaacaacag gaggcacggc aaatacgag 1380
actctgggct tcagccaagg tgggcctaata acaatggcca atcaggcaaa gaactggctg 1440
ccaggacctt gttaccgcca acaacgcgtc tcaacgacaa ccggggcaaaa caacaatagc 1500
aactttgcct ggactgctgg gaccaaatac catctgaatg gaagaaattc attggctaata 1560
cctggcatcg ctatggcaac acacaaagac gacgaggagc gtttttttcc cagtaacggg 1620
atcctgattt ttggcaaaaca aaatgctgcc agagacaatg cggattacag cgatgtcatg 1680
ctcaccagcg aggaagaaat caaaaccact aacctgtgg ctacagagga atacggtatc 1740
gtggcagata acttgagca gcaaaacacg gctcctcaa ttggaactgt caacagccag 1800
ggggccttac ccggtatgg ctggcagaac cgggacgtgt acctgcaggg tcccatctgg 1860
gccaagattc ctcacacgga cggcaacttc caccgtctc cgctgatggg cggttttggc 1920
ctgaaacatc ctccgcctca gatcctgac aagaacacgc ctgtacctgc ggatcctccg 1980
accaccttca accagtcaaa gctgaactct ttcacacgc aatacagcac cggacaggtc 2040
agcgtggaga tcgagtggga gctgcagaag gaaaacagca agcgtggaa cccggagatc 2100
cagtacactt ccaactatta caagtctaataaatgttgaa ttgctgttaa tactgaaggt 2160
gtatatagtg aacccgcgcc cattggcacc agatacctga ctogtaactc gtaa 2214

<210> 9

<211> 2211

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 9

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
gagtgggtggg acttgaaacc tggagcccct aaacccaagg caaatcaaca acatcaggac	120
aacgctcgag gtcttgtgct tccgggttac aaataccttg gacccggcaa cggactcgac	180
aagggggagc cgggtcaacgc agcagacgcg gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
cagcagctca aggccggaga caaccgcgtac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc	300
caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag	360
gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggg ctggttgagg aagcggctaa gacggctcct	420
ggaaagaaga gaccggtaga gccatcacc cagcgttctc cagactcctc tacgggcatc	480
ggcaagaaag gccaacagcc cgctaaaaag agactcaatt ttggtcagac tggcgactca	540
gagtcagtc cgcaccaca acctctcgga gaacctccag caacccccgc tgctgtggga	600
cctactacaa tggcttcagg cggtggcgca ccaatggcag acaataacga gggtgccgat	660
ggagtgggta attcctcagg aaattggcat tgcgattccc aatggctggg cgacagagtc	720
atcaccacca gcaccagaac ctggggccctg cccacttaca acaaccatct ctacaagcaa	780
atctccagcc aatcaggagc ttcaaacgac aaccactact ttggctacag cacccttgg	840
gggtattttg actttaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcaaagactc	900
atcaacaaca actggggatt ccgacccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa	960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ttgccgtacg tcctcggctc tgcgcaccag	1080
ggctgcctcc ctccgttccc ggcggaactg ttcattgattc cgcagtaagg ctacctaacg	1140
ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcatcctttt actgcctgga atatttccct	1200
tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacttttga ggacgttctt	1260
ttccacagca gctacgctca cagccagagt ctggaccgtc tcatgaatcc tctcatcgac	1320
cagtacctgt attacttgag cagaacaaac actccaagtg gaaccaccac gcagtcaagg	1380
cttcagtttt ctcaggccgg agcgagtgac attcgggacc agtctaggaa ctggcttctt	1440
ggaccctgtt accgccagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat	1500

ES 2 857 773 T5

```

tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac cttaatgggc gtgaatctat aatcaaccct 1560
ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc 1620
atgatttttg gaaaagagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgatt 1680
acagacgaag aggaaattaa agccactaac cctgtggcca ccgaaagatt tgggaccgtg 1740
gcagtcaatt tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgctatggga 1800
gcattacctg gcatggtgtg gcaagataga gacgtgtacc tgcaggggcc catttgggcc 1860
aaaattcctc acacagatgg acactttcac ccgtctcctc ttatgggcgg ctttggaactc 1920
aagaacccgc ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttctgcgaa tctccggcg 1980
gagttttcag ctacaaagtt tgcttcattc atcacccaat actccacagg acaagtgagt 2040
gtggaaattg aatgggagct gcagaaagaa aacacgaagc gctggaatcc cgaagtgcag 2100
tacacatcca attatgcaaa atctgccaac gttgatttta ctgtggacaa caatggactt 2160
tatactgagc ctgcgcccat tggcaccggt taccttaccg gtcccctgta a 2211

```

<210> 10

<211> 2211

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 10

```

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca accttagtga aggaattcgc 60
gagtgggtggg cgctgaaacc tggagccccc aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac 120
gacggccggg gtctggtgct tccgggttac aaatacctcg gacccggtaa cggactcgac 180
aaagagagagc cggtcaacga ggcggacgcg gcagccctcg agcagacaa ggcctacgac 240
cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccgagttt 300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag 360
gccaagaagc gggttctcga acctctcggg ctggttgagg aaggcgctaa gacggctccc 420
ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctctac gggcatcggc 480
aagaaaggcc aacagcccg cagaaaaaga ctcaatttcg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagttccag acctcaacc tctcgagaa cctccagcag cgccctctgg tgtgggacct 600
actacaatgg cttcaggcgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cgccgacgga 660
gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcga cagagtcac 720
accaccagca cccgaacatg ggccttgccc acctataaca accacctcta caagcaaata 780
tccagtgtct caacgggggc cagcaacgac aacacctact tcggctacag cccccctgg 840
gggtattttg atttcaacag attccactgc catttctcac cacgtgactg gcagcgactc 900

```

ES 2 857 773 T5

```

atcaacaaca attggggatt cgggccaag agactcaact tcaaactctt caacatccaa      960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg    1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ttgccgtacg tcctcggctc tgcgcaccag    1080
ggctgcctcc ctccgttccc ggcggacgtg ttcatgattc cgcagtacgg ctacctaacg    1140
ctcaacaatg gcagccaggc agtgggacgg tcatcctttt actgcctgga atatttccca    1200
tcgcagatgc tgagaacggg caataacttt accttcagct acaccttcga ggacgtgcct    1260
ttccacagca gctacgcgca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatcgac    1320
cagtacctgt attacctgaa cagaactcag aatcagtcgg gaagtgccca aaacaaggac    1380
ttgctgttta gccgggggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct    1440
ggaccctgtt atcggcgacg gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat    1500
tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac ctcaatgggc gtgaatccat catcaaccct    1560
ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgtgtc    1620
atgatttttg gaaaagagag cgccggagct tcaaactcgt cattggacaa tgtcatgatt    1680
acagacgaag aggaaattaa agccactaac cctgtggcca ccgaaagatt tgggaccgtg    1740
gcagtcaatt tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgttatggga    1800
gccttacctg gaatggtgtg gcaagacaga gacgtatacc tgcagggtcc tatttgggcc    1860
aaaattcctc acacagatgg acactttcac ccgtctctc ttatgggcgg ctttggaactc    1920
aagaaccgcg ctccctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttctcgcgaa tcctccggca    1980
gagttttcgg ctacaaagtt tgcttcattc atcaccagc attccacag acaagtgagc    2040
gtggagattg aatgggagct gcagaaagaa aacagcaaac gctggaatcc cgaagtgcag    2100
tatacatcta actatgcaaa atctgccaac gttgatttca ctgtggacaa caatggactt    2160
tatactgagc ctgcgcccat tggcaccggt tacctcacc gtccctgtg a                2211

```

<210> 11

<211> 2205

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 11

```

atggctgctg acggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctttctga aggcattcgt      60
gagtgtgtgg ctctgaaacc tggagtccct caacccaaag cgaaccaaca acaccaggac    120
aaccgtcggg gtcttgtgct tccgggttac aaatacctcg gaccgggtaa cggactcgac    180
aaaggagagc cgggtcaacga ggcggacgcg gcagccctcg aacacgacaa ggccctacgac    240

```

10

ES 2 857 773 T5

```

cagcagctca aggccggaga caaccgtac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc 300
caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggggcagc agtcttcag 360
gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggg ctgggttagg aagcggctaa gacggctcct 420
ggaaagaaga ggctgtaga gcagtctcct caggaaccgg actcctccgc ggtattggc 480
aaatcgggtg cacagccgc taaaaagaga ctcaatttcg gtcagactgg cgacacagag 540
tcagtcccag acctcaacc aatcggagaa cctccgcag cccctcagg tgtgggatct 600
cttacaatgg cttcaggtgg tggcgacca gtggcagaca ataacgaagg tgcgatgga 660
gtgggtagtt cctcgggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctggggga cagagtcac 720
accaccagca cccgaacctg ggccctgcc acctacaaca accacctcta caaacaatt 780
tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca gcgactcatc 900
aacaacaact ggggattccg gcccaagaga ctcagcttca agctcttcaa catccaggtc 960
aaagaggtta cggacaacaa tggagtcaag accatcgcca ataaccttac cagcacggtc 1020
caggtcttca cggactcaga ctatcagctc ccgtacgtgc tcgggtcggc tcacgagggc 1080
tgctccgc cgttccagc ggacgtttt atgattcctc agtacgggta tctgacgctt 1140
aatgatggaa gccaggccgt gggtcgttcg tccttttact gcctggaata tttcccgctg 1200
caaatgctaa gaacgggtaa caacttcag ttccagctacg agtttgagaa cgtaccttc 1260
catagcagct acgctcacag ccaaagcctg gaccgactaa tgaatccact catcgaccaa 1320
tacttgact atctctcaa gactattaac ggttctggac agaataca aacgtaaaa 1380
ttcagtgtgg ccggaccag caacatggct gtccaggaa gaaactacat acctggacc 1440
agctaccgac aacaacgtgt ctcaaccact gtgactcaa acaacaacag cgaatttgct 1500
tggcctggag cttctctttg ggctctcaat ggacgtaata gcttgatgaa tcctggacct 1560
gctatggcca gccacaaaga aggagaggac cgtttcttct ctttgtctgg atctttaatt 1620
tttggcaaac aaggaaactg aagagacaac gtggatgagg acaaagtcac gataaccaac 1680
gaagaagaaa ttaaaactac taaccggta gcaacggagt cctatggaca agtggccaca 1740
aaccaccaga gtgccaagc acaggcgcag accggctggg ttcaaaacca aggaatactt 1800
ccgggtatgg tttggcagga cagagatgtg tacctgcaag gaccatctg ggccaagatt 1860
cctcacagg acggcaactt ccaccgtct ccgctgatgg gggccttgg cctgaaacat 1920
cctccgctc agatcctgat caagaacacg cctgtacctg cggatcctcc gaccacctc 1980
aaccagtcaa agctgaactc tttcatcacg caatacagca ccggacagg cagcgtggaa 2040
attgaatggg agctgcagaa ggaaaacagc aagcgtgga atccgaagt gcagtataca 2100
tctaactatg caaaatctgc caacgttgat ttcactgtgg acaacaatgg actttatact 2160
gagcctgcc ccattggcac ccgttacctc acccgctccc tgtaa 2205

```

<210> 12

<211> 2211

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 12
atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc 60
gagtgggggg cgctgaaacc tggagccccc aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac 120
gacggccggg gtctgggtgct tcttggttac aagtaacctg gacccttcaa cggactcgac 180
aaggggggagc ccgtcaacgc ggcggacgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac 240
cagcagctgc aggcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgcagagttt 300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag 360
gccaagaagt gggttctcga acctctcggc ctggttgagg aaggcgctaa gacggctcct 420
ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgccca caagagccag actcctcctc gggcatcggc 480
aagacaggcc agcagcccg ctaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtccccg acccacaacc tctcggagaa cctccagcaa ccccgctgc tgtgggacct 600
actacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaag cgcgcagcga 660
gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggcca cagagtcac 720
accaccagca cccgcacctg ggccttgccc acctacaata accacctcta caagcaaata 780
tccagtgcct caacgggggc cagcaacgac aaccactact tcggctacag cccccctgg 840
gggtattttg atttcaacag attccactgc catttctcac cacgtgactg gcagcgactc 900
atcaacaaca attggggatt ccggcccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa 960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acaaccatcg ctaataacct taccagcacg 1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtagcag cttccgtacg tcctcggctc tgcgcaccag 1080
ggctgcctcc ctccgttccc ggcggacgtg tcatgatctc cgcaatacgg ctacctgacg 1140
ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcatcctttt actgcctgga atatttccct 1200
tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacctttga ggaagtgcct 1260
ttccacagca gctacgcgca cagccagagc ctggaccggc tgatgaatcc tctcatcgac 1320
caatacctgt attacctgaa cagaactcaa aatcagtcgg gaagtgccca aaacaaggac 1380
ttgctgttta gccgtgggtc tccagctggc atgtctgttc agcccaaaaa ctggctacct 1440
ggaccctgtt atcggcagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat 1500

ES 2 857 773 T5

```

tttacctgga ctggtgcttc aaaatataac ctcaatgggc gtgaatccat catcaaccct 1560
ggcactgcta tggcctcaca caaagacgac gaagacaagt tctttcccat gagcgggtgc 1620
atgatTTTTg gaaaggagag cgccggagct tcaaacactg cattggacaa tgtcatgac 1680
accgacgaag aggaaatcaa agccactaac cccgtggcca ccgaaagatt tgggactgtg 1740
gcagtcaatc tccagagcag cagcacagac cctgcgaccg gagatgtgca tgttatggga 1800
gccttacctg gcatggtgtg gcaagataga gacgtgtacc tgcaggggcc catttgggcc 1860
aaaattcctc acacagatgg acactttcac ccgtctcctc ttatgggcgg ctttggactc 1920
aagaacccgc ctctcagat cctcatcaaa aacacgcctg ttctgcgaa tctccggcg 1980
gagttttcag ctacaaagtt tgcttcattc atcacccaat actccacagg acaagtgagt 2040
gtggaaattg aatgggagct gcagaaagaa aacacgaagc gctggaatcc cgaagtgcag 2100
tacacatcca attatgcaaa atctgccaac gttgatttta ctgtggacaa caatggactt 2160
tatactgagc ctgcgcccat tggcaccggt tacctcaccg gtccctgta a 2211

```

<210> 13

<211> 2214

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 13

```

atggctgccg atggttatct tocagattgg ctcgaggaca accttagtga aggaattcgc 60
gagtgggtggg ctttgaaacc tggagccct caacccaagg caaatcaaca acatcaagac 120
aacgctcgag gtcttgtgct tccgggttac aaataccttg gacccggcaa cggactcgac 180
aagggggagc cgtcaacgc agcagacgcg gcggccctcg agcagacaa ggcctacgac 240
cagcagctgc aggcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccgagttt 300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc ttggcagagc agtcttccag 360
gccaaaaaga ggatccttga gcctcttggc ctggttgagg aagcagctaa aacggctcct 420
ggaaagaaga ggcctgtaga tcagtctcct caggaaccgg actcatcatc tgggtgtggc 480
aatcgggca aacagcctgc cagaaaaaga ctaaatttcg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtcccag accctcaacc tctcgagaa ccaccagcag ccccccacaa tttgggatct 600
aatacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaggg tgccgatggg 660
gtgggtagtt cctcgggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctggggga cagagtcac 720
accaccagca cccgaacctg ggccctgccc acctacaaca atcacctcta caagcaaacc 780
tccaacggga catcgggag agccaccaac gacaacacct acttcggcta cagcaccccc 840
tgggggtatt ttgactttaa cagattccac tgccactttt caccacgtga ctggcagcga 900

```

ctcatcaaca	acaactgggg	attccggccc	aagagactca	gcttcaagct	cttcaacatc	960
cagggtcaagg	aggtcacgca	gaatgaaggc	accaagacca	tcgccaataa	cctcaccagc	1020
accatccagg	tgtttacgga	ctcggagtac	cagctgccgt	acgttctcgg	ctcggcgcac	1080
cagggtgcc	tccttcggtt	cccggcgga	gtcttcatgg	tgccacagta	tggatacctg	1140
acgctcaaca	atggcagcca	agccgtggga	cgttcatcct	tttactgcct	ggaatatttc	1200
ccttctcaga	tgctgagaac	gggcaacaac	tttaccttca	gctacacctt	tgaggaagtg	1260
cctttccaca	gcagctacgc	gcacagccag	agcttggacc	ggctgatgaa	tcctctgatt	1320
gaccagtacc	tgtactactt	gtctcggact	caaacaacag	gaggcacggc	aaatacgcag	1380
actctgggct	tcagccaagg	tgggccta	acaatggcca	atcaggcaaa	gaactggctg	1440
ccaggaccct	gttaccgcca	acaacgcgtc	tcaacgacaa	ccgggcaaaa	caacaatagc	1500
aactttgcct	ggactgctgg	gaccaaatac	catctgaatg	gaagaaattc	attggcta	1560
cctggcatcg	ctatggcaac	acacaaagac	gacgaggagc	gtttttttcc	cagtaacggg	1620
atcctgattt	ttggcaaaca	aaatgctgcc	agagacaatg	cggattacag	cgatgtcatg	1680
ctcaccagcg	aggaagaaat	caaaaccact	aaccctgtgg	ctacagagga	atacggtatc	1740
gtggcagata	acttgacgca	gcaaaacacg	gctcctcaaa	ttggaactgt	caacagccag	1800
ggggacttac	ccggtatggt	ctggcagaac	cgggacgtgt	acctgcaggg	tcccatctgg	1860
gccaagattc	ctcacacgga	cggaacttc	caccctgtct	cgctgatggg	cggttttggc	1920
ctgaaacatc	ctccgctca	gatcctgatc	aagaacacgc	ctgtacctgc	ggatcctccg	1980
accaccttca	accagtcaaa	gctgaactct	ttcatcacgc	aatacagcac	cggacaggtc	2040
agcgtggaga	tcgagtggga	gctgcagaag	gaaaacagca	agcgtggaa	cccggagatc	2100
cagtacactt	ccaactatta	caagtcta	aatgttgaat	ttgctgttaa	tactgaaggt	2160
gtatatagtg	aaccccgccc	cattggcacc	agatacctga	ctcgtaatct	gtaa	2214

<210> 14

<211> 2205

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 14

atggctgctg	acggttatct	tcagattgg	ctcaggagca	acctttctga	aggcattcgt	60
gagtgtggg	ctctgaaacc	tggagtccct	caacccaaag	cgaaccaaca	acaccaggac	120
aactgtcggg	gtcttgtgct	tcgggttac	aaatacctcg	gacccggtaa	cggactcgac	180
aaaggagagc	cgggtcaacga	ggcggacgcg	gcagccctcg	aacacgacaa	ggcctacgac	240

10

ES 2 857 773 T5

cagcagctca aggccggaga caaccgtac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc 300
 caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggggcagc agtcttcag 360
 accaaaaaga ggcttcttga acctcttggg ctgggtgagg aagcggctaa gacggctcct 420
 ggaaagaaga ggctgtaga gcagtctcct caggaaccgg actcctccgc ggtattggc 480
 aaatcgggtg cacagccgc taaaaagaga ctcaatttcg gtcagactgg cgacacagag 540
 tcagtcocag accctcaacc aatcggagaa cctccgcag cccctcagc tgtgggatct 600
 cttacaatgg cttcaggtgg tggcgacca gtggcagaca ataacgaagg tgcgatgga 660
 gtgggtagtt cctcgggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctggggga cagagtcac 720
 accaccagca cccgaacctg ggccctgcc acctacaaca accacctcta caaacaatt 780
 tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
 tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca gcgactcac 900
 aacaacaact ggggattccg gcccaagaga ctcagcttca agctcttcaa catccaggtc 960
 aaagaggtta cggacaacaa tggagtcaag accatcgcca ataaccttac cagcacggtc 1020
 caggtcttca cggactcaga ctatcagctc ccgtacgtgc tcgggtcggc tcacgagggc 1080
 tgctccgc cgttccagc ggacgtttt atgattcctc agtacgggta tctgacgctt 1140
 aatgatggaa gccaggccgt gggtcgttcg tccttttact gcctggaata tttcccgctg 1200
 caaatgctaa gaacgggtaa caacttcag ttccagctacg agtttgagaa cgtaccttc 1260
 catagcagct acgctcacag ccaaagcctg gaccgactaa tgaatccact catcgaccaa 1320
 tacttgact atctctcaaa gactattaac ggttctggac agaatacaaa aacgtaaaa 1380
 ttcagtgtgg ccggaccag caacatggct gtccaggaa gaaactacat acctggacc 1440
 agctaccgac aacaacgtgt ctcaaccact gtgactcaa acaacaacag cgaatttgct 1500
 tggcctggag cttctctttg ggctctcaat ggacgtaata gcttgatgaa tcctggacct 1560
 gctatggcca gccacaaaga aggagaggac cgtttcttct ctttgtctgg atctttaatt 1620
 tttggcaaac aaggaaactg aagagacaac gtggatgagg acaaagtcac gataaccaac 1680
 gaagaagaaa ttaaaactac taaccggta gcaacggagt cctatggaca agtggccaca 1740
 aaccaccaga gtgccaagc acaggcgcag accggctggg ttcaaaacca aggaatactt 1800
 ccgggtatgg tttggcagga cagagatgtg tacctgcaag gaccatctg ggccaagatt 1860
 cctcacacgg acggcaactt ccaccgtct ccgctgatgg gggccttgg cctgaaacat 1920
 cctccgctc agatcctgat caagaacacg cctgttctc cgaatcctcc ggcgagttt 1980
 tcagctacaa agtttgcttc attcatcacc cagtactcca caggacaagt gagtgtggaa 2040
 attgaatggg agctgcagaa agaaaacagc aagcgtgga atccgaagt gcagtacaca 2100
 tccaattatg caaaatctgc caacgttgat tttactgtgg acaacaatgg actttatact 2160
 gagcctcgc ccattggcac ccgttacctt accaaacctc tgtaa 2205

<210> 15

<211> 2211

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 15

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
gagtgggggg acttgaaacc tggagccctt aaaccaagg caaatcaaca acatcaggac	120
aacgctcgag gtcttgtgct tccgggttac aaataccttg gaccggcaa cggactcgac	180
aagggggagc cggccaacgc agcagacgcg gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
cagcagctca aggcgggaga caaccgtac ctcaagtaca accacgccga cgcgagttc	300
caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag	360
gccaaaaga ggcttcttga acctcttggc ctggttgagg aagcggctaa gacggctcct	420
ggaaagaaga gaccggtaga gccatcacc cagcgttctc cagactctc tacgggcatc	480
ggcaagaaag gccaacagcc cgctaaaaag agactcaatt ttggtcagac tggcgactca	540
gagtcagtc cgcaccaca acctctcgga gaacctcag caacccccgc tgctgtggga	600
cctactacaa tggcttcagg cggcggcgca ccaatggcag acaataacga gggcgcgat	660
ggagtgggta attcctcagg aaattggcat tgcgattccc aatggctggg cgacagagtc	720
atcaccacca gcaccagaac ctggggccctg cccacttaca acaaccatct ctacaagcaa	780
atctccagcc aatcaggagc ttcaaacgac aaccactact ttggctacag cacccttgg	840
gggtattttg actttaacag attccactgc cacttttcac cacgtgactg gcaaagactc	900
atcaacaaca actggggatt cgcaccaag agactcaact tcaagctctt caacatccaa	960
gtcaaggagg tcacgacgaa tgatggcgtc acgaccatcg ctaataacct taccagcacg	1020
gttcaagtct tctcggactc ggagtaccag ttgcgtacg tcctcggctc tgcgcaccag	1080
ggctgcctcc ctccgttccc ggcggacgtg ttcattgattc cgcagtacgg ctacctaacg	1140
ctcaacaatg gcagccaagc cgtgggacgt tcatcctttt actgcctgga atatttccct	1200
tctcagatgc tgagaacggg caacaacttt accttcagct acacttttga ggacgttcc	1260
ttccacagca gctacgctca cagccagagt ctggaccgtc tcatgaatcc tctcatcgac	1320
cagtacctgt attacttgag cagaacaaac actccaagtg gaaccaccac gcagtcaagg	1380
cttcagtttt ctcaggccgg agcgagtgc attcgggacc agtctaggaa ctggcttcc	1440
ggaccctgtt accgccagca gcgcgtttct aaaacaaaaa cagacaacaa caacagcaat	1500

ES 2 857 773 T5

tttacctgga	ctggtgcttc	aaaatataac	cttaaatgggc	gtgaatctat	aatcaaccct	1560
ggcactgcta	tggcctcaca	caaagacgac	gaagacaagt	tctttcccat	gagcgggtgc	1620
atgatttttg	gaaaagagag	cgccggagct	tcaaacactg	cattggacaa	tgtcatgac	1680
acagacgaag	aggaaatcaa	agccactaac	cccgtggcca	ccgaaagatt	tgggactgtg	1740
gcagtcaatc	tccagagcag	cagcacagac	cctgcgaccg	gagatgtgca	tgttatggga	1800
gcattacctg	gcatgggtgtg	gcaagataga	gacgtgtacc	tgcaggggcc	catttgggcc	1860
aaaattcctc	acacagatgg	acactttcac	ccgtctcctc	ttatgggcgg	ctttggactc	1920
aagaacccgc	ctcctcagat	cctcatcaaa	aacacgcctg	ttcctgcgaa	tcctccggcg	1980
gagttttcag	ctacaaagtt	tgcttcattc	atcacccaat	actccacagg	acaagtgagt	2040
gtggaaattg	aatgggagct	gcagaaagaa	aacagcaagc	gctggaatcc	cgaagtgcag	2100
tacacatcca	attatgcaaa	atctgccaac	gttgatttta	ctgtggacaa	caatggactt	2160
tatactgagc	ctcgccccat	tggcaccogt	taccttacc	gtcccctgta	a	2211

<210> 16

<211> 2214

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 16

atggctgccg	atggttatct	tocagattgg	ctcgaggaca	accttagtga	aggaattcgc	60
gagtgggtggg	ctttgaaacc	tggagcccct	caacccaagg	caaataca	acatcaagac	120
aacgctcgag	gtcttgtgct	tccgggttac	aaataccttg	gacccggcaa	cggactcgac	180
aaggggggagc	cgtcaacgc	agcagacgcg	gcggccctcg	agcacgacaa	ggcctacgac	240
cagcagctgc	aggcgggtga	caatccgtac	ctgcggtata	accacgccga	cgccgagttt	300
caggagcgctc	tgcaagaaga	tacgtctttt	gggggcaacc	ttggcagagc	agtcttccag	360
gccaaaaaga	ggatccttga	gcctcttggg	ctggttgagg	aagcagctaa	aacggctcct	420
ggaaagaaga	ggcctgtaga	tcagtctcct	caggaaccgg	actcatcatc	tgggtgtggc	480
aaatcgggca	aacagcctgc	cagaaaaaga	ctaaatttcg	gtcagactgg	cgactcagag	540
tcagtcccag	accctcaacc	tctcgagaga	ccaccagcag	ccccacaaag	tttgggatct	600
aatacaatgg	cttcaggcgg	tggcgaccca	atggcagaca	ataacgaggg	tgccgatggg	660
gtgggtagtt	cctcgggaaa	ttggcattgc	gattcccaat	ggctggggga	cagagtcac	720
accaccagca	cccgaacctg	ggccctgccc	acctacaaca	atcacctcta	caagcaaata	780
tccaacggga	catcgggagg	agccaccaac	gacaacacct	acttcgggta	cagcaccccc	840
tgggggtatt	ttgactttta	cagattccac	tgccactttt	caccacgtga	ctggcagcga	900

ctcatcaaca acaactgggg attccggccc aagagactca gcttcaagct cttcaacatc 960
caggtcaagg aggtcacgca gaatgaaggc accaagacca tcgccaataa cctcaccagc 1020
accatccagg tgtttacgga ctcggtgagc cagctgccgt acgttctcgg ctctgcgcac 1080
cagggctgcc tcctccggtt cccggcgagc gtgttcacga ttccgcaata cggctacctg 1140
acgctcaaca atggcagcca agccgtggga cgttcacctt ttactgcct ggaatatttc 1200
ccttctcaga tgctgagaac gggcaacaac ttacacctca gctacacctt tgaggaaagt 1260
cctttccaca gcagctacgc gcacagccag agcttgagcc ggctgatgaa tcctctgatt 1320
gaccagtacc tgtactactt gtctcggact caaacaacag gaggcacggc aaatacgcag 1380
actctgggct tcagccaagg tgggcctaata acaatggcca atcaggcaaa gaactggctg 1440
ccaggacctt gttaccgcca acaacgcgtc tcaacgacaa ccgggcaaaa caacaatagc 1500
aactttgcct ggactgctgg gaccaaatac catctgaatg gaagaaattc attggctaata 1560
cctggcatcg ctatggcaac acacaaagac gacgaggagc gtttttttcc cagtaacggg 1620
atcctgattt ttggcaaaaca aaatgctgcc agagacaatg cggattacag cgatgtcatg 1680
ctcaccagcg aggaagaaat caaaaccact aaccctgtgg ctacagagga atacggtatc 1740
gtggcagata acttcagca gcaaaacacg gctcctcaaa ttggaactgt caacagccag 1800
ggggccttac ccggtatggt ctggcagaac cgggacgtgt acctgcaggg tcccatctgg 1860
gccaagattc ctcacacgga cggcaacttc caccctgtct cgtgatggg cggctttggc 1920
ctgaaacatc ctccgctca gatcctgatc aagaacacgc ctgtacctgc ggatcctccg 1980
accaccttca accagtcaaa gctgaactct ttcatcacgc aatacagcac cggacaggtc 2040
agcgtggaga tcgagtggga gctgcagaag gaaaacagca agcgtggaa cccggagatc 2100
cagtacactt ccaactatta caagtctaata aatgttgaat ttgctgttaa tactgaaggt 2160
gtatatagtg aaccccgccc cattggcacc agatacctga ctgtaatatc gtaa 2214

<210> 17

<211> 2205

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 17

atggctgctg acggttatct tcagattgg ctcgaggaca acctttctga aggcattcgt 60
gagtgtggg ctctgaaacc tggagtccct caaccctaaag cgaaccaaca acaccaggac 120
aaccgtcggg gtcttgtgct tcgggttac aaatacctcg gaccggtaa cggactcgac 180
10 aaaggagagc cgggtcaacga ggcggacgc gcagccctcg aacacgacaa ggctacgac 240

ES 2 857 773 T5

cagcagctca aggccggaga caaccgtac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc 300
 caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggggcagc agtcttccag 360
 gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggg ctgggttagg aagcggctaa gacggctcct 420
 ggaaagaaga ggctgtaga gcagtctcct caggaaccgg actcctccgc ggtattggc 480
 aaatcgggtg cacagccgc taaaaagaga ctcaatttcg gtcagactgg cgacacagag 540
 tcagtcccag acctcaacc aatcggagaa cctccgcag cccctcagg tgtgggatct 600
 cttacaatgg cttcaggtgg tggcgacca gtggcagaca ataacgaagg tgcgatgga 660
 gtgggtagtt cctcgggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctggggga cagagtcac 720
 accaccagca cccgaacctg ggccctgcc acctacaaca accacctcta caaacaatt 780
 tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
 tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca gcgactcatc 900
 aacaacaact ggggattccg gcccaagaga ctcagcttca agctcttcaa catccaggtc 960
 aaagaggtta cggacaacaa tggagtcaag accatcgcca ataaccttac cagcacggtc 1020
 caggtcttca cggactcaga ctatcagctc ccgtacgtgc tcgggtcggc tcacgagggc 1080
 tgctccgc cgttccagc ggacgtttt atgattcctc agtacgggta tctgacgctt 1140
 aatgatggaa gccaggccgt gggtcgttcg tccttttact gcctggaata tttcccgctg 1200
 caaatgctaa gaacgggtaa caacttccag ttcagctacg agtttgagaa cgtaccttcc 1260
 catagcagct acgctcacag ccaaagcctg gaccgactaa tgaatccact catcgaccaa 1320
 tacttgact atctctcaaa gactattaac ggttctggac agaatacaaa aacgtaaaa 1380
 ttcagtgtgg ccggaccag caacatggct gtccaggaa gaaactacat acctggacc 1440
 agctaccgac aacaacgtgt ctcaaccact gtgactcaa acaacaacag cgaatttgct 1500
 tggcctggag cttcttcttg ggctctcaat ggacgtaata gcttgatgaa tcctggacct 1560
 gctatggcca gccacaaaga aggagaggac cgtttcttcc ctttgtctgg atctttaatt 1620
 tttggcaaac aaggaaactg aagagacaac gtggatgagg acaaagtcac gataaccaac 1680
 gaagaagaaa ttaaaactac taaccggta gcaacggagt cctatggaca agtggccaca 1740
 aaccaccaga gtgccaagc acaggcgcag accggctggg ttcaaaacca aggaatactt 1800
 ccgggtatgg tttggcagga cagagatgtg tacctgcaag gaccatttg ggccaaaatt 1860
 cctcacacgg acggcaactt tcaccttct ccgctgatgg gaggtttgg aatgaaacac 1920
 ccgctcctc agatcctcat caaaaacaca cctgtacctg cggatcctcc aacggccttc 1980
 aacaaggaca agctgaactc tttcatcacc cagtattcta ctggccaagt cagcgtggag 2040
 atcgagtggg agctgcagaa ggaaaacagc aagcgtgga accccgagat ccagtacacc 2100
 tccaactact acaaactctac aagtgtggac tttgctgtta atacagaagg cgtgtactct 2160
 gaacccgcc ccattggcac ccgttacctc acccgtaac tgtaa 2205

<210> 18

<211> 2217

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 18

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
gagtggggg cgctgaaacc tggagccccg aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac	120
gacggccggg gtctgggtgct tcctgggtac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
aagggggagc ccgtcaacgc ggcggacgca gcggccctcg agcagacaa ggcctacgac	240
cagcagctgc aggcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgccgagttt	300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag	360
gccaagaagc gggttctcga acctctcggc ctggttgagg aaggcgctaa gacggctcct	420
ggaaagaaga gaccggtaga gccatcacc cagcgttctc cagactcctc tacgggcatc	480
ggcaagaaag gccaacagcc cgccagaaaa agactcaatt ttggtcagac tggcgactca	540
gagtcagttc cagaccctca acctctcggc gaacctccag cagcgccctc tgggtgtggga	600
cctaatacaa tggctgcagg cgggtggcga ccaatggcag acaataacga aggcgccgac	660
ggagtgggta gttcctcggg aaattggcat tgcgattcca catggctggg cgacagagtc	720
atcaccacca gcaccogaac ctgggccctg cccacctaca acaaccacct ctacaagcaa	780
atctccaacg ggacatcggg aggagccacc aacgacaaca cctacttcgg ctacagcacc	840
ccctgggggt attttgactt taacagattc cactgccact tttcaccacg tgactggcag	900
cgactcatca acaacaactg gggattccgg cccaagagac tcagcttcaa gctcttcaac	960
atccaggtca aggaggtcac gcagaatgaa ggcaccaaga ccatcgccaa taacctcacc	1020
agcaccatcc aggtgtttac ggactcggag taccagctgc cgtacgttct cggctctgcc	1080
caccagggct gcctgcctcc gttcccgcg gacgtgttca tgattcccca gtacggctac	1140
ctaactca acaacggtag tcaggccgtg ggacgctcct ccttctactg cctggaatac	1200
tttccttcgc agatgctgag aaccggcaac aacttccagt ttacttacac cttcgaggac	1260
gtgcctttcc acagcagcta cgcccacagc cagagcttgg accggctgat gaatcctctg	1320
attgaccagt acctgtacta cttgtctcgg actcaaaca caggaggcac ggcaaatacg	1380
cagactctgg gcttcagcca aggtgggcct aatacaatgg ccaatcaggc aaagaactgg	1440
ctgccaggac cctgttaccg ccaacaacgc gtctcaacga caaccgggca aaacaacaat	1500

ES 2 857 773 T5

agcaactttg cctggactgc tgggacaaaa taccatctga atggaagaaa ttcattggct 1560
aatcctggca tcgctatggc aacacacaaa gacgacgagg agcgtttttt tcccagtaac 1620
gggatcctga tttttggcaa acaaaatgct gccagagaca atgcggtatta cagcgatgtc 1680
atgctcacca gcgaggaaga aatcaaaaacc actaaccctg tggctacaga ggaatacggc 1740
atcgtggcag ataacttgca gcagcaaaac acggctcctc aaattggaac tgtcaacagc 1800
cagggggcct taccoggatg ggtctggcag aaccgggacg tgtacctgca ggggtccatc 1860
tgggccaaga ttcctcacac ggacggcaac ttccaccctc ctccctcat ggggtggattc 1920
ggacttaaac atcctccgcc tcagatcctg atcaagaaca cgctgtacc tgcggatcct 1980
ccgaccacct tcaaccagtc aaagctgaac tctttcatca cgcaatacag caccggacag 2040
gtcagcgtgg aaattgaatg ggagctgcag aaggaaca gcaagcgtg gaaccccgag 2100
atccagtaca cctccaacta ctacaaatct acaagtgtgg actttgctgt taatacagaa 2160
ggcgtgtact ctgaaccccg ccccatggc acccgttacc tcaccgtaa tctgtaa 2217

<210> 19

<211> 2211

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 19

atggctgctg acggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctttctga aggcattcga 60
gagtgggggg cgctgcaacc tggagcccct aaacccaagg caaatcaaca acatcaggac 120
aacgctcggg gtcttgtgct tccgggttac aaatacctcg gacccggcaa cggactcgac 180
aagggggaac ccgtcaacgc agcggacgcg gcagccctcg agcagacaa ggcctacgac 240
cagcagctca aggcgggtga caaccctac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc 300
caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggagagc agtcttccag 360
gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggc ctggttgagg aagcggctaa gacggctcct 420
ggaaagaaga ggcctgtaga tcagtctcct caggaaccgg actcatcatc tgggtgtggc 480
aatcgggca aacagcctgc cagaaaaaga ctaaatttcg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtcccag accctcaacc tctcggagaa ccaccagcag ccccccacaa tttgggatct 600
aatacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaggg tgccgatgga 660
gtgggtaatt cctcaggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctgggcga cagagtcac 720
accaccagca ccagaacctg ggccctgccc acttacaaca accatctcta caagcaaacc 780
tccagccaat caggagcttc aaacgacaac cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
tattttgact ttaacagatt ccactgccac ttctcaccac gtgactggca gcgactcatt 900

ES 2 857 773 T5

```

aacaacaact ggggattccg gccaagaaa ctacagttca agctcttcaa catccaagtt 960
aaagagggtca cgcagaacga tggcacgacg actattgcc aataaccttac cagcacggtt 1020
cagggtgttta cggactcgga gtatcagctc ccgtacgtgc tcgggtcggc gcaccaaggc 1080
tgtctccgc cgtttccagc ggacgtcttc atggtccttc agtatggata cctcacctcg 1140
aacaacggaa gtcaagcggg gggacgctca tccttttact gcctggagta cttcccttgc 1200
cagatgctaa ggactggaaa taacttccaa ttacagctata ctttcgagga tgtacctttt 1260
cacagcagct acgctcacag ccagagtttg gatcgcttga tgaatcctct tattgatcag 1320
tatctgtact acctgaacag aacgcaagga acaacctctg gaacaaccaa ccaatcacgg 1380
ctgcttttta gccaggctgg gcctcagctc atgtctttgc aggccagaaa ttggctacct 1440
gggcctgct accggcaaca gagactttca aagactgcta acgacaacaa caacagtaac 1500
tttccttggg cagcggccag caaatatcat ctcaatggcc gcgactcgct ggtgaatcca 1560
ggaccagcta tggccagtca caaggacgat gaagaaaaat ttttccttat gcacggcaat 1620
ctaataattg gcaagaagg gacaacggca agtaacgcag aattagataa tgtaatgatt 1680
acggatgaag aagagattcg taccaccaat cctgtggcaa cagagcagta tggaactgtg 1740
gcaaataact tgcaagctc aaatacagct cccacgacta gaactgtcaa tgatcagggg 1800
gccttacctg gcatgggtgtg gcaagatcgt gacgtgtacc ttcaaggacc tatctgggca 1860
aagattcctc acacggatgg acactttcat ccttctctc tgatgggag ctttggactg 1920
aaacatccgc ctctcaaat catgatcaa aatactccg taccggcaaa tcctccgacg 1980
actttcagcc cggccaagtt tgcttcattt atcactcagt actccactgg acaggtcagc 2040
gtggaaattg agtgggagct acagaaagaa aacagcaaac gttggaatcc agagattcag 2100
tacacttcca actacaacaa gtctgttaat gtggacttta ctgtagacac taatggtgtt 2160
tatagtgaac ctgcgccat tggcaccgt taccttacc gtccctgtg a 2211

```

<210> 20

<211> 2211

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 20

```

atggctgctg acggttatct tcagattgg ctgaggaca acctttctga aggcattcga 60
gagtgtggg cgctgcaacc tggagccct aaaccaagg caaatcaaca acatcaggac 120
aacgctcggg gtcttgtgtc tcgggttac aaatacctcg gaccggcaa cggactcgac 180
aagggggaac ccgtcaacgc agcggacgcg gcagccctcg agcacgaca ggccctacgac 240

```

10

ES 2 857 773 T5

cagcagctca aggccgggtga caacccttac ctcaagtaca accacgccga cgccgagttc 300
 caggagcggc tcaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggggcagc agtcttcag 360
 gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggg ctgggttgagg aagcggctaa gacggctcct 420
 ggaaagaaga ggctgtaga tcagtctcct caggaaccgg actcatcatc tgggtttggc 480
 aaatcgggca aacagcctgc cagaaaaaga ctaaatttcg gtcagactgg cgactcagag 540
 tcagtcccag acctcaacc tctcggagaa ccaccagcag ccccccacag tttgggatct 600
 aatacaatgg cttcagggcg tggcgacca atggcagaca ataacgaggg tgcgatgga 660
 gtgggtaatt cctcaggaaa ttggcattgc gattcccaat ggctggggcga cagagtcac 720
 accaccagca ccagaacctg ggccctgccc acttacaaca accatctcta caagcaaact 780
 tccagccaat caggagcttc aaacgacaac cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
 tattttgact ttaacagatt ccactgccac ttctcaccac gtgactggca gcgactcatt 900
 aacaacaact ggggattccg gcccaagaaa ctcagcttca agctcttcaa catccaagtt 960
 aaagaggta cgcagaacga tggcacgacg actattgcc aataacctac cagcacggtt 1020
 caagtgttta cggactcgga gtatcagctc ccgtacgtgc tcgggtcggc gcaccaaggc 1080
 tgtctccgc cgtttccagc ggacgtcttc atggctccctc agtatggata cctcacctg 1140
 aacaacggaa gtcaacgggt gggacgctca tccttttact gcctggagta cttcccttcg 1200
 cagatgctaa ggactggaaa taacttccaa ttcagctata ccttcgagga tgtaccttt 1260
 cacagcagct acgctcacag ccagagtttg gatcgcttga tgaatcctct tattgatcag 1320
 tatctgtact acctgaacag aacgcaagga acaacctctg gaacaaccaa ccaatcacgg 1380
 ctgcttttta gccaggttg gcctcagctc atgtctttgc aggcagaaa ttggctacct 1440
 gggccctgct accggcaaca gagactttca aagactgcta acgacaacaa caacagtaac 1500
 tttccttgga cagcggccag caaatatcat ctcaatggcc ggcactcgct ggtgaatcca 1560
 ggaccagcta tggccagtca caaggacgat gaagaaaaat ttttcctat gcacggcaat 1620
 ctaatatattg gcaaagaagg gacaacggca agtaacgcag aattagataa tgtaatgatt 1680
 acggatgaag aagagattcg taccaccaat cctgtggcaa cagagcagta tggaactgtg 1740
 gcaaataact tgcagagctc aaatacagct cccacgacta gaactgtcaa tgatcagggg 1800
 gccttacctg gcatgggtg gcaagatcgt gacgtgtacc ttcaaggacc tatctgggca 1860
 aagattcctc acacggatgg acactttcat ccttctcctc tgatgggagg ctttggactg 1920
 aaacatccgc ctcctcaaat catgatcaaa aatactccg tacgggcaaa tcctccgacg 1980
 actttcagcc cggccaagtt tgcttcattt atcactcagt actccactgg acaggtcagc 2040
 gtggaaattg agtgggagct acagaaagaa aacagcaaac gttggaatcc agagattcag 2100
 tacacttcca actacaacaa gtctgttaat gtggacttta ctgtagacac taatgggtgtt 2160
 tatagtgaac ctgcgcccat tggcaccctg taccttacc gtcccctgta a 2211

<210> 21

<211> 2217

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 21

atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga	60
cagtgggggg cgctgaaacc tggagccccg aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac	120
gacggccggg gtctgggtgct tcctgggtac aagtacctcg gaccttcaa cggactcgac	180
aagggggagc ccgtcaacgc ggcggatgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgcgagttt	300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag	360
gccaagaagc gggttctcga acctctcggc ctggttgagg aaggcgctaa gacggctcct	420
ggaaagaaga gaccggtaga gccatcacc cagcgttctc cagactcctc tacgggcatc	480
ggcaagaaag gccaacagcc cgccagaaaa agactcaatt ttggtcagac tggcgactca	540
gagtcagttc cagacctca acctctcggc gaaccaccag cagccccac aagtttggga	600
tctaatacaa tggcttcagg cgggtggcga ccaatggcag acaataacga ggggtccgat	660
ggagtgggta attcctcagg aaattggcat tgcgattccc aatggctggg cgacagagtc	720
atcaccacca gcaccgcac ctgggccttg cccacctaca ataaccacct ctacaagcaa	780
atctccagtg cttcaacggg gccagcaac gacaaccact acttcggcta cagcaccacc	840
tgggggtatt ttgactttaa ccgcttcac tgccacttct cgccaagaga ctggcaaaga	900
ctcatcaaca acaattgggg attcggccc aagagactca acttcaaact cttcaacatc	960
caagtcaagg aggtcacgac gaatgatggc gtcacgacca tcgccaataa cctcaccagc	1020
accatccagg tgtttacgga ctcgagtagc cagctgccgt acgttctcgg ctctgcccac	1080
cagggtgcc tgcctcgtt cccggcgac gtgttcatga ttcccagta tggatacctc	1140
accctgaaca acggaagtca agcgggtggga cgctcatcct ttactgcct ggagtacttc	1200
ccttcgcaga tgctaaggac tggaaataac ttccaattca gctatacctt cgaggatgta	1260
ccttttcaca gcagctacgc tcacagccag agtttggatc gcttgatgaa tcctcttatt	1320
gatcagtatc tgtactacct gaacagaacg caaggaacaa cctctggaac aaccaaccaa	1380
tcacggctgc tttttagcca ggctgggcct cagtctatgt ctttgcaggc cagaaattgg	1440
ctacctgggc cctgctaccg gcaacagaga ctttcaaaga ctgctaacga caacaacaac	1500

ES 2 857 773 T5

agtaactttc cttggacagc agccagcaaa tatcatctca atggccgcga ctgctggtg 1560
aatccaggac cagctatggc cagtcacaag gacgatgaag aaaaattttt ccctatgcac 1620
ggcaatctaa tttttggcaa agaagggaca acggcaagta acgcagaatt agataatgta 1680
atgattacgg atgaagaaga gattcgtacc accaatcctg tggcaacaga gcagtatgga 1740
actgtggcaa ataacttgca gagctcaaat acagctccca cgactagaac tgtcaatgat 1800
cagggggcct tacctggcat ggtgtggcaa gatcgtgacg tgtaccttca gggggccatc 1860
tgggcaaaga ttccacacac ggacggacat tttcaccctt ctccctcat ggggtgattc 1920
ggacttaaac accctcctcc gcagattctc atcaagaaca ccccggtacc tgcgaatcct 1980
tcgaccacct tcagtgcggc aaagtttgct tccttcatca cacagtactc cacgggacag 2040
gtcagcgtgg agatcgagtg ggagctgcag aaggaaca gcaagcgtg gaaccggag 2100
atccagtaca cttccaacta ttacaagtct aataatgttg aatttgctgt taatactgaa 2160
ggtgtatata gtgaaccccg cccattggc accagatacc tgactcgtaa tctgtaa 2217

<210> 22

<211> 2208

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 22

atggctgccg atggttatct tocagattgg ctcgaggaca ctctctctga aggaataaga 60
cagtgtgga agctcaaacc tggccacca ccaccaagc ccgcagagcg gcataaggac 120
gacagcagg gtcttgtgct tcctgggtac aagtacctcg gaccttcaa cggactcgac 180
aaggagagc cgtcaacga ggcagagcc gggccctcg agcagacaa agcctacgac 240
cggcagctcg acagcggaga caaccgtac ctcaagtaca accacgccga cgcggagttt 300
caggagcgc ttaaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggacgagc agtcttccag 360
gcgaaaaaga gggttcttga acctctgggc ctggttgagg aacctgttaa gacggctccg 420
ggaaaaaaga ggccggtaga gcactctcct gtggagccag actcctcctc gggaaccgga 480
aaggcgggccc agcagcctgc aagaaaaaga ttgaattttg gtcagactgg agacgcagac 540
tcagtacctg acccccagcc tctcggacag ccaccagcag cccctcttg tctgggaact 600
aatacgatgg ctacaggcag tggcgacca atggcagaca ataacgaggg cgcgacgga 660
gtgggtaatt cctcgggaaa ttggcattgc gattccacat ggatgggcca cagagtcac 720
accaccagca cccgaacctg ggccctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt 780
tcagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
tattttgact tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca aagactcatc 900

ES 2 857 773 T5

```

aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaacttca agctctttta cattcaagtc      960
aaagagggtca cgcagaatga cggtagcagc acgattgccca ataacccttac cagcacgggt      1020
cagggtgttta ctgactcgga gtaccagctc ccgtacgtcc tcggctcggc gcatcaagga      1080
tgcctcccg cgttcccagc agacgtcttc atggtgccac agtatggata cctcacccctg      1140
aacaacggga gtcaggcagc aggacgctct tcattttact gcctggagta ctttccttct      1200
cagatgctgc gtaccggaaa caactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttcctttc      1260
cacagcagct acgctcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct catcgaccag      1320
tacctgtatt acttgagcag aacaaacact ccaagtggaa ccaccacgca gtcaaggctt      1380
cagttttctc aggccggagc gaggacatt cgggaccagt ctaggaactg gcttcctgga      1440
ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgcgg ataacaacaa cagtgaatac      1500
tcgtggactg gagctaccaa gtaccacctc aatggcagag actctctggt gaatccgggc      1560
ccggccatgg caagccacaa ggacgatgaa gaaaagtttt ttctcagag cggggttctc      1620
atctttggga agcaaggctc agagaaaaca aatgtggaca ttgaaaaggt catgattaca      1680
gacgaagagg aaatcaggac aaccaatccc gtggctacgg agcagtatgg ttctgtatct      1740
accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgagc atgtcaacac acaaggcgtt      1800
cttcaggca tggcttgga ggacagagat gtgtacctc aggggcccac ctgggcaaag      1860
attccacaca cggacggaca ttttcacccc tctccctca tgggtggatt cggacttaaa      1920
caccctctc cacagattct catcaagaac accccggtag ctgcgaatcc ttcgaccacc      1980
ttcagtgagg caaagtttgc ttccttcac acacagtact ccacgggaca ggtcagcgtg      2040
gagatcgagt gggagctgca gaaggaaaac agcaaacgct ggaatcccga aattcagtag      2100
acttccaact acaacaagtc tgtaaatgtg gactttactg tggacactaa tggcgtgtat      2160
tcagagcctc gccccattgg caccagatac ctgactcgta atctgtaa      2208

```

<210> 23

<211> 2208

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 23

```

atggctgcg atggttatct tcagattgg ctgaggaca acctctctga gggcattcgc      60
gagtggtggg cgctgaaacc tggagccccg aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac      120
gacggccggg gtctggtgct tcctggctac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac      180
aagggggagc ccgtcaacgc ggcggacgcc gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac      240

```

10

ES 2 857 773 T5

cagcagctgc aggcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgcgagttt 300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggagagc agtcttcag 360
gccaaaaaga ggcttcttga acctcttggg ctgggttagg aagcagctaa aacggctcct 420
ggaaagaaga ggctgtaga gcagtctcct caggaaccgg actcctccgc gggatttggc 480
aaatcgggtg cacagccgc caaaaagaga ctcaatttcg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtcccag accctcaacc tctcggagaa ccaccagcag ccccccacag tttgggatct 600
aatacaatgg cttcaggcgg tggcgacca atggcagaca ataacgaagg cgcgagcga 660
gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggaga cagagtcac 720
accaccagca cccgcacctg ggcttggcc accacagca accatctcta caagcaaatc 780
tccagccaat caggagcttc aaacgacaac gactactttg gctacagcac cccttggggg 840
tattttgatt tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca aagactcatc 900
aacaacaact ggggattccg acccaagaga ctcaacttca agctctttaa cattcaagtc 960
aaagaggta cgcagaatga cggtagcagc acgattgcca ataaccttac cagcacggtt 1020
cagggtgtta ctgactcggg gtaccagctc ccgtacgtcc tcggctcggc gcatcaagga 1080
tgctcccg cgttcccagc agacgtcttc atgggtgccac agtatggata cctcacctg 1140
aacaacggga gtcaggcagt aggacgtctc tcattttact gcctggagta ctttccttct 1200
cagatgctgc gtaccgaaa caactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttccttct 1260
cacagcagct acgctcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct catcgaccag 1320
tacctgtatt acttgagcag aacaaacact ccaagtggaa ccaccacgca gtcaaggctt 1380
cagttttctc aggcgggagc gagtgcatt cgggaccagt ctaggaactg gcttcctgga 1440
ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctgagg ataacaaca cagtgaatac 1500
tcgtggactg gagctaccaa gtaccacctc aatggcagag actctctggg gaatccgggc 1560
ccggccatg caagccacaa ggacgatgaa gaaaagtttt ttcctcagag cgggggttctc 1620
atctttggga agcaaggctc agagaaaaca aatgtggaca ttgaaaagg catgattaca 1680
gacgaagagg aaatcaggac aaccaatccc gtggctacgg agcagtatgg ttctgtatct 1740
accaacctcc agagaggcaa cagacaagca gctaccgcag atgtcaacac acaaggcgtt 1800
cttcaggga tggctcggca ggacagagat gtgtaccttc aggggcccat ctgggcaaag 1860
attccacaca cggacggaca ttttcacccc tctccctca tgggtggatt cggacttaaa 1920
caccctcctc cacagattct catcaagaac accccgttac ctgcgaatcc ttcgaccacc 1980
ttcagtgcgg caaagtgtgc ttccttcac acacagtact ccacgggaca ggtcagcgtg 2040
gagatcgagt gggagctgca gaaggaaaac agcaaacgct ggaatccga aattcagtac 2100
acttccaact acaacaagtc tgtaaatgtg gactttactg tggacactaa tggcgtgtat 2160
tcagagcctc gccccattgg caccagatac ctgactcgta atctgtaa 2208

<210> 24

<211> 2208

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 24

atggctgccc atggttatct tccagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc	60
gagtgggggg cgctgaaacc tggagccccg aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac	120
gacggccggg gtctgggtgt tcttggttac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac	180
aagggggagc ccgtcaacgc ggcggacgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac	240
cagcagctgc aggcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgcagagttc	300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag	360
gccaagaaga gggttctcga accttttggg ctggttgagg aaggtgctaa gacggctcct	420
ggaaagaaac gtcgggtaga gcagtcgcca caagagccag actcctcctc gggcattggc	480
aagacaggcc agcagcccg ctaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag	540
tcagtcccag acctcaacc tctcgagaa ccaccagcag ccccccacaa tttgggatct	600
aatacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaggg cgcgcagcga	660
gtgggtaatt cctcgggaaa ttggcattgc gattccacat ggatgggcga cagagtcac	720
accaccagca cccgaacctg ggcctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt	780
tccagccaat caggagcttc aaacgacaac cactactttg gctacagcac cccttggggg	840
tattttgact ttaacagatt ccaactgccac ttttcaccac gtgactggca gcgactcatt	900
aacaacaact ggggattccg gcccaagaaa ctcaacttca agctctttaa catccaggtc	960
aaggaggtca cgcagaatga aggcaccaag acctcgcca ataacctcac cagcaccatc	1020
cagggtgtta cggactcgga gtaccagctg ccgtacgttc tcggctctgc ccaccagggc	1080
tgctgcctc cgttcccggc ggacgtgttc atgattcccc agtacggcta cctaactc	1140
aacaacggta gtcaggccgt gggacgtctc tccttctact gcctggaata ctttccttcg	1200
cagatgctga gaaccggcaa caacttccag tttacttaca ccttcgagga cgtgccttc	1260
cacagcagct acgcccacag ccagagcttg gaccggctga tgaatcctct gattgaccag	1320
tacctgtatt acttgtctcg gactcaaaca acaggaggca cgacaaatac gcagactctg	1380
ggcttcagcc aaggtgggccc taatacaatg gccaatcagg caaagaactg gctgcctgga	1440
ccctgttacc gccagcagcg agtatcaaag acatctcgcg ataacaacaa cagtgaatac	1500

ES 2 857 773 T5

tcgtggactg	gagctaccaa	gtaccacctc	aatggcagag	actctctggt	gaatccgggc	1560
ccggccatgg	caagccacaa	ggacgatgaa	gaaaagtttt	ttcctcagag	cgggggttctc	1620
atctttggga	agcaaggctc	agagaaaaca	aatgtggaca	ttgaaaaggt	tatgattaca	1680
gacgaagagg	aaatcaggac	aaccaatccc	gtggctacgg	agcagtatgg	ttctgtatct	1740
accaacctcc	agagaggcaa	cagacaagca	gctaccgcag	atgtcaacac	acagggcggt	1800
cttcaggga	tggtctggca	ggacagagat	gtgtaccttc	aggggtcccat	ttggggccaaa	1860
attcctcaca	cagatggaca	ctttcacccg	tcccctctta	tgggcggtct	tggactcaag	1920
aaccgcctc	ctcagatcct	catcaaaaac	acgcctgttc	ctgcgaatcc	tccggcagag	1980
ttttcagcta	caaagtttgc	ttcattcatc	acccaatact	ccacaggaca	agtgagtgtg	2040
gaaattgaat	gggagctgca	gaaagaaaac	agcaagcgct	ggaatcccga	agtgcagtac	2100
acatccaatt	atgcaaaatc	tgccaacgtt	gattttactg	tggacactaa	tggcgtgtat	2160
tcagagcctc	gccccattgg	caccagatac	ctcaccogta	atctgtaa		2208

<210> 25

<211> 2214

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 25

atggctgccg	atggttatct	tccagattgg	ctcgaggaca	acctctctga	gggcattcgc	60
gagtgtggg	acttgaaacc	tggagccccg	aaacccaaag	ccaaccagca	aaagcaggac	120
gacggccggg	gtctggtgct	tcttggttac	aagtacctcg	gaccttcaa	cggactcgac	180
aagggggagc	ccgtcaacgc	ggcggatgca	gcgccctcg	agcacgacaa	ggcctacgac	240
cagcagctca	aagcgggtga	caatccgtac	ctgcggtata	accacgccga	cgccgagttt	300
caggagcgtc	tgcaagaaga	tacgtctttt	gggggcaacc	tcgggcgagc	agtcttccag	360
gccaagaaga	gggttctcga	accttttggg	ctggttgagg	aagggtgctaa	gacggctcct	420
ggaaagaaac	gtccggtaga	gcagtcgcca	caagagccag	actcctcctc	gggcattggc	480
aagacaggcc	agcagcctgc	aagaaaaaga	ttgaattttg	gtcagactgg	agacgcagac	540
tcagtacctg	acccccagcc	tctcggacag	ccaccagcag	ccccctctgg	tctgggaact	600
aatacgatgg	ctacaggcag	tggcgcacca	atggcagaca	ataacgaggg	cgccgacgga	660
gtgggtaatt	cctcgggaaa	ttggcattgc	gattcccaat	ggctggggga	cagagtcatac	720
accaccagca	cccgaacctg	ggccctgccc	acctacaaca	atcacctcta	caagcaaatac	780
tccaacagca	catctggagg	atcttcaaata	gacaacgcct	acttcggcta	cagcaccccc	840
tgggggtatt	ttgatttcaa	cagattccac	tgccatttct	caccacgtga	ctggcagcga	900

ctcatcaaca acaattgggg attccggccc aagagactca acttcaagct cttcaacatc 960
cagggtcaagg aggtcacgca gaatgaaggc accaagacca tcgccaataa cctcaccagc 1020
accatccagg tgtttacgga ctccggagtac cagctgccgt acgttctcgg ctctgcccac 1080
cagggctgcc tgctccggtt cccggcggac gtgttcatga ttcccagta cggctaccta 1140
aactcaaca acggtagtca ggccgtggga cgctcctcct tctactgcct ggaatacttt 1200
ccttcgcaga tgctgagaac cggcaacaac ttccagttta cttacacctt cgaggacgtg 1260
cctttccaca gcagctacgc ccacagccag agcttgacc ggctgatgaa tcctctgatt 1320
gaccagtacc tgtactactt gtctcggact caaacaacag gaggcacgac aaatacgcag 1380
actctgggct tcagccaagg tgggcctaata acaatggcca atcaggcaaa gaactggctg 1440
ccaggaccct gttaccgcca gcagcgagta tcaaagacat ttgaggataa caacaacagt 1500
gaatactcgt ggactggagc taccaagtac cacctcaatg gcagagactc tctgggtaat 1560
ccgggcccgg ccatggcaag ccacaaggac gatgaagaaa agttttttcc tcagagcggg 1620
gttctcatct ttgggaagca aggtcagag aaaacaatg tggacattga aaaggtcatg 1680
attacagacg aagaggaaat caggacaacc aatcccgtgg ctacggagca gtatggttct 1740
gtatctacca acctccagag aggcaacaga caagcagcta ccgcagatgt caacacacaa 1800
ggcgttcttc caggcatggt ctggcaggac agagatgtgt accttcaggg gcccatctgg 1860
gcaaagattc cacacacgga cggacatttt caccctctc ccctcatggg tggattcggg 1920
cttaaaccac ctccgcctca gatcctgatc aagaacacgc ctgtaccgc ggatcctccg 1980
accaccttca accagtcaaa gctgaactct ttcacaccc agtattctac tggccaagtc 2040
agcgtggaga tcgagtggga gctgcagaag gaaaacagca agcgttgga ccccgagatc 2100
cagtacacct ccaactacta caaatctaca agtgtggact ttgctgttaa tacagaaggc 2160
gtgtactctg aaccccgccc cattggcacc cgttacctca cccgtaatct gtaa 2214

<210> 26

<211> 2217

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 26

atggctgccg atggttatct tcagattgg ctcgaggaca acctctctga gggcattcgc 60
gagtgtggg acttgaaacc tggagcccc aaaccctaaag ccaaccagca aaagcaggac 120
gacggccggg gtctggtgct tcctggctac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac 180
10 aagggggagc ccgtcaacgc ggccgatgca acggccctcg agcacgacaa ggcctacgac 240

ES 2 857 773 T5

```

cagcagctgc aggcgggtga caatccgtac ctgcgggtata accacgccga cgccgagttt 300
caggagcgctc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcggggcgagc agtcttccag 360
gccaaagaagc ggggttctcga acctctcggg ctgggttgagg aaggcgctaa gacggctcct 420
ggaaagaaga gaccggtaga gccatcacc cagcgttctc cagactcctc tacgggcatc 480
ggcaagaaag gccaacagcc cgccagaaaa agactcaatt ttggtcagac tggcgactca 540
gagtcagttc cagaccctca acctctcggg gaaccaccag cagccccac aagtttgga 600
tctaatacaa tggcttcagg cgggtggcga ccaatggcag acaataacga gggtgccgat 660
ggagtgggta attcctcagg aaattggcat tgcgattccc aatggctggg cgacagagtc 720
atcaccacca gcaccgcac ctgggccttg cccacctaca ataaccacct ctacaagcaa 780
atctccagtg cttcaacggg ggccagcaac gacaaccact acttcggcta cagcaccccc 840
tgggggtatt ttgactttaa ccgcttccac tgccacttct cgccaagaga ctggcaaaga 900
ctcatcaaca acaattgggg attccggccc aagagactca acttcaaact cttcaacatc 960
caagtcaagg aggtcacgac gaatgatggc gtcacgacca tcgccaataa cctcaccagc 1020
accatccagg tgtttacgga ctcgagtagc cagctgccgt acgttctcgg ctctgccac 1080
cagggtgcc tgccctcgtt ccggcgagc gtgttcacga ttcccagta tggatacctc 1140
accctgaaca acggaagtca agcgggtggg cgcctaccc tttactgcct ggagtacttc 1200
ccttcgcaga tgctaaggac tggaaataac ttccaattca gctatacctt cgaggatgta 1260
ccttttcaca gcagctacgc tcacagccag agtttgatc gcttgatgaa tcctcttatt 1320
gatcagtatc tgtactacct gaacagaacg caaggaacaa cctctggaac aaccaaccaa 1380
tcacggctgc tttttagcca ggctgggcct cagtcctatgt ctttgagggc cagaaattgg 1440
ctacctgggc cctgctaccg gcaacagaga ctttcaaaga ctgctaacga caacaacaac 1500
agtaactttc cttggacagc agccagcaaa tatcatctca atggccggga ctgcgtggtg 1560
aatccaggac cagctatggc cagtcacaag gacgatgaag aaaaattttt ccctatgcac 1620
ggcaatctaa tatttggaag agaagggaca acggcaagta acgcagaatt agataatgta 1680
atgattacgg atgaagaaga gattcgtacc accaatcctg tggcaacaga gcagtatgga 1740
actgtggcaa ataacttgca gagctcaaat acagctccca cgactagaac tgtcaatgat 1800
cagggggcct tacctggcat ggtgtggcaa gatcgtgacg tgtacctca ggggcccatc 1860
tgggcaaaga ttccacacac ggacggacat tttcaccct ctcccctcat gggtggttc 1920
ggacttaaac accctcctcc gcagattctc atcaagaaca ccccggtacc tgcgaatcct 1980
tcgaccacct tcagtcgggc aaagtttgct tccttcatca cacagtactc cacgggacag 2040
gtcagcgtgg agatcgagtg ggagctgcag aaggaaaaca gcaagcgtg gaaccggag 2100
atccagtaca cttccaacta ttacaagtct aataatgttg aatttgctgt taatactgaa 2160
gggttatata gtgaaccccg cccattggc accagatacc tgactcgtaa tctgtaa 2217

```

<210> 27

<211> 2208

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 27
atggctgccg atggttatct tccagattgg ctcgaggaca accttagtga aggaattcgc 60
gagtgggggg acttgaaacc tggagccccc aagcccaaag ccaaccagca aaagcaggac 120
gacggccggg gtctgggtgt tcttggttac aagtacctcg gacccttcaa cggactcgac 180
aagggggagc ccgtcaacgc ggcggacgca gcggccctcg agcacgacaa ggcctacgac 240
cagcagctca aagcgggtga caatccgtac ctgcggtata accacgccga cgcagagttt 300
caggagcgtc tgcaagaaga tacgtctttt gggggcaacc tcgggcgagc agtcttccag 360
gccaagaagc gggttctcga acctctcggt ctggttgagg aaggtgctaa gacggctcct 420
ggaaagaaac gtccggtaga gcagtcgccca caagagccag actcctcctc gggcattggc 480
aagacaggcc agcagcccg ctaaaagaga ctcaattttg gtcagactgg cgactcagag 540
tcagtccccg acccacaacc tctcgagaa cctccagcaa ccccgctgc tgtgggacct 600
actacaatgg cttcaggcgg tggcgaccca atggcagaca ataacgaag cgccgacgga 660
gtgggtaatg cctcaggaaa ttggcattgc gattccacat ggctgggga cagagtcac 720
accaccagca cccgaacctg ggcctgccc acctacaaca accacctcta caaacaatt 780
tccagccaat caggagcctc gaacgacaat cactactttg gctacagcac cccttggggg 840
tattttgatt tcaacagatt ccactgccac ttttcaccac gtgactggca gcgactcatc 900
aacaacaatt ggggattccg gcccaagaga ctcagcttca agctcttcaa catccaggtc 960
aaggaggtca cgcagaatga aggcaccaag accatcgcca ataaccttac cagcacggtt 1020
caagtgttta cggactcgga gtatcagctc ccgtacgtgc tcggctcggc gcatcaagga 1080
tgctcccg cgttcccagc agacgtcttc atggtgccac agtatggata cctcacctg 1140
aacaacggga gtcaggcagt aggacgtct tcatcttact gcctggagta ctttccttct 1200
cagatgctgc gtaccggaaa caactttacc ttcagctaca cttttgagga cgttccttct 1260
cacagcagct acgctcacag ccagagtctg gaccgtctca tgaatcctct gattgaccag 1320
tacctgtatt acttgagcag aacaaacact ccaagtggaa ccaccacgca gtcaaggctt 1380
cagttttctc aggcgggagc gagtgcatt cgggaccagt ctaggaactg gcttcctgga 1440
ccctgttacc gccagcagc agtatcaaag acatctcggg ataacaaca cagtgaatac 1500

tcgtggactg	gagctaccaa	gtaccacctc	aatggcagag	actctctggt	gaatccgggc	1560
ccggccatgg	caagccacaa	ggactatgaa	gaaaagtttt	ttcctcagag	cgggggttctc	1620
atctttggga	agcaaggctc	agagaaaaca	aatgtggaca	ttgaaaaggt	catgattaca	1680
gacgaagagg	aaatcaggac	aaccaatccc	gtggctacgg	agcagtatgg	ttctgtatct	1740
accaacctcc	agagaggcaa	cagacaagca	gctaccgcag	atgtcaacac	acaaggcgtt	1800
cttcaggga	tggtctggca	ggacagagat	gtgtaccttc	agggggccat	ctgggcaaag	1860
attccacaca	cggacggaca	ttttcacccg	tctccgctga	tgggagggtt	tggcctgaaa	1920
catcctccgc	ctcagatcct	gatcaagaac	acgcctgtac	ctgcggatcc	tccgaccacc	1980
ttcaaccagt	caaagctgaa	ctctttcatc	actcagtatt	ctactggcca	agtcagcgtg	2040
gagatcgagt	gggagctgca	gaaggaaaac	agcaagcgct	ggaaccccca	gatccagtac	2100
acctccaact	actacaaatc	tacaagtgtg	gactttgctg	ttaatacaga	aggcgtgtac	2160
tctgaacccc	gccccattgg	cacccggtac	ctcaccogta	atctgtaa		2208

<210> 28

<211> 2214

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 28

atggctgccg	atggttatct	tocagattgg	ctcgaggaca	acctctctga	gggcattcgc	60
gagtggtagg	acttgaaacc	tggagccccc	aaacccaaag	ccaaccagca	aaagcaggac	120
gacggccggg	gtctggtgct	tcttggttac	aagtacctcg	gacccttcaa	cggactcgac	180
aagggggagc	ccgtcaacgc	ggcggatgca	gcgccctctg	agcagacaaa	ggcctacgac	240
cagcagctca	aagcgggtga	caatccgtac	ctgcggtata	accacgccga	cgccgagttt	300
caggagcgtc	tgcaagaaga	tacgtctttt	gggggcaacc	tcgggagagc	agtcttccag	360
gccaagaaga	gggttctcga	accttttggg	ctggttgagg	aagggtgctaa	gacggctcct	420
ggaaagaaac	gtccggtaga	gcagtcgcca	caagagccag	actcctcctc	gggcattggc	480
aagacaggcc	agcagcctgc	aagaaaaaga	ttgaattttg	gtcagactgg	agacgcagac	540
tcagtacctg	acccccagcc	tctcggacag	ccaccagcag	ccccctctgg	tctgggaact	600
aatacgatgg	ctacaggcag	tggcgcacca	atggcagaca	ataacgaggg	cggcgacgga	660
gtgggtaatt	cctcgggaaa	ttggcattgc	gattcccaat	ggctggggga	cagagtcata	720
accaccagca	cccgaacctg	ggccctgccc	acctacaaca	atcacctcta	caagcaaata	780
tccaacagca	catctggagg	atcttcaaata	gacaacgcct	acttcggcta	cagcaccccc	840
tgggggtatt	ttgatttcaa	cagattccac	tgccatttct	caccacgtga	ctggcagcga	900

```

ctcatcaaca acaattgggg attccggccc aagagactca acttcaagct cttcaacatc      960
cagggtcaagg aggtcacgca gaatgaaggc accaagacca tcgccaataa cctcaccagc    1020
accatccagg tgtttacgga ctcggtgagc cagctgccgt acgttctcgg ctctgccac      1080
caggggtgcc tgctccggtt cccggcggac gtgttcacga ttcccagta cggctaccta    1140
aactcaaca acggtagtca ggccgtggga cgctcctcct tctactgcct ggaatacttt    1200
ccttcgcaga tgctgagaac cggcaacaac ttccagttaa cttacacctt cgaggacgtg    1260
cctttccaca gcagctacgc ccacagccag agcttgacc ggctgatgaa tcctctgatt    1320
gaccagtacc tgtactactt gtctcggact caaacaacag gaggcacgac aaatacgcag    1380
actctgggct tcagccaagg tgggcctaata acaatggcca atcaggcaaa gaactggctg    1440
ccaggaccct gttaccgcca gcagcgagta tcaaagacat ttgaggataa caacaacagt    1500
gaatactcgt ggactggagc taccaagtac cacctcaatg gcagagactc tctggatgaat    1560
ccgggcccgg ccatggcaag ccacaaggac gatgaagaaa agttttttcc tcagagcggg    1620
gttctcatct ttgggaagca aggtcagag aaaacaatg tggacattga aaaggtcatg    1680
attacagacg aagaggaaat caggacaacc aatcccgtgg ctacggagca gtatggttct    1740
gtatctacca acctccagag aggcaacaga caagcagcta ccgcagatgt caacacacaa    1800
ggcgttcttc caggcatggt ctggcaggac agagatgtgt accttcaggg gcccatctgg    1860
gcaaagattc cacacacgga cggacatttt caccctctc ccctcatggg tggattcgga    1920
cttaaaccac ctccgcctca gatcctgatc aagaacacgc ctgtaccgc ggatcctccg    1980
accaccttca accagtcaaa gctgaactct ttcacaccc agtattctac tggccaagtc    2040
agcgtggaga tcgagtggga gctgcagaag gaaaacagca agcgtggaa ccccgagatc    2100
cagtacacct ccaactacta caaatctaca agtgtggact ttgctgttaa tacagaaggc    2160
gtgtactctg aaccccgccc cattggcacc cgttacctca cccgtaatct gtaa          2214

```

<210> 29

<211> 737

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 29

```

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1           5           10           15

```

```

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro
20           25           30

```

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met
545 550 555 560

Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu
565 570 575

Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala Pro
580 585 590

Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp
595 600 605

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro
610 615 620

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly
625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro
645 650 655

Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile
660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu
675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser
690 695 700

Asn Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly
705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
725 730 735

Leu

<210> 30

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 30

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly
145 150 155 160

Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190

Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala
210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
245 250 255

ES 2 857 773 T5

Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His
260 265 270

Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe
275 280 285

His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn
290 295 300

Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln
305 310 315 320

Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn
325 330 335

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

Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala
355 360 365

Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly
370 375 380

Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro
385 390 395 400

Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr Phe
405 410 415

Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp
420 425 430

Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg
435 440 445

Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser
450 455 460

Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro
465 470 475 480

Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn
485 490 495

Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn

ES 2 857 773 T5

500	505	510
Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys		
515	520	525
Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly		
530	535	540
Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile		
545	550	555
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg		
565	570	575
Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala		
580	585	590
Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln		
595	600	605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His		
610	615	620
Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu		
625	630	635
Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala		
645	650	655
Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr		
660	665	670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln		
675	680	685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn		
690	695	700
Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu		
705	710	715
Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu		
725	730	735

<210> 31

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 31

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Gln Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly
145 150 155 160

Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190

Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

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

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn Asp Asn
485 490 495

Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His Leu Asn
500 505 510

Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys
515 520 525

Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His Gly Asn Leu Ile Phe Gly
530 535 540

Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu Leu Asp Asn Val Met Ile
545 550 555 560

Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln
565 570 575

Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Thr
580 585 590

Thr Arg Thr Val Asn Asp Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val
705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 32

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 32

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
145 150 155 160

Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
165 170 175

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro
180 185 190

Pro Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly
195 200 205

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

<210> 33

<211> 736

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 33

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
145 150 155 160

Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
165 170 175

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro
180 185 190

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

<210> 34
 <211> 736
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia recombinante

<400> 34
 Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
 1 5 10 15
 Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro
 20 25 30
 Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro
 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
 50 55 60
 Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80
 Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
 85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro
 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175

ES 2 857 773 T5

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
 180 185 190

Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205

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

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Leu Gly Asp Arg Val Ile Thr
 225 230 235 240

Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu Tyr
 245 250 255

Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ala Thr Asn Asp Asn Thr
 260 265 270

Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe
 275 280 285

His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn
 290 295 300

Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln
 305 310 315 320

Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala Asn Asn
 325 330 335

Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro
 340 345 350

Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala
 355 360 365

Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly
 370 375 380

Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro
 385 390 395 400

Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe
 405 410 415

Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp
 420 425 430

ES 2 857 773 T5

Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg
 435 440 445
 Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe Ser
 450 455 460
 Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu Pro
 465 470 475 480
 Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln Asn
 485 490 495
 Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu Asn
 500 505 510
 Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro Gly Ile Ala Met Ala Thr His Lys
 515 520 525
 Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe Gly
 530 535 540
 Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met Leu
 545 550 555 560
 Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Glu
 565 570 575
 Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala Pro Gln
 580 585 590
 Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
 595 600 605
 Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
 610 615 620
 Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
 625 630 635 640
 Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
 645 650 655
 Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr
 660 665 670
 Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln

ES 2 857 773 T5

675

680

685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val
705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 35

<211> 737

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 35

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly
145 150 155 160

10

ES 2 857 773 T5

Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175
 Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
 180 185 190
 Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205
 Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser
 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255
 Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ala Thr Asn Asp Asn
 260 265 270
 Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg
 275 280 285
 Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn
 290 295 300
 Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile
 305 310 315 320
 Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala Asn
 325 330 335
 Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu
 340 345 350
 Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
 355 360 365
 Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn
 370 375 380
 Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
 385 390 395 400
 Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile
660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu
675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser
690 695 700

Asn Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly
705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
725 730 735

Leu

<210> 36

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 36

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 37

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 37

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala
355 360 365

Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly
370 375 380

Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro
385 390 395 400

Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe
405 410 415

Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp
420 425 430

Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg
435 440 445

Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser
450 455 460

Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro
465 470 475 480

Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn
485 490 495

Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn
500 505 510

Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys
515 520 525

Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly
530 535 540

Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile
545 550 555 560

Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg
565 570 575

Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala
580 585 590

Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605

ES 2 857 773 T5

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 38

<211> 734

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 38

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Asp	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr
			340						345			350			
Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Glu	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	Asp
			355			360						365			
Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asp	Gly	Ser
			370			375			380						
Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser
			385			390			395			400			
Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Gln	Phe	Ser	Tyr	Glu	Phe	Glu
			405			410						415			
Asn	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg
			420			425						430			
Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Lys	Thr
			435			440			445						
Ile	Asn	Gly	Ser	Gly	Gln	Asn	Gln	Gln	Thr	Leu	Lys	Phe	Ser	Val	Ala
			450			455			460						
Gly	Pro	Ser	Asn	Met	Ala	Val	Gln	Gly	Arg	Asn	Tyr	Ile	Pro	Gly	Pro
			465			470			475			480			
Ser	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Asn	Asn	Asn
			485			490						495			
Ser	Glu	Phe	Ala	Trp	Pro	Gly	Ala	Ser	Ser	Trp	Ala	Leu	Asn	Gly	Arg
			500			505						510			
Asn	Ser	Leu	Met	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	Glu	Gly
			515			520			525						
Glu	Asp	Arg	Phe	Phe	Pro	Leu	Ser	Gly	Ser	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	Gln
			530			535			540						
Gly	Thr	Gly	Arg	Asp	Asn	Val	Asp	Ala	Asp	Lys	Val	Met	Ile	Thr	Asn
			545			550			555			560			
Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Ser	Tyr	Gly
			565			570			575						
Gln	Val	Ala	Thr	Asn	His	Gln	Ser	Ala	Gln	Ala	Gln	Ala	Gln	Thr	Gln

ES 2 857 773 T5

580

585

590

Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg
595 600 605

Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp
610 615 620

Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His
625 630 635 640

Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asp Pro
645 650 655

Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr
660 665 670

Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu
675 680 685

Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Ala
690 695 700

Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu Tyr Thr
705 710 715 720

Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730

<210> 39

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 39

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg
565 570 575

Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala
580 585 590

Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys Asn Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 40

<211> 737

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 40

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met
545 550 555 560

Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu
565 570 575

Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala Pro
580 585 590

Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Asp Leu Pro Gly Met Val Trp
595 600 605

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro
610 615 620

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly
625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro
645 650 655

Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile
660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu
675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser
690 695 700

Asn Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly
705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
725 730 735

Leu

<210> 41

<211> 734

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 41

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro
20 25 30

Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Cys Arg Gly Leu Val Leu Pro
35 40 45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Thr Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly
145 150 155 160

Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro
180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser
210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
245 250 255

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Glu Gly
515 520 525

Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly Lys Gln
530 535 540

Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile Thr Asn
545 550 555 560

Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser Tyr Gly
565 570 575

Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln Thr Gly
580 585 590

Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg
595 600 605

Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp
610 615 620

Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His
625 630 635 640

Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro
645 650 655

Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr
660 665 670

Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu
675 680 685

Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Ala
690 695 700

Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu Tyr Thr
705 710 715 720

Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Lys Pro Leu
725 730

<210> 42

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 42

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
145 150 155 160

Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
165 170 175

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro
180 185 190

Pro Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly
195 200 205

Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn
210 215 220

Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val
225 230 235 240

ES 2 857 773 T5

Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His
 245 250 255
 Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His
 260 265 270
 Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe
 275 280 285
 His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn
 290 295 300
 Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln
 305 310 315 320
 Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn
 325 330 335
 Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro
 340 345 350
 Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala
 355 360 365
 Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly
 370 375 380
 Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro
 385 390 395 400
 Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe
 405 410 415
 Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp
 420 425 430
 Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg
 435 440 445
 Thr Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser
 450 455 460
 Gln Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro
 465 470 475 480
 Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn

ES 2 857 773 T5

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

<210> 43

 $\langle 211 \rangle$ 737

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 43

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Gln Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly
145 150 155 160

Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190

Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser

ES 2 857 773 T5

210		215		220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile				
225		230		235
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu				
		245		250
Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ala Thr Asn Asp Asn				
		260		265
Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg				
		275		280
Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn				
		290		295
Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile				
		305		310
Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala Asn				
		325		330
Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu				
		340		345
Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro				
		355		360
Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn				
		370		375
Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe				
		385		390
Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr				
		405		410
Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu				
		420		425
Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser				
		435		440
Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe				
		450		455

ES 2 857 773 T5

Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu
465 470 475 480

Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly Gln
485 490 495

Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Ala Gly Thr Lys Tyr His Leu
500 505 510

Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro Gly Ile Ala Met Ala Thr His
515 520 525

Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Asn Gly Ile Leu Ile Phe
530 535 540

Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val Met
545 550 555 560

Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu
565 570 575

Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala Pro
580 585 590

Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp
595 600 605

Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro
610 615 620

His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly
625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro
645 650 655

Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile
660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu
675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser
690 695 700

Asn Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly
705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
725 730 735

Leu

<210> 44
<211> 734
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

ES 2 857 773 T5

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 44

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly
145 150 155 160

Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

ES 2 857 773 T5

Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro
 180 185 190

Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205

Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser
 210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240

Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255

Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
 260 265 270

Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
 275 280 285

Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
 290 295 300

Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
 305 310 315 320

Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn Asn Leu
 325 330 335

Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu Pro Tyr
 340 345 350

Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
 355 360 365

Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp Gly Ser
 370 375 380

Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
 385 390 395 400

Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu Phe Glu
 405 410 415

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

<210> 45
 <211> 738
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia recombinante

<400> 45
 Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
 1 5 10 15
 Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
 20 25 30
 Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro
 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
 50 55 60
 Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80
 Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
 85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
 145 150 155 160

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser
 420 425 430
 Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu
 435 440 445
 Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly
 450 455 460
 Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp
 465 470 475 480
 Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly
 485 490 495
 Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Ala Gly Thr Lys Tyr His
 500 505 510
 Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro Gly Ile Ala Met Ala Thr
 515 520 525
 His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Asn Gly Ile Leu Ile
 530 535 540
 Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val
 545 550 555 560
 Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr
 565 570 575
 Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala
 580 585 590
 Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val
 595 600 605
 Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile
 610 615 620
 Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe
 625 630 635 640
 Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val
 645 650 655
 Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe

ES 2 857 773 T5

660

665

670

Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu
675 680 685

Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr
690 695 700

Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu
705 710 715 720

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

Asn Leu

<210> 46

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 46

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Gln Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

10

ES 2 857 773 T5

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
 165 170 175
 Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
 180 185 190
 Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
 195 200 205
 Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
 210 215 220
 Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
 225 230 235 240
 Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
 245 250 255
 Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
 260 265 270
 Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
 275 280 285
 Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
 290 295 300
 Gly Phe Arg Pro Lys Lys Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
 305 310 315 320
 Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
 325 330 335
 Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
 340 345 350
 Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
 355 360 365
 Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser

ES 2 857 773 T5

370		375		380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser				
385		390		395
				400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu				
		405		410
				415
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg				
		420		425
				430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr				
		435		440
				445
Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln Ser Arg Leu Leu Phe Ser				
		450		455
				460
Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln Ala Arg Asn Trp Leu Pro				
		465		470
				475
Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn Asp Asn				
		485		490
				495
Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His Leu Asn				
		500		505
				510
Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys				
		515		520
				525
Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His Gly Asn Leu Ile Phe Gly				
		530		535
				540
Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu Leu Asp Asn Val Met Ile				
		545		550
				555
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln				
		565		570
				575
Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Thr				
		580		585
				590
Thr Arg Thr Val Asn Asp Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln				
		595		600
				605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His				
		610		615
				620

ES 2 857 773 T5

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val
705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 47

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 47

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Gln Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val
705 710 715 720

Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 48

<211> 736

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 48

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln
595 600 605

Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His
610 615 620

Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu
625 630 635 640

Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala
645 650 655

Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr
660 665 670

Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln
675 680 685

Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn
690 695 700

Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu
705 710 715 720

Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu
725 730 735

<210> 49

<211> 737

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 49

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala Asn
 325 330 335
 Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu
 340 345 350
 Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro
 355 360 365
 Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn
 370 375 380
 Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
 385 390 395 400
 Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Thr Tyr Thr
 405 410 415
 Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
 420 425 430
 Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser
 435 440 445
 Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Thr Asn Thr Gln Thr Leu Gly Phe
 450 455 460
 Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp Leu
 465 470 475 480
 Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Phe Ala Asp
 485 490 495
 Asn Asn Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu
 500 505 510
 Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His
 515 520 525
 Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe
 530 535 540
 Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met
 545 550 555 560
 Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu

ES 2 857 773 T5

565

570

575

Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala
580 585 590

Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp
595 600 605

Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro
610 615 620

His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly
625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro
645 650 655

Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile
660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu
675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser
690 695 700

Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly
705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
725 730 735

Leu

<210> 50

<211> 737

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 50

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe
530 535 540

Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met
545 550 555 560

Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu
565 570 575

Gln Tyr Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala
580 585 590

Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp
595 600 605

Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro
610 615 620

His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly
625 630 635 640

Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro
645 650 655

Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile
660 665 670

Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu
675 680 685

Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser
690 695 700

Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly
705 710 715 720

Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn
725 730 735

Leu

<210> 51

<211> 735

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 51

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly
145 150 155 160

Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190

Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala
210 215 220

Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
225 230 235 240

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly
500 505 510

Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp
515 520 525

Tyr Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys
530 535 540

Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr
545 550 555 560

Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr
565 570 575

Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr
580 585 590

Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp
595 600 605

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr
610 615 620

Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys
625 630 635 640

His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asp
645 650 655

Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr Gln
660 665 670

Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys
675 680 685

Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr
690 695 700

Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val Tyr
705 710 715 720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 52

<211> 735

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 52

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly
145 150 155 160

Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190

Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala
210 215 220

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Glu Asp Asn Asn
485 490 495

Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly
500 505 510

Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp
515 520 525

Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys
530 535 540

Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr
545 550 555 560

Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr
565 570 575

Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr
580 585 590

Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp
595 600 605

Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr
610 615 620

Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys
625 630 635 640

His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn
645 650 655

Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln
660 665 670

Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys
675 680 685

Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr
690 695 700

Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr
705 710 715 720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 53

<211> 735

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

ES 2 857 773 T5

<400> 53

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125

Phe Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly
145 150 155 160

Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175

Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
180 185 190

Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
195 200 205

ES 2 857 773 T5

Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ser		
210						215					220						
Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Met	Gly	Asp	Arg	Val	Ile		
225					230					235					240		
Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu		
				245					250					255			
Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	Tyr		
			260					265					270				
Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His		
		275					280					285					
Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp		
	290					295					300						
Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Lys	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	Val		
305					310					315					320		
Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu		
				325					330					335			
Thr	Ser	Thr	Ile	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr		
			340					345					350				
Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	Asp		
		355					360					365					
Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser		
	370					375					380						
Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser		
385					390					395					400		
Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Gln	Phe	Thr	Tyr	Thr	Phe	Glu		
				405					410					415			
Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg		
			420					425					430				
Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr		
	435						440					445					
Gln	Thr	Thr	Gly	Gly	Thr	Thr	Asn	Thr	Gln	Thr	Leu	Gly	Phe	Ser	Gln		

ES 2 857 773 T5

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

<210> 54

<211> 738

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 857 773 T5

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 54

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Thr Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
145 150 155 160

Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
165 170 175

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr
690 695 700

Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu
705 710 715 720

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

Asn Leu

<210> 55

<211> 735

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 55

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125

Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln
660 665 670

Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys
675 680 685

Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr
690 695 700

Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr
705 710 715 720

Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 56

<211> 738

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia recombinante

<400> 56

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
1 5 10 15

Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60

Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80

Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
85 90 95

Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125

10

ES 2 857 773 T5

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

ES 2 857 773 T5

Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe
 385 390 395 400
 Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Thr
 405 410 415
 Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu
 420 425 430
 Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn
 435 440 445
 Arg Thr Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln Ser Arg Leu Leu
 450 455 460
 Phe Ser Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln Ala Arg Asn Trp
 465 470 475 480
 Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn
 485 490 495
 Asp Asn Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His
 500 505 510
 Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser
 515 520 525
 His Lys Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His Gly Asn Leu Ile
 530 535 540
 Phe Gly Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu Leu Asp Asn Val
 545 550 555 560
 Met Ile Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr
 565 570 575
 Glu Gln Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala
 580 585 590
 Pro Thr Thr Arg Thr Val Asn Asp Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val
 595 600 605
 Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile
 610 615 620
 Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe

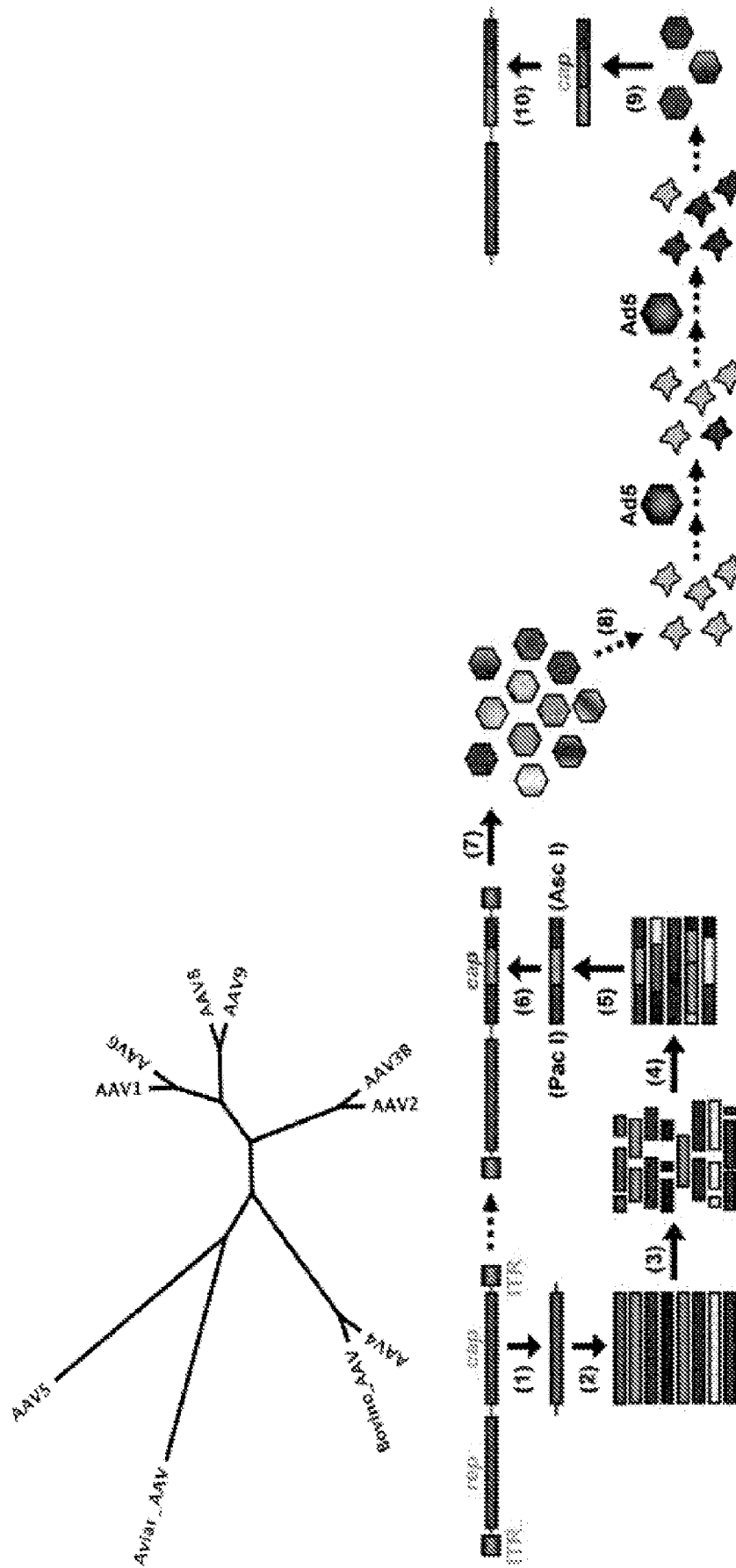
ES 2 857 773 T5

[illegible]

REIVINDICACIONES

1. Una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de la cápside, en donde la secuencia de nucleótidos comprende la SEQ ID NO: 4.
- 5 2. Una secuencia de proteína de la cápside recombinante definida por la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos según la reivindicación 1.
3. Una partícula viral que comprende una secuencia de proteína de la cápside recombinante definida por la secuencia de aminoácidos de la reivindicación 2.
4. Un plásmido que comprende la secuencia de nucleótidos según la reivindicación 1.
- 10 5. Un vector de AAV recombinante, que comprende una proteína de la cápside que tiene una secuencia de aminoácidos de la reivindicación 2 o la reivindicación 3.
6. Una composición para su uso en la transferencia de un gen de interés a un mamífero, que comprende un vector de AAV recombinante que codifica el gen de interés que está encapsidado en una proteína de la cápside codificada por la secuencia de nucleótidos según la reivindicación 1.
- 15 7. Una composición para su uso en la transferencia de un gen de interés a un mamífero, que comprende un vector de AAV recombinante que codifica el gen de interés que está encapsidado en una proteína de la cápside que comprende la secuencia de aminoácidos de la reivindicación 2.

Figura 1. Selección de la biblioteca combinada de AAV



Modificado de Grimm D. et al. J. Vir. 2008

Figura 2. Selección de la biblioteca combinada de AAV en célula TC.

Diseño Experimental

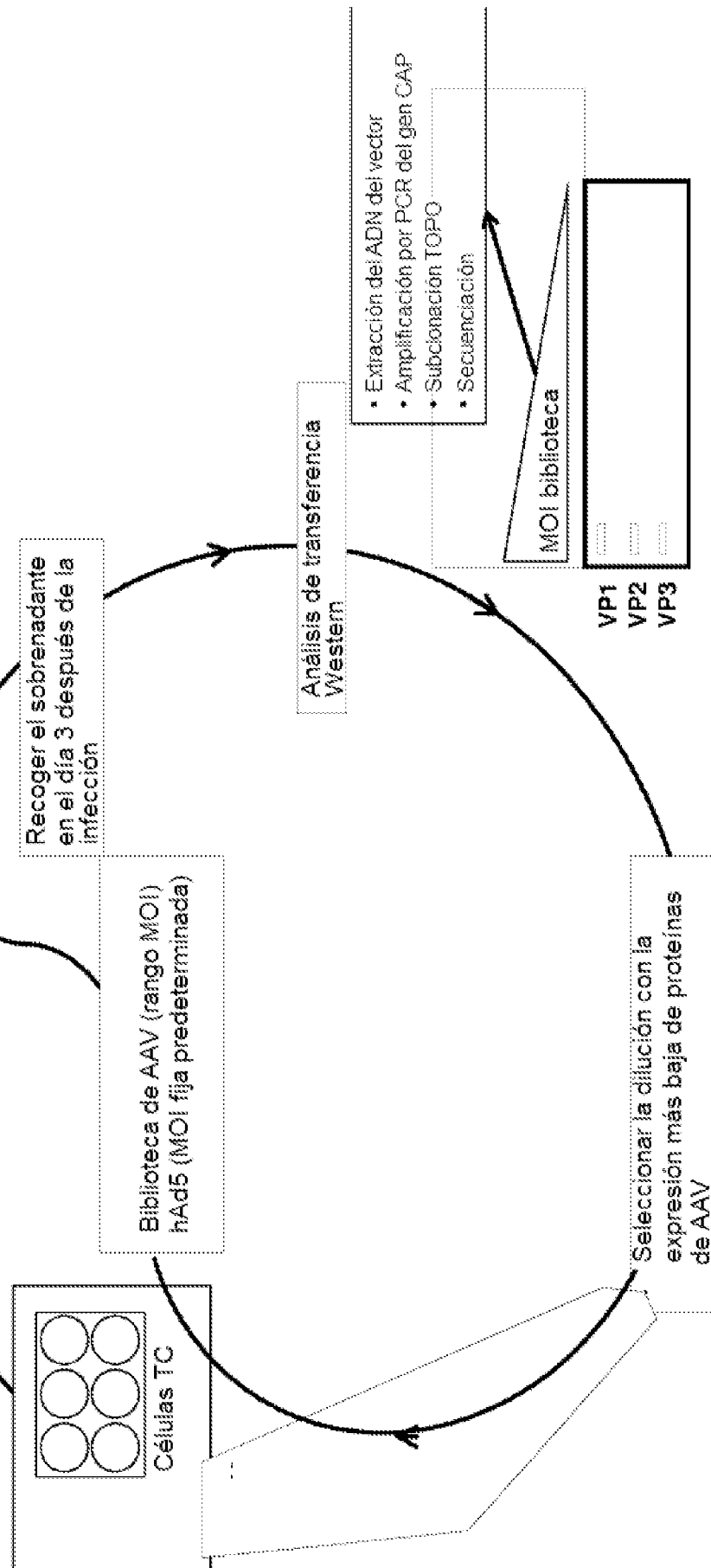


Figura 3. Selección de biblioteca combinada de AAV. Células hPAEC.

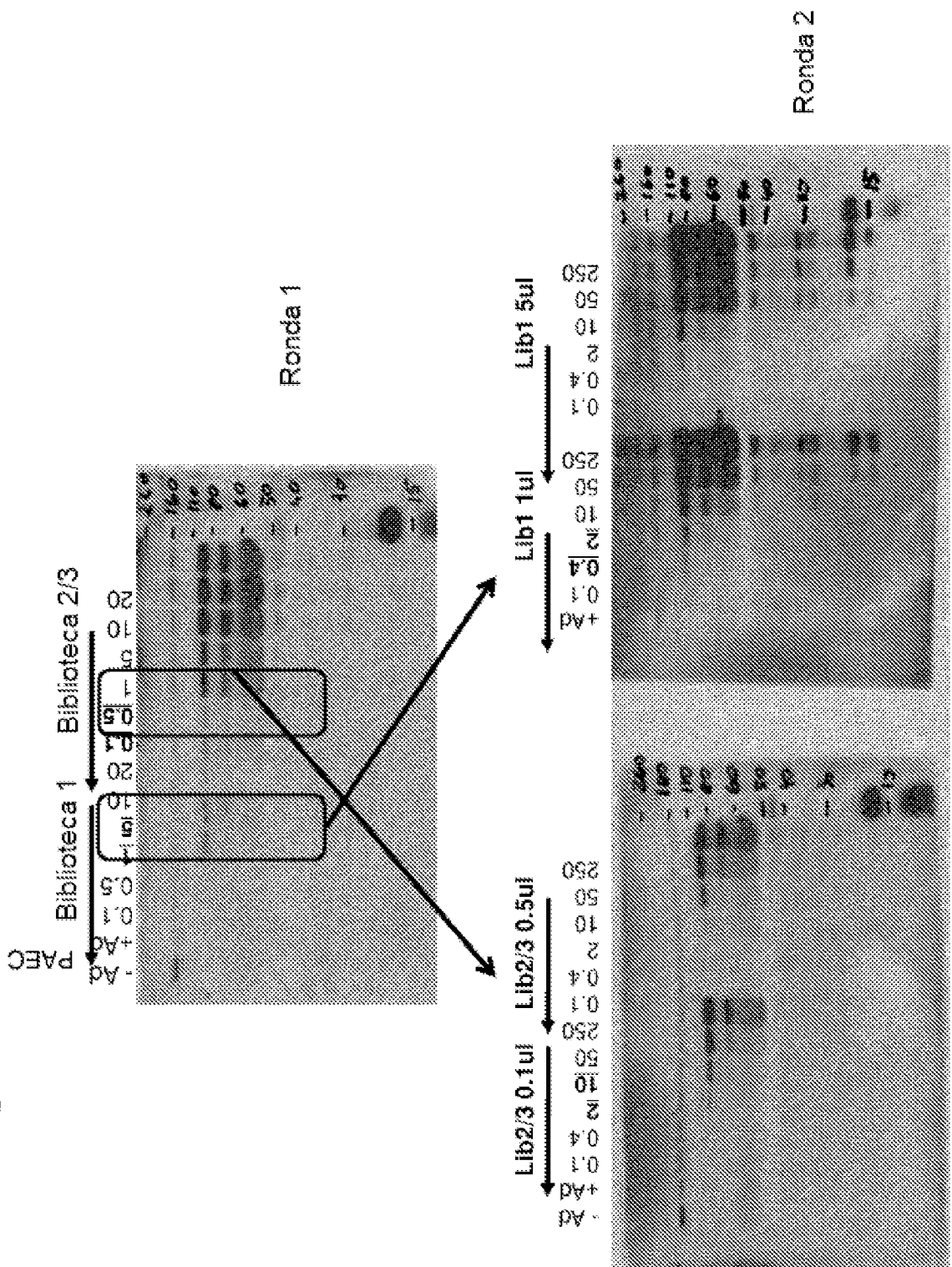


Figura 4. Selección de biblioteca combinada de AAV. Células hPAEC.

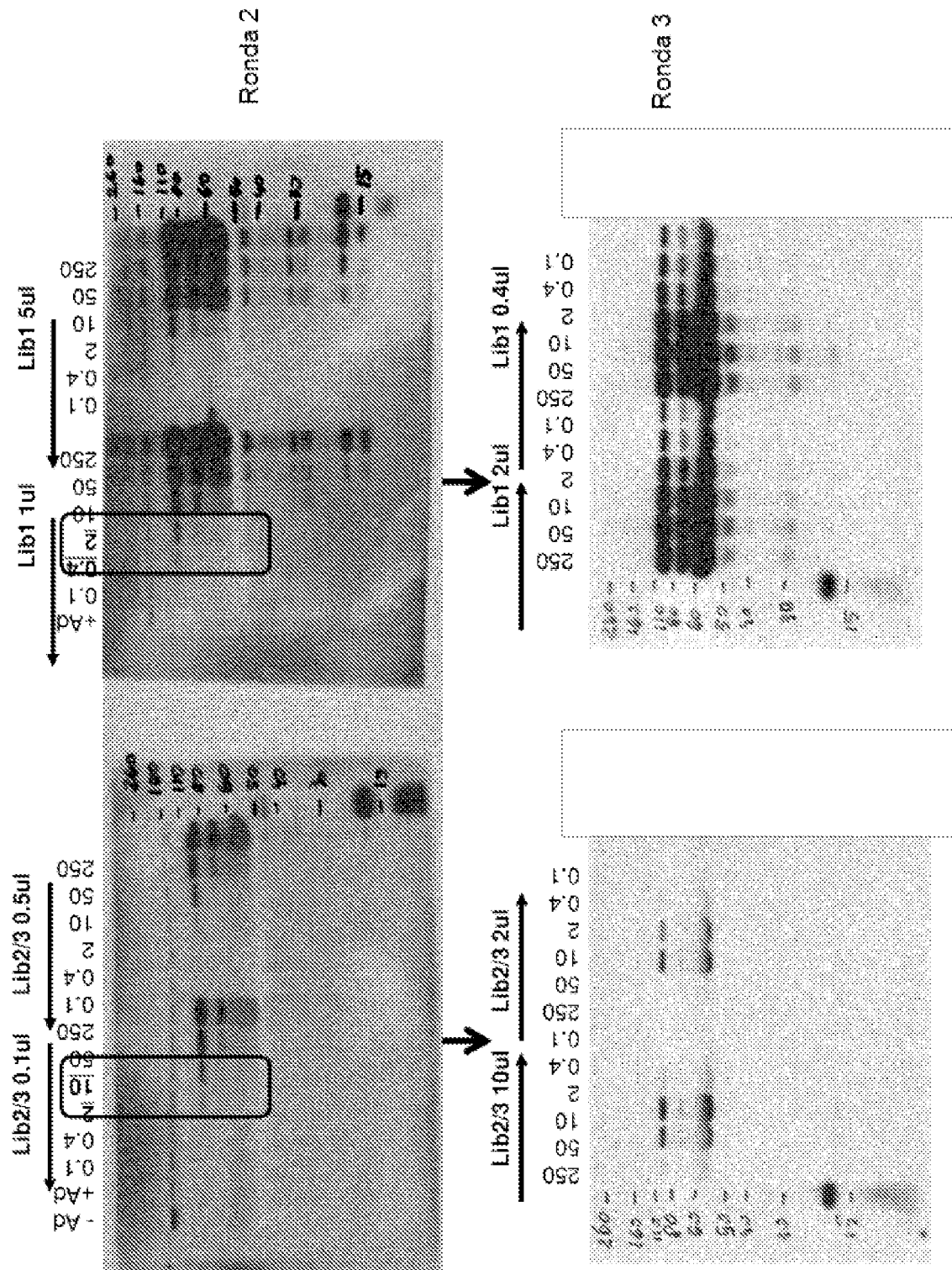


Figura 5. Selección de biblioteca combinada de AAV. Células hPAEC.

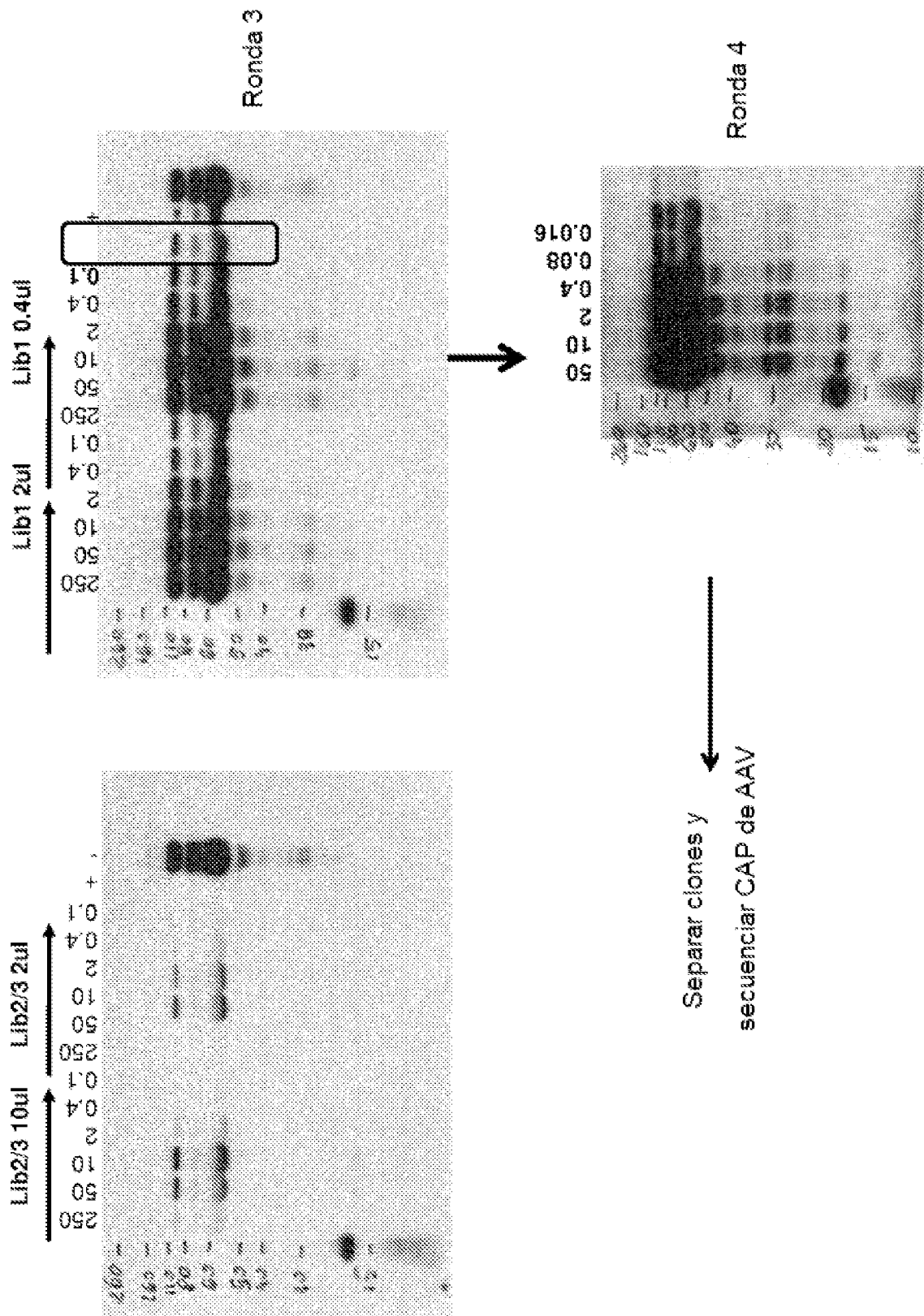
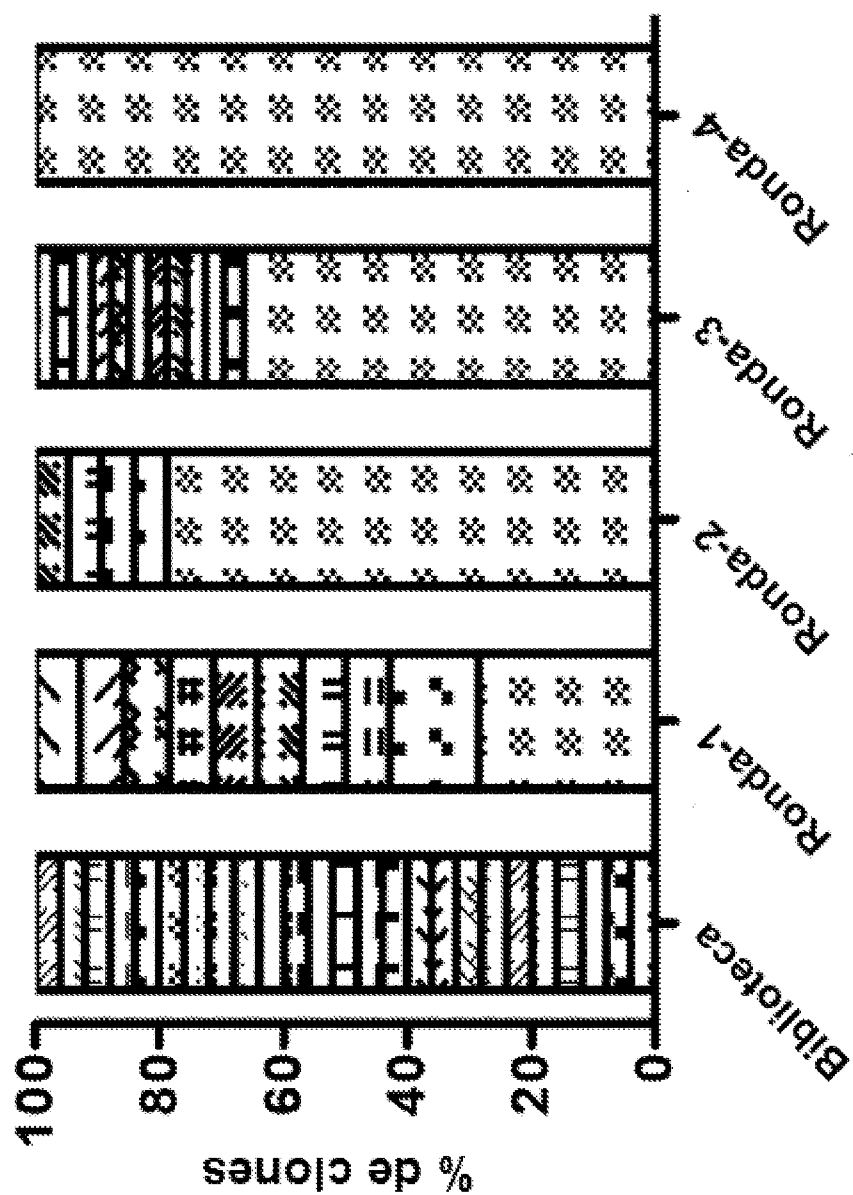


Figura 6. Selección de biblioteca combinada de AAV. Células hPAEC.



N=25-30 / ronda

Figura 8. Selección de biblioteca combinada de AAV. AAV-PAEC.

A nivel de aminoácidos... debido a que AAV1 y AAV6 son muy similares, si seleccionamos AAV1 como el contribuyente principal, entonces hay 3 aa que provienen de AAV6. Lo mismo si seleccionamos AAV6 como el contribuyente principal, entonces hay 3 aa que provienen de AAV1.

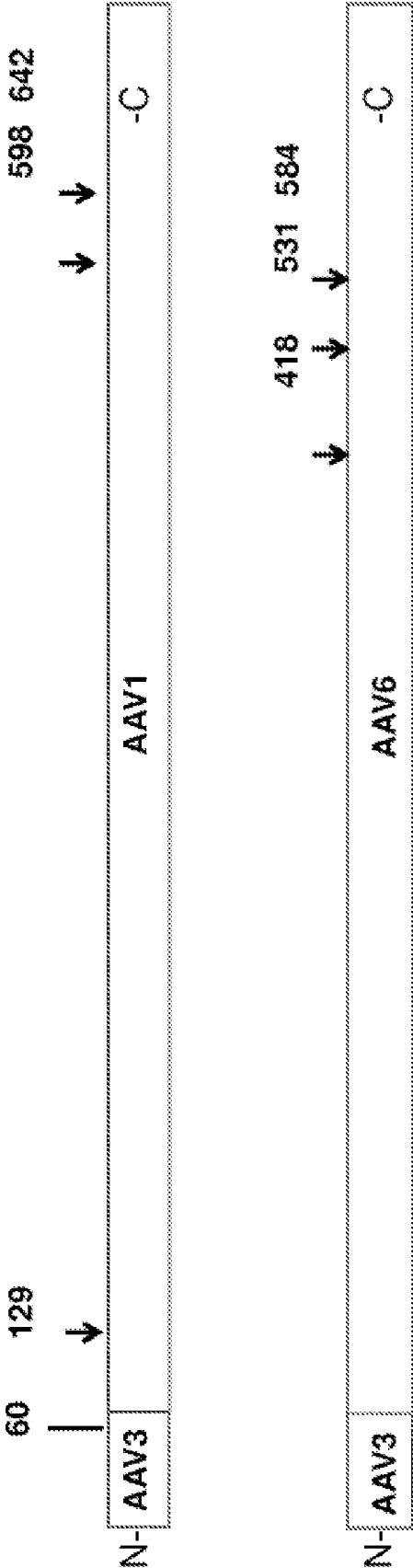


Figura 9. Selección de biblioteca combinada de AAV. AAV-PAEC.

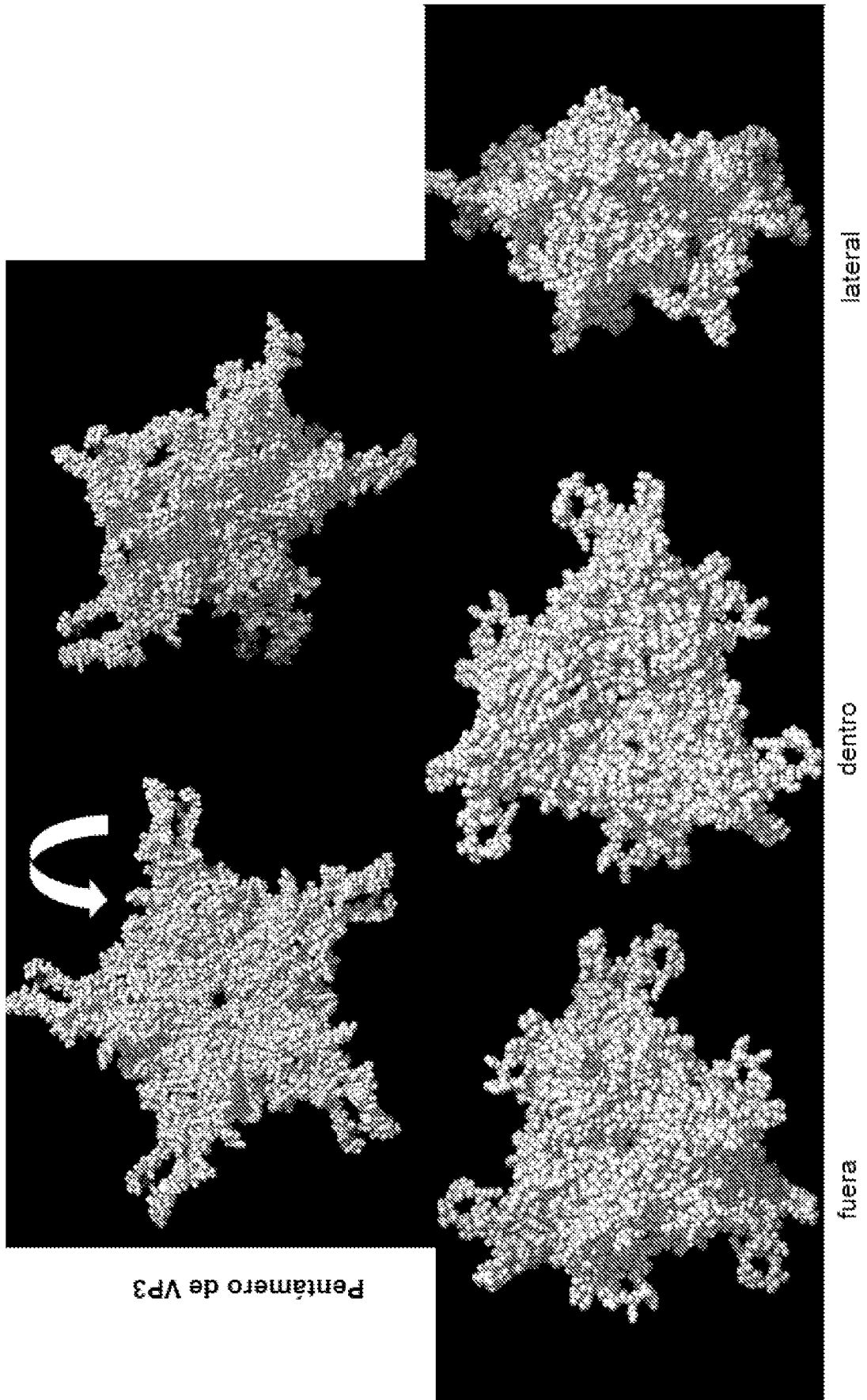


Figura 10. Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG.
Diseño Experimental

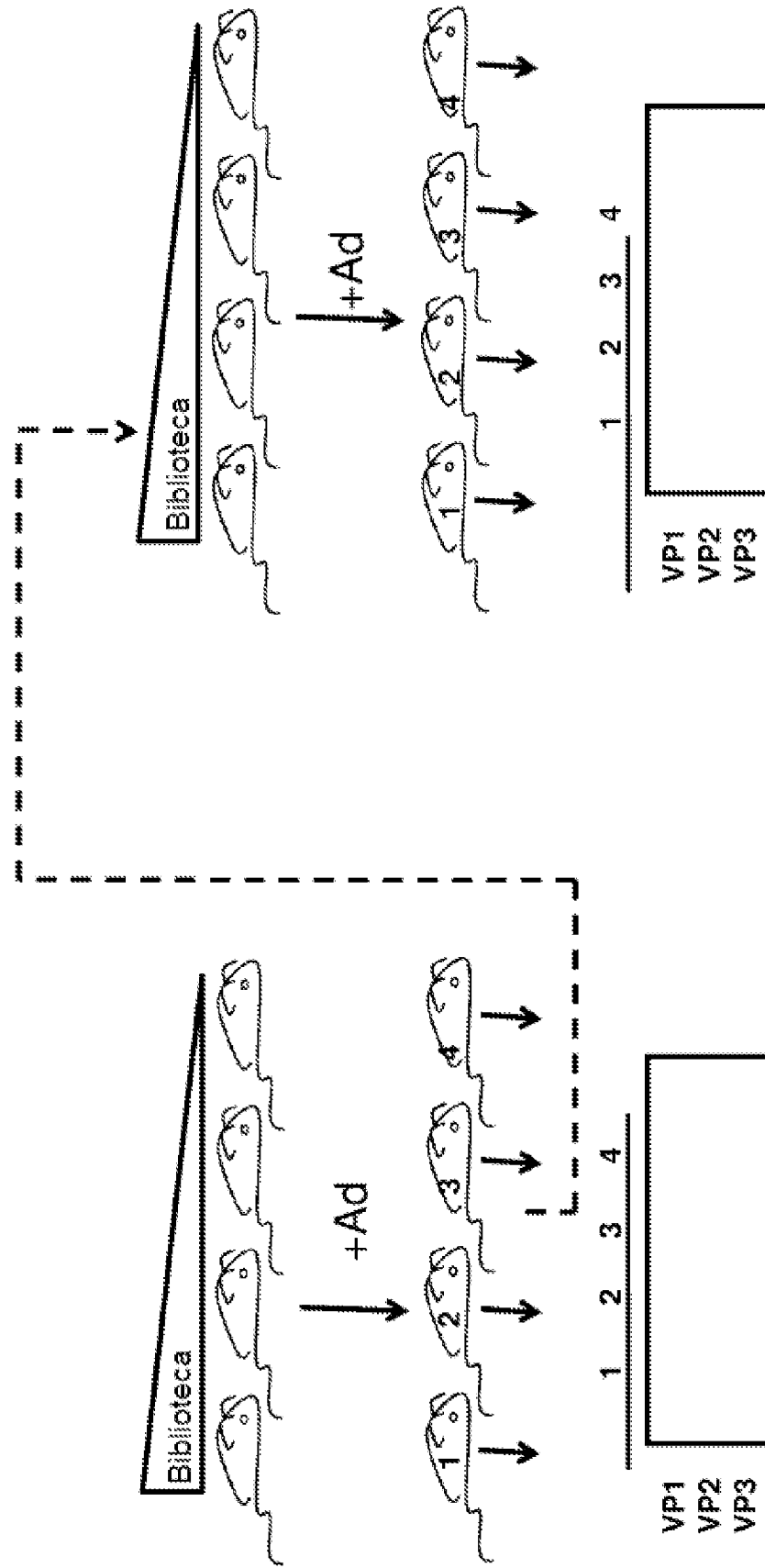


Figura 11. Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG.

Experimento real.

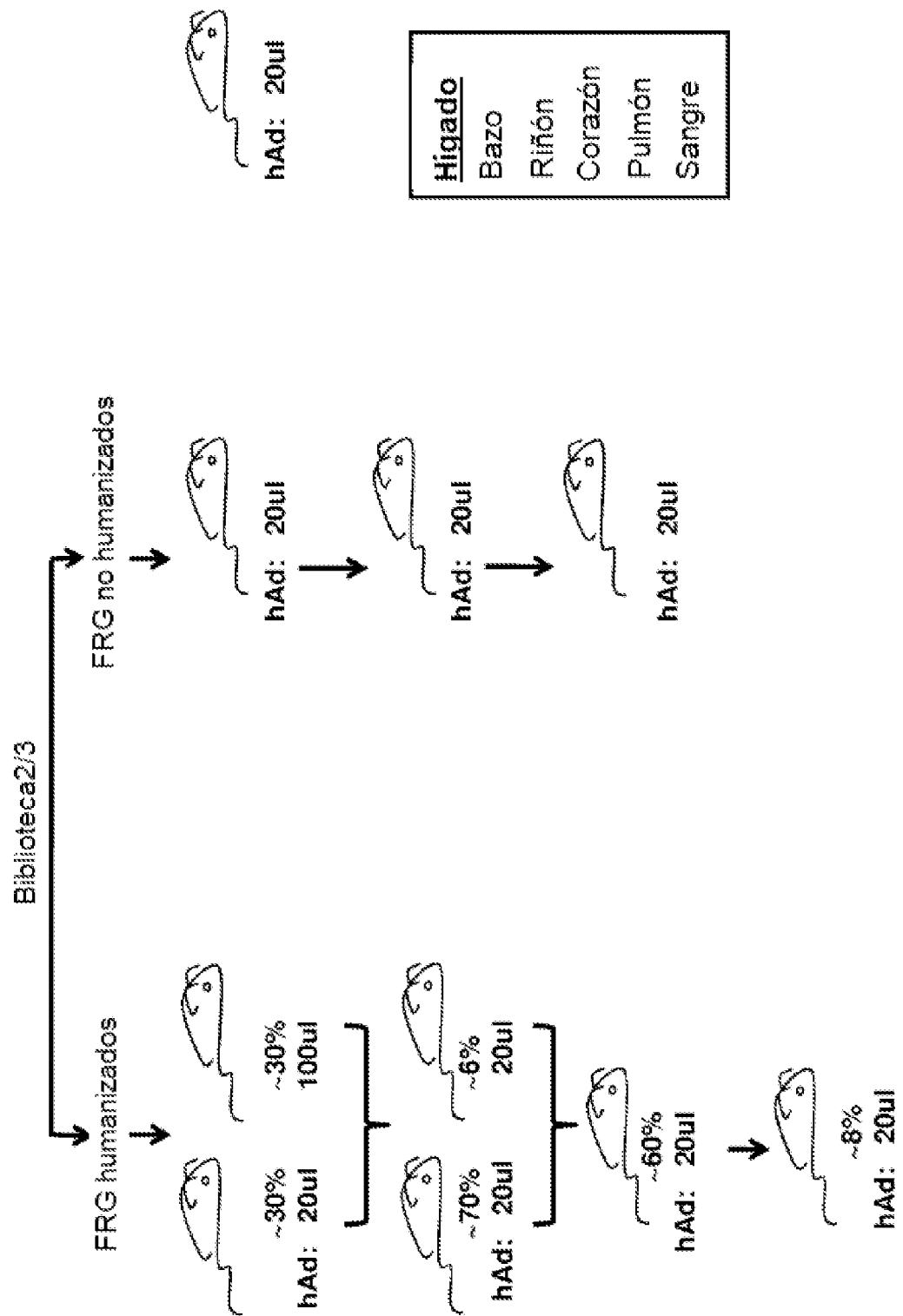


Figura 12. Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG.

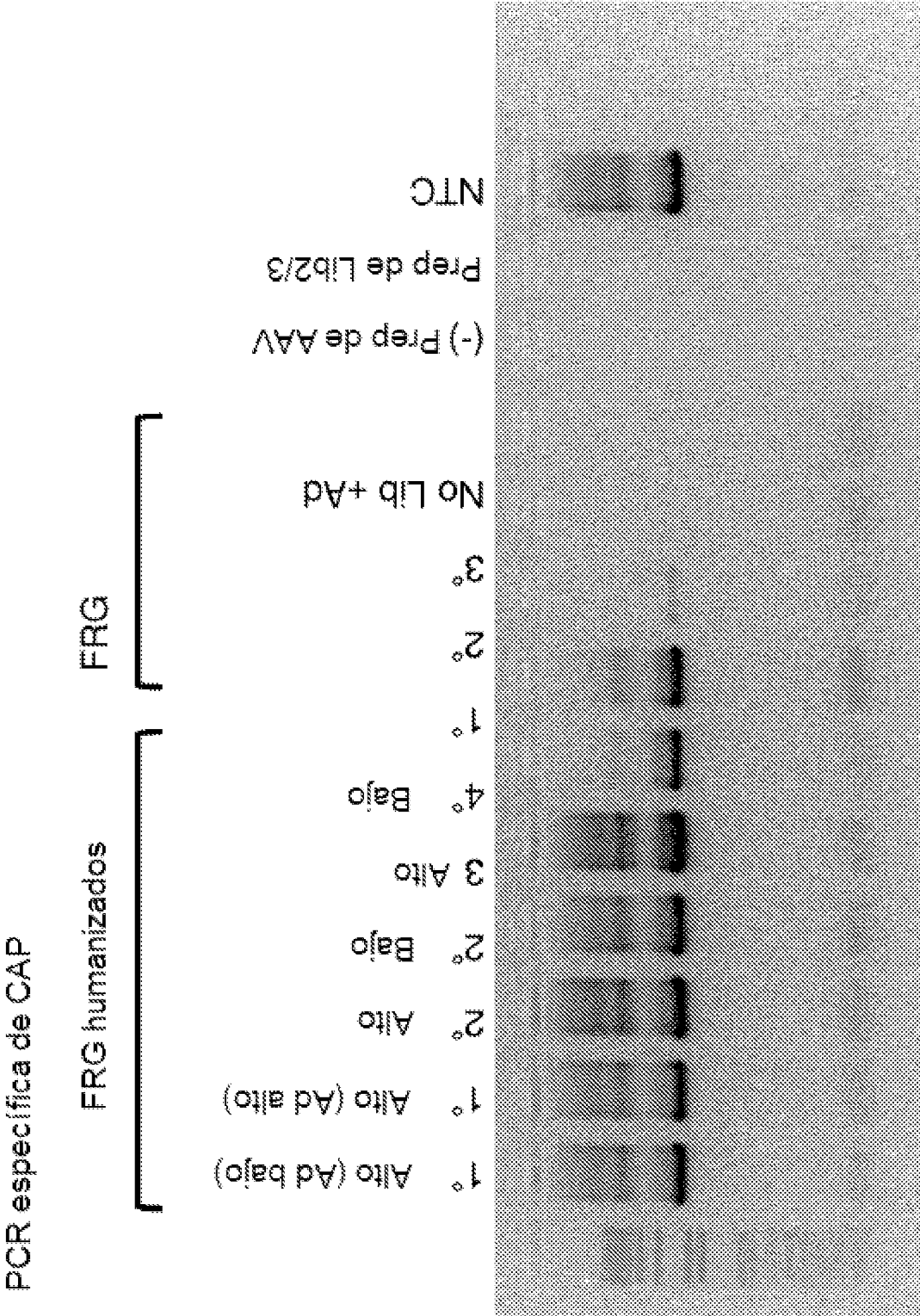
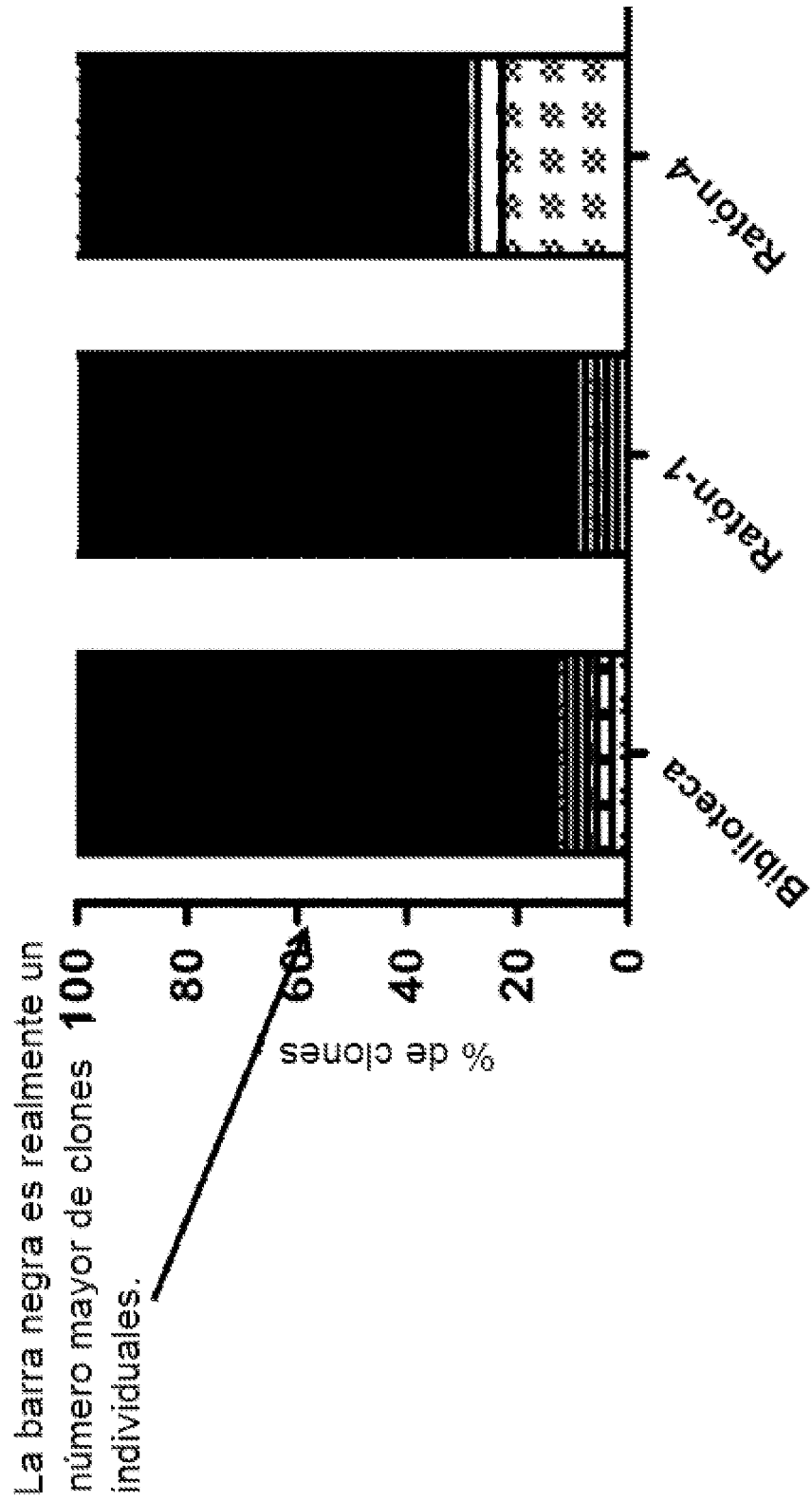


Figura 13. Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG.



N=100-150 / ronda

Figura 14 . Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG. AAV-LK01.

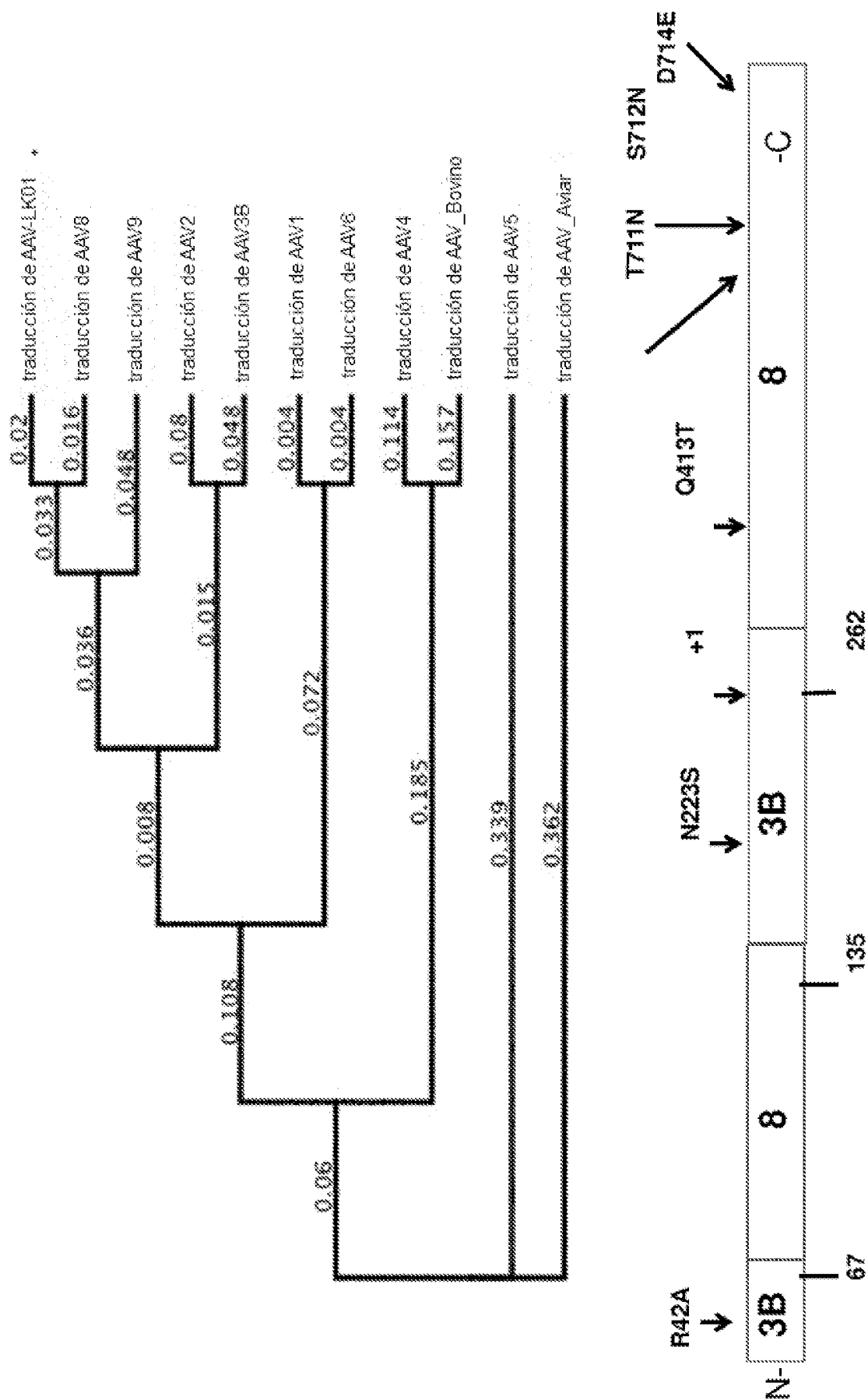
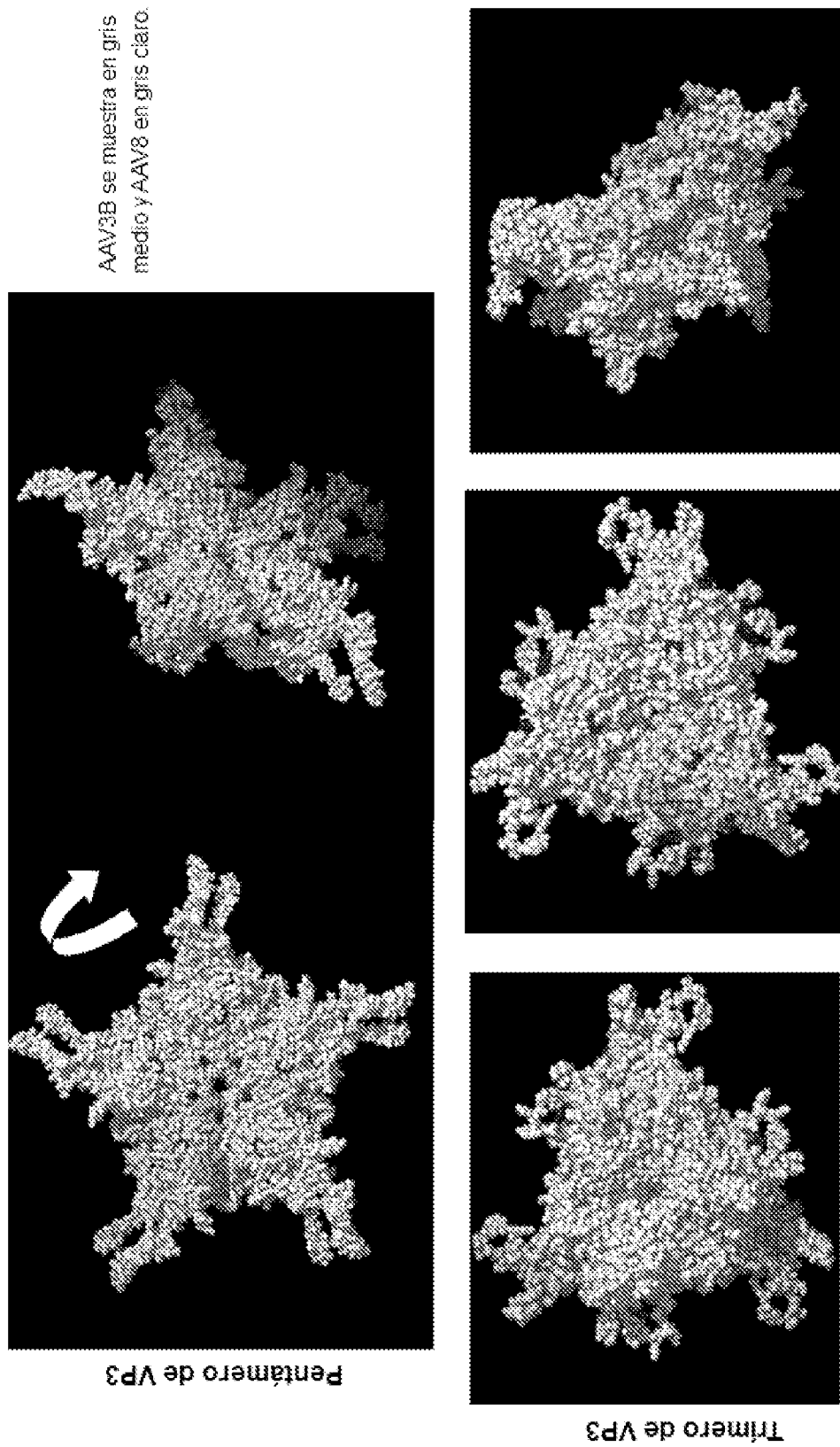


Figura 15. Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG.

Modelo estructural de una subunidad de VP3 de AAV-LK01



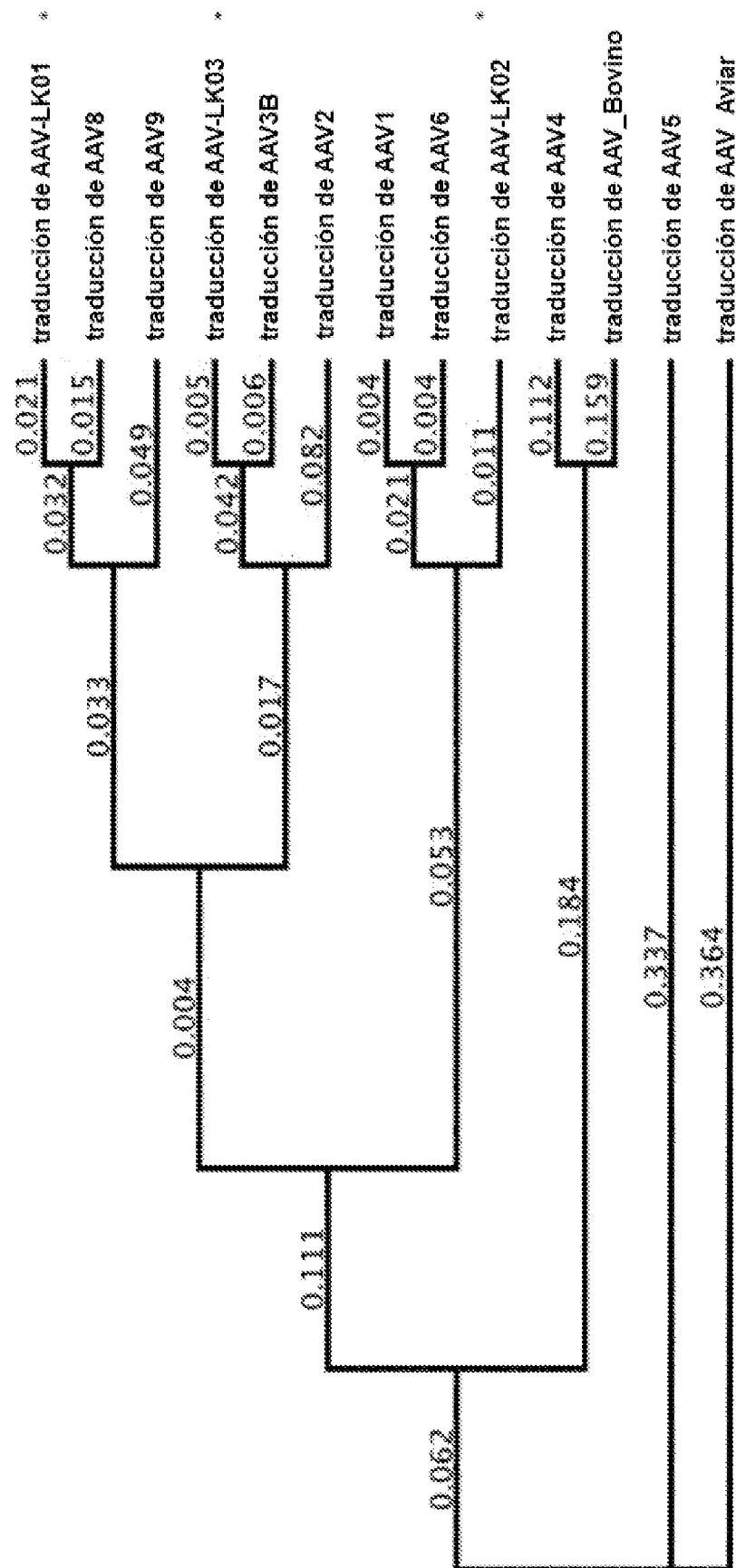
AAV3B se muestra en verde y AAV8 en amarillo .

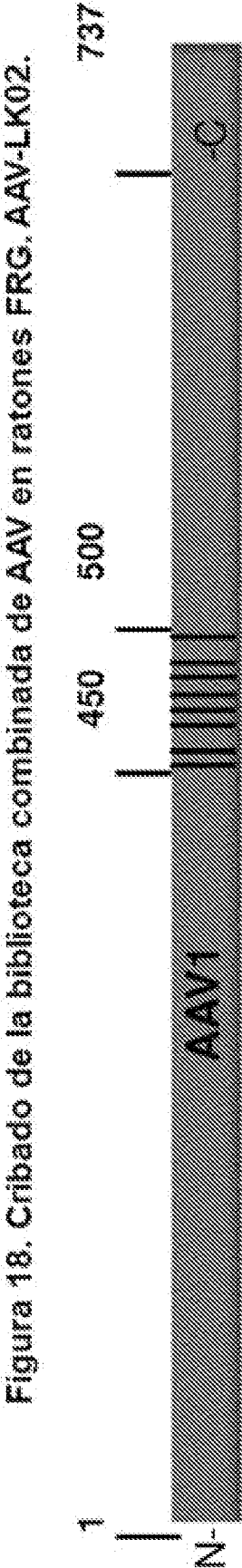
Figura 16. Cribado de la biblioteca combinada de AAV in vitro y en ratones FRG. Unión de heparina de AAV-PAEC y AAV-LK01.

AAV2	AAV-LK1	AAV-PAEC
R475	K (8)	P (1/6)
R484	R (8)	Y (1/3/6)
R487	R (8)	Q (1/3/6)
K532	R (8)	D (1/6/8)
R585	Q (8)	Q (1/3/6/Bovino)
R588	T (8)	S (1/6/Aviar)

Comparación de residuos implicados en la unión de heparina en AAV2 con residuos en nuevos AAV. Las fuentes de AAV de los aminoácidos en nuevos AAV en las posiciones indicadas se proporcionan entre paréntesis.

Figura 17. Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG. 3 aislados mejores.





Aminoácido:	Como en AAV:
T451	3 / 8 / 9
T452	3 / 4 / Aviar
T455	2 / 3 / 4
N457	3
T458	4
Q459	
T460	5 / 8
G462	
Q465	3
G467	3 / 5
N469	
T470	
A472	
N473	Bovino
A475	3
T491	2 / 5
T493	8 / 9
G494	
Q495	

Figura 19. Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG.
Modelo estructural de una subunidad de VP3 de AAV-LK02

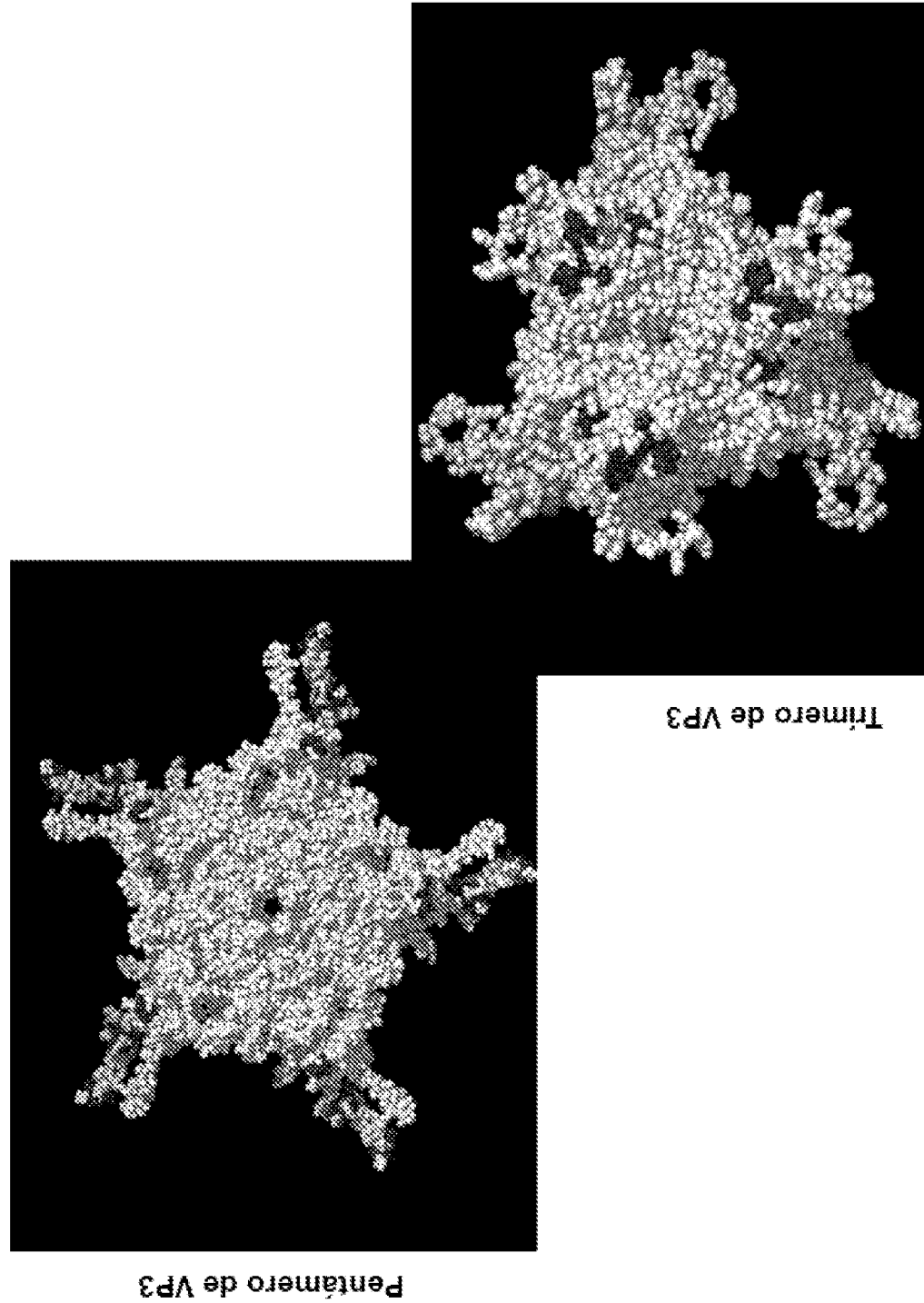
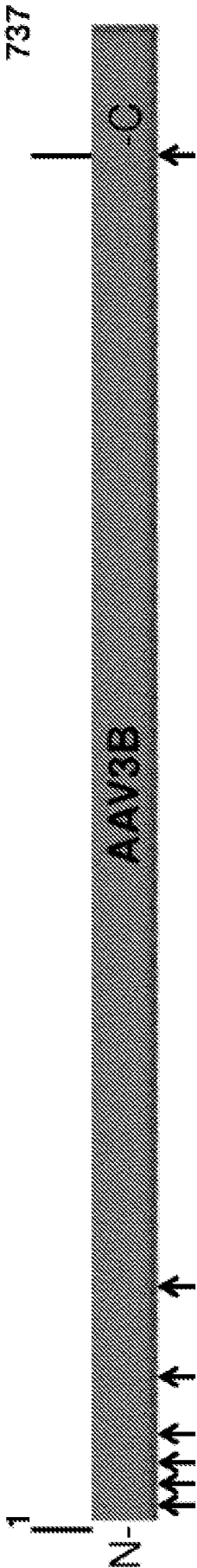


Figura 20 . Cribado de la biblioteca combinada de AAV en ratones FRG. AAV-LK03.



Aminoácido:	Como en AAV:
Q26	
A29	1 / 6 / 8 / 9
K31	1 / 6 / 8 / 9
A42	
A67	1 / 4 / 5 / 6 / 8 / 9 / Bovino
K105	2
P735	1 / 6

Figura 21. Relación de las secuencias de ADN entre AAV seleccionados (*) y AAVwt

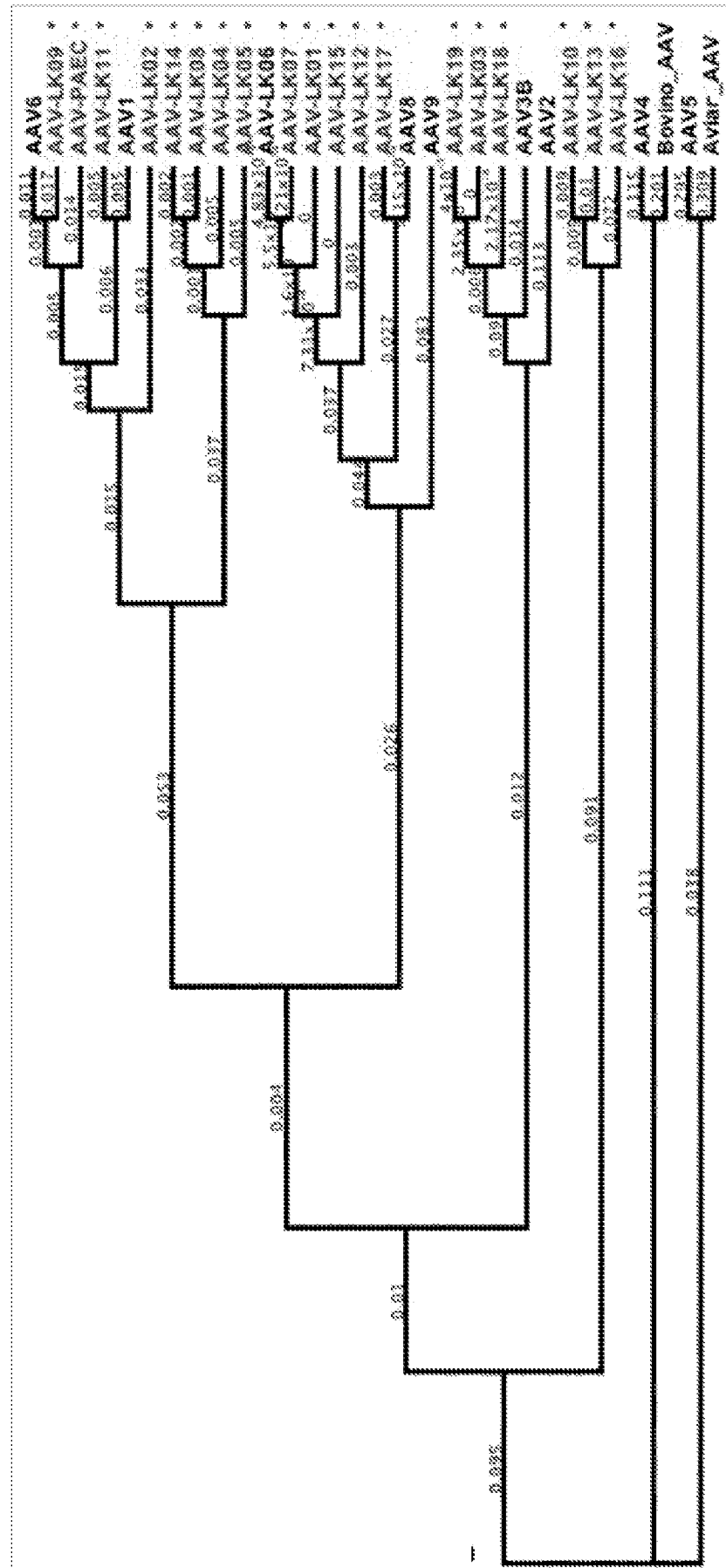


Figura 23A.
Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt.
Titulación por hibridación sobre mancha.

Vector	Titulación [vg/ml]	SD
AAV-LK01	7.45E+11	9.72E+10
AAV-LK02	7.63E+11	7.83E+10
AAV-LK03	8.23E+11	1.66E+11
AAV-LK04	1.00E+12	9.63E+10
AAV-LK05	8.07E+11	3.86E+10
AAV-LK06	1.43E+09	7.94E+08
AAV-LK07	4.39E+11	1.11E+11
AAV-LK08	5.76E+11	7.90E+10
AAV-LK10	5.02E+11	1.06E+11
AAV-LK11	6.44E+11	9.05E+09
AAV-LK12	4.05E+09	5.56E+08
AAV-LK13	3.76E+11	8.87E+10
AAV-LK14	8.37E+11	8.82E+10
AAV-LK15	7.93E+10	1.22E+10
AAV-LK16	4.59E+11	3.62E+10
AAV-LK17	1.01E+12	2.49E+11
AAV-PAEC	4.58E+10	1.21E+10
AAV1	7.15E+09	1.99E+09
AAV2	1.36E+10	6.67E+09
AAV3B	2.64E+10	1.71E+10
AAV4	2.14E+10	1.18E+10
AAV5	2.38E+09	3.18E+08
AAV6	7.15E+09	1.03E+09
AAV8	5.20E+11	1.09E+11
AAV9	1.03E+11	2.86E+09
AAV0J	2.21E+11	5.35E+10

Figura 23B. Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt.

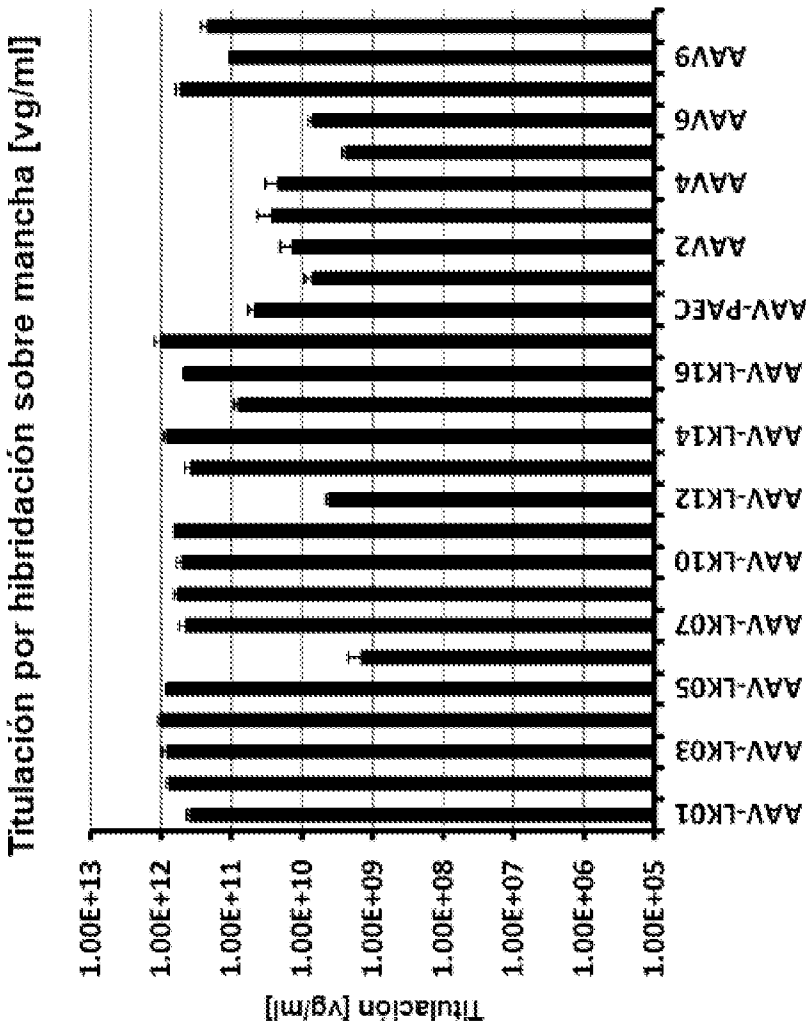


Figura 24A. Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt. Titulación de transducción en células Huh7.5.

Vector	Titulación de Transducción	
		SD
AAV-LK01	2.04E+06	2.58E+06
AAV-LK02	1.23E+06	1.03E+05
AAV-LK03	1.09E+08	1.51E+07
AAV-LK04	9.30E+05	2.50E+04
AAV-LK05	1.17E+06	6.47E+04
AAV-LK06	2.34E+06	2.59E+05
AAV-LK07	1.31E+06	5.72E+04
AAV-LK08	1.28E+06	1.91E+05
AAV-LK10	1.59E+06	2.21E+05
AAV-LK11	1.29E+06	3.14E+05
AAV-LK12	2.53E+06	9.93E+04
AAV-LK13	1.35E+06	1.01E+05
AAV-LK14	1.04E+06	1.34E+05
AAV-LK15	2.10E+06	3.23E+05
AAV-LK16	1.15E+06	1.22E+05
AAV-LK17	1.50E+06	6.49E+04
AAV-PAEC	6.05E+06	3.41E+05
AAV1	1.39E+06	1.25E+05
AAV2	2.08E+06	3.32E+05
AAV3B	1.53E+06	2.60E+05
AAV4	1.19E+06	1.11E+05
AAV5	1.63E+06	5.51E+04
AAV6	1.22E+06	1.10E+05
AAV8	1.09E+06	6.25E+04
AAV9	6.49E+05	1.51E+05
AAVDJ	1.04E+07	6.26E+06

Figura 24B. Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt. Titulación de transducción de AAV en células Huh7.5.

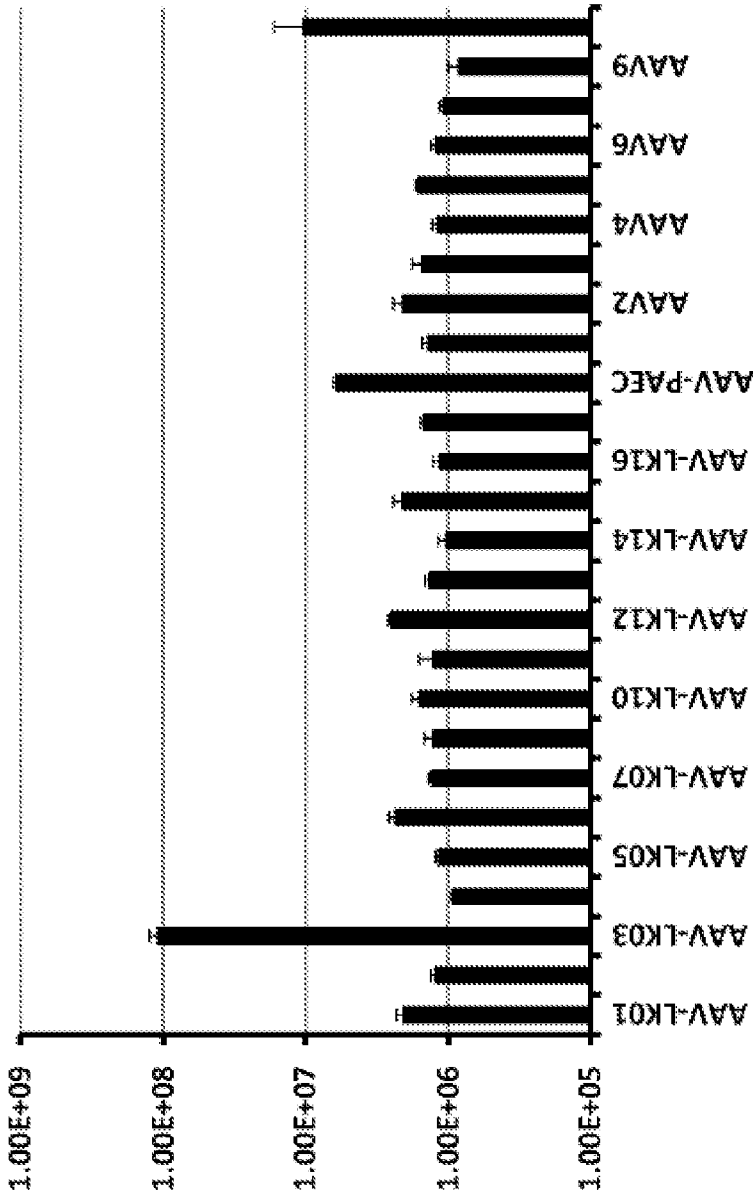
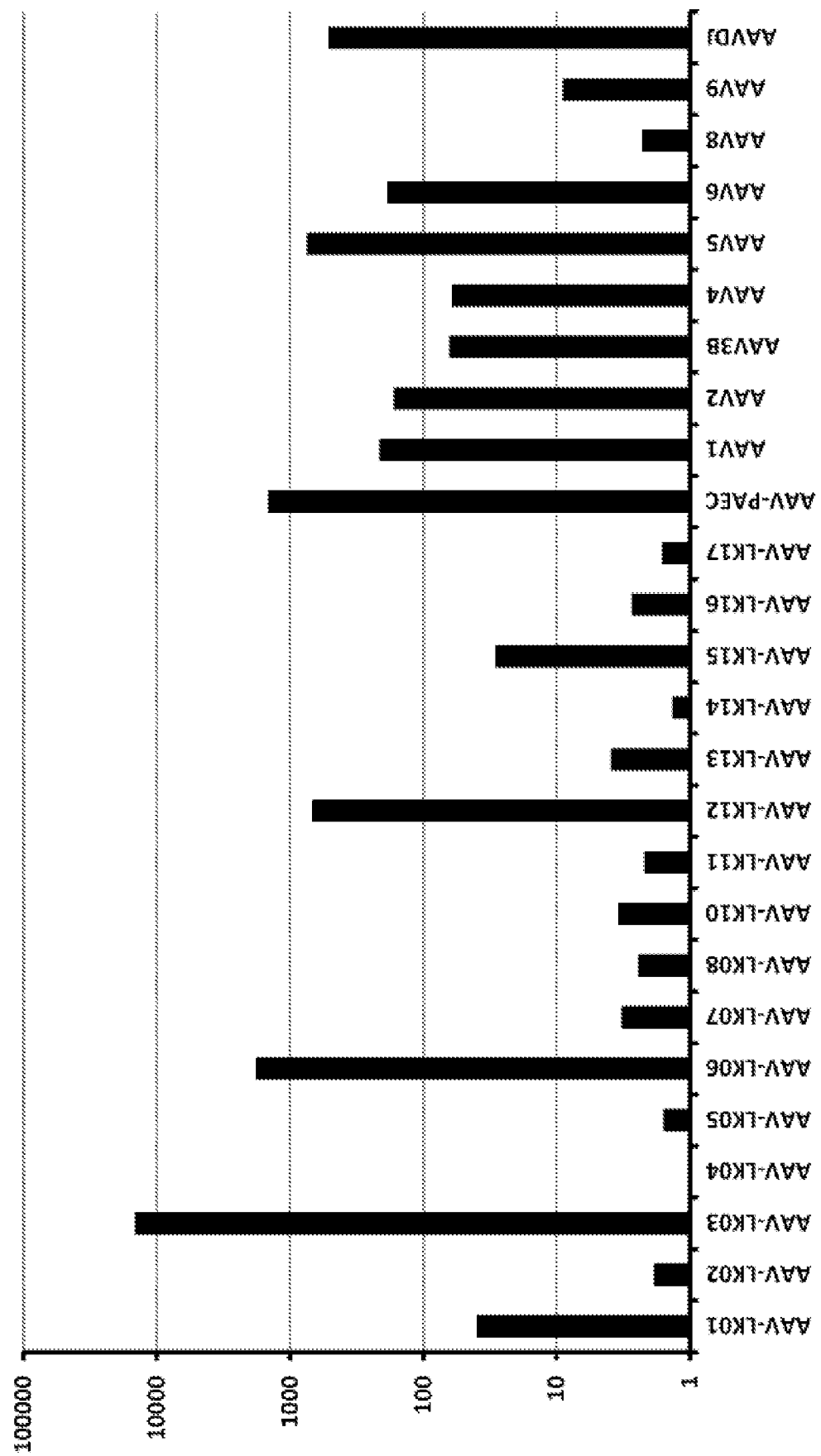


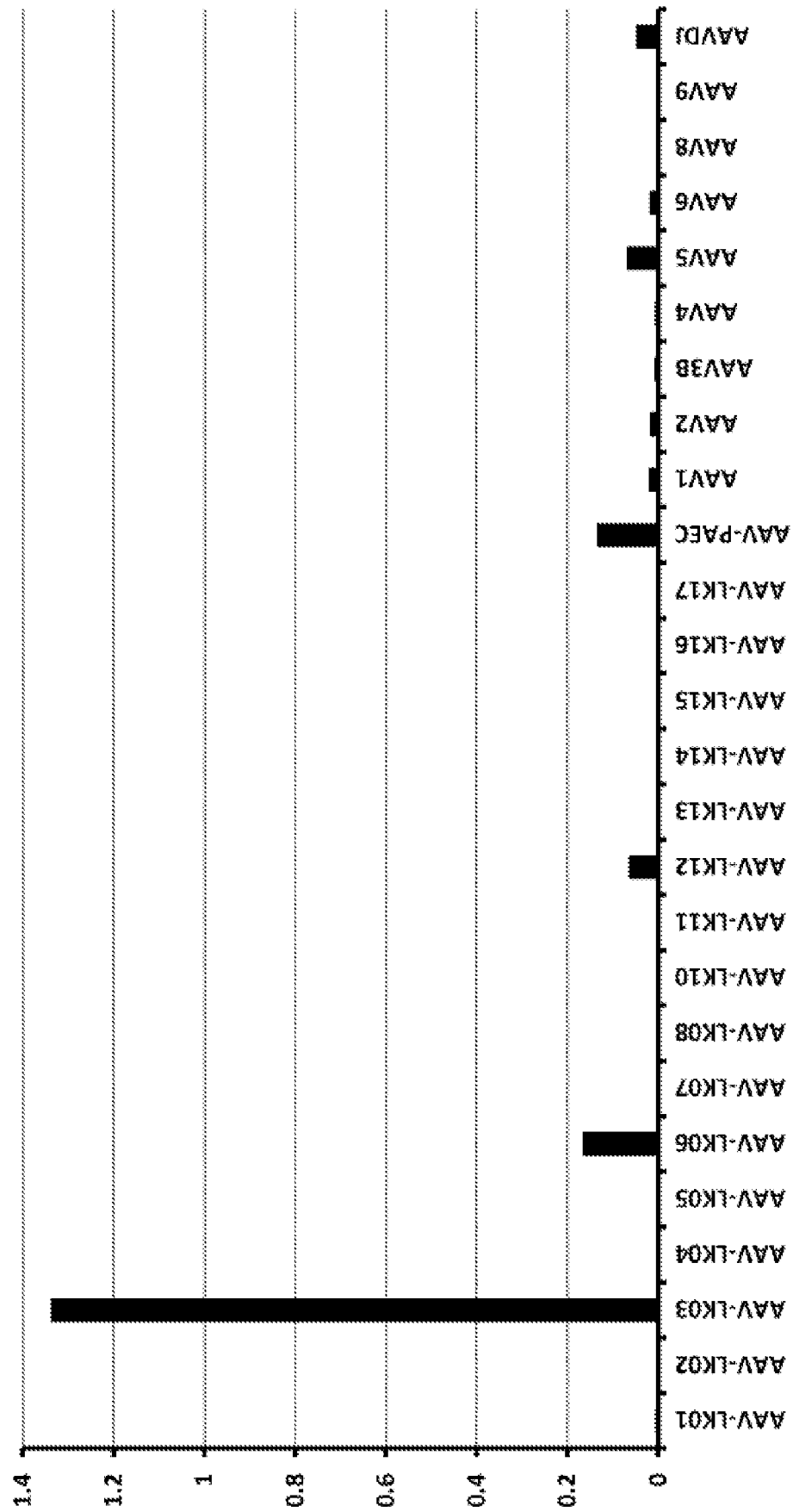
Figura 25A. Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt. Eficiencia de la transducción en células Huh7.5 por genoma de vector AAV (vg).

Titulación por							
Vector	hibridación sobre mancha [vg/ml]	Transducción vg/pocillo	Titulación de transducción [U/ml]	titulación trans/vg	titulación trans/vg normalizada		
AAV-LK01	7.44632E+11	7.45E+09	2.04E+06	0.000273356	2.950739054		
AAV-LK02	7.63456E+11	7.63E+09	1.23E+06	0.000160913	1.736970222		
AAV-LK03	8.23146E+11	8.23E+07	1.09E+08	1.327528594	14329.97187		
AAV-LK04	1.00388E+12	1.00E+10	9.30E+05	0.000092640	1.000002784		
AAV-LK05	8.07062E+11	8.07E+09	1.17E+06	0.000144784	1.562871385		
AAV-LK06	1429693637	1.43E+07	2.34E+06	0.163881264	1789.011914		
AAV-LK07	4.39393E+11	4.39E+09	1.31E+06	0.000297684	3.213339014		
AAV-LK08	5.76405E+11	5.76E+09	1.28E+06	0.000222760	2.404578032		
AAV-LK10	5.01822E+11	5.02E+09	1.59E+06	0.000316247	3.413723011		
AAV-LK11	6.44077E+11	6.44E+09	1.29E+06	0.000200054	2.159474583		
AAV-LK12	4050798638	4.05E+07	2.53E+06	0.062506193	674.721423		
AAV-LK13	3.76009E+11	3.76E+09	1.35E+06	0.000359034	3.875578068		
AAV-LK14	8.36847E+11	8.37E+09	1.04E+06	0.000123678	1.335043948		
AAV-LK15	79347996858	7.93E+08	2.10E+06	0.002644679	28.54791925		
AAV-LK16	4.58932E+11	4.59E+09	1.15E+06	0.000251345	2.7131327		
AAV-LK17	1.00746E+12	1.01E+10	1.50E+06	0.000148890	1.60718548		
AAV-PAEC	45750196386	4.58E+07	5.05E+06	0.132130580	1426.280012		
AAV1	7148468185	7.15E+07	1.39E+06	0.019472703	210.1975744		
AAV2	13582089552	1.36E+08	2.08E+06	0.015284835	164.991744		
AAV3B	26449332286	2.64E+08	1.53E+06	0.005790316	62.50341435		
AAV4	21445404556	2.14E+08	1.19E+06	0.005525559	59.64658183		
AAV5	2382622728	2.38E+07	1.63E+06	0.068364297	737.9585706		
AAV6	7148468185	7.15E+07	1.22E+06	0.016996648	183.4698656		
AAV8	5.19932E+11	5.20E+09	1.09E+06	0.000210316	2.2702504		
AAV9	1.03415E+11	1.03E+09	8.49E+05	0.000820968	8.861917046		
AAVDJ	2.21364E+11	2.21E+08	1.04E+07	0.046789402	505.0669466		

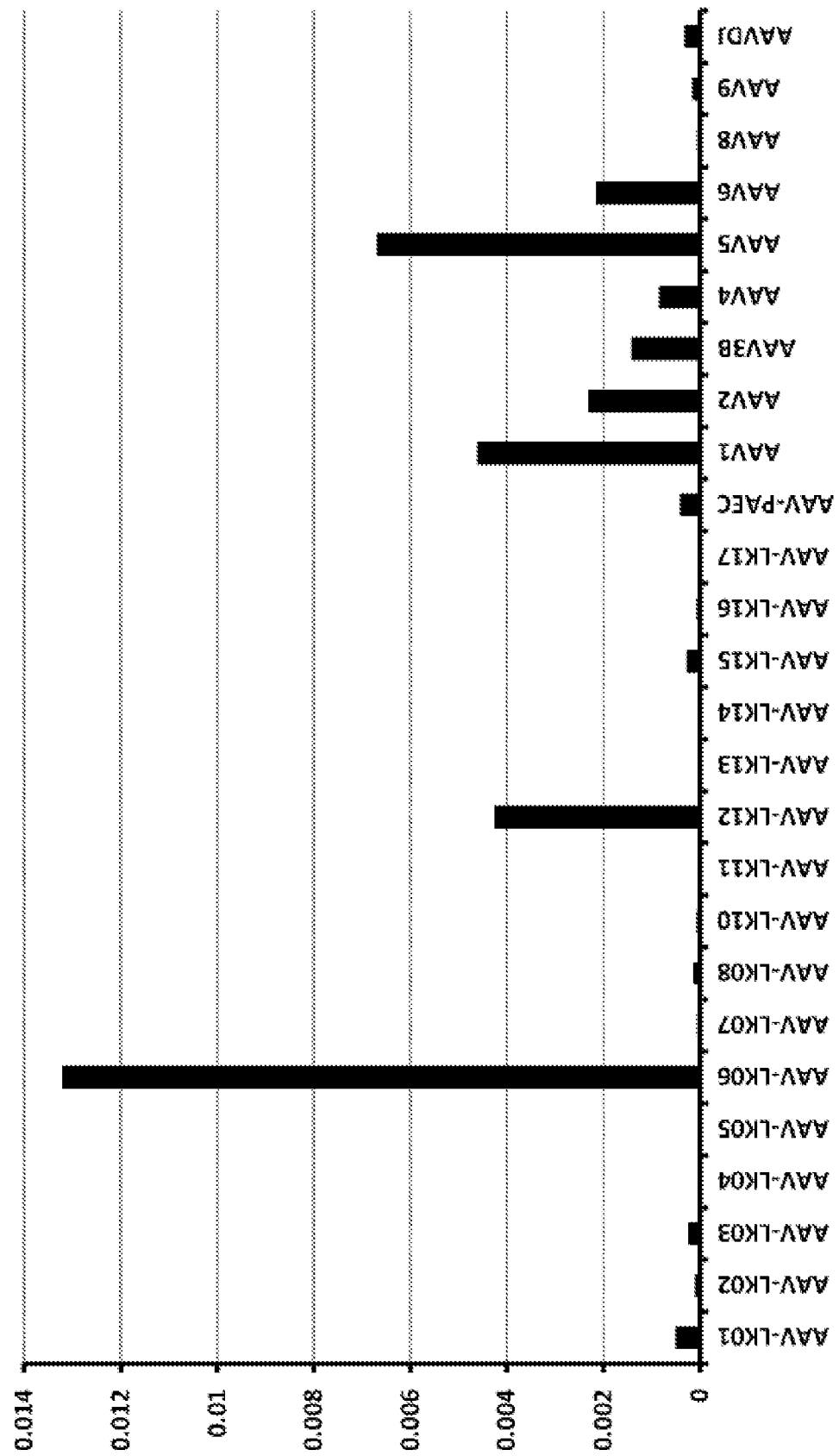
**Figura 25B. Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt.
Eficiencia de la transducción en células Huh7.5 por genoma de vector AAV (vg).
Células Huh7.5. Titulación de la transducción/vg [normalizada respecto al más bajo-AAV-LK04]**



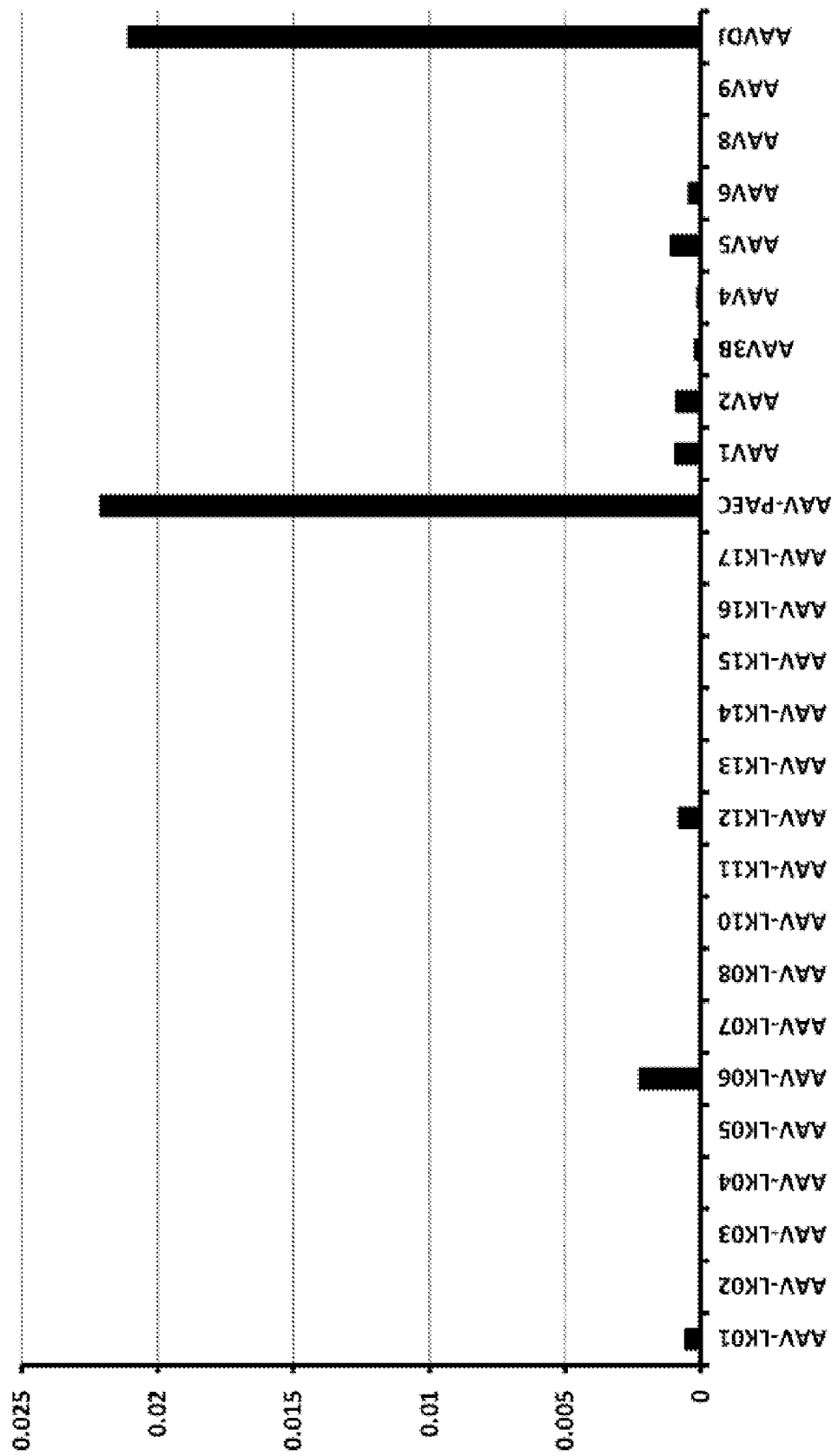
**Figura 25C. Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt.
Eficiencia de la transducción en células Huh7.5 por genoma de vector AAV (vg).
Células Huh7.5. Titulación de la transducción/vg**



**Figura 26. Comparación de nuevos aislados de AAV v AAVwt.
Eficiencia de la transducción en células 293 por genoma de vector AAV (vg).
Células 293. Titulación de la transducción/vg**



**Figura 27 . Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt.
Eficiencia de la transducción en células NIH3T3 por genoma de vector AAV (vg).
Células 3T3 . Titulación de la transducción/vg**



**Figura 28. Comparación de nuevos aislados de AAV y AAVwt.
Eficiencia de la transducción en células MEF por genoma de vector AAV (vg).
Células MEF. Titulación de la transducción/vg**

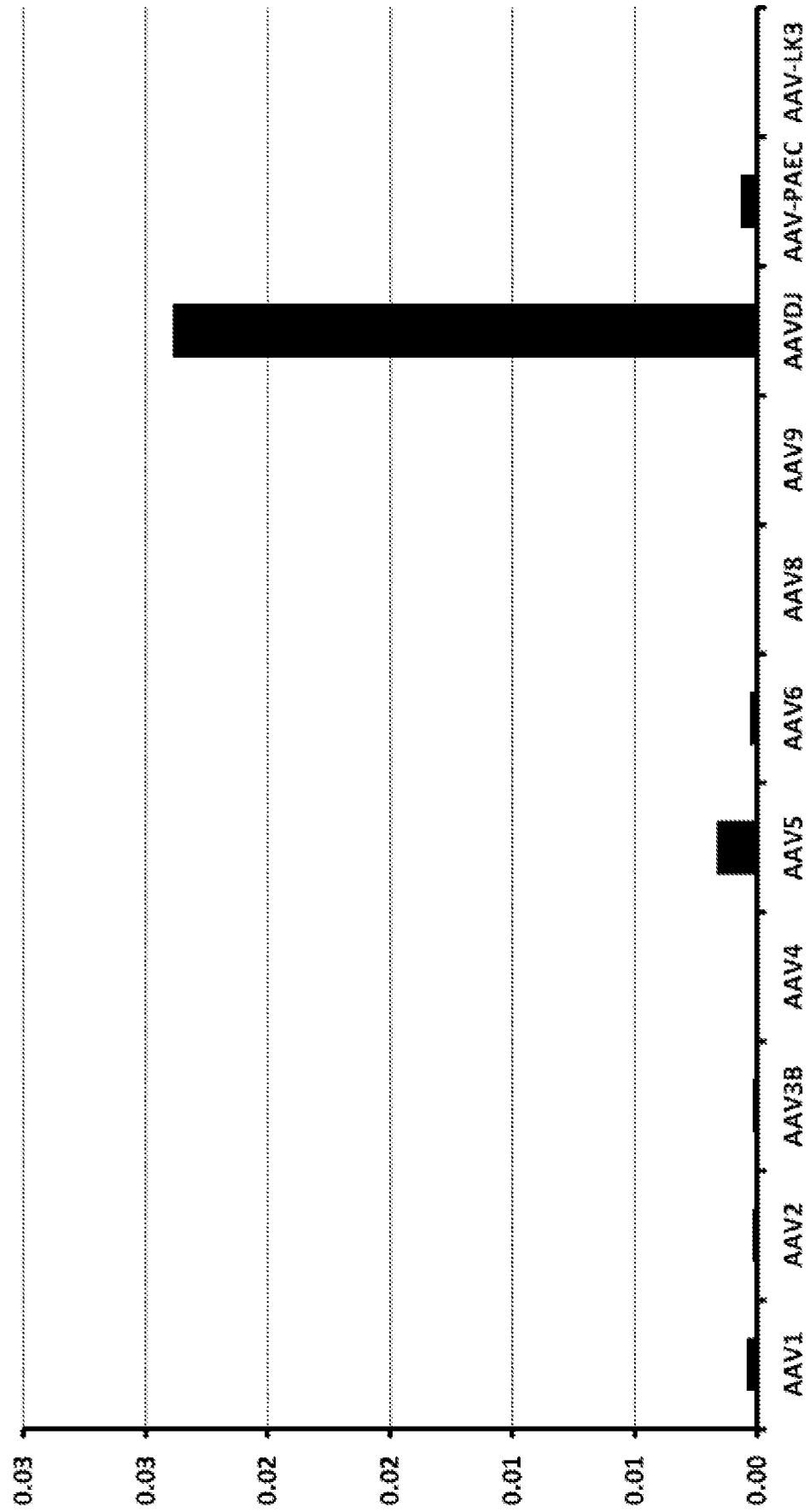


Figura 29.
Titulación por hibridación sobre mancha [vg/ml]

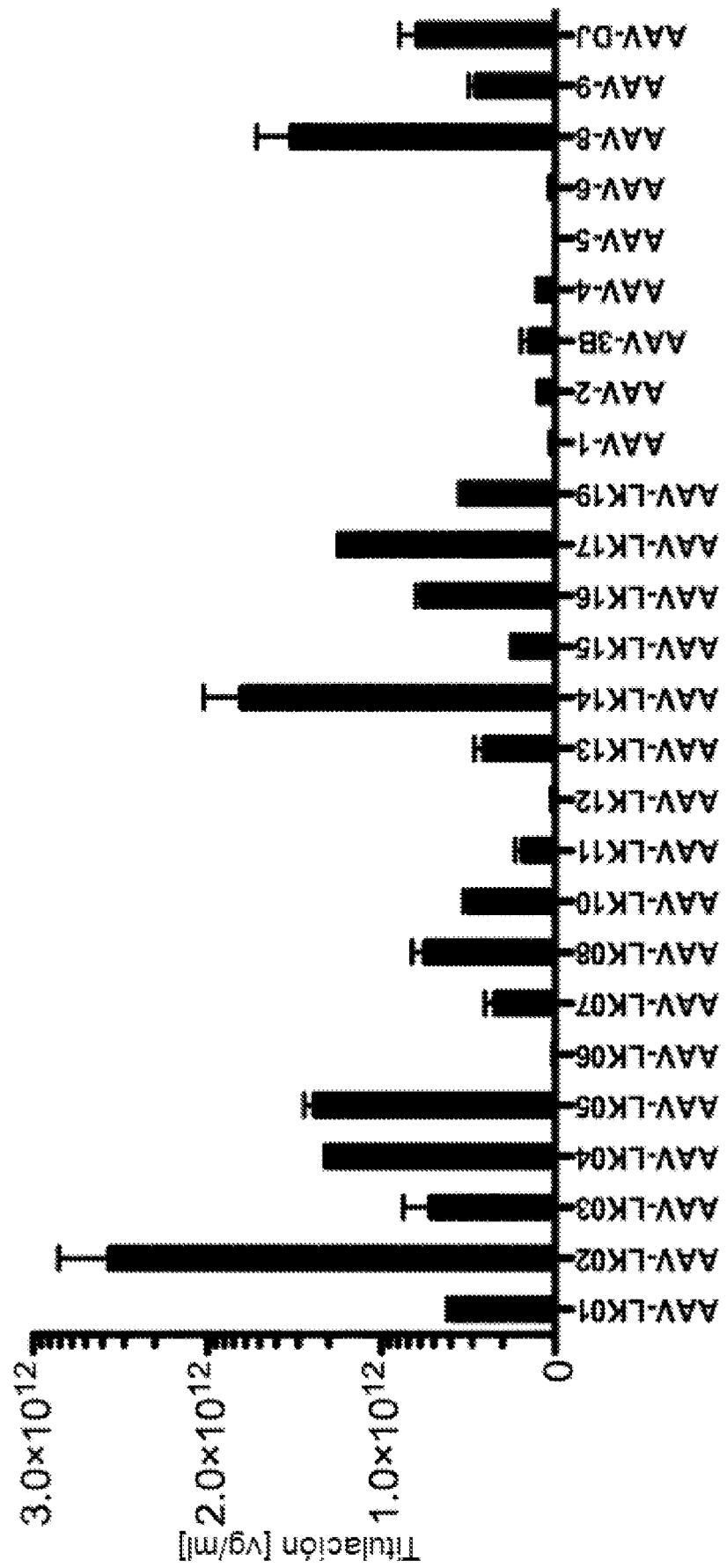


Figura 30.

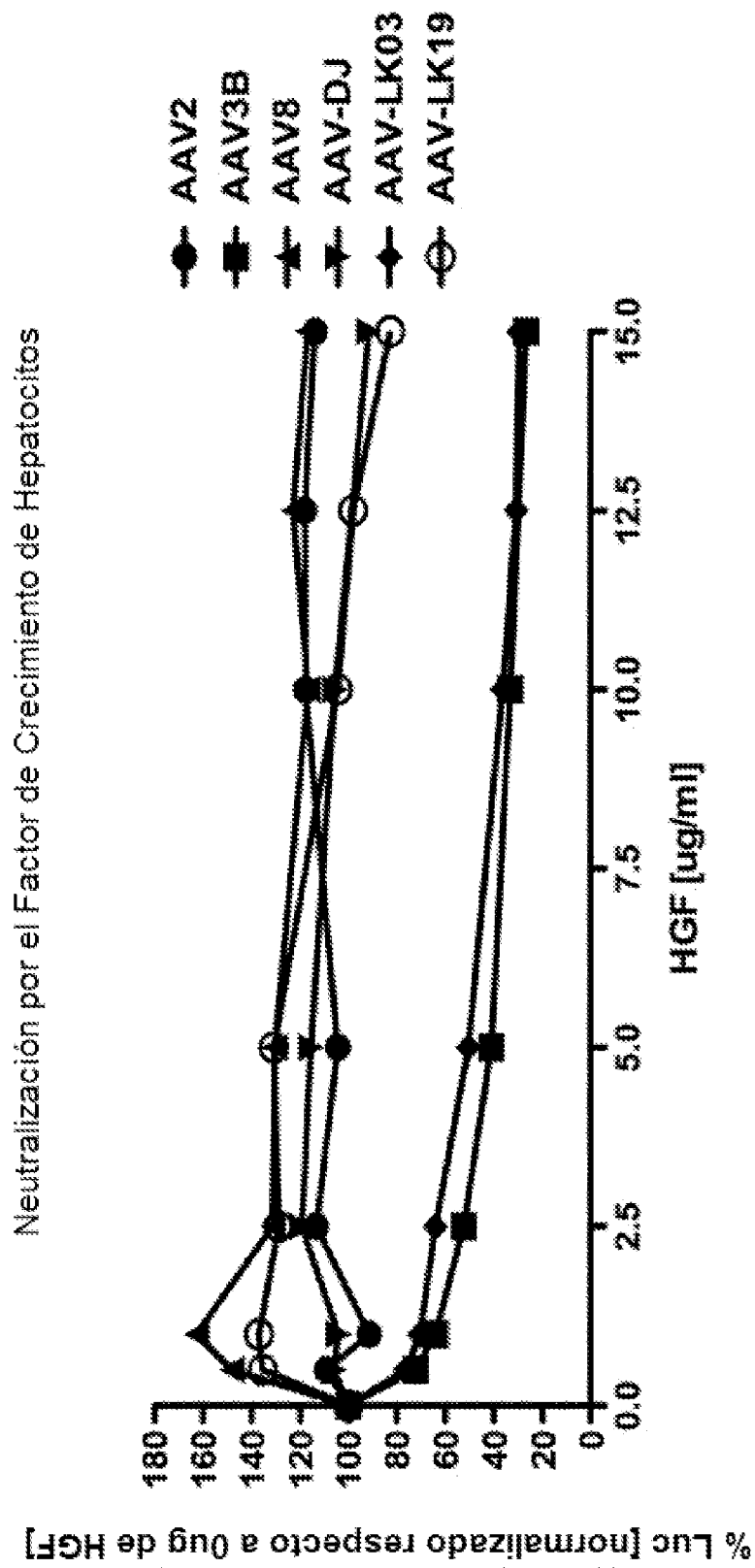


Figura 31.
Transducción de Hepatocitos Humanos Primarios

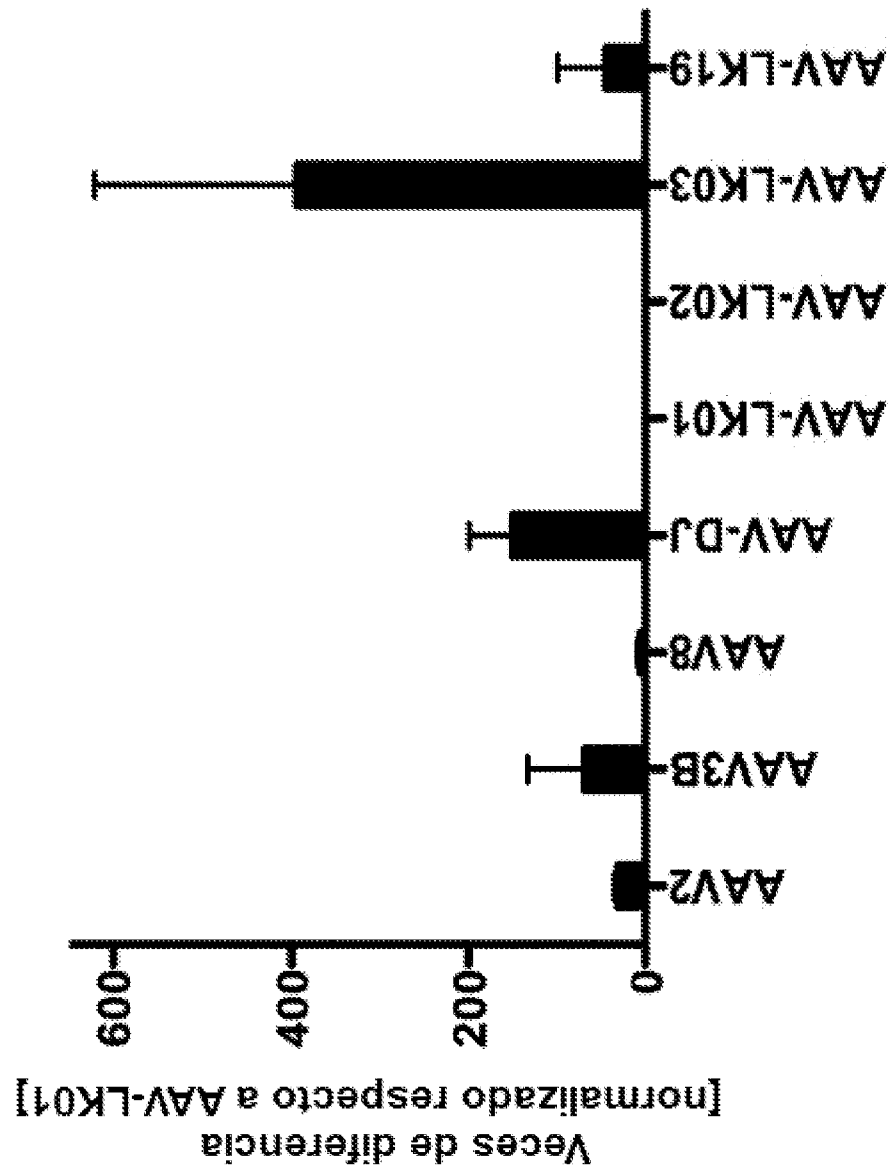


Figura 32.
Expresión de FIX humano en ratones C57/BL6 in vivo

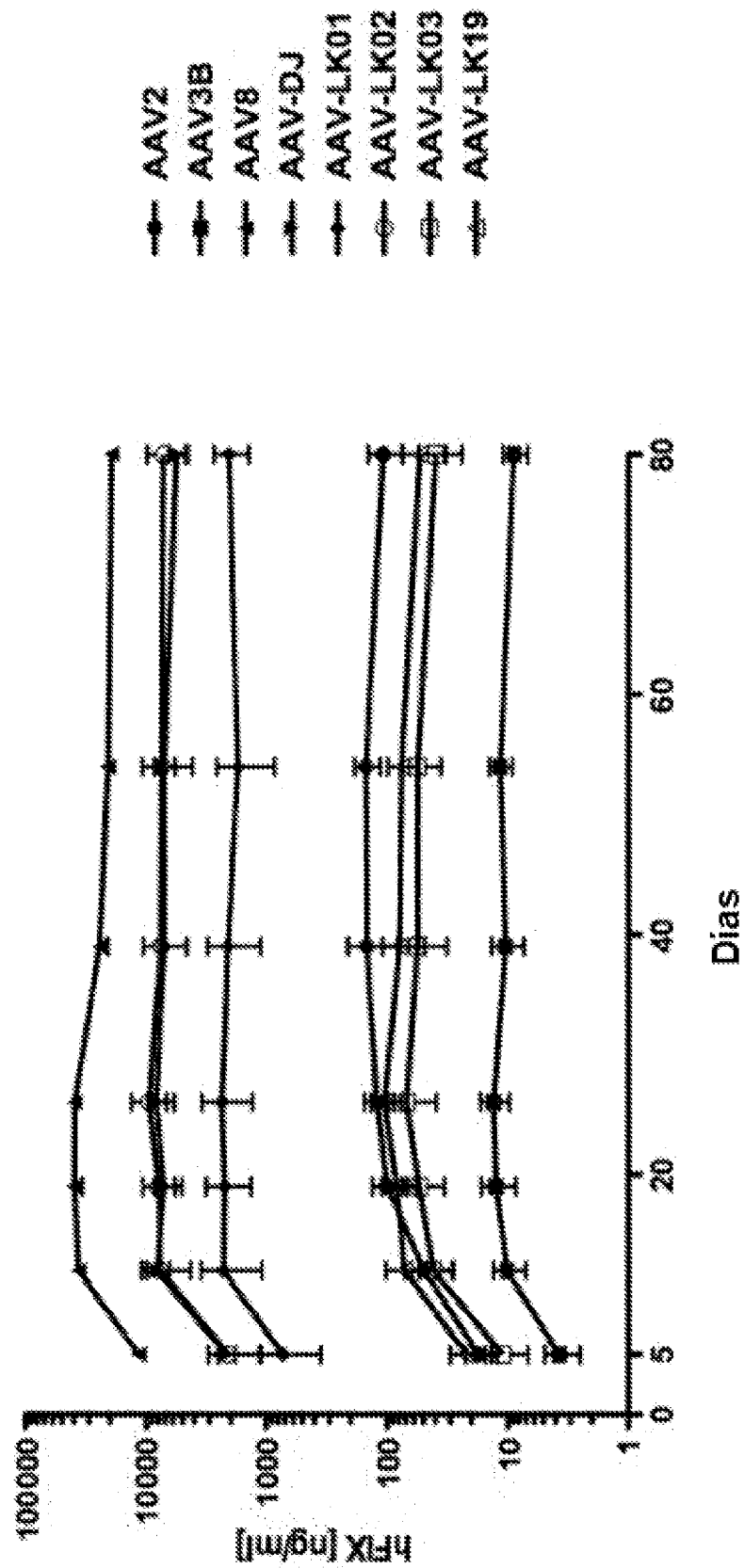


Figura 33.
Neutralización por combinado de IgG humana (IVIg)

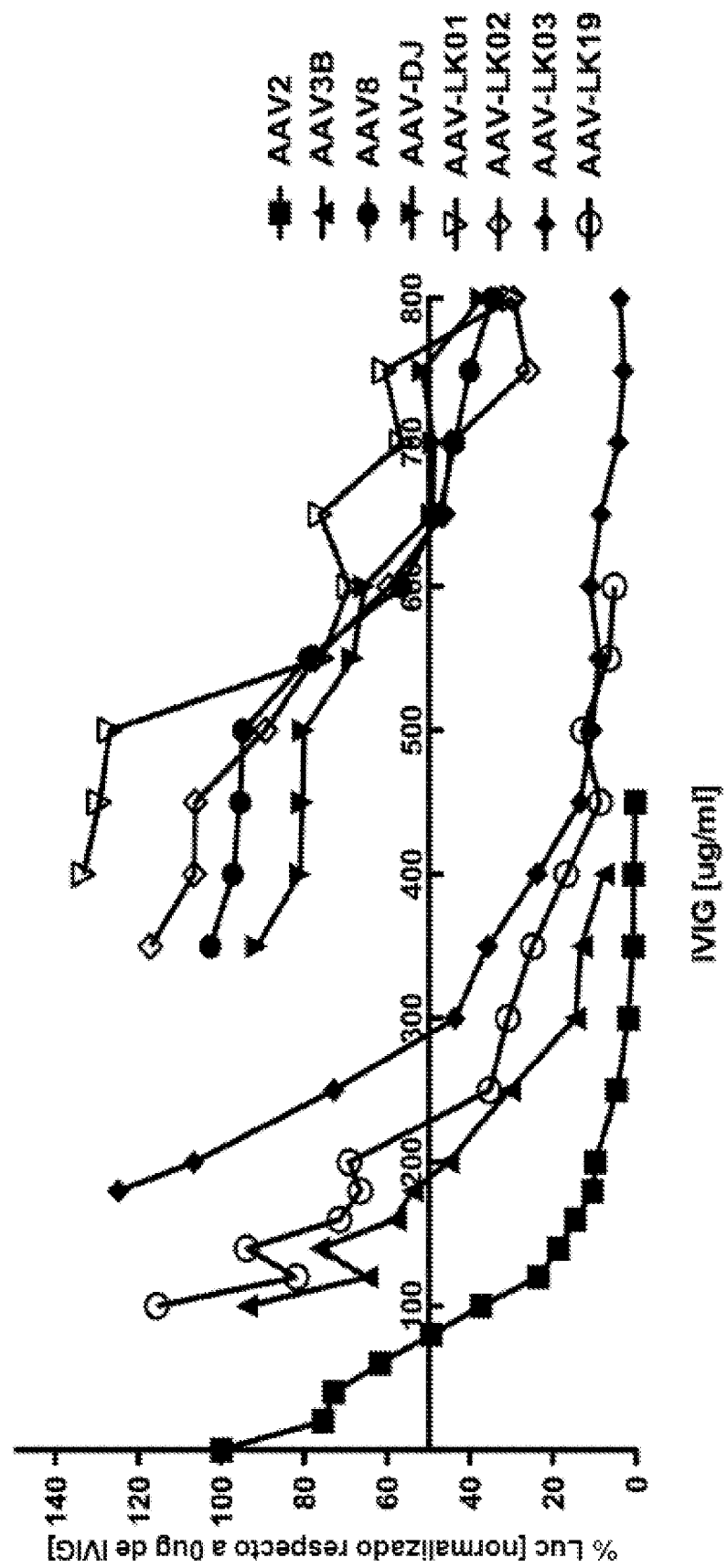
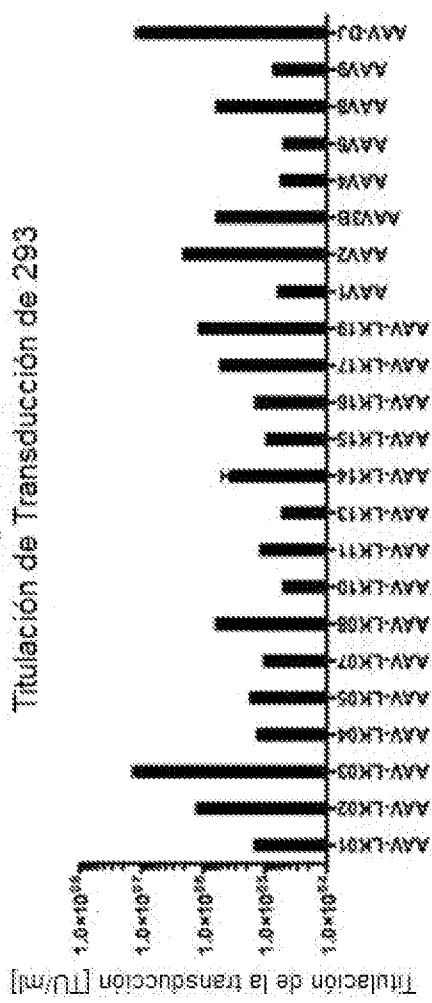


Figura 34.
Titulación de Transducción de 293



TU/vg normalizado (células 293)

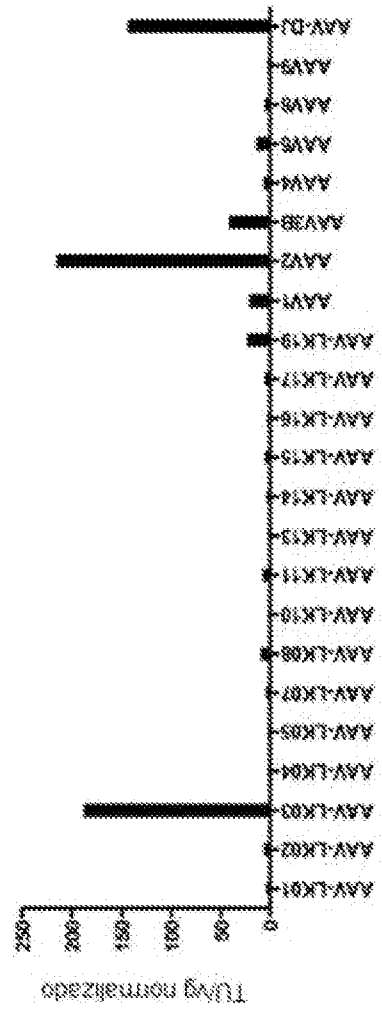


Figura 35.

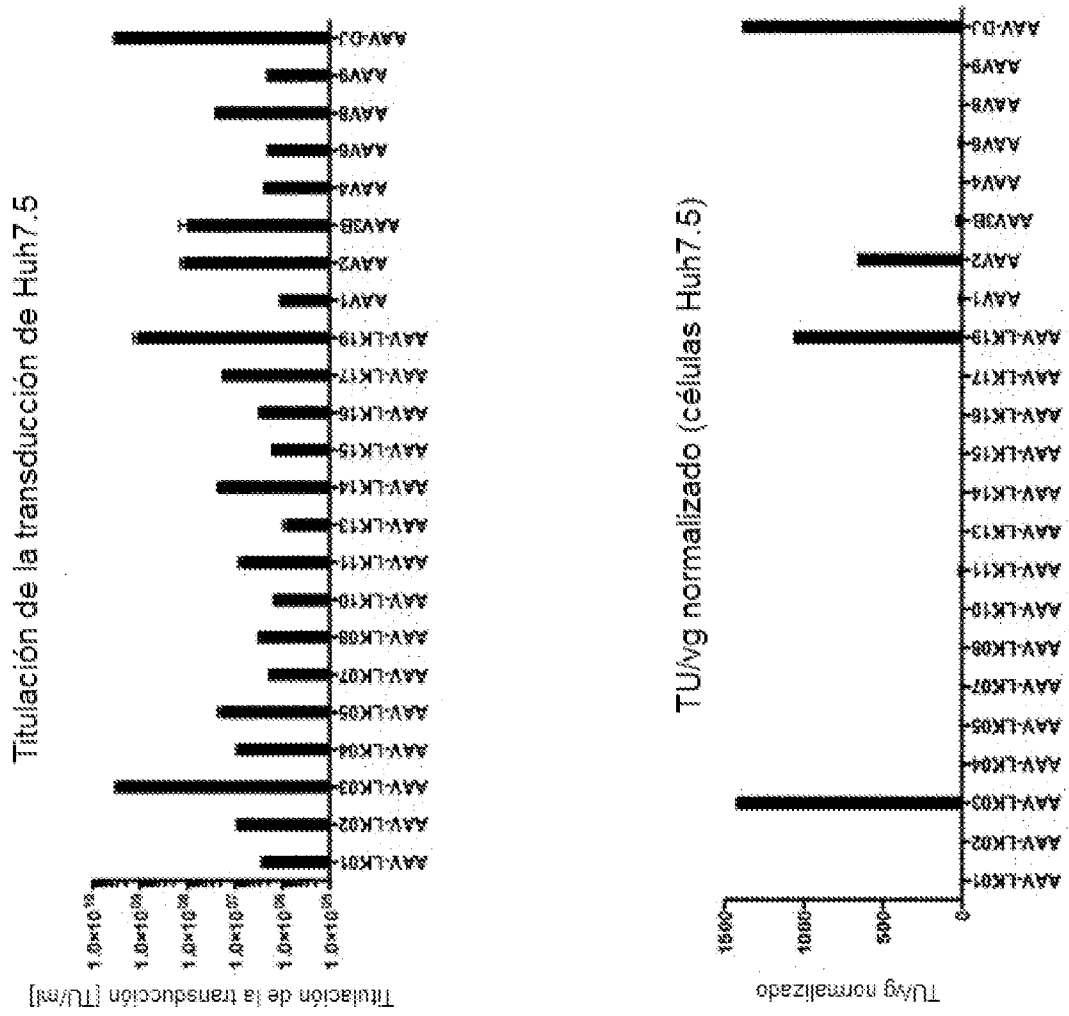


Figura 36.

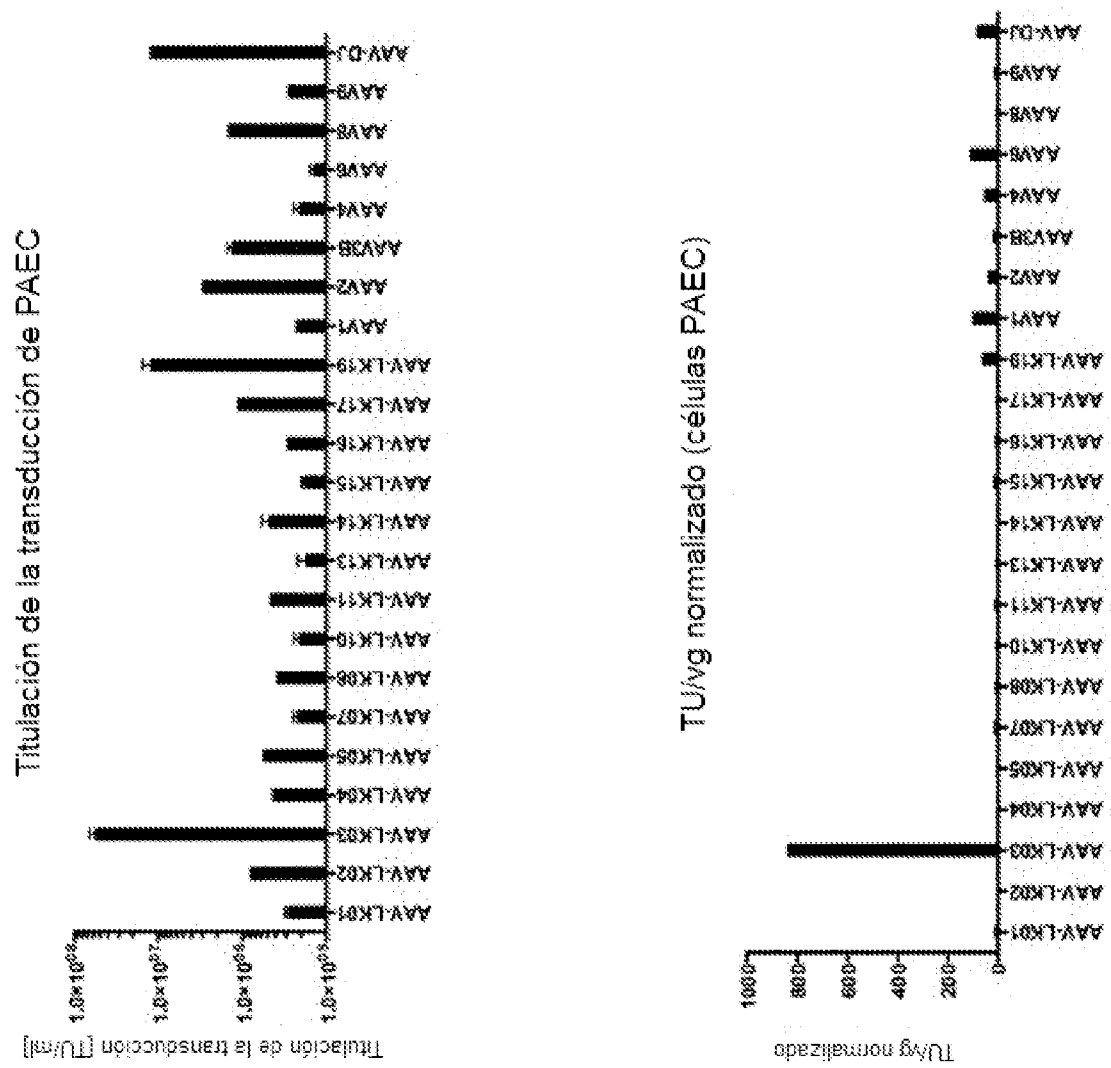
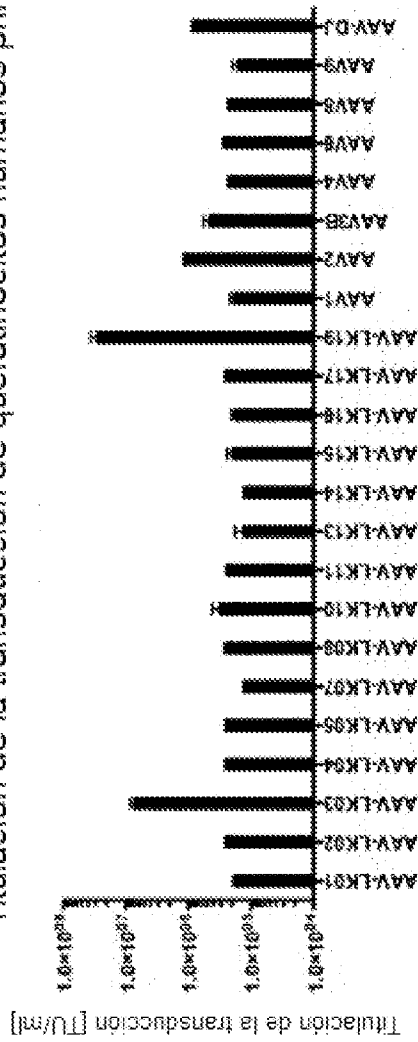


Figura 37.

Titulación de la transducción de queratinocitos humanos primarios



TU/vg normalizado (queratinocitos humanos primarios)

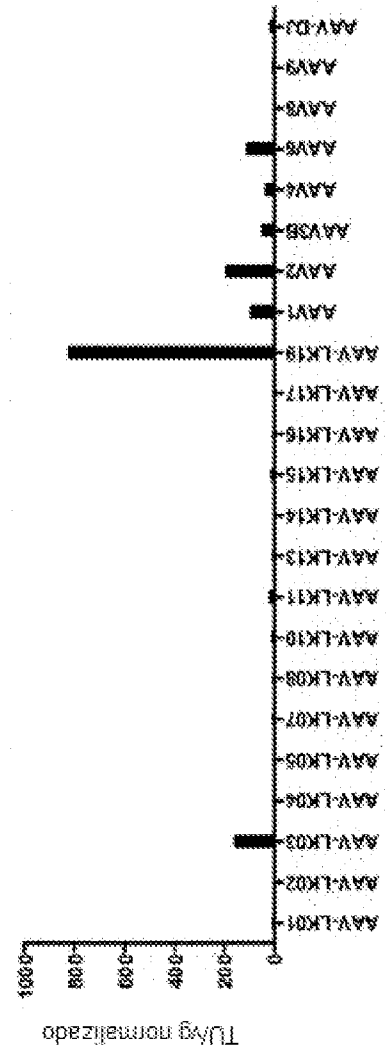


Figura 38.

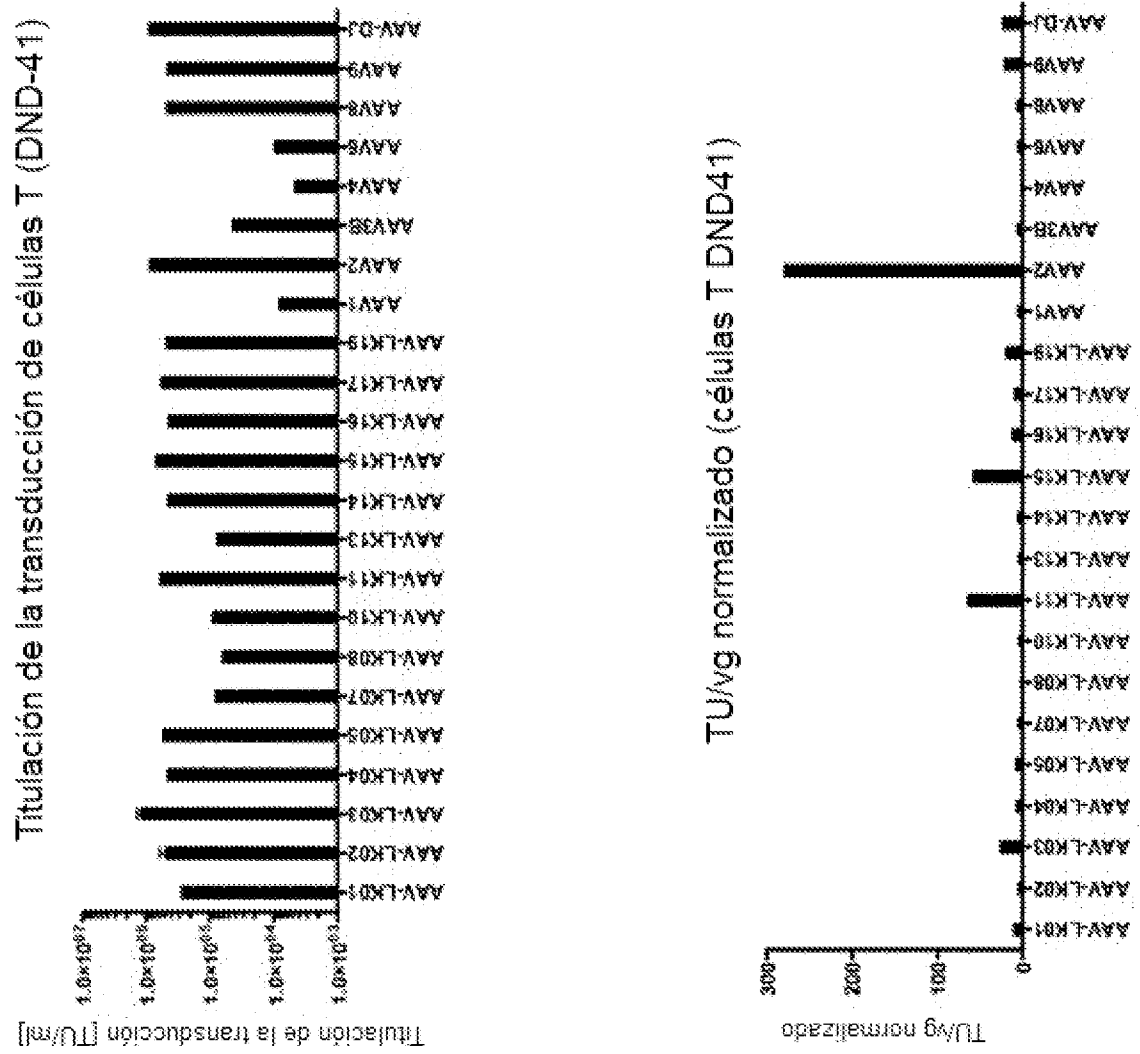


Figura 39.

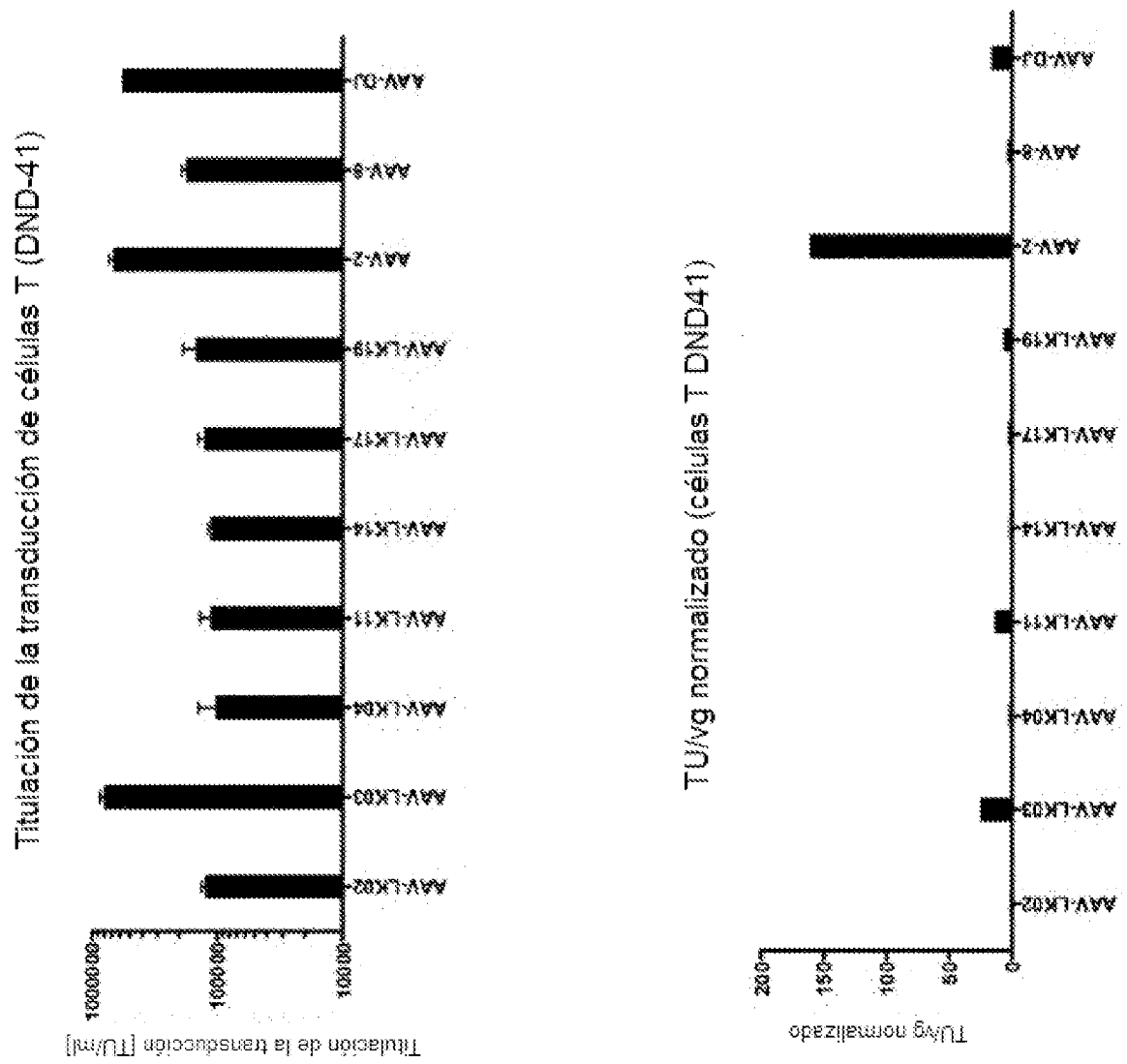


Figura 40.

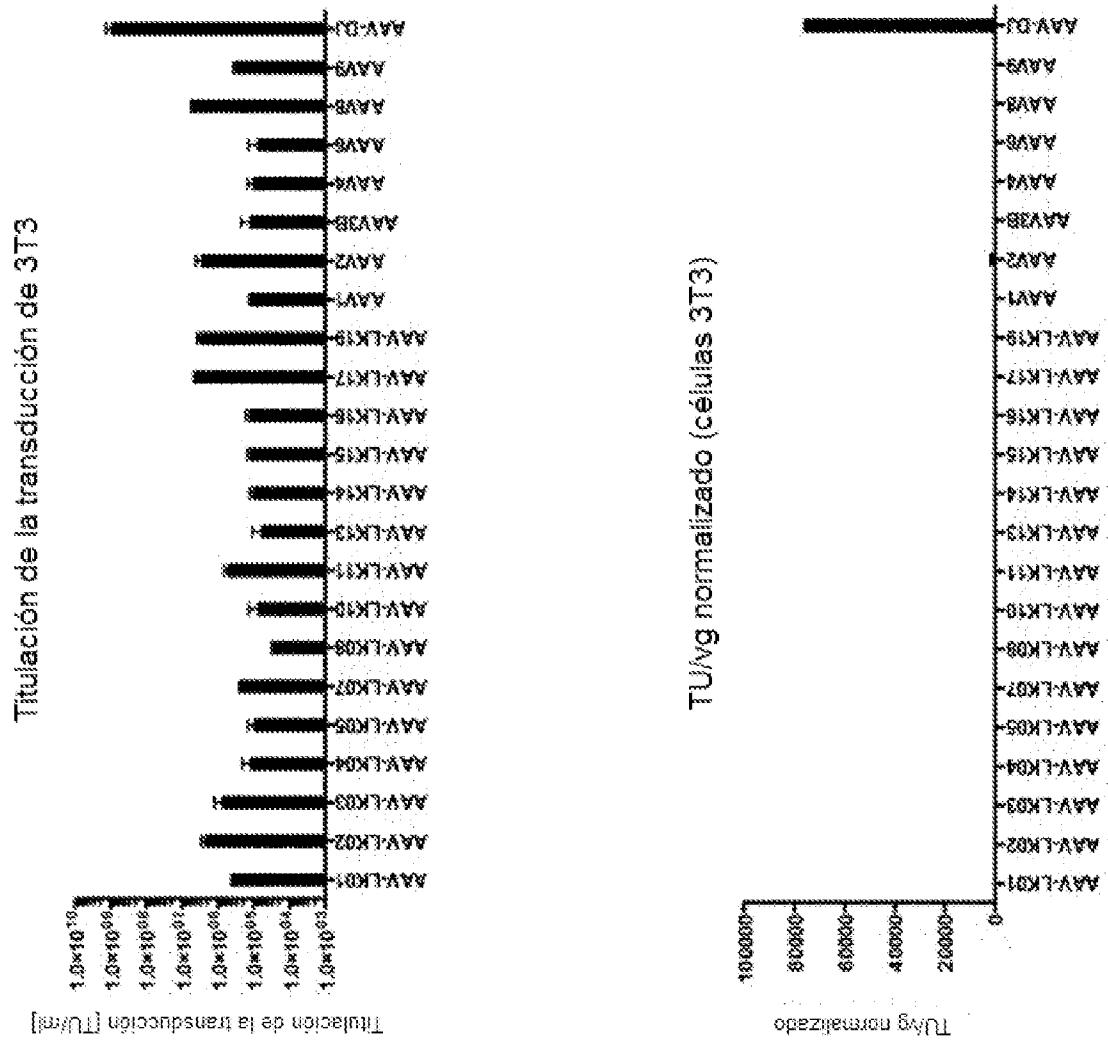


Figura 41.

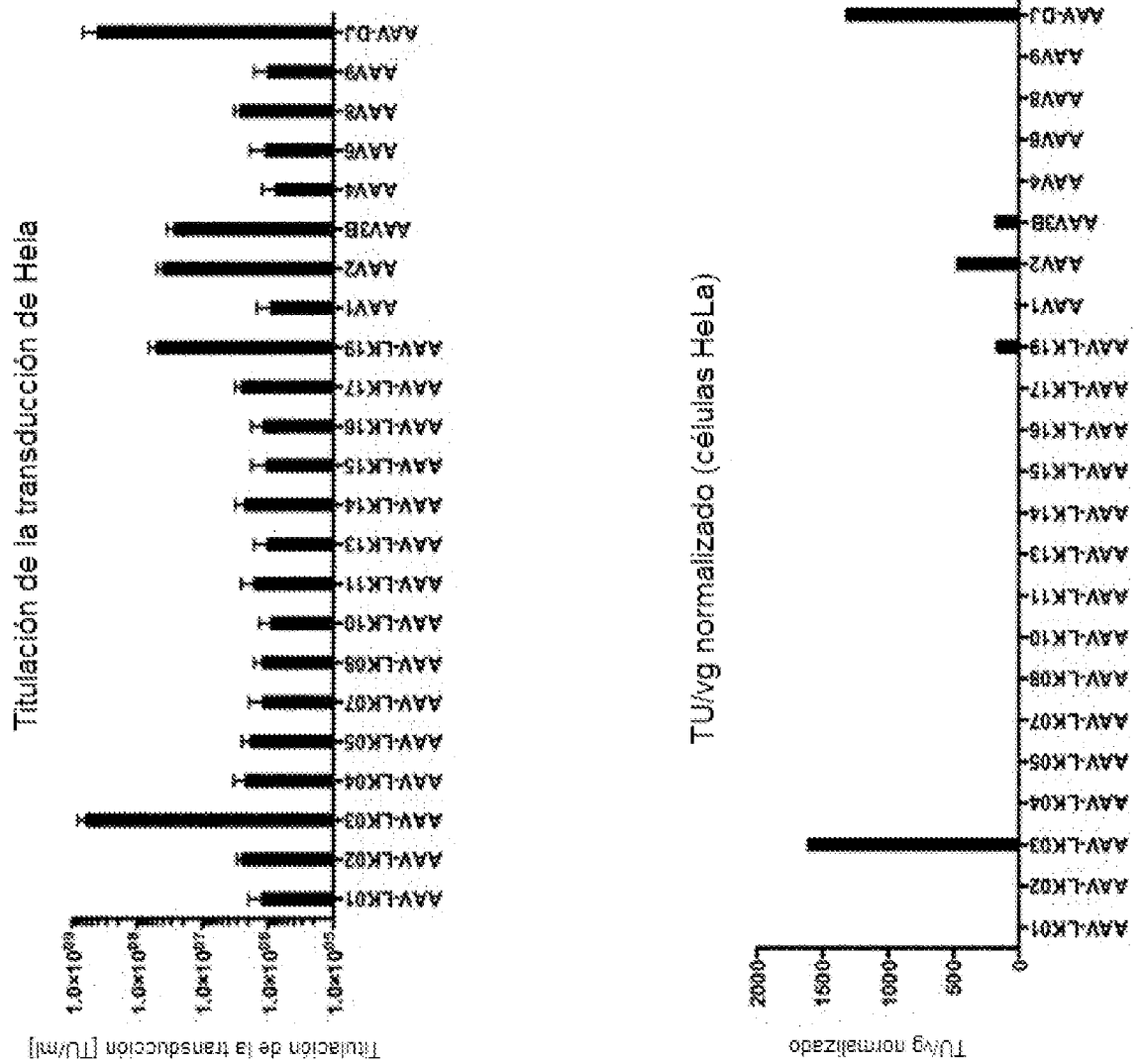


Figura 42.

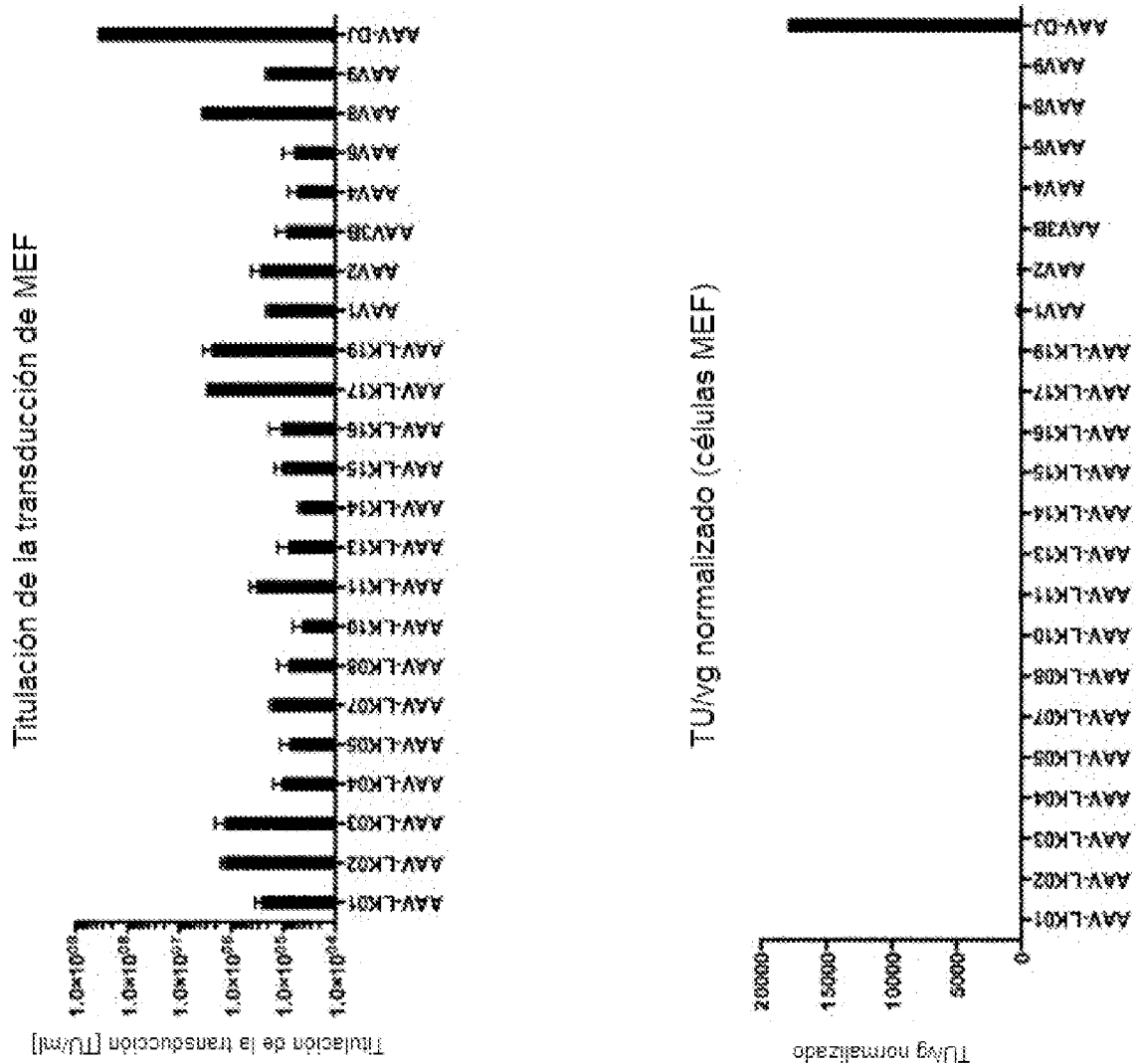


Figura 43.

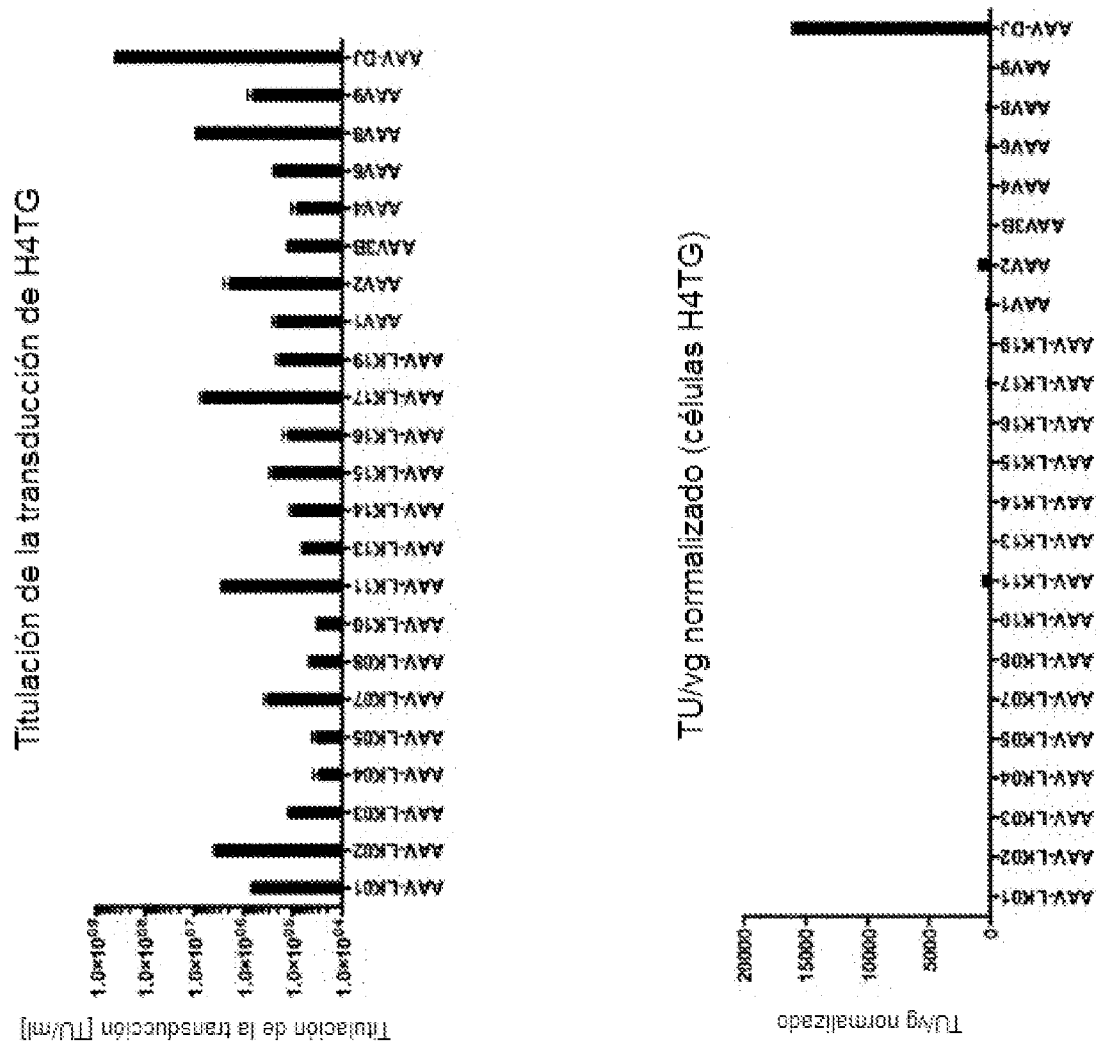


Figura 44.

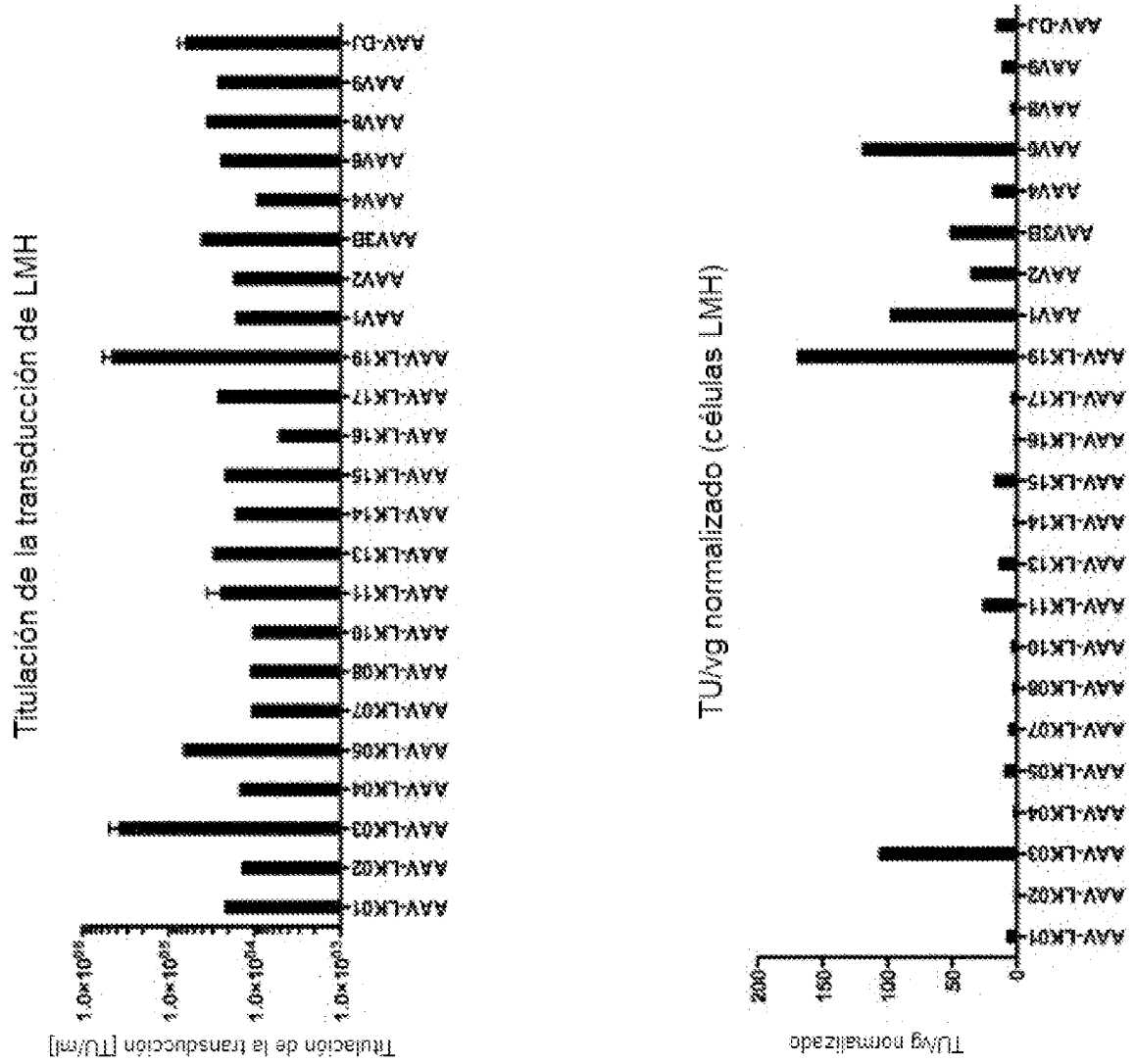


Figura 45.

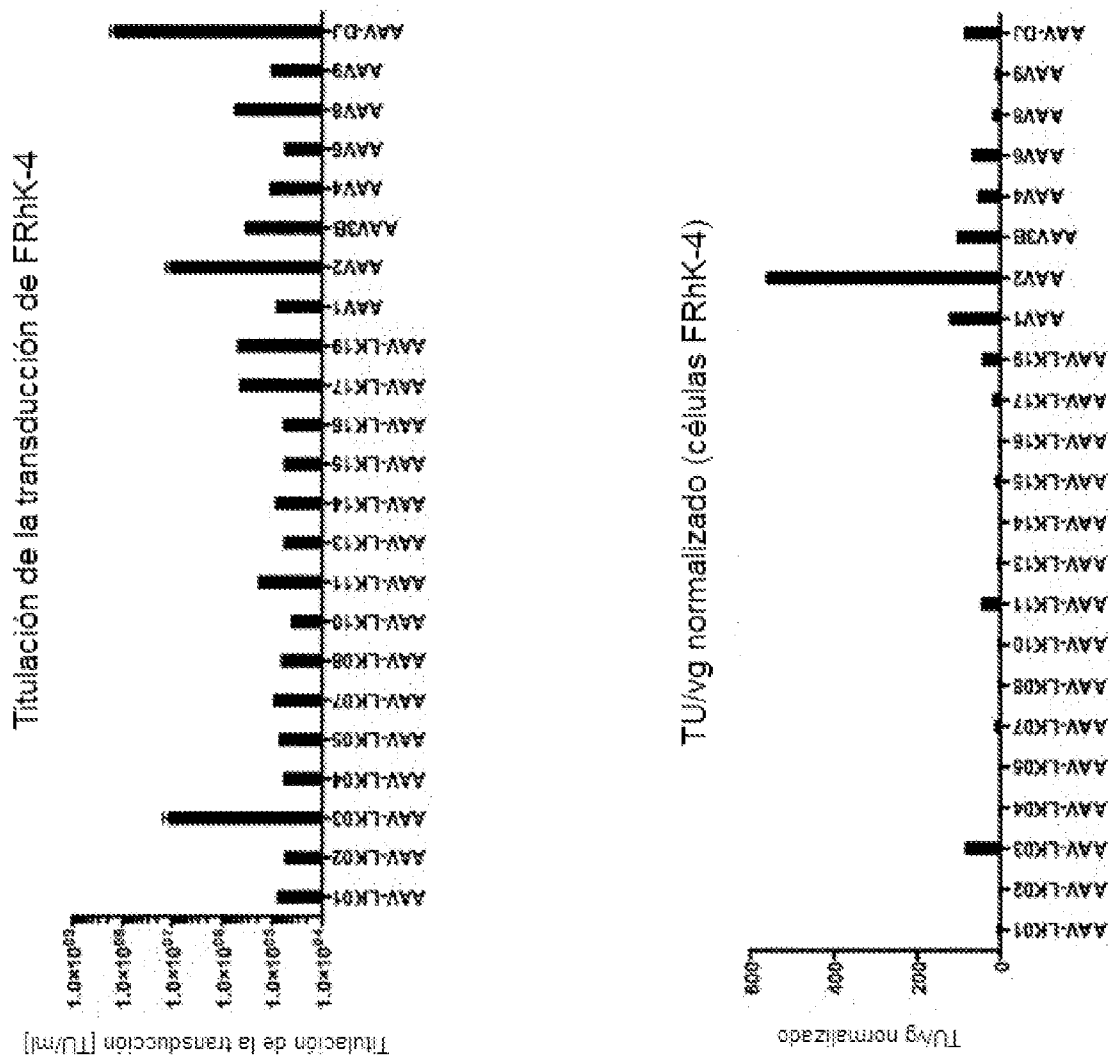


Figura 48.

Células	Especie	Organ	AAV															
			AAV1	AAV2	AAV3B	AAV4	AAV5	AAV6	AAV9	AAV10	AAV10.1	AAV10.2	AAV10.3	AAV10.4	AAV10.5	AAV10.6	AAV10.7	
Naïve	Ser humano	Epitelial	1.41E+01	4.79E+00	7.35E+02	4.26E+00	1.14E+02	5.51E+00	1.88E+03	1.08E+00	1.32E+03	1.29E+00	1.85E+03	1.61E+03	1.88E+02	1.47E+03		
#ARC	Ser humano	Epitelial	0.00E+00	4.84E+01	1.80E+01	5.18E+01	3.47E+03	1.05E+02	2.26E+00	2.26E+00	1.16E+01	1.04E+01	1.00E+00	5.36E+02	5.16E+01	1.37E+01		
#MKT	Ser humano	Hepatocitos	1.89E+01	6.07E+02	5.00E+01	2.82E+03	6.87E+01	1.64E+01	5.78E+00	1.94E+03	1.38E+03	1.77E+03	1.70E+03	1.42E+03	1.69E+03	1.34E+01		
Queratinocitos primarios	Ser humano	Queratinocitos	0.41E+01	3.90E+03	4.74E+01	3.43E+01	7.68E+01	1.09E+02	2.17E+03	0.92E+00	3.80E+01	3.80E+00	1.44E+00	1.87E+02	8.33E+02	1.03E+01		
Hepatocitos imaturos	Ser humano	Hepatocitos	NA	2.56E+01	6.00E+01	NA	NA	NA	5.00E+02	NA	1.00E+02	1.00E+00	1.00E+00	5.00E+02	3.90E+01	NA		
#AK.4	Muro (Mus)	Epitelial	1.21E+03	3.40E+03	1.63E+02	4.22E+01	1.03E+01	1.65E+01	1.06E+01	1.03E+01	2.47E+01	3.97E+03	1.00E+03	2.25E+01	4.21E+01	1.63E+01		
MKT	Raton	Fibroblastos	3.26E+03	2.10E+02	9.43E+01	1.23E+01	3.89E+03	1.95E+01	1.14E+02	1.04E+01	1.79E+01	1.00E+01	1.29E+01	4.59E+01	1.40E+02	2.17E+02		
3T3	Raton	Fibroblastos	1.40E+02	1.84E+03	4.86E+01	1.55E+01	1.55E+02	1.03E+01	1.86E+02	3.35E+01	7.63E+02	2.37E+01	4.86E+01	1.60E+01	1.60E+02	1.37E+02		
F4TG	Rata	Hepatocitos	3.12E+03	9.50E0	3.89E+01	3.99E+01	7.34E+02	2.68E+02	2.64E+02	3.23E+01	1.61E+02	4.80E+01	1.60E+01	7.70E+00	1.50E+01	1.98E+02		
LMH	Poko	Hepatocitos	0.77E+01	2.90E+03	8.11E+01	8.92E+01	1.18E+01	1.10E+02	4.44E+03	1.06E+01	3.94E+03	2.99E+03	1.00E+03	1.04E+02	1.60E+03	1.86E+01		

Figura 47. Nuevos aislados de AAV obtenidos en células PAEC humanas.

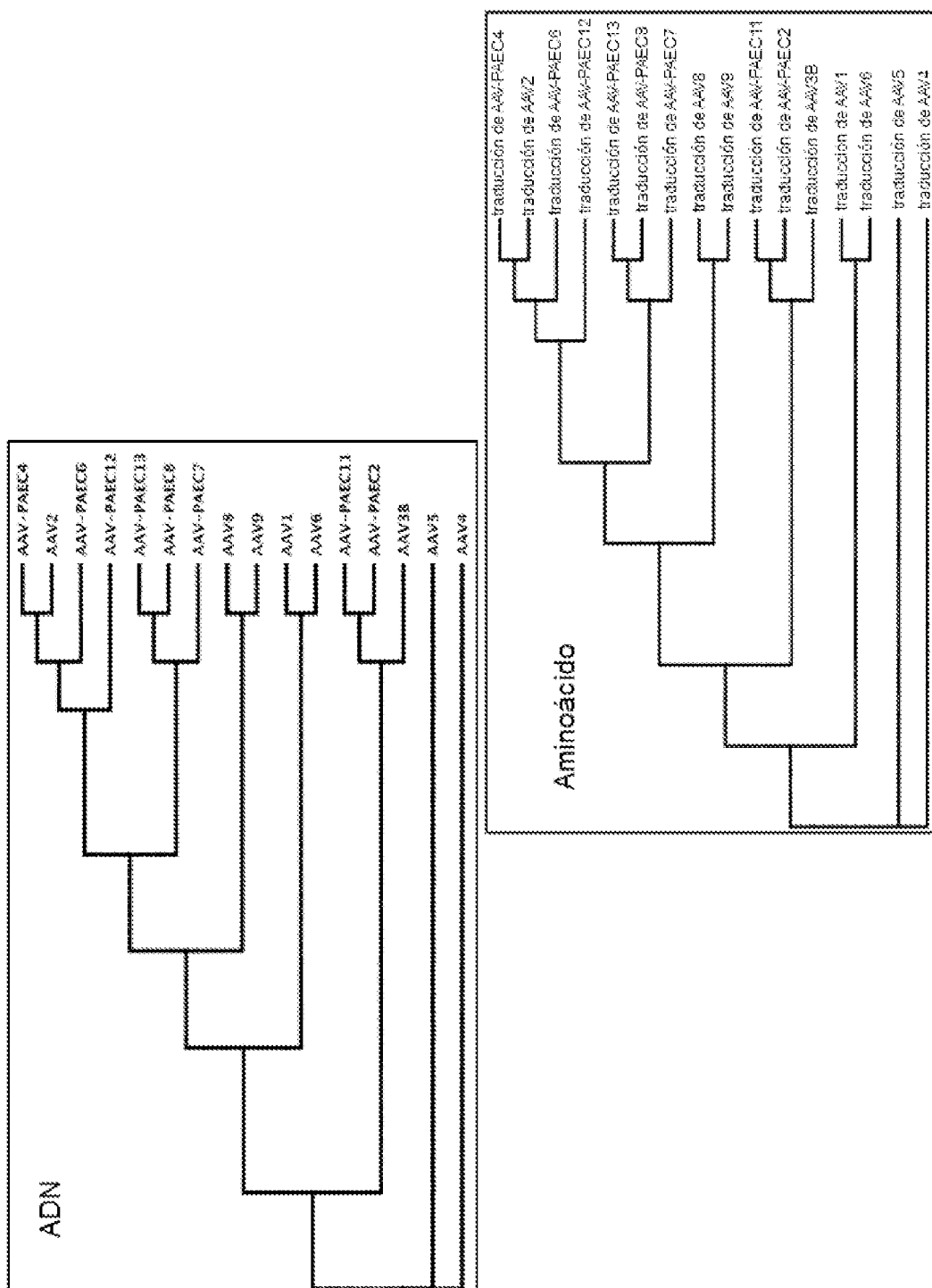


Figura 48. Comparación de nuevos AAV-PAEC y AAVwt. Titulación y transducción de células hPAEC.

