

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 526 996**

(51) Int. Cl.:

C07K 14/245 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
C12N 15/31 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2010 E 10752175 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.10.2014 EP 2464658**

(54) Título: **Inmunógenos desintoxicados de Escherichia coli**

(30) Prioridad:

16.07.2009 US 226219 P
29.12.2009 US 290654 P

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

19.01.2015

(73) Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

(72) Inventor/es:

SERINO, LAURA;
FONTANA, MARIA RITA y
MORIEL, DANILo GOMES

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 526 996 T3

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

Inmunógenos desintoxicados de Escherichia coli**Descripción****5 CAMPO TÉCNICO**

[0001] Esta invención se refiere a la inmunización contra las cepas patógenas de *Escherichia coli*.

10 ANTECEDENTES

[0002] Las cepas de *E. coli* tradicionalmente se han clasificado como comensales o patógenos, y las cepas patógenas se subclasifican además como cepas intestinales o extraintestinales. Las *E. coli* patógenas se discuten con más detalle en la referencia 1, y se pueden agrupar en diferentes patotipos, es decir, un grupo de cepas de *E. coli* que causa una enfermedad común utilizando un conjunto común de factores de virulencia. La tipificación patogénica de las cepas es una técnica rutinaria que se realiza genotípica o fenotípicamente. Un método reciente de tipificación patogénica basado en el genotipo [2] utiliza un microarray de ADN.

[0003] Entre las cepas intestinales se conocen al menos seis patotipos bien descritos: enteropatógeno (EPEC), enterohemorrágico (EHEC), enteroagregativo (EAEC), enteroinvasivo (EIEC), enterotoxigénico (ETEC) y con adherencia difusa (DAEC).

[0004] Las cepas patógenas extraintestinales (o cepas "ExPEC" [3,4] de *E. coli* incluyen cepas uropatógenas (UPEC), cepas de meningitis neonatal (NMEC), y cepas asociadas con septicemia (SEPEC). ExPEC es la causa más común de infecciones del tracto urinario y una de las principales causas de meningitis neonatal y sepsis neonatal en humanos que pueden causar graves complicaciones y muerte. Otros tipos de infecciones extraintestinales incluyen osteomielitis, infecciones pulmonares, intraabdominales, de tejidos blandos, e infecciones asociadas a dispositivos intravasculares. Otro patotipo ExPEC no exclusivo de humanos es el patógeno aviar (APEC) que causa infecciones extraintestinales en aves de corral.

[0005] La mayoría de las vacunas anteriores de ExPEC se han basado en lisados celulares o en estructuras celulares. SOLCOUROVAC™ incluye diez bacterias diferentes inactivadas por calor incluyendo seis cepas ExPEC. URO – VAXOM™ es una vacuna en comprimidos que contiene lisados bacterianos liofilizados de 18 cepas seleccionadas de *E. coli*. Baxter Vaccines desarrolló una vacuna contra UTI basada en los pili de 6 a 10 cepas diferentes. MediImmune desarrolló un producto denominado MEDI 516 basado en el complejo de adhesina FimH. Por el contrario, las referencias 5 y 6 describen inmunógenos específicos de cepas ExPEC que pueden ser utilizados como la base de vacunas definidas contra las cepas NMEC y UPEC.

[0006] Un objeto de la invención es proporcionar más y mejores antígenos para su uso en la inmunización contra las cepas patógenas de *E. coli*, y más particularmente contra los patotipos intestinales (por ejemplo, cepas EAEC, EIEC, EPEC y ETEC), así como los patotipos ExPEC y en particular antígenos que han sido detoxificados para permitir su uso como componentes de inmunización o que se han acortado sin reducir la respuesta inmune formulada para mejorar la expresión y purificación.

45 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

[0007] Uno de los muchos antígenos descritos en la referencia 5 se anota como el precursor del factor de colonización accesorio D ("AcfD") (orf3526) (SECs ID Nº: 7051 y 7052; SEC ID Nº 1 en la presente). La referencia 5 describe la secuencia de la cepa NMEC IHE3034, y la presente invención se basa en las variantes del "precursor de AcfD" (orf3526) ExPEC que se han identificado en otros patotipos, incluyendo cepas APEC, UPEC, EAEC, EIEC, EPEC y ETEC. A diferencia de la descripción de la referencia 5, estas variantes pueden ser particularmente útiles en el tratamiento de patotipos intestinales. De este modo, la invención proporciona dichas variantes junto con su uso en la inmunización de pacientes contra las infecciones de *E. coli*. Además, esta descripción incluye fragmentos y mutantes de la proteína AcfD (orf3526) de todos los patotipos de *E. coli* en los que el fragmento tiene una mayor solubilidad en comparación a la de longitud completa mientras que se mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la mejorada por la proteína completa. Además, esta descripción incluye fragmentos y mutantes de la proteína AcfD (orf3526) de todos los patotipos de *E. coli* en los que el fragmento tiene toxicidad reducida en comparación con la proteína completa mientras que mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la mejorada por la proteína completa. Además, esta descripción incluye fragmentos y mutantes de la proteína AcfD (orf3526) de todos los patotipos de *E. coli* en los que el fragmento mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la mejorada por la proteína completa mientras que tienen características mejoradas con respecto a la purificación cuando se expresa en *E. coli*.

Polipéptidos utilizados en la invención

[0008] La invención presenta un polipéptido inmunogénico que comprende un polipéptido AcfD (orf3526) de *E. coli* que comprende una mutación en relación con la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* que disminuye la toxicidad del

polipéptido inmunogénico en comparación con la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, en el que la mutación se selecciona a partir de una delección de todo o una parte del dominio zinquina – metaloproteasa y una mutación puntual en el dominio de zinquina - metaloproteasa que reduce la actividad de la proteasa y en el que el polipéptido inmunogénico mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

5 [0009] La proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* puede tener una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo formado por las SECs ID Nº 1 – 19.

10 [0010] Ejemplos de mutaciones que disminuyen la toxicidad incluyen una delección de todo o una parte del dominio zinquina – metaloproteasa y una mutación puntual en el dominio zinquina – metaloproteasa que reduce la actividad de la proteasa. En ciertos casos, la mutación puntual es una mutación de un residuo de unión a zinc o una mutación de un residuo catalítico. Una mutación puntual preferida es la sustitución del número de aminoácido 1305 basado en base al alineamiento con la SEC ID Nº 1.

15 [0011] Las delecciones ejemplares incluyen la eliminación de, al menos, los últimos 100 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 200 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 300 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 400 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 500 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 600 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 700 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 750 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los últimos 758 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* o no comprenden, al menos, los primeros 100 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 200 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 300 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 400 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 500 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 600 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 700 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 750 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o, al menos, los primeros 760 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

20 [0012] La invención proporciona un polipéptido inmunogénico que comprende un polipéptido AcfD (orf3526) de *E. coli*, en el que el polipéptido inmunogénico comprende una secuencia de aminoácidos que comprende:

25 (a) la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo entre las SECs ID Nº 20 a 38, y 58 a 76;

30 (b) al menos un % de identidad de secuencia con cualquiera de las SECs ID Nº 20 a 38 y 58 a 76; o

35 (c) tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 alteraciones de aminoácidos individuales (delecciones, inserciones, sustituciones), que pueden estar en ubicaciones separadas o pueden ser contiguas, en comparación a las SECs ID Nº 20 a 38 y 58 a 76;

40 (d) cuando se alinea con cualquiera de las SECs ID Nº 20 a 38, y 58 a 76 utilizando un algoritmo de alineamiento por pares, cada ventana móvil de x aminoácidos desde N – terminal a C – terminal (tal como un alineamiento que se extiende a p aminoácidos, donde $p > x$, hay $p - x + 1$ de estas ventanas) tiene al menos x . y aminoácidos alineados idénticos, donde x es 30; y es 0,75; y si x.y no es un número entero, entonces se redondea al número entero más próximo,

45 50 en el que el polipéptido inmunogénico mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

55 [0013] El algoritmo de alineamiento por pares es el algoritmo de alineamiento global Needleman – Wunsch [7], que utiliza parámetros por defecto (por ejemplo, con penalización por abertura de hueco = 10,0, y penalización por extensión de hueco = 0,5, utilizando la matriz de puntuación EBLOSUM62). Este algoritmo se implementa convenientemente en la herramienta aguja en el paquete EMBOSS [8].

60 [0014] Estos polipéptidos incluyen otras variantes detoxificadas de las SECs ID Nº 20 a 38 y 58 a 76, incluyendo variantes alélicas, formas polimórficas, homólogos, ortólogos, parálogos, mutantes, etc.

[0015] El valor puede seleccionarse a partir del 85 %, 87,5 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más.

65 [0016] Los polipéptidos inmunogénicos anteriores pueden contener además una delección con relación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* que aumenta la solubilidad del polipéptido inmunogénico en comparación a la

proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* mientras que el polipéptido inmunogénico aún mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

[0017] Las delecciones ejemplares que aumentan la solubilidad incluyen la eliminación de sustancialmente todos los aminoácidos N – terminales hasta la región gly – ser, la eliminación completa o una parte de la repetición rica en prolina N – terminal, o ambos. El polipéptido inmunogénico de la reivindicación 7, en el que la delección se elimina de al menos, los primeros 20 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 30 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 38 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 40 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 50 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 60 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 70 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 80 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 90 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los primeros 94 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

[0018] La invención también proporciona un fragmento de polipéptido inmunogénico de un polipéptido AcfD (orf3526) de *E. coli*, en el que el fragmento de polipéptido inmunogénico comprende una secuencia de aminoácidos que comprende:

- (a) la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo entre las SECs ID Nº 77 a 95;
- (b) al menos un % de identidad de secuencia con cualquiera de las SECs ID Nº 77 a 95; o
- (c) tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 alteraciones de aminoácidos individuales (delecciones, inserciones, sustituciones), que pueden estar en ubicaciones separadas o pueden ser contiguas, en comparación a las SECs ID Nº 77 a 95;
- (d) cuando se alinea con cualquiera de las SECs ID Nº 77 a 95 utilizando un algoritmo de alineamiento por pares, cada ventana móvil de x aminoácidos desde N – terminal a C – terminal (tal como un alineamiento que se extiende a p aminoácidos, donde $p > x$, hay $p - x + 1$ de estas ventanas) tiene al menos xy aminoácidos alineados idénticos, donde x se selecciona de; y se selecciona de 0,75; y si $x.y$ no es un número entero, entonces se redondea al número entero más próximo,

en el que el fragmento de polipéptido inmunogénico tiene menor toxicidad que la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* y en el que el fragmento de polipéptido inmunogénico mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

[0019] El algoritmo de alineamiento por pares preferido es el algoritmo de alineamiento global Needleman – Wunsch [7], que utiliza parámetros por defecto (por ejemplo, con penalización por abertura de hueco = 10,0, y penalización por extensión de hueco = 0,5, utilizando la matriz de puntuación EBLOSUM62). Este algoritmo se implementa convenientemente en la herramienta aguja en el paquete EMBOSS [8].

[0020] Estos polipéptidos incluyen otras variantes detoxificadas de las SECs ID Nº 77 a 95, incluyendo variantes alélicas, formas polimórficas, homólogos, ortólogos, parálogos, mutantes, etc.

[0021] El valor puede seleccionarse a partir del 85 %, 87,5 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más.

[0022] El fragmento de polipéptido inmunogénico en ciertas realizaciones no comprenderá, al menos, los primeros 10 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 20 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 25 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 30 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los primeros 33 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

[0023] El fragmento de polipéptido inmunogénico en ciertas realizaciones (que se puede combinar con las realizaciones anteriores) no comprenderá, al menos, los últimos 125 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 150 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 175 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 200 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 210 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los últimos 217 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.

[0024] La invención proporciona adicionalmente una composición inmunogénica que comprende un fragmento de polipéptido inmunogénico de un polipéptido AcfD (orf3526) de *E. coli*, en el que el fragmento de polipéptido

- inmunogénico comprende una secuencia de aminoácidos que comprende, al menos, un % de identidad de secuencia en cualquiera de las SECs ID Nº 77 a 95, en el que el fragmento de polipéptido inmunogénico mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* y en el que el fragmento de polipéptido inmunogénico no comprende, al menos, los últimos 125 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 150 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 175 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 200 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 210 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los últimos 217 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.
- [0025] El algoritmo de alineamiento por pares preferido es el algoritmo de alineamiento global Needleman – Wunsch [7], que utiliza parámetros por defecto (por ejemplo, con penalización por abertura de hueco = 10,0, y penalización por extensión de hueco = 0,5, utilizando la matriz de puntuación EBLOSUM62). Este algoritmo se implementa convenientemente en la herramienta *aguja* en el paquete EMBOSS [8].
- [0026] Estos polipéptidos incluyen otras variantes detoxificadas de las SECs ID Nº 77 a 95, incluyendo variantes alélicas, formas polimórficas, homólogos, ortólogos, parálogos, mutantes, etc.
- [0027] El valor puede seleccionarse a partir del 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 85,7 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más.
- [0028] El fragmento de polipéptido inmunogénico de la composición inmunogénica en ciertas realizaciones no comprenderá al menos, los primeros 10 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 20 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 25 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 30 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los primeros 33 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.
- [0029] La composición inmunogénica puede comprender además un adyuvante que, en ciertas realizaciones, puede comprender un 1 – 12 % en volumen de un aceite metabolizable, y 0,2 % a 2,5 % en peso de un agente emulsionante, en la que el aceite metabolizable y el agente emulsionante están presentes en forma de una emulsión de aceite en agua con gotas de aceite sustancialmente inferiores a 1 micra de diámetro; 4 – 5 % en peso de escualeno, y (b) un 1 % de un agente emulsionante que comprende polioxietilensorbitán monoleato y trioletano de sorbitán, en el que el escualeno y el agente emulsionante están presentes en forma de una emulsión de aceite en agua con gotas de aceite sustancialmente inferiores a 1 micra de diámetro; o MF59 (TM).
- [0030] Los polipéptidos inmunogénicos detoxificados y los fragmentos de polipéptido inmunogénico anteriores retienen preferentemente al menos un epítopo o fragmento inmunogénico de las SECs ID Nº 1 a 19. Un epítopo dentro de un fragmento puede ser un epítopo de células B y / o un epítopo de células T. Tales epítopos pueden ser identificados empíricamente (por ejemplo utilizando PEPSCAN [9,10] o métodos similares), o se pueden predecir (por ejemplo utilizando el índice antigénico Jameson – Wolf [11], técnicas con base de matriz [12], MAPITOPE [13], TEPITOPE [14,15], redes neurales [16], OptiMer y EpiMer [17, 18], ADEPT [19], Tsites [20], hidrofilicidad [21], índice antigénico [22] o los métodos descritos en las referencias 23 – 27, etc). Los epítopos son las partes de un antígeno que son reconocidas por y se unen a los sitios de unión al antígeno de los anticuerpos o receptores de células T, y también se pueden referir como “determinantes antigenicos”.
- [0031] Los polipéptidos inmunogénicos detoxificados y los fragmentos de polipéptido inmunogénicos incluyen, sin limitación, polipéptidos inmunogénicos que, cuando se administran a un sujeto en una composición adecuada que puede incluir un adyuvante (incluyendo sin limitación cualquiera de los adyuvantes listados o discutidos en la sección “composiciones y medicamentos inmunogénicos” a continuación), o un portador adecuado acoplado al polipéptido, inducen una respuesta inmune mediada por células T o anticuerpos que reconocen el polipéptido de longitud completa de la SECs ID Nº 1 a 19, respectivamente, del que se deriva el polipéptido inmunogénico.
- [0032] Los polipéptidos inmunogénicos detoxificados y los fragmentos de polipéptido inmunogénicos incluyen, sin limitación, polipéptidos inmunogénicos que, cuando se administran a un sujeto en una composición adecuada que puede incluir un adyuvante (incluyendo sin limitación cualquiera de los adyuvantes listados o discutidos en la sección “composiciones y medicamentos inmunogénicos” a continuación), o un portador adecuado acoplado al polipéptido, inducen una respuesta inmune mediada por células T o anticuerpos que reconocen el polipéptido aislado de longitud completa de la SECs ID Nº 1 a 19, respectivamente, del que se deriva el fragmento inmunogénico.
- [0033] Los polipéptidos inmunogénicos detoxificados y los fragmentos de polipéptido inmunogénicos incluyen, sin limitación, polipéptidos inmunogénicos que, cuando se administran a un sujeto en una composición adecuada que puede incluir un adyuvante (incluyendo sin limitación cualquiera de los adyuvantes listados o discutidos en la sección “composiciones y medicamentos inmunogénicos” a continuación), o un portador adecuado acoplado al polipéptido, inducen una respuesta inmune mediada por células T o anticuerpos que reconocen el polipéptido aislado de longitud completa de la SECs ID Nº 1 a 19, respectivamente, del que se deriva el fragmento inmunogénico.

- [0034]** Un polipéptido detoxificado de la invención puede, en comparación con cualquiera de las SECs ID Nº 1 a 19, incluir una o más sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, etc), tales como sustituciones conservadoras (es decir, sustituciones de un aminoácido con otro que tiene una cadena lateral relacionada). Los aminoácidos genéticamente codificados se dividen en general en cuatro familias: (1) ácidos, es decir, aspartato, glutamato; (2) básicos, es decir, lisina, arginina, histidina; (3) no polares, es decir, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano; y (4) polares no cargados, es decir, glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina. La fenilalanina, triptófano, y tirosina se clasifican a veces conjuntamente como aminoácidos aromáticos. En general, la sustitución de aminoácidos individuales dentro de estas familias no tiene un efecto mayor en la actividad biológica.
- [0035]** Un polipéptido detoxificado puede incluir una o más delecciones de aminoácidos individuales (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, etc) en relación con cualquiera de las SECs ID Nº 1 a 19. Del mismo modo, un polipéptido puede incluir una o más (por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, etc) inserciones (por ejemplo, cada 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos) en relación con cualquiera de las SECs ID Nº 1 a 19.
- [0036]** En general, cuando un polipéptido o fragmento de polipéptido inmunogénico detoxificado de la invención comprende una secuencia que no es idéntica a una completa de las SECs ID Nº 1 a 19 (por ejemplo, cuando comprende un listado secuencial con < 100 % de identidad de secuencia de la misma, o cuando comprende un fragmento del mismo) se prefiere que el polipéptido pueda producir un anticuerpo que reconoce un polipéptido que consiste en la secuencia SEC ID completa, es decir, el anticuerpo se une a una o más de dichas SECs ID Nº 1 a 19. Dicho anticuerpo puede unirse de manera específica a las SECs ID Nº 1 a 19, respectivamente mientras que no se une a las proteínas no AcfD (orf3526) con afinidad significativamente mayor que la afinidad no específica del anticuerpo a albúmina de suero humano como una norma de referencia de unión no específica.
- [0037]** Los polipéptidos utilizados con la invención pueden adoptar varias formas (por ejemplo, nativa, fusiones, glicosilada, no glicosilada, lipida, no lipida, fosforilada, no fosforilada, miristoilada, no miristoilada, monomérica, multimérica, en partículas, desnaturalizada, etc). Por ejemplo, un polipéptido de la invención puede tener una cisteína N – terminal lipida (por ejemplo, Cys – 24 de las SECs ID Nº 1 a 19).
- [0038]** Los polipéptidos utilizados con la invención se pueden preparar por varios medios (por ejemplo, expresión recombinante, purificación de cultivo celular, síntesis química, etc). Se prefieren las proteínas expresadas de forma recombinante.
- [0039]** Los polipéptidos utilizados con la invención se proporcionan de manera preferente en forma purificada o sustancialmente purificada, es decir, sustancialmente libre de otros polipéptidos (por ejemplo, libres de polipéptidos de origen natural), particularmente de otros polipéptidos de *E. coli* o células huésped, en general son al menos un 50 % puros (en peso), y generalmente al menos un 90 % puros, es decir, menos del 50 %, y más preferentemente menos del 10 % (por ejemplo, 5 %) de una composición compuesta por otros polipéptidos expresados. De esta manera, los antígenos en las composiciones se separan del organismo completo con el que se expresa la molécula.
- [0040]** Los polipéptidos utilizados con la invención son preferentemente polipéptidos de *E. coli*. Tales polipéptidos pueden seleccionarse adicionalmente de polipéptidos de *E. coli* NMEC, APEC, UPEC, EAEC, EIEC, EPEC y ETEC.
- [0041]** El término “polipéptido” se refiere a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados, y puede estar interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que se ha modificado de forma natural o por intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación, o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente marcador. También se incluyen, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Los polipéptidos pueden presentarse como cadenas sencillas o cadenas asociadas.
- [0042]** La invención describe polipéptidos que comprenden una secuencia –P – Q – o – Q – P –, donde: - P – es una secuencia de aminoácidos como se define anteriormente y – Q – no es una secuencia como se define anteriormente, es decir, la invención proporciona proteínas de fusión. Cuando el codón N – terminal de – P – no sea ATG, aunque este codón no esté presente en el N – terminal de un polipéptido, se traducirá como el aminoácido estándar para ese codón en lugar de un Met. Cuando este codón esté en el N – terminal de un polipéptido, sin embargo, se traducirá como Met. Los ejemplos de restos – Q – incluyen, pero no se limitan a, etiquetas de histidina (es decir, His_n donde n = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más), una proteína de unión a maltosa, o glutatión – S – transferasa (GST).
- [0043]** La invención describe además una proteína oligomérica que comprende un polipéptido de la invención. El oligómero puede ser un dímero, un trímero, un tetrámero, etc. El oligómero puede ser un homo – oligómero o un hetero - oligómero. Los polipéptidos en el oligómero pueden estar asociados de forma covalente o de forma no covalente.

[0044] La comparación de la respuesta inmune mejorada en un sujeto por el polipéptido con la respuesta inmune mejorada por la proteína de longitud completa se puede llevar a cabo por el uso de cualquier medio disponible para el experto en la técnica. Un método simple, tal como se utiliza en los ejemplos posteriores comprende la inmunización de un sujeto modelo, tal como un ratón y luego estimulación con una dosis letal de *E. coli*. Para una

5 comparación apropiada, un experto en la técnica seleccionará de manera natural el mismo adyuvante, tal como el adyuvante completo de Freund. En esta prueba, los fragmentos de polipéptido inmunogénico de la presente invención mejorarán una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto (por ejemplo, proporcionarán sustancialmente la misma protección contra la estimulación letal) si, por ejemplo, el polipéptido proporciona al menos, el 70 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa, al menos, el 80 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa, al menos, el 85 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa, al menos, el 90 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa, al menos, el 95 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa, al menos, el 97 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa, al menos, el 98 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa, o al menos, el 99 % de la protección proporcionada por la proteína de longitud completa.

10 **[0045]** La proteína de longitud completa AcfD (orf3526) contra la que se comparará el fragmento de polipéptido inmunogénico (para solubilidad, toxicidad y respuesta inmune mejorada) puede ser cualquier proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* representativa incluyendo sin limitación las SECs ID Nº 1 a 19. La proteína AcfD (orf3526) será la proteína correspondiente de longitud completa de la que se obtiene el fragmento de polipéptido inmunogénico.

15 **[0046]** La invención también proporciona un proceso para producir un polipéptido de la invención, que comprende la etapa de cultivar una célula huésped transformada con ácido nucleico de la invención en condiciones que inducen la expresión del polipéptido. El polipéptido entonces se puede purificar, por ejemplo, a partir de sobrenadantes de cultivo.

20 **[0047]** La invención proporciona una célula de *E. coli*, que contiene un plásmido que codifica un polipéptido de la invención. El cromosoma de la célula de *E. coli* puede incluir un homólogo de AcfD (orf3526), o este homólogo puede estar ausente, pero en ambos casos el polipéptido de la invención se puede expresar en el plásmido. El plásmido puede incluir un gen que codifica un marcador, etc. Estos y otros detalles de plásmidos adecuados se proporcionan a continuación.

25 **[0048]** Aunque la expresión de los polipéptidos de la invención puede tener lugar en una cepa de *E. coli*, la invención utilizará normalmente un huésped heterólogico para la expresión. El huésped heterólogo puede ser procariótico (por ejemplo, una bacteria) o eucariótico. Los huéspedes adecuados incluyen, pero no se limitan a, *Bacillus subtilis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria cinerea*, *Mycobacteria* (por ejemplo, *M. tuberculosis*), levaduras, etc.

30 **[0049]** La invención proporciona un procedimiento para producir un polipéptido de la invención, que comprende la etapa de sintetizar, al menos, parte del polipéptido por medios químicos.

35 **[0050]** Cualquiera y todas las proteínas anteriores, polipéptidos, polipéptidos híbridos, epítopos y fragmentos inmunogénicos pueden estar en cualquier forma que incluyen, sin limitación, recombinante, aislada o sustancialmente purificada (a partir de materiales coexistentes con dichas proteínas, polipéptidos, polipéptidos híbridos, epítopos y fragmentos inmunogénicos en su estado natural).

Ácidos nucleicos

40 **[0051]** La invención también proporciona un ácido nucleico que codifica polipéptidos y polipéptidos híbridos de la invención. También proporciona ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica uno o más polipéptidos o polipéptidos híbridos de la invención.

45 **[0052]** La invención también proporciona ácido nucleico que comprende secuencias de nucleótidos que tienen identidad de secuencia en estas secuencias de nucleótidos. La identidad entre secuencias se determina preferentemente por el algoritmo de búsqueda de homología de Smith – Waterman como se describe anteriormente. Dichos ácidos nucleicos incluyen aquellos que utilizan codones alternativos para codificar el mismo aminoácido.

50 **[0053]** La invención también proporciona ácido nucleico que puede hibridar en estos ácidos nucleicos. Las reacciones de hibridación se pueden realizar en condiciones de diferente "severidad". Las condiciones que incrementan la severidad de una reacción de hibridación son ampliamente conocidas y están publicadas en la técnica (por ejemplo, página 7.52 de la referencia 211). Los ejemplos de condiciones relevantes incluyen (en orden de severidad creciente): temperaturas de incubación de 25 °C, 37 °C, 50 °C, 55 °C y 68 °C; concentraciones de tampón de 10 x SSC, 6 x SSC, 1 x SSC, 0,1 x SSC (donde SSC es NaCl 0,15 M y tampón citrato de 15 mM) y sus equivalentes utilizan otros sistemas de tampón; concentraciones de formamida al 0 %, 25 %, 50 % y 75 %; tiempo de incubación de 5 minutos a 24 horas, 1, 2, o más etapas de lavado; tiempo de incubación de lavado de 1, 2, o 15

minutos; y soluciones de lavado 6 x SSC, 1 x SSC, 0,1 x SSC, o agua desionizada. Las técnicas de hibridación y su optimización son bien conocidas en la técnica (véanse, por ejemplo, las referencias 28, 29, 211, 213, etc).

- 5 [0054] En algunas realizaciones, el ácido nucleico de la invención se hibrida a una diana en condiciones de baja severidad, en otras realizaciones, se hibrida en condiciones de severidad intermedia; en realizaciones preferentes, se hibrida en condiciones de alta severidad. Un conjunto ejemplar de condiciones de hibridación de baja severidad es 50 °C y 10 x SSC. Un conjunto ejemplar de condiciones de hibridación de severidad intermedia es 55 °C y 1 x SSC. Un conjunto ejemplar de condiciones de hibridación de alta severidad es 68 °C y 0,1 x SSC.
- 10 [0055] La invención incluye ácido nucleico que comprende secuencias complementarias a estas secuencias (por ejemplo, para antisentido o sondeo, o para el uso como cebadores).
- 15 [0056] Los ácidos nucleicos de la invención se pueden utilizar en reacciones de hibridación (por ejemplo, transferencias Northen o Southern, o en microarrays de ácido nucleico o "chips génicos") y reacciones de amplificación (por ejemplo, PCR, SDA, SSSR, LCR, TMA, NASBA, etc) y otras técnicas de ácido nucleico.
- 20 [0057] El ácido nucleico según la invención puede adoptar varias formas (por ejemplo, monocatenaria, bicatenaria, vectores, cebadores, sondas, marcada, etc). Los ácidos nucleicos de la invención pueden ser circulares o ramificados, pero en general serán lineales. A menos que se especifique o requiera lo contrario, cualquier realización de la invención que utiliza un ácido nucleico puede utilizar tanto la forma bicatenaria como cada una de las dos formas monocatenarias complementarias que constituyen la forma bicatenaria. Los cebadores y las sondas son generalmente monocatenarios, como son los ácidos nucleicos antisentido.
- 25 [0058] Los ácidos nucleicos de la invención se proporcionan preferentemente en forma purificada o sustancialmente purificada, es decir, sustancialmente libres de otros ácidos nucleicos (por ejemplo, libres de ácidos nucleicos de origen natural), particularmente de otros ácidos nucleicos de *E. coli* o célula huésped, siendo en general, al menos, un 50 % puros (en peso), y normalmente al menos, un 90 % puros. Los ácidos nucleicos de la invención son preferentemente ácidos nucleicos de *E. coli*.
- 30 [0059] Los ácidos nucleicos de la invención pueden prepararse de muchas maneras, por ejemplo por síntesis química (por ejemplo, fosforamidita para la síntesis de ADN) en su totalidad o en parte, al digerir ácidos nucleicos más largos utilizando nucleadas (por ejemplo, enzimas de restricción), al unir ácidos nucleicos o nucleótidos más cortos (por ejemplo, utilizando ligasas o polimerasas), de bibliotecas genómicas o de ADNc, etc.
- 35 [0060] El ácido nucleico de la invención se puede unir a un soporte sólido (por ejemplo, una perla, placa, filtro, película, portaobjetos, soporte de microarray, resina, etc). El ácido nucleico de la invención se puede marcar por ejemplo, con un marcador radioactivo o fluorescente, o una etiqueta de biotina. Esto es particularmente útil cuando el ácido nucleico se va a utilizar en técnicas de detección, por ejemplo, cuando el ácido nucleico es un cebador o una sonda.
- 40 [0061] El término "ácido nucleico" incluye, en general, una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, que contiene desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, y / o sus análogos. Incluye ADN, ARN, híbrido de ADN / ARN. También incluye análogos de ADN o ARN, tales como aquellos que contienen estructuras modificadas (por ejemplo, ácidos nucleicos peptídicos (PNAs) o fosforotioatos) o bases modificadas. De esta manera, la invención incluye ARNm, ARNt, ARNr, ribozimas, ADN, ADNc, ácidos nucleicos recombinantes, ácidos nucleicos ramificados, plásmidos, vectores, sondas, cebadores, etc. Cuando el ácido nucleico de la invención adopta la forma de ARN, puede tener o no una cofia 5'.
- 50 [0062] Los ácidos nucleicos de la invención pueden ser parte de un vector, es decir, parte de un constructo de ácido nucleico diseñado para la transducción / transfección de uno o más tipos de células. Los vectores pueden ser, por ejemplo, "vectores de clonación", que se diseñan para el aislamiento, la propagación y la repetición de nucleótidos insertados, los "vectores de expresión" se diseñan para la expresión de una secuencia de nucleótidos en una célula huésped, los "vectores virales" se diseñan para dar como resultado la producción de un virus recombinante o partículas tipo virus, o los "vectores lanzadera" comprenden los atributos de más de un tipo de vector. Los vectores preferentes son plásmidos, como se menciona anteriormente. Una "célula huésped", incluye una célula individual o un cultivo celular que puede ser o ha sido destinataria del ácido nucleico exógeno. Las células huésped incluyen progenie de una célula huésped individual, y la progenie no necesariamente puede ser completamente idéntica (en morfología o en complemento de ADN total) a la célula parental original debido al cambio y / o mutación natural, accidental o deliberada. Las células huésped incluyen células transfectadas o infectadas *in vivo* o *in vitro* con ácido nucleico de la invención.
- 55 [0063] Cuando un ácido nucleico es ADN, se apreciará que "U" en una secuencia de ARN se reemplazará por "T" en el ADN. De manera similar, cuando un ácido nucleico es ARN, se apreciará que "T" en una secuencia de ADN se reemplazará por "U" en el ARN.
- 60

[0064] El término "complemento" o "complementario" cuando se utiliza con relación a los ácidos nucleicos se refiere al apareamiento de bases de Watson – Crick. De este modo, el complemento de C es G, el complemento de G es C, el complemento de A es T (o U), y el complemento de T (o U) es A. Asimismo, es posible utilizar bases tales como I (purina inosina), por ejemplo para complementar pirimidinas (C o T).

5 **[0065]** Pueden utilizarse ácidos nucleicos de la invención, por ejemplo, para producir polipéptidos; como sondas de hibridación para la detección de ácidos nucleicos en muestras biológicas; para generar copias adicionales de ácidos nucleicos; para generar ribozimas u oligonucleótidos antisentido; como sondas o cebadores de ADN monocatenario; o como oligonucleótidos tricatenarios.

10 **[0066]** La invención proporciona un proceso para producir ácido nucleico de la invención, en el que el ácido nucleico se sintetiza en parte o en su totalidad utilizando medios químicos.

15 **[0067]** La invención proporciona vectores que comprenden secuencias de nucleótidos de la invención (por ejemplo, vectores de clonación o de expresión) y células huésped transformadas con dichos vectores.

[0068] La amplificación del ácido nucleico según la invención puede ser cuantitativa y / o en tiempo real.

20 **[0069]** Para ciertas realizaciones de la invención, los ácidos nucleicos son preferentemente de, al menos, 7 nucleótidos (por ejemplo, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90, 100, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 275, 300 nucleótidos o más largos).

25 **[0070]** Para ciertas realizaciones de la invención, los ácidos nucleicos son preferentemente como máximo de 500 nucleótidos (por ejemplo, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15 nucleótidos o más cortos).

30 **[0071]** Los cebadores y la sondas de la invención, y otros ácidos nucleicos utilizados para la hibridación, oscilan preferentemente entre 10 y 30 nucleótidos (por ejemplo 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos).

Composiciones y medicamentos inmunogénicos

35 **[0072]** Los polipéptidos de la invención son útiles como ingredientes activos (inmunógenos) en composiciones inmunogénicas, y estas composiciones pueden ser útiles como vacunas. Las vacunas según la invención pueden ser profilácticas (es decir, para impedir la infección) o terapéuticas (es decir, para tratar la infección), pero normalmente serán profilácticas.

40 **[0073]** Las composiciones inmunogénicas serán farmacéuticamente aceptables. Normalmente, incluirán componentes además de los antígenos por ejemplo, incluirán normalmente uno o más portador(es), excipiente(s) y / o adyuvante(s) farmacéutico(s). Una discusión completa de los portadores y excipientes está disponible en la referencia 208. Las discusiones completas de adyuvantes de vacunas están disponibles en las referencias 30 y 31.

45 **[0074]** Las composiciones se administrarán en general a un mamífero en forma acuosa. Antes de la administración, sin embargo, la composición puede haber estado en una forma no acuosa. Por ejemplo, aunque algunas vacunas se elaboran en forma acuosa, luego se rellenan, se distribuyen, y se administran también en forma acuosa, otras vacunas se liofilizan durante la elaboración y se reconstituyen en una forma acuosa en el momento del uso. De este modo, una composición de la invención se puede secar, tal como una formulación liofilizada.

50 **[0075]** La composición puede incluir conservantes tales como tiomersal o 2 – fenoxietanol. Sin embargo, se prefiere que la vacuna esté sustancialmente libre de (es decir, menos de 5 µg / ml) material mercurial por ejemplo, libre de tiomersal. Son más preferentes las vacunas que no contienen mercurio. Se prefieren de forma particular vacunas libres de conservante.

55 **[0076]** Para mejorar la estabilidad térmica, una composición puede incluir un agente protector de la temperatura.

60 **[0077]** Para controlar la tonicidad, se prefiere incluir una sal fisiológica, tal como una sal de sodio. Se prefiere cloruro de sodio (NaCl), que puede estar presente entre 1 y 20 mg / ml, por ejemplo, 10 ± 2 mg / ml de NaCl. Otras sales que pueden estar presentes incluyen cloruro potásico, dihidrógeno fosfato de potasio, fosfato disódico deshidratado, cloruro de magnesio, cloruro de calcio, etc.

65 **[0078]** En general, las composiciones tendrán una osmolalidad de entre 200 mOsm / kg y 400 mOsm / kg, preferentemente entre 240 – 360 mOsm / kg, y oscilarán preferentemente entre 290 – 310 mOsm / kg.

[0079] Las composiciones pueden incluir uno o más tampones. Los tampones normales incluyen: un tampón fosfato, un tampón Tris, un tampón borato, un tampón succinato, un tampón histidina (particularmente con un adyuvante de hidróxido de aluminio), o un tampón citrato. Los tampones se incluirán normalmente en el intervalo de 5 – 20 mM.

[0080] El pH de una composición oscilará en general entre 5,0 y 8,1 y normalmente entre 6,0 y 8,0, por ejemplo, 6,5 y 7,5 o entre 7,0 y 7,8.

[0081] La composición es preferentemente estéril. La composición es preferentemente no pirogénica por ejemplo, contiene < 1 UE (unidad de endotoxina, una medida estándar) por dosis, y preferentemente < 0,1 UE por dosis. La composición está preferentemente libre de gluten.

[0082] La composición puede incluir material para la inmunización única, o puede incluir material para múltiples inmunizaciones (es decir, un kit de “múltiples dosis”). La inclusión de un conservante se prefiere en disposiciones de múltiple dosis. Como alternativa (o además) de incluir un conservante en las composiciones de múltiples dosis, las composiciones pueden estar contenidas en un recipiente que tiene un adaptador aséptico para eliminar material.

[0083] Las vacunas humanas se administran normalmente en un volumen de dosis de 0,5 ml, aunque se pueden administrar dosis medias (es decir, 0,25 ml) a niños.

[0084] Las composiciones inmunogénicas de la invención también pueden comprender uno o más agentes inmunorreguladores. De manera preferente, uno o más agentes inmunorreguladores incluyen uno o más adyuvantes. Los adyuvantes pueden incluir un adyuvante TH1 y / o un adyuvante TH2, discutidos adicionalmente a continuación.

[0085] Los adyuvantes que se pueden utilizar en las composiciones de la invención incluyen, pero no se limitan a:

A. Composiciones que contienen mineral

[0086] Las composiciones que contienen mineral adecuadas para el uso como adyuvantes en la invención incluyen sales minerales, tales como sales de aluminio y sales de calcio (o mezclas de las mismas). Las sales de calcio incluyen fosfato de calcio (por ejemplo, las partículas “CAP” descritas en la referencia 32). Las sales de aluminio incluyen hidróxidos, fosfatos, sulfatos, etc, con las sales que adoptan cualquier forma adecuada (por ejemplo, en gel, cristalina, amorfa, etc). Se prefiere la adsorción a estas sales. Las composiciones que contienen mineral también se pueden formular como una partícula de sal metálica [33].

[0087] Se pueden utilizar adyuvantes conocidos tales como hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. Estos nombres son convencionales, pero se utilizan sólo por conveniencia, puesto que no es una descripción precisa del compuesto químico real que está presente (véase, por ejemplo, el capítulo 9 de la referencia 30). La invención puede utilizar cualquiera de los adyuvantes de “hidróxido” o “fosfato” que son de uso general como adyuvantes. Los adyuvantes conocidos como “hidróxido de aluminio” son normalmente sales de oxihidróxido de aluminio, que normalmente son, al menos, parcialmente cristalinas. Los adyuvantes conocidos como “fosfato de aluminio” son normalmente hidroxifosfatos de aluminio, que también contienen frecuentemente una pequeña cantidad de sulfato (es decir, sulfato hidroxifosfato de aluminio). Se pueden obtener por precipitación, y las condiciones de reacción y las concentraciones durante la precipitación influyen en el grado de sustitución de fosfato por hidroxilo en la sal.

[0088] Una morfología fibrosa (por ejemplo, como se observa en micrografías electrónicas de transmisión) es normal para los adyuvantes de hidróxido de aluminio. El pI de los adyuvantes de hidróxido de aluminio es normalmente de 11, es decir, el mismo adyuvante tiene una carga superficial positiva en pH fisiológico. Se han mostrado capacidades de adsorción de entre 1,8 – 2,6 mg de proteína por mg de Al⁺⁺⁺ en pH 7,4 para adyuvantes de hidróxido de aluminio.

[0089] Los adyuvantes de fosfato de aluminio tienen en general una relación molar de PO₄ / Al entre 0,3 y 1,2, preferentemente entre 0,8 y 1,2 y más preferentemente 0,95 ± 0,1. El fosfato de aluminio en general, será amorfo, particularmente para sales de hidroxifosfato. Un adyuvante normal es hidroxifosfato de aluminio amorfo con una relación molar de PO₄ / Al entre 0,84 y 0,92, incluido en 0,6 mg Al³⁺ / ml. El fosfato de aluminio estará en general en forma de partículas (por ejemplo, morfología tipo placa como se observa en micrografías electrónicas de transmisión). Los diámetros normales de las partículas oscilan entre 0,5 – 20 µm (por ejemplo, 5 – 10 µm) después de cualquier adsorción de antígeno. Se han mostrado capacidades de adsorción de entre 0,7 – 1,5 mg de proteína por mg Al⁺⁺⁺ en pH 7,4 para adyuvantes de fosfato de aluminio.

[0090] El punto de carga cero (PZC) de fosfato de aluminio está inversamente relacionado con el grado de sustitución de fosfato por hidroxilo, y este grado de sustitución puede variar dependiendo de las condiciones de reacción y de la concentración de los reactivos utilizados para preparar la sal por precipitación. El PZC también se altera al cambiar la concentración de iones libres de fosfato en solución (más fosfato = más PZC ácido) o al añadir

un tampón, tal como un tampón histidina (que hace al PZC más básico). Los fosfatos de aluminio utilizados según la invención tendrán, en general, un PZC de entre 4,0 y 7,0, preferentemente entre 5,0 y 6,5, por ejemplo, 5,7.

5 [0091] Las suspensiones de sales de aluminio utilizadas para preparar las composiciones de la invención pueden contener un tampón (por ejemplo, un fosfato o una histidina o un tampón Tris), pero esto no siempre es necesario. Las suspensiones son preferentemente estériles y libres de pirógenos. Una suspensión puede incluir iones fosfato acuosos libres por ejemplo, presentes en una concentración de entre 1,0 y 20 nM, preferentemente entre 5 y 15 mM, más preferentemente 10 mM. Las suspensiones también pueden comprender cloruro de sodio.

10 [0092] La invención puede utilizar una mezcla tanto de un hidróxido de aluminio como de un fosfato de aluminio. En este caso, puede haber más fosfato de aluminio que hidróxido, por ejemplo, una relación en peso de al menos: 2:1 por ejemplo, ≥ 5:1, ≥ 6:1, ≥ 7:1, ≥ 8:1, ≥ 9:1, etc.

15 [0093] La concentración de Al⁺⁺⁺ en una composición para la administración a un paciente es preferentemente inferior a 10 mg / ml por ejemplo ≤ 5mg / ml, ≤ 4 mg / ml, ≤ 3 mg / ml, ≤ 2 mg / ml, ≤ 1 mg / ml, etc. Un intervalo preferente está entre 0,3 y 1 mg / ml. Se prefiere un máximo de 0,85 mg / dosis.

B. Emulsiones de aceite

20 [0094] Las composiciones de emulsión de aceite adecuadas para el uso como adyuvantes en la invención incluyen emulsiones de escualeno en agua, tal como MF59 (capítulo 10 de la referencia 30, véase, también la referencia 34) (escualeno al 5 %, Tween 80 al 0,5 % y Span 85 al 0,5 %, formuladas en partículas submicrónicas utilizando un microfluidizador). Se puede utilizar también el adyuvante completo de Freund (CFA) y el adyuvante incompleto de Freund (IFA).

25 [0095] Se conocen varios adyuvantes de emulsión de aceite en agua, y normalmente incluyen, al menos, un aceite y, al menos, un surfactante, con el (los) aceite(s) y surfactante(s) que es (son) biodegradable(s) (metabolizable(s)) y biocompatible(s). Las gotas de aceite en la emulsión en general son inferiores a 5 µm de diámetro, y de manera ideal tienen un diámetro submicrónico, estos tamaños pequeños se logran con un microfluidizador para proporcionar emulsiones estables. Se prefieren las gotas con un tamaño inferior a 220 nm, puesto que se pueden someter a un filtrado esterilizante.

30 [0096] La emulsión puede comprender aceites, tales como los de una fuente animal (tal como pescado) o vegetal. Las fuentes para aceites vegetales incluyen frutos secos, semillas y granos. El aceite de cacahuate, aceite de soja, aceite de coco y aceite de oliva, los más comúnmente disponibles, ejemplifican los aceites de frutos secos. Se puede utilizar aceite de jojoba por ejemplo, obtenido de la semilla de jojoba. Los aceites de semillas incluyen aceite de cártamo, aceite de algodón, aceite de semilla de girasol, aceite de sésamo, y similares. En el grupo de granos, el aceite de maíz es el más fácilmente disponible, pero también se puede utilizar el aceite de otros granos de cereales tales como trigo, avena, centeno, arroz, teff, triticale y similares. Los ésteres de ácidos grasos de 6 – 10 carbonos de glicerol y 1, 2 – propanodiol, mientras no se presenten de manera natural en los aceites de semilla, se pueden preparar por hidrólisis, separación y esterificación de los materiales apropiados a partir de los aceites de frutos secos y de semillas. Las grasas y aceites de leche de mamífero son metabolizables y por tanto se pueden utilizar en la práctica de la invención. Los procedimientos de separación, purificación, saponificación y otros medios necesarios para obtener aceites puros de fuentes animales son bien conocidos en la técnica. La mayoría de pescados contienen aceites metabolizables que se pueden recuperar fácilmente. Por ejemplo, el aceite de hígado de bacalao, los aceites de hígado de tiburón y el aceite de ballena, tal como esperma de ballena, ejemplifican varios de los aceites de pescado que se pueden utilizar en la presente. Se sintetizan bioquímicamente varios aceites de cadena ramificada en unidades de isopreno de 5 carbonos y en general se refieren como terpenoides. El aceite de hígado de tiburón contiene terpenoides ramificados insaturados conocidos como escualeno, 2, 6, 10, 15, 19, 23 – hexametil – 2, 6, 10, 14, 18, 22 – tetracosahexaeno, que es particularmente preferente en la presente. El escualano, el análogo saturado en escualeno, también es un aceite preferente. Los aceites de pescado, que incluyen escualeno y escualano, están fácilmente disponibles en fuentes comerciales o se pueden obtener por métodos conocidos en la técnica. Otros aceites preferentes son los tocoferoles (véanse a continuación). Se pueden utilizar mezclas de aceites.

35 [0097] Los surfactantes se pueden clasificar por su "HLB" (equilibrio hidrófilo / lipófilo). Los surfactantes preferentes de la invención tienen un HLB de al menos 10, preferentemente al menos 15, y más preferentemente al menos 16. La invención se puede utilizar con surfactantes, que incluyen, pero no se limitan a: los surfactantes de ésteres de polioxietileno – sorbitán (referidos comúnmente como Tweens), especialmente polisorbato 20 y polisorbato 80; copolímeros de óxido de etileno (EO), óxido de propileno (PO), y / u óxido de butileno (BO), vendidos con el nombre comercial DOWFAX™, tales como copolímeros en bloque lineales de EO / PO; octoxinolos, que pueden variar en el número de grupos repetitivos etoxi (oxi – 1, 2 – etanodiilo), con octoxinol – 9 (Triton X – 100 o t – octifenoxyolietoxietanol) siendo de interés particular; (octilfenoxi) polietoxietanol (IGEPAL CA – 630 / NP – 40); fosfolípidos tales como fosfatidilcolina (lecitina), etoxilatos de nonilfenol, tales como la serie Tergitol™ NP; éteres grasos de polioxietileno derivados de alcoholes láurico, cétílico, esteárico y oleílico (conocidos como surfactantes Brij), tales como éter monolaurílico de trietilenglicol (Brij 30) y ésteres de sorbitán (comúnmente conocidos como SPAN), tales como trioleato de sorbitán (Span 85) y monolaurato de sorbitán. Se prefieren surfactantes no iónicos.

Los surfactantes preferentes para incluirse en emulsión son Tween 80 (monooleato de polioxietileno - sorbitán), Span 85 (trioleato de sorbitán), lecitina y Triton X – 100.

[0098] Se pueden utilizar mezclas de surfactantes, por ejemplo, mezclas de Tween 80 / Span 85. Una combinación de un éster de polioxietileno – sorbitán, tal como monooleato de polioxietileno – sorbitán (Tween 80) y también es adecuado un octoxinol, tal como t – octilfenoxipolietoxietanol (Triton X – 100). Otra combinación útil comprende laureth 9 más un éster de polioxietileno – sorbitán y / o un octoxinol.

[0099] Las cantidades preferentes de surfactantes (% en peso) son: éster de polioxietileno – sorbitán (tal como Tween 80) 0,01 a 1 %, en particular 0,1 %; octil – o nonilfenoxi – polioxietanoles (tal como Triton X – 100, u otros detergentes en la serie Triton) 0,001 a 0,1 %, en particular 0,005 a 0,02 %; éteres de polioxietileno (tal como laureth 9) 0,1 a 20 %, preferentemente 0,1 a 10 % y en particular 0,1 a 1 % o 0,5 %.

[0100] Los adyuvantes de emulsión preferentes tienen un tamaño medio de gota de < 1 µm por ejemplo, ≤ 750 nm, ≤ 500 nm, ≤ 400 nm, ≤ 300 nm, ≤ 250 nm, ≤ 220 nm, ≤ 200 nm, o menor. Estos tamaños de gota se pueden conseguirse de manera conveniente por técnicas como la microfluidización.

[0101] Los adyuvantes específicos de emulsión de aceite en agua útiles en la invención incluyen, pero no se limitan a:

- Una emulsión submicrónica de escualeno, Tween 80 y Span 85. La composición de la emulsión en volumen puede ser escualeno al 5 %, polisorbato 80 al 0,5 % y Span 85 al 0,5 %. En términos de peso, estas relaciones llegan a ser escualeno al 4,3 %, polisorbato 80 al 0,5 % y Span 85 al 0,48%. Este adyuvante se conoce como "MF59" [35 - 37], como se describe con más detalle en el capítulo 10 de la referencia 38 y en el capítulo 12 de la referencia 39. La emulsión MF59 incluye de manera ventajosa iones citrato, por ejemplo, 10 mM de tampón citrato de sodio.
- Una emulsión de escualeno, tocoferol, y Tween 80. La emulsión puede incluir solución salina tamponada con fosfato. También puede incluir Span 85 (por ejemplo, 1 %) y / o lecitina. Estas emulsiones pueden tener de 2 a 10 % de escualeno, de 2 a 10 % de tocoferol y de 0,3 a 3 % de Tween 80, y la relación en peso de escualeno: tocoferol es preferentemente ≤ 1 puesto que esto proporciona una emulsión más estable. El escualeno y el Tween 80 pueden estar presentes en una relación de volumen 5:2. Esta emulsión se puede producir al disolver Tween 80 en PBS para dar una solución al 2 %, después se mezclan 90 ml de esta solución con una mezcla de (5 g de DL – α – tocoferol y 5 ml de escualeno), después se microfluidiza la mezcla. La emulsión resultante puede tener gotas de aceite submicrónicas, por ejemplo, con un diámetro medio de 100 y 250 nm, preferentemente 180 nm.
- Una emulsión de escualeno, tocoferol, y detergente Triton (por ejemplo, Triton X – 100). La emulsión también puede incluir 3d – MPL (véase a continuación). La emulsión puede contener un tampón fosfato.
- Una emulsión que comprende polisorbato (por ejemplo, polisorbato 80), detergente Triton (por ejemplo, Triton X – 100) y tocoferol (por ejemplo, un succinato de α – tocoferol). La emulsión puede incluir estos tres componentes en una relación en masa de 75:11:10 (por ejemplo 750 µg / ml de polisorbato 80, 110 µg / ml de Triton X – 100 y 100 µg / ml de succinato de α – tocoferol), y estas concentraciones deben incluir cualquier contribución de estos componentes a partir de antígenos. La emulsión también puede incluir escualeno. La emulsión también puede incluir un 3d – MPL (véase a continuación). La fase acuosa puede contener un tampón fosfato.
- Una emulsión de escualano, polisorbato 80 y poloxámero 401 ("Pluronic™ L121"). La emulsión se puede formular en solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4. Esta emulsión es un vehículo de distribución útil para muramil – dipéptidos, y se ha utilizado con treonil – MDP en el adyuvante "SAF – 1" [40] (0,05 – 1 % de Thr – MDP, escualano al 5 %, Pluronic L 121 al 2,5 % y polisorbato 80 al 0,2 %). También se puede utilizar sin el Thr – MDP, como en el adyuvante "AF": [41] (escualano al 5 %, Pluronic L 121 al 1,25 % y polisorbato 80 al 0,2 %). Se prefiere la microfluidización.
- Una emulsión que comprende escualeno, disolvente acuoso, surfactante no iónico hidrófilo de polioxietileno – alquil – éter (por ejemplo, polioxietileno éter cetoestálico (12) y surfactante no iónico hidrófobo (por ejemplo, éster de sorbitán o éster de manida, tal como monoleato de sorbitán o "Span 80"). La emulsión es preferentemente termorreversible y / o tiene al menos un 90 % de las gotas de aceite (en volumen) con un tamaño inferior a 200 nm [42]. La emulsión también puede incluir uno o más de: alditol; un agente crioprotector (por ejemplo, un azúcar, tal como dodecilmaltosida y / o sacarosa); y / o un alquilpoliglicósido. Estas emulsiones se pueden liofilizar.

- Una emulsión de escualeno, poloxámero 105 y Abil - Care [43]. La concentración final (en peso) de estos componentes en vacunas adyuvadas es escualeno al 5 %, poloxámero 105 (poliol plurónico) al 4 % y Abil - Care 85 al 2 % (Bis - PEG / PPG - 16 / 16 PEG / PPG - 16 / 16 dimeticona; triglicérido caprílico / cáprico).

5 • Una emulsión que tiene un 0,5 – 50 % de un aceite, 0,1 – 10 % de un fosfolípido, y 0,05 – 5 % de un surfactante no iónico. Como se describe en la referencia 44, los componentes preferentes de fosfolípidos son fosfatidicolina, fosfatidiletanolina, fosfatidilsérina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, esfingomielina y cardiolipina. Los tamaños submicrónicos de gota son ventajosos.

10 • Una emulsión de aceite en agua submicrónica de un aceite no metabolizable (tal como aceite mineral ligero) y al menos un surfactante (tal como lecitina, Tween 80 o Span 80). Se pueden incluir aditivos, tales como saponina QuilA, colesterol, un conjugado de saponina – lipófilo (tal como GPI – 0100, descrito en la referencia 45, producido por la adición de amina alifática en desacilsaponina mediante el grupo carboxilo de ácido glucurónico), bromuro de dimetidiocetadecilamonio y / o N, N – dioctadecil – N, N – bis (2 – hidroxietil) propanodiamina.

15 • Una emulsión en la que están asociados saponina (por ejemplo, QuilA o QS21) y un esterol (por ejemplo, un colesterol) como micelas helicoidales [46].

20 • Una emulsión que comprende aceite mineral, alcohol grado etoxilado lipófilo no iónico, y surfactante hidrófilo no iónico (por ejemplo, un alcohol graso etoxilado y / o copolímero en bloque polioxietileno – polioxipropileno) [47].

25 • Una emulsión que comprende aceite mineral, alcohol grado etoxilado hidrófilo no iónico, y surfactante lipófilo no iónico (por ejemplo un alcohol graso etoxilado y / o copolímero en bloque polioxietileno – polioxipropileno) [47].

[0102] En algunas realizaciones, se puede mezclar una emulsión con antígeno de forma extemporánea, en el momento de la distribución, y de ese modo, el adyuvante y el antígeno se pueden mantener de forma separada en una vacuna envasada o distribuida, lista para la formulación final en el momento del uso. En otras realizaciones, una emulsión se mezcla con antígeno durante la elaboración, y de esta manera, la composición se envasa en una forma líquida con adyuvante. El antígeno estará en general en forma acuosa, de manera que la vacuna se prepara finalmente al mezclar dos líquidos. La relación en volumen de los dos líquidos para la mezcla puede variar (por ejemplo, entre 5:1 y 1:5) pero en general es de 1:1. Cuando se dan concentraciones de componentes en las descripciones anteriores de emulsiones específicas, estas concentraciones son normalmente para una composición no diluida, y la concentración después de la mezcla con una solución de antígeno disminuirá de esta manera.

[0103] Cuando una composición incluye un tocoferol, se puede utilizar cualquiera de los α, β, γ, δ ε o ξ tocoferoles, pero se prefieren los α – tocoferoles. El tocoferol puede adoptar varias formas, por ejemplo, diferentes sales y / o isómeros. Las sales incluyen sales orgánicas, tales como succinato, acetato, nicotinato, etc. Se pueden utilizar tanto D – α - tocoferol como DL – α - tocoferol. Los tocoferoles se incluyen de manera ventajosa en vacunas para su uso en pacientes de edad avanzada (por ejemplo, con 60 años o más) debido a que se ha mostrado que la vitamina E tiene un efecto positivo en la respuesta inmune en este grupo de pacientes [48]. También tienen propiedades antioxidantes que pueden ayudar a estabilizar las emulsiones [49]. Un α - tocoferol preferente es DL – α - tocoferol, y la sal preferente de este tocoferol es el succinato. Se ha descubierto que la sal de succinato coopera con los ligandos relacionados con el TNF *in vivo*.

C. Formulaciones de saponina [capítulo 22 de la referencia 30]

50 **[0104]** También se pueden utilizar formulaciones de saponina como adyuvantes en la invención. Las saponinas son un grupo heterogéneo de esterol – glicósidos y glicósidos triterpenoides que se encuentran en la corteza, hojas, tallos, raíces e incluso en flores de una amplia variedad de especies vegetales. La saponina de la corteza del árbol de *Quillaia saponaria Molina* se ha estudiado ampliamente como adyuvante. La saponina también se puede obtener de forma comercial en *Smilax ornata* (sarsaparilla), *Gypsophilla paniculata* (velo de novia), y *Saponaria officinalis* (raíz jabón). Las formulaciones con adyuvante de saponina incluyen formulaciones purificadas, tales como QS21, así como formulaciones de lípidos, tales como ISCOM. El QS21 se comercializa como Stimulon™.

60 **[0105]** Las composiciones de saponina se han purificado utilizando HPLC y RP – HPLC. Se han identificado fracciones purificadas específicas utilizando estas técnicas, que incluyen QS7, QS17, QS18, QH – A, QH – B y QH – C. Preferentemente, la saponina es QS21. Un método de producción de QS21 se describe en la referencia 50. Las formulaciones de saponina también pueden comprender un esterol, tal como colesterol [51].

65 **[0106]** Las combinaciones de saponinas y colesteroles se pueden utilizar para formar partículas únicas llamadas complejos inmunoestimulantes (ISCOMs) [capítulo 23 de la referencia 30]. Los ISCOMs incluyen también normalmente un fosfolípido, tal como fosfatidiletanolina o fosfatidicolina. Se puede utilizar cualquier saponina

conocida en los ISCOMs. Preferentemente, el ISCOM incluye uno o más QuILA, QHA y QHC. Los ISCOMs se describen adicionalmente en las referencias 51 – 53. Opcionalmente, los ISCOMs pueden estar desprovistos de detergente adicional [54].

- 5 [0107] En las referencias 55 y 56 se puede encontrar una revisión de desarrollo de adyuvantes basados en saponina.

D. Virosomas y partículas tipo virus

- 10 [0108] También se pueden utilizar virosomas y partículas tipo virus (VLPs) como adyuvantes en la invención. Estas estructuras contienen en general una o más proteínas de un virus opcionalmente combinado o formulado con un fosfolípido. En general, no son patógenos, no son replicantes y en general, no contienen genoma viral nativo. Las proteínas virales pueden ser producidas en forma recombinante o se aislan a partir de virus enteros. Estas proteínas virales adecuadas para el uso en los virosomas o VLPs incluyen proteínas derivadas del virus de la gripe (tal como HA o NA), virus de la hepatitis B (como proteínas del núcleo o de la cápside), virus de la hepatitis E, virus del sarampión, virus de Sindbis, rotavirus, virus de la enfermedad de pies y boca, retrovirus, virus de Norwalk, virus del papiloma humano, VIH, ARN – fagos, Q β – fago (tal como proteínas de la cubierta), GA – fago, fr – fago, fago AP205, y Ty (tal como la proteína p1 del retrotransposón Ty). Los VLPs se discuten adicionalmente en las referencias 57 – 62. Los virosomas se discuten adicionalmente, por ejemplo, en la referencia 63.

- 20 [0109] Los adyuvantes adecuados para el uso en la invención incluyen derivados bacterianos o microbianos tales como derivados no tóxicos de lipopolisacárido enterobacteriano (LPS), derivados del lípido A, oligonucleótidos inmunoestimuladores, toxinas ADP – ribosilantes y derivados detoxificados de los mismos.

- 30 [0110] Los derivados no tóxicos de LPS incluyen monofosforil – lípido A (MPL) y MPL 3 – O – desacilado (3dMPL). El 3dMPL es una mezcla de monofosforil – lípido A 3 – des – O – acilado con 4, 5 o 6 cadenas aciladas. Una forma preferente de “partícula pequeña” del monofosforil – lípido A 3 – des – O – acilado se describe en la referencia 64. Estas “partículas pequeñas” de 3dMPL son suficientemente pequeñas para ser filtradas de forma estéril a través de una membrana de 0,22 μm [64]. Otros derivados de LPS no tóxicos incluyen imitadores de monofosforil – lípido A, tales como derivados de aminoalquil glucosaminida fosfato, por ejemplo RC – 529 [65, 66].

- 35 [0111] Los derivados de lípido A incluyen derivados de lípido A de *Escherichia coli*, tales como OM – 174. El OM – 174 se describe por ejemplo en las referencias 67 y 68.

- 40 [0112] Los oligonucleótidos inmunoestimulantes adecuados para el uso como adyuvantes en la invención incluyen secuencias de nucleótidos que contienen un motivo CpG (una secuencia de dinucleótidos que contiene una citosina no metilada unida por un enlace de fosfato a una guanosina). Los ARN bicatenarios y los oligonucleótidos que contienen secuencias palindrómicas o poli (dG) también han mostrado que son inmunoestimulantes.

- 45 [0113] Los CpGs pueden incluir modificaciones de nucleótidos / análogos, tales como modificaciones de fosforotioato y pueden ser bicatenarios o monocatenarios. Las referencias 69, 70 y 71 describen posibles sustituciones análogas por ejemplo, reemplazo de guanosina con 2' - desoxi – 7 – desazaguanosina. El efecto adyuvante de los oligonucleótidos CpG se describe adicionalmente en las referencias 72 – 77.

- 50 [0114] La secuencia CpG se puede dirigir a TLR9, tal como el motivo GTCGTT o TTCGTT [78]. La secuencia CpG puede ser específica para inducir una respuesta inmune Th1, tal como un CpG – A ODN, o puede ser más específica para inducir una respuesta de células B, tal como CpG – B ODN. CpG – A y CpG – B ODN se describen en las referencias 79 – 81. Preferentemente, el CpG es un CpG – A ODN.

- 55 [0115] Preferentemente, el oligonucleótido está construido de modo que el extremo 5' es accesible para el reconocimiento del receptor. Opcionalmente, se pueden unir dos secuencias de oligonucleótidos CpG en sus extremos 3' para formar “inmunómeros”. Véanse, por ejemplo, las referencias 78 y 82 – 84.

- 60 [0116] Un adyuvante útil de CpG es CpG7909, también conocido como ProMune™ (Coley Pharmaceutical Group, Inc.). Otro es CpG1826. Como alternativa, o además, al utilizar una secuencia CpG, se pueden utilizar secuencias TpG [85], y estos oligonucleótidos pueden estar libres de motivos CpG no metilados. El oligonucleótido inmunoestimulador puede ser rico en pirimidina. Por ejemplo, puede comprender más de un nucleótido consecutivo de timidina (por ejemplo, TTTT, como se describe en la referencia 85), y / o puede tener una composición de nucleótidos con > 25 % de timidina (por ejemplo > 35 %, > 40 %, > 50 %, > 60 %, > 80 %, etc). Por ejemplo, puede comprender más de un nucleótido consecutivo de citosina (por ejemplo, CCCC, como se describe en la referencia 85), y / o puede tener una composición de nucleótidos con > 25 % de citosina (por ejemplo > 35 %, > 40 %, > 50 %, > 60 %, > 80 %, etc). Estos oligonucleótidos pueden estar libres de motivos CpG no metilados. Normalmente, los oligonucleótidos inmunoestimulantes comprenderán, al menos, 20 nucleótidos. Pueden comprender menos de 100 nucleótidos.

- 5 [0117] Un adyuvante particularmente útil basado en oligonucleótidos inmunoestimulantes se conoce como IC – 31™ [86]. De este modo, un adyuvante utilizado con la invención puede comprender una mezcla de (i) un oligonucleótido (por ejemplo, entre 15 – 40 nucleótidos) que incluye al menos un (y preferentemente múltiples) motivo Cpl (es decir, una citocina unida a una inosina para formar un dinucleótido), y (ii) un polímero policatiónico, tal como un oligopeptido (por ejemplo, entre 5 – 20 aminoácidos) que incluye al menos una (y preferentemente múltiples) secuencia(s) tripeptídica(s) de Lys – Arg – Lys. El oligonucleótido puede ser un desoxinucleótido que comprende la secuencia 26 – mer 5' - (IC)₁₃-3' (SEC ID Nº 110). El polímero policatiónico puede ser un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos 11 – mer KLKLLLLLKLK (SEC ID Nº 111).
- 10 [0118] Se pueden utilizar toxinas bacterianas ADP – ribosilantes y derivados detoxificados de las mismas como adyuvantes en la invención. Preferentemente, la proteína se deriva de *E. coli* (enterotoxina "LT" térmicamente lável de *E. coli*), cólera ("CT"), o pertussis ("PT"). El uso de toxinas ADP – ribosilantes detoxificadas como adyuvantes mucosos se describe en la referencia 87 y como adyuvantes parenterales en la referencia 88. La toxina o toxoide está preferentemente en forma de holotoxina, que comprende tanto subunidades A como B. Preferentemente, la subunidad A contiene una mutación detoxificante; preferentemente, la subunidad B no está mutada. Preferentemente, el adyuvante es un mutante LT detoxificado, tal como LT – K63, LT – R72, y LT – G192. El uso de toxinas ADP – ribosilantes y derivados detoxificados de las mismas, particularmente LT – K63 y LT – R72, como adyuvantes se puede encontrar en las referencias 89 – 96. Un mutante CT útil es CT – E29H [97]. La referencia numérica para las sustituciones de aminoácidos se basa preferentemente en los alineamientos de las subunidades A y B de las toxinas ADP – ribosilantes descritas en la referencia 98.

F. Inmunomoduladores humanos

- 25 [0119] Los inmunomoduladores humanos adecuados para el uso como adyuvantes en la invención incluyen citocinas, tales como interleucinas (por ejemplo IL – 1, IL – 2, IL – 4, IL – 5, IL – 6, IL – 7, IL – 12 [99], etc) [100], interferones (por ejemplo, interferón – y, factor estimulante de colonias de macrófagos, y factor de necrosis tumoral. Un inmunomodulador preferente es IL – 12).

G. Bioadhesivos y mucoadhesivos

- 30 [0120] Se pueden utilizar también bioadhesivos y mucoadhesivos como adyuvantes en la invención. Los bioadhesivos adecuados incluyen microesferas esterificadas de ácido hialurónico [101] o mucoadhesivos, tales como derivados reticulados de poli (ácido acrílico), alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polisacáridos y carboximetilcelulosa. Se pueden utilizar también quitosano y derivados del mismo como adyuvantes en la invención [102].

H. Micropartículas

- 40 [0121] Se pueden utilizar también micropartículas como adyuvantes en la invención. Las micropartículas (es decir, una partícula con un diámetro de ~ 100 nm a ~ 150 µm, más preferentemente de un diámetro de ~ 200 nm a ~ 30 µm, y más preferentemente un diámetro de ~ 500 nm a ~ 10 µm) formadas de materiales biodegradables y no tóxicos (por ejemplo, un poli (α – hidroxi – ácido), un ácido polihidroxibutírico, un polioptoéster, un polianhídrido, una policaprolactona, etc), con poli (lactido – co – glicólido) son preferentes, opcionalmente tratadas para tener una superficie cargada negativamente (por ejemplo, con SDS) o una superficie cargada positivamente (por ejemplo, con un detergente catiónico, tal como CTAB).

I. Liposomas (capítulos 13 y 14 de la referencia 30)

- 50 [0122] Los ejemplos de las formulaciones de liposoma adecuadas para el uso como adyuvantes se describen en las referencias 103 – 105.

J. Formulaciones de éter de polioxietileno y éster de polioxietileno

- 55 [0123] Los adyuvantes adecuados para el uso en la invención incluyen éteres de polioxietileno y ésteres de polioxietileno [106]. Estas formulaciones incluyen además surfactantes de éster de polioxietileno – sorbitán en combinación con un octoxinol [107] así como surfactantes de éster o éter de alquilo de polioxietileno en combinación con, al menos, un surfactante no iónico adicional, tal como octoxinol [108]. Los éteres de polioxietileno preferentes se seleccionan del siguiente grupo: éter de polioxietileno – 9 – lauril (laureth 9), éter de polioxietileno – 9 – esteorilo, éter de polioxietileno – 8 – esteorilo, éter de polioxietileno – 4 – laurilo, éter de polioxietileno – 35 – laurilo, y éter de polioxietileno – 23 – laurilo.

K. Fosfacenos

- 65 [0124] Se puede utilizar un fosfaceno, tal como poli [di(carboxilatofenoxi) fosfaceno] ("PCPP") como se describe, por ejemplo, en las referencias 109 – 110.

L. Péptidos de muramilo

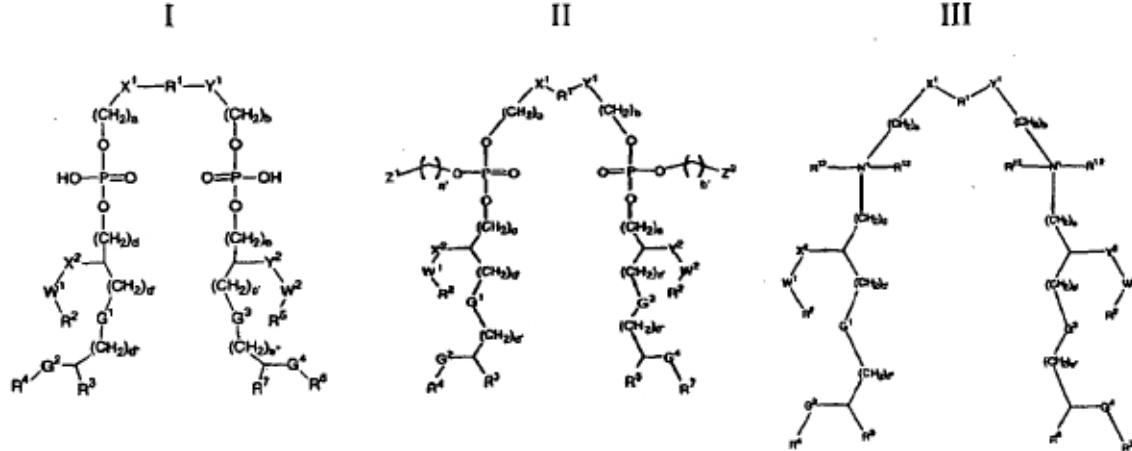
[0125] Los ejemplos de péptidos de muramilo adecuados para el uso como adyuvantes de la invención incluyen N – acetil – muramil – L – treonil – D – isoglutamina (Thr – MDP), N – acetil – normuramil – L – alanil – D – isoglutamina (nor – MDP), y N – acetilmuramil – L – alanil – D – isoglutaminil – L – alanina – 2 – (1' - 2' – dipalmitoil – sn – glicero – 3 – hidroxifosforiloxi) – etilamina MTP – PE).

M. Compuestos de imidazoquinolina

[0126] Los ejemplos de compuestos de imidazoquinolona adecuados para el uso como adyuvantes de la invención incluyen Imiquinod (“R – 837”) [111, 112], Resiquimod (“R – 848”) [113], y sus análogos; y sales de los mismos (por ejemplo, las sales de clorhidrato). Los detalles adicionales sobre las imidazoquinolinas inmunoestimulantes se pueden encontrar en las referencias 114 a 118.

N. Ureas sustituidas

[0127] Las ureas sustituidas útiles como adyuvantes incluyen compuestos de la fórmula I, II o III, o sales de los mismos:



como se define en la referencia 119, tal como “ER 803058”, “ER 803732”, “ER 804053”, “ER 804058”, “ER 804059”, “ER 804442”, “ER 804680”, “ER 804764”, “ER 803022” o “ER 804057” por ejemplo:

45

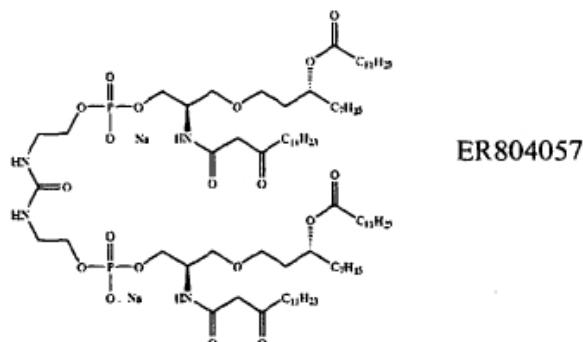
50

55

60

65

5



10

15

20

25

30

35

40

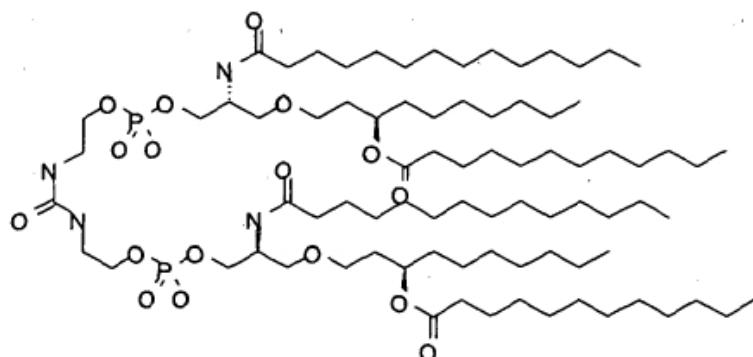
45

50

55

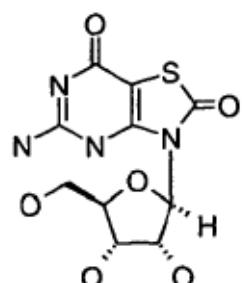
60

65

O. Adyuvantes adicionales

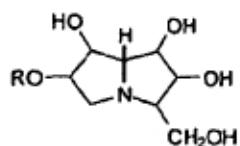
[0128] Los adyuvantes adicionales que se pueden utilizar con la invención incluyen:

- Un derivado de fosfato de aminoalquil glucosaminida, tal como RC – 529 [120, 121].
- Un compuesto de tiosemicarbazona, tal como los descritos en la referencia 122. Los métodos para formular, elaborar y cribar compuestos activos también se describen en la referencia 122. Las tiosemicarbazonas son particularmente eficaces en la estimulación de células mononucleares de sangre periférica humana para la producción de citocinas, tales como TNF – α .
- Un compuesto de triptantrina, tal como los descritos en la referencia 123. Los métodos para formular, elaborar y cribar compuestos activos también se describen en la referencia 123. Las tiosemicarbazonas son particularmente eficaces en la estimulación de células mononucleares de sangre periférica humana para la producción de citocinas, tales como TNF – α .
- Un análogo de nucleósido, tal como: (a) Isotorabina (ANA – 245; 7 – tia – 8 – oxoguanosina):



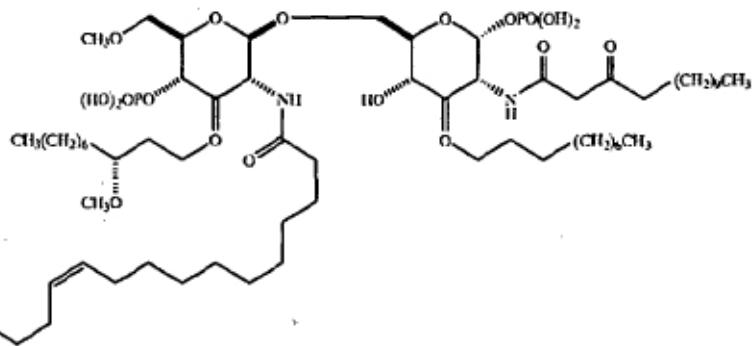
y profármacos de los mismos; (b) ANA975; (c) ANA – 025 – 1; (d) ANA380; (e) los compuestos descritos en las referencias 124 a 126, Loxoribina (7 – alil – 8 – oxoguanosina) [127].

- Compuestos descritos en la referencia 128, que incluyen: compuestos de acilpiperazina, compuestos de indoldiona, compuestos de tetrahidraisoquinolina (THIQ), compuestos de benzociclodiona, compuestos de aminoazavinilo, compuestos de aminobenzimidazol quinolinona (ABIQ) [129, 130], compuestos de hidraftalamida, compuestos de benzofenona, compuestos de isoxazol, compuestos de esterol, compuestos de quinazilinona, compuestos de pirrol [131], compuestos de antraquinona, compuestos de quinoxalina, compuestos de triazina, compuestos de pirazalopirimidina, y compuestos de benzazol [132].
 - Compuestos que contienen lípidos unidos a un segmento acíclico que contiene fosfato, tal como el antagonista de TLR4 E5564 [133, 134]:
 - Un polímero de polioxidonio [135, 136] u otro derivado de polietileno – piperazina N – oxidado.
 - Metil 5' - inosina - monofosfato ("MIMP") [137].
 - Un compuesto polihidroxilado de pirrolizina [138], con la fórmula:



donde R se selecciona del grupo formado por hidrógeno, grupos acilo, alquilo, (por ejemplo cicloalquilo), alquenilo, alquinilo y arilo, lineales o ramificados, sustituidos o no sustituidos, saturados o no saturados, o una sal farmacéuticamente aceptable o derivados de los mismos. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: casuarina, casuarina - 6 - α - D - glucopiranosa, 3 - *epi* - casuarina, 7 - *epi* - casuarina, 3, 7 - diepi - casuarina, etc.

- Un ligando CD1d, tal como α – glucosilceramida [139, 146] (por ejemplo, α – galactosilceramida), α – glucosilceramidas que contienen fitoescerosina, OCH, KRN7000 [(2S, 3S, 4R) – 1 – O – (α – D – galactopiranosil) – 2 – (N – hexacosanoilamino) – 1, 3, 4 – octadecanotriol], CRONY – 101, 3” – O – sulfo – galactosilceramida, etc.
 - Una gamma – inulina [147] o derivado de la misma, tal como algammulinina.



Combinaciones de adyuvantes

[0129] La invención también puede comprender combinaciones de aspectos de uno o más adyuvantes identificados anteriormente. Por ejemplo, se pueden utilizar las siguientes composiciones de adyuvantes en la invención: (1) una saponina y una emulsión de aceite en agua [148]; (2) una saponina (por ejemplo QS21) + un derivado de LPS no tóxico (por ejemplo, 3dMPL) [149]; (3) una saponina (por ejemplo, QS21) + un derivado de LPS no tóxico (por ejemplo, 3dMPL) + un colesterol; (4) una saponina (por ejemplo, QS21) + 3dMPL + IL - 12 (opcionalmente + un esterol) [150]; (5) combinaciones de 3dMPL con, por ejemplo, QS21 y / o emulsiones de aceite en agua [151]; (6) SAF, que contiene escualano al 10 %, Tween 80™ al 0,4 %, polímero en bloque plurónico L121 al 5 %, y thr - MDP, ya sea microfluidizado en una emulsión submicrónica o agitado en vórtice para generar una emulsión con tamaño de partícula mayor; (7) sistema adyuvante Ribi™ (RAS), (Ribi Immunochem) que contiene escualeno al 2 %, Tween 80 al 0,2 %, y uno o más componentes de pared celular bacteriana del grupo que consiste

en monofosforilípido A (MPL), dimicolato de trehalosa (TDM), y un esqueleto de pared celular (CWS), preferentemente MPL + CWS (Detox™); y (8) una o más sales minerales (tal como una sal de aluminio) + un derivado no tóxico de LPS (tal como 3dMPL).

5 [0130] Otras sustancias que actúan como agentes inmunoestimulantes se describen en el capítulo 7 de la referencia 30.

10 [0131] El uso de un adyuvante de hidróxido de aluminio y / o fosfato de aluminio es particularmente preferido, y los antígenos se adsorben en general en estas sales. El fosfato de calcio es otro adyuvante preferente. Otras combinaciones preferentes de adyuvantes incluyen combinaciones de adyuvantes de Th1 y Th2, tal como CpG y aluminio o resiquimod y aluminio. Se puede utilizar una combinación de fosfato de aluminio y 3dMPL.

15 [0132] Las composiciones de la invención pueden producir tanto una respuesta inmune mediada por células así como una respuesta inmune humoral. Esta respuesta inmune inducirá preferentemente anticuerpos de duración prolongada (por ejemplo, neutralizadores) y una inmunidad mediada por células que puede responder rápidamente a la exposición de pneumococos.

20 [0133] En general, se piensa que son necesarios dos tipos de células T, células CD4 y CD8, para iniciar y / o mejorar la inmunidad mediada por células y la inmunidad humoral. Las células T CD8 pueden expresar un co – receptor de CD8 y se refieren comúnmente como linfocitos T citotóxicos (CTL). Las células T CD8 son capaces de reconocer o interactuar con antígenos exhibidos en las moléculas MHC clase I.

25 [0134] Las células T CD4 pueden expresar un co – receptor de CD4 y se refieren comúnmente como células auxiliares T. Las células T CD4 son capaces de reconocer péptidos antigenicos unidos a moléculas MHC clase II. En la interacción con una molécula MHC clase II, las células CD4 pueden segregar factores tales como citocinas. Estas citocinas segregadas pueden activar células B, células T citotóxicas, macrófagos, y otras células que participan en una respuesta inmune. Las células T auxiliares o células CD4⁺ se pueden dividir adicionalmente en dos subconjuntos funcionalmente distintos: fenotipo TH y fenotipo TH2 que difieren en su función efectora y citocina.

30 [0135] Las células TH1 activadas mejoran la inmunidad celular (incluyendo un incremento en la producción de CTL específicas del antígeno) y por lo tanto, son de valor particular en la respuesta a infecciones intracelulares. Las células TH1 activadas pueden segregar uno o más IL – 2, IFN – y y TNF – β. Una respuesta inmune de TH1 puede dar como resultado reacciones inflamatorias locales al activar macrófagos, células NK (asesinas naturales), y células T citotóxicas CD8 (CTL). Una respuesta inmune de TH1 también puede actuar para expandir la respuesta inmune al estimular el crecimiento de células B y T con IL – 12. Las células B estimuladas con TH1 pueden segregar IgG2a.

35 [0136] Las células TH2 activadas mejoran la producción de anticuerpos y por lo tanto tienen valor en la respuesta a infecciones extracelulares. Las células TH2 activadas pueden segregar una o más IL – 4, IL – 5, IL – 6, e IL – 10. Una respuesta inmune de TH2 puede dar como resultado la producción de IgG1, IgE, IgA y células B de memoria para una protección futura.

[0137] Una respuesta inmune mejorada puede incluir una o más de una respuesta inmune de TH1 mejorada y una respuesta inmune de TH2.

45 [0138] Una respuesta inmune de TH1 puede incluir uno o más de un incremento en CTL, un incremento en una o más citocinas asociadas con una respuesta inmune con TH1 (tal como IL – 2, IFN – y, e TNF – β), un incremento en macrófagos activados, un incremento en la actividad de NK, o un incremento en la producción de IgG2a. Preferentemente, la respuesta inmune de TH1 mejorada incluirá un incremento en la producción de IgG2a.

50 [0139] Una respuesta inmune de TH1 se puede producir utilizando un adyuvante de TH1. Un adyuvante de Th1 producirá en general niveles aumentados de producción de IgG2a con respecto a la inmunización del antígeno sin el adyuvante. Los adyuvantes de TH1 adecuados para el uso en la invención pueden incluir por ejemplo formulaciones de saponina, virosomas y partículas tipo virus, derivados no tóxicos de lipopolisacárido entobacteriano (LPS), y oligonucleótidos inmunoestimulantes. Los oligonucleótidos inmunoestimulantes, tales como oligonucleótidos que contienen un motivo CpG, son adyuvantes TH1 preferidos para el uso en la invención.

55 [0140] Una respuesta inmune de TH2 puede incluir uno o más de un incremento en una o más citocinas asociadas con una respuesta inmune de TH2 (tal como IL – 4, IL – 5, IL – 6 e IL – 10), o un incremento en la producción de IgG1, IgE, IgA y células B de memoria. Preferentemente, la respuesta inmune de TH2 mejorada incluirá un incremento en la producción de IgG1.

60 [0141] Una respuesta inmune de TH2 se puede producir utilizando un adyuvante de TH2. En general, un adyuvante de TH2 producirá niveles aumentados de producción de IgG1 con respecto a la inmunización del antígeno sin adyuvante. Los adyuvantes de TH2 adecuados para el uso en la invención incluyen por ejemplo, composiciones que contienen minerales, emulsiones de aceite, toxinas ADP – ribosilantes y derivados detoxificados de las mismas.

Las composiciones que contienen minerales, tales como sales de aluminio son adyuvantes de TH2 preferidos para el uso en la invención.

- 5 [0142] Preferentemente, la invención incluye una composición que comprende una combinación de un adyuvante de TH1 y un adyuvante de TH2. Preferentemente, esta composición produce una respuesta de TH1 mejorada y de TH2 mejorada, es decir, un aumento en la producción de IgG1 y de IgG2a con respecto a la inmunización sin adyuvante. Preferentemente, la composición que comprende una combinación de un adyuvante de TH1 y de TH2 produce una respuesta inmune de TH1 incrementada y / o de TH2 incrementada con respecto a la inmunización con un único adyuvante (es decir, con respecto a la inmunización con un adyuvante de TH1 solo o inmunización con un adyuvante de TH2 solo).
- 10 [0143] La respuesta inmune puede ser una o ambas de una respuesta inmune de TH1 y una respuesta de TH2. Preferentemente, la respuesta inmune proporciona una o ambas de una respuesta de TH1 mejorada y una respuesta de TH2 mejorada.
- 15 [0144] La respuesta inmune mejorada puede ser una o ambas de una respuesta inmune sistémica y de la mucosa. Preferentemente, la respuesta inmune proporciona una o ambas de una respuesta inmune sistémica mejorada y de la mucosa mejorada. Preferentemente, la respuesta inmune de la mucosa es una respuesta inmune de TH2. Preferentemente, la respuesta inmune de la mucosa incluye un aumento en la producción de IgA.
- 20 [0145] *E. coli* puede provocar enfermedad en varias localizaciones anatómicas [4] y por tanto, las composiciones de la invención se pueden preparar en varias formas. Por ejemplo, las composiciones se pueden preparar como inyectables, como suspensiones o soluciones líquidas. Las formas sólidas adecuadas para la solución en, o suspensión en, vehículos líquidos antes de la inyección también se pueden preparar (por ejemplo, una composición liofilizada o una composición secada por pulverización). La composición se puede preparar para la administración tópica, por ejemplo, como ungüento, crema o polvo. La composición se puede preparar para la administración oral, por ejemplo, como un comprimido o cápsula, como una pulverización o como un jarabe (opcionalmente con sabor). La composición se puede preparar para la administración pulmonar por ejemplo, como un inhalador, utilizando un polvo fino o una pulverización. La composición se puede preparar como un supositorio o pesario. La composición se puede preparar para la administración nasal, auditiva u ocular, por ejemplo, como gotas. La composición puede estar en forma de kit, diseñado de tal forma que se reconstituye una composición combinada justo antes de la administración a un paciente. Estos kits pueden comprender uno o más antígenos en forma líquida o uno o más antígenos liofilizados.
- 25 [0146] Cuando se prepara de forma extemporánea una composición antes de su uso, (por ejemplo, cuando está presente un componente en forma liofilizada) y está presente como un kit, el kit puede comprender dos viales, o puede comprender una jeringa ya rellena y un vial, con el contenido de la jeringa que se utiliza para reactivar los contenidos del vial antes de la inyección.
- 30 [0147] Las composiciones inmunogénicas utilizadas como vacunas comprenden una cantidad inmunológicamente eficaz de antígenos, así como cualquier otro componente, según sea necesario. Por "cantidad inmunológicamente eficaz" se refiere a que la administración de dicha cantidad a un individuo, ya sea en una única dosis o como parte de una serie, es eficaz en el tratamiento o prevención. Esta cantidad varía dependiendo de la salud y condición física del individuo que se va a tratar, edad, grupo taxonómico del individuo que se va a tratar (por ejemplo, primate no humano, primate, etc), la capacidad del sistema inmunitario del individuo para sintetizar anticuerpos, el grado deseado de protección, la formulación de la vacuna, la valoración de la situación médica por parte del médico, y otros factores relevantes. Se espera que la cantidad se encuentre en un intervalo relativamente amplio que puede determinarse a través de ensayos rutinarios.
- 35 [0148] La invención también proporciona un método para mejorar una respuesta inmune en un mamífero que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición de la invención. La respuesta inmune es preferentemente protectora y comprende preferentemente anticuerpos y / o inmunidad mediada por células. El método puede mejorar una respuesta de refuerzo.
- 40 [0149] La invención también proporciona un polipéptido de la invención para el uso como un medicamento, por ejemplo, para el uso en la mejora de una respuesta inmune en un mamífero.
- 45 [0150] La invención también proporciona el uso de un polipéptido de la invención en la elaboración de un medicamento para mejorar una respuesta inmune en un mamífero.
- 50 **Métodos de tratamiento y administración de la vacuna**
- 55 [0151] La invención también proporciona un dispositivo de administración precargado con una composición inmunogénica de la invención.

- 5 [0152] Al mejorar una respuesta inmune en el mamífero por estos usos y métodos, el mamífero se puede proteger contra la infección de *E. coli*, incluyendo cepas ExPEC y no ExPEC. La invención es particularmente útil para proporcionar una amplia protección contra *E. coli*, patógenos, incluyendo patotipos intestinales, tales como patotipos de EPEC, EAEC, EIEC, ETEC y DAEC. De este modo, el mamífero se puede proteger contra enfermedades que incluyen, pero no se limitan a peritonitis, pielonefritis, cistitis, endocarditis, prostatitis, infecciones del tracto urinario (UTI), meningitis (particularmente meningitis neonatal), sepsis (o SIRS), deshidratación, neumonía, diarrea (infantil, de viajero, aguda, persistente, etc), disentería bacilar, síndrome urémico hemolítico (HUS), pericarditis, bacteriuria, etc.
- 10 [0153] Las SECs ID Nº: 21, 30, 35, 40, 49, 54, 59, 68 y 73 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EAEC, y por tanto para prevenir la diarrea (aguda y crónica).
- 15 [0154] Las SECs ID Nº: 22, 28, 36, 41, 47, 55, 56, 60, 66, 74 y 75 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles para la inmunización contra el patotipo UPEC, y por tanto para prevenir UTI, incluyendo, sin limitación, pielonefritis, cistitis (aguda y recurrente), peritonitis, UTI asociado al catéter, prostatitis y bacteriuria (incluyendo bacteriuria asintomática).
- 20 [0155] Las SECs ID Nº: 23, 42 y 61 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EIEC, y por tanto para prevenir disentería (en particular disentería bacilar) y HUS (por ejemplo, en niños).
- 25 [0156] Las SECs ID Nº: 24, 27, 29, 43, 46, 48, 62, 65 y 67 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo ETEC, y por tanto para prevenir la diarrea (incluyendo diarrea del viajero e infantil).
- 30 [0157] Las SECs ID Nº: 25, 26, 33, 34, 45, 53, 63, 64 y 72 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EAEC, y por tanto para prevenir la diarrea (aguda y crónica).
- 35 [0158] Las SECs ID Nº: 79, 85, 93, y 94 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo UPEC, y por tanto para prevenir UTI, incluyendo, sin limitación, pielonefritis, cistitis (aguda y recurrente), peritonitis, UTI asociado al catéter, prostatitis y bacteriuria (incluyendo bacteriuria asintomática).
- 40 [0159] La SEC ID Nº: 80 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EIEC, y por tanto para prevenir disentería (en particular disentería bacilar) y HUS (por ejemplo, en niños).
- 45 [0160] Las SECs ID Nº: 81, 84 y 86 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo ETEC, y por tanto para prevenir la diarrea (incluyendo diarrea del viajero e infantil).
- 50 [0161] Las SECs ID Nº: 82, 83 y 91 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EPEC, y por tanto para prevenir la diarrea (incluyendo diarrea infantil).
- [0162] Las SECs ID Nº: 21, 30, 35, 40, 49, 54, 59, 68 y 73 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EAEC, y por tanto para prevenir la diarrea (aguda y crónica).
- 55 [0163] Las SECs ID Nº: 22, 28, 36, 41, 47, 55, 56, 60, 66, 74 y 75 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles para la inmunización contra el patotipo UPEC, y por tanto para prevenir UTI, incluyendo, sin limitación, pielonefritis, cistitis (aguda y recurrente), peritonitis, UTI asociado al catéter, prostatitis y bacteriuria (incluyendo bacteriuria asintomática).
- 60 [0164] Las SECs ID Nº: 23, 42 y 61 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EIEC, y por tanto para prevenir disentería (en particular disentería bacilar) y HUS (por ejemplo, en niños).
- 65 [0165] Las SECs ID Nº: 24, 27, 29, 43, 46, 48, 62, 65 y 67 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo ETEC, y por tanto para prevenir la diarrea (incluyendo diarrea del viajero e infantil).
- [0166] Las SECs ID Nº: 25, 26, 33, 34, 45, 53, 63, 64 y 72 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EAEC, y por tanto para prevenir la diarrea (aguda y crónica).
- [0167] Las SECs ID Nº: 79, 85, 93, y 94 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo UPEC, y por tanto para prevenir UTI, incluyendo, sin limitación, pielonefritis, cistitis (aguda y recurrente), peritonitis, UTI asociado al catéter, prostatitis y bacteriuria (incluyendo bacteriuria asintomática).

- [0168] La SEC ID Nº: 80 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EIEC, y por tanto para prevenir disentería (en particular disentería bacilar) y HUS (por ejemplo, en niños).
- 5 [0169] Las SECs ID Nº: 81, 84 y 86 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo ETEC, y por tanto para prevenir la diarrea (incluyendo diarrea del viajero e infantil).
- 10 [0170] Las SECs ID Nº: 82, 83 y 91 y sus otras variantes detoxificadas son particularmente útiles en la inmunización contra el patotipo EPEC, y por tanto para prevenir la diarrea (incluyendo diarrea infantil).
- 15 [0171] El mamífero es preferentemente humano, pero puede ser por ejemplo una vaca, un cerdo, un pollo, un gato o un perro, ya que la enfermedad de *E. coli* también es problemática en estas especies [4]. Cuando la vacuna tenga uso profiláctico, el humano es preferentemente un niño (por ejemplo un bebé o un niño) o un adolescente; cuando la vacuna tenga uso terapéutico, el humano es preferentemente un adolescente o un adulto. Una vacuna destinada a niños también se puede administrar a adultos por ejemplo, para valorar la seguridad, dosificación, inmunogenicidad, etc.
- 20 [0172] Una forma de verificar la eficacia del tratamiento terapéutico comprende el control de la infección de *E. coli* después de la administración de las composiciones de la invención. Una forma de verificar la eficacia del tratamiento profiláctico comprende el control de las respuestas inmunes, de manera sistemática (controlando el nivel de producción de IgG1 e IgG2a) y / o por vía mucosa (controlando el nivel de producción de IgA), contra los antígenos en las composiciones de la invención después de la administración de la composición. Normalmente, las respuestas de anticuerpo en suero específicas de antígeno se determinan después de la inmunización pero pre – estimulación en tanto que las respuestas de antígeno de la mucosa específicas de antígeno se determinan después de la inmunización y después de la estimulación.
- 25 [0173] Otra forma de evaluar la inmunogenicidad de las composiciones de la presente invención es expresar las proteínas de forma recombinante para el cribado de sueros del paciente o de la secreción en las mucosas por inmunotransferencia y / o microarrays. Una reacción positiva entre la proteína y la muestra del paciente indica que el paciente ha aumentado una respuesta inmune en la proteína en cuestión. Este método también se puede utilizar para identificar antígenos inmunodominantes y / o epítopos dentro de antígenos.
- 30 [0174] La eficacia de las composiciones de vacuna también se puede determinar *in vivo* al estimular modelos de animal de infección por *E. coli*, por ejemplo, cobayas o ratones, con las composiciones de vacuna. Un modelo murino de ExPEC y sepsis letal se describe en la referencia 152. En la referencia 153 se describe un modelo de rata de algodón.
- 35 [0175] Las composiciones de la invención se administrarán, en general, de forma directa a un paciente. La administración directa se puede lograr por inyección parenteral (por ejemplo, por vía subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, o en el espacio intersticial de un tejido), o por vía mucosa, rectal, oral (por ejemplo comprimido, pulverización), vaginal, tópica, transdérmica o transcutánea, intranasal, ocular, auditiva, pulmonar u otra administración mucosa. Las nuevas formas de administración directa también pueden incluir la expresión transgénica de los polipéptidos descritos en la presente en alimentos por ejemplo, expresión transgénica en una patata.
- 40 [0176] La invención se puede utilizar para producir inmunidad sistémica y / o mucosa, preferentemente para producir una inmunidad sistémica y / o mucosa mejorada.
- 45 [0177] Preferentemente, la inmunidad sistémica y / o mucosa mejorada se refleja en una respuesta inmune de TH1 y / o TH2 mejorada. Preferentemente, la respuesta inmune mejorada incluye un aumento en la producción de IgG1 y / o IgG2a y / o IgA.
- 50 [0178] La dosis puede ser por un programa de dosis única o un programa de dosis múltiple. Se pueden utilizar dosis múltiples en un programa de inmunización primaria y / o en un programa de inmunización de refuerzo. En un programa de dosis múltiple, se pueden administrar varias dosis por la misma o diferentes vías, por ejemplo, una sensibilización parenteral y refuerzo de la mucosa, una sensibilización de la mucosa y refuerzo parenteral, etc. Las dosis múltiples se administrarán normalmente con al menos 1 semana de diferencia (por ejemplo, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 10 semanas, 12 semanas, 16 semanas, etc).
- 55 [0179] Las vacunas de la invención se pueden utilizar para tratar tanto a niños como adultos. De este modo, un paciente humano puede tener menos de 1 año, 1 – 5 años, 5 – 15 años, 15 – 55 años, o al menos, 55 años. Los pacientes preferentes para recibir las vacunas son los pacientes de edad avanzada (por ejemplo \geq 50 años, \geq 60 años, y preferentemente \geq 65 años), jóvenes (por ejemplo, \leq 5 años), pacientes hospitalizados, personal sanitario, militares y fuerzas armadas, mujeres embarazadas, pacientes inmunodeficientes o enfermos crónicos. Las vacunas no son adecuadas únicamente para estos grupos, y sin embargo, se pueden utilizar más generalmente en una población.

[0180] Las vacunas de la invención son particularmente útiles para pacientes que están esperando una operación quirúrgica, u otros pacientes hospitalizados. También son útiles en pacientes a los que se les pondrá un catéter. También son útiles en mujeres adolescentes (por ejemplo, 11 – 18 años) y en pacientes con infecciones crónicas del tracto urinario.

- 5 [0181] Las vacunas de la invención se pueden administrar a pacientes sustancialmente al mismo tiempo que (por ejemplo, durante la misma consulta médica o visita a un centro de atención sanitaria profesional o vacunación) otras vacunas por ejemplo, sustancialmente al mismo tiempo como una vacuna contra el sarampión, una vacuna contra las paperas, una vacuna contra la rubéola, una vacuna contra MMR, una vacuna contra la varicela, una vacuna contra MMRV, una vacuna contra la difteria, una vacuna contra el tétanos, una vacuna contra la tos ferina, una vacuna contra DTP, una vacuna contra la *H. influenzae* tipo b conjugada, una vacuna contra el virus de la polio inactivada, una vacuna contra el virus de la hepatitis B, una vacuna meningocócica conjugada (tal como la vacuna tetravalente A – C – W135 – Y), una vacuna contra el virus sinticial respiratorio, etc.

10 15 **Inmunización del ácido nucleico**

[0182] Las composiciones inmunogénicas descritas anteriormente incluyen antígenos de polipéptido. En todos los casos, sin embargo, los antígenos de polipéptido se pueden reemplazar por ácidos nucleicos (normalmente ADN) que codifican estos polipéptidos, para dar composiciones, métodos y usos en base a la inmunización del ácido nucleico. La inmunización del ácido nucleico es ahora un campo desarrollado (por ejemplo, véanse las referencias 154 a 161 etc.).

20 [0183] El ácido nucleico que codifica el inmunógeno se expresa *in vivo* después de la administración a un paciente y el inmunógeno expresado estimula el sistema inmunitario. El ingrediente activo adoptará normalmente la forma de un vector de ácido nucleico que comprende: (i) un promotor; (ii) una secuencia que codifica el inmunógeno unida operativamente al promotor; y opcionalmente (iii) un marcador seleccionable. Los vectores preferentes pueden comprender además (iv) un origen de replicación; y (v) un terminador de transcripción aguas abajo de y unido operativamente a (ii). En general, (i) y (v) serán eucarióticos y (iii) y (v) serán procarióticos.

25 30 [0184] Los promotores preferentes son promotores virales, por ejemplo, de citomegalovirus (CMV). El vector también puede incluir secuencias reguladoras transcripcionales (por ejemplo, potenciadores) además del promotor y que interactúan de forma funcional con el promotor. Los vectores preferentes incluyen el potenciador / promotor de CMV inmediato - temprano, y los vectores más preferentes incluyen el intrón A de CMV. El promotor está unido operativamente aguas abajo a una secuencia que codifica un inmunógeno, de manera que la expresión de la secuencia que codifica el inmunógeno está bajo el control del promotor.

35 40 [0185] Cuando se utiliza un marcador, funciona preferentemente en un huésped microbiano (por ejemplo, en una procariota, en una bacteria, en una levadura). El marcador es preferentemente un marcador seleccionable procariótico (por ejemplo, transrito bajo el control de un promotor procariótico). Por conveniencia, los marcadores típicos son genes de resistencia a antibióticos.

45 [0186] El vector de la invención es preferentemente un vector extracromosómico o episódico autónomamente replicante, tal como un plásmido.

50 55 [0187] El vector de la invención comprende preferentemente un origen de replicación. Se prefiere que el origen de replicación esté activo en procariotas pero no en eucariotas.

[0188] Los vectores preferentes incluyen de este modo un marcador procariótico para la selección del vector, un origen procariótico de replicación, pero un promotor *eucariótico* para la activación de la transcripción de la secuencia que codifica el inmunógeno. Los vectores por lo tanto se (a) amplificarán y seleccionarán en huéspedes procarióticos sin expresión del polipéptido, pero (b) se expresarán en huéspedes eucarióticos sin que se amplifiquen. Esta disposición es ideal para vectores de inmunización de ácido nucleico.

60 65 [0189] El vector de la invención puede comprender una secuencia terminadora transcripcional eucariótica aguas abajo de la secuencia codificadora. Esto puede mejorar los niveles de transcripción. Cuando la secuencia codificadora no la tiene, el vector de la invención comprende preferentemente una secuencia de poliadenilación. Una secuencia de poliadenilación preferente es una hormona del crecimiento bovina.

[0190] El vector de la invención puede comprender un sitio de clonación múltiple.

[0191] Además de las secuencias que codifican el inmunógeno y un marcador, el vector puede comprender una segunda secuencia codificadora eucariótica. El vector también puede comprender un IRES aguas arriba de dicha segunda secuencia para permitir la traducción de un segundo polipéptido eucariótico del mismo transcripto que el inmunógeno. Alternativamente, la secuencia que codifica el inmunógeno puede estar aguas abajo de un IRES.

[0192] El vector de la invención puede comprender motivos CpG no metilados, por ejemplo, secuencias de ADN no metiladas que tienen en común una citocina que precede una guanosina, flanqueada por dos purinas 5' y dos pirimidinas 3'. En su forma no metilada, estos motivos de ADN han demostrado que son potentes estimuladores de varios tipos de células inmunes.

5 [0193] Se pueden administrar vectores de manera específica. Las técnicas de administración de ADN mediadas por el receptor se describen, por ejemplo, en las referencias 162 a 167. Las composiciones terapéuticas que contienen un ácido nucleico se administran en un intervalo de 100 ng a 200 mg de ADN para la administración local en un protocolo de terapia génica. Los intervalos de concentración de 500 ng a 50 mg, de 1 µg a 2 mg, de 5 µg a 500 µg, y de 20 µg a 100 µg de ADN también se pueden utilizar durante un protocolo de terapia génica. Los factores como el método de acción (por ejemplo, mejoran o inhiben los niveles del producto génico codificado) y la eficacia de transformación y expresión son consideraciones que afectarán a la dosis requerida para la eficacia final. Cuando se desea mayor expresión en un área mayor de tejido, grandes cantidades del vector o las mismas cantidades se vuelven a administrar en un protocolo sucesivo de administraciones o varias administraciones en diferentes partes de tejidos adyacentes o próximos pueden ser necesarias para efectuar un resultado terapéutico positivo. En todos los casos, la experimentación rutinaria en ensayos clínicos determinará los intervalos específicos para el efecto terapéutico óptimo.

10 [0194] Se pueden administrar vectores utilizando vehículos de administración génica. El vehículo de administración génica puede ser de origen viral o no viral (véanse, en general, las referencias 168 a 171).

15 [0195] Los vectores basados en virus para la administración de un ácido nucleico deseado y la expresión en una célula deseada son bien conocidos en la técnica. Los vehículos de base viral ejemplares incluyen, pero no se limitan a, retrovirus recombinantes (por ejemplo, las referencias 172 a 182), vectores basados en alfavirus (por ejemplo, vectores de virus Sindbis, virus de bosque Semliki (ATCC VR – 67; ATCC VR – 1247), virus de Ross River (ATCC VR – 373; ATCC VR – 1246) y virus de la encefalitis equina venezolana (ATCC VR – 923; ATCC VR – 1250; ATCC VR 1249; ATCC VR – 532); se pueden utilizar también híbridos y quimeras de estos virus), vectores poxvirus (por ejemplo, vaccinia, viruela aviar, viruela del canario, vaccinia Ankara modificado, etc), vectores de adenovirus, y vectores de virus adeno – asociados (AAV) (véanse, por ejemplo, las referencias 183 a 188). También se puede emplear la administración de ADN unido a adenovirus aniquilado [189].

20 [0196] Los vehículos de administración no virales y métodos también se pueden emplear, incluyendo, pero no se limitan a, ADN condensado poliacidónico unido o no unido a adenovirus aniquilado solo [por ejemplo, 189], ADN unido al ligando [190], vehículos de administración de células eucarióticas [por ejemplo, las referencias 191 a 195] y la neutralización de carga nucleica o fusión con otras membranas celulares. También se puede emplear ADN desnudo. Los métodos de introducción de ADN desnudo ejemplares se describen en las referencias 196 y 197. Los liposomas (por ejemplo, inmunoliposomas) que pueden actuar como vehículos de administración génica se describen en las referencias 198 a 202. Los enfoques adicionales se describen en las referencias 203 y 204.

25 [0197] La administración no viral adicional adecuada para el uso incluye sistemas de administración mecánica, tales como el enfoque descrito en la referencia 204. Además, la secuencia codificadora y el producto de expresión de esta se pueden administrar a través de la deposición de materiales de hidrogel fotopolimerizados o el uso de radiación ionizante [por ejemplo, las referencias 205 y 206]. Otros métodos convencionales para la administración génica que se pueden utilizar en la administración de la secuencia codificadora incluyen, por ejemplo, el uso de la pistola de partículas portátil de transferencia génica [207] o el uso de la radiación ionizante para activar los genes transferidos [205 y 206].

30 [0198] El ADN de administración que utiliza micropartículas de PLG {poli (láctido – co – glicólico)} es un método particularmente preferente por ejemplo, por adsorción a las micropartículas, que se tratan opcionalmente para tener una superficie cargada negativamente, (por ejemplo, tratadas con SDS) o una superficie cargada positivamente (por ejemplo, tratadas con un detergente catiónico, tal como CTAB).

Aspectos generales

35 [0199] La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química, bioquímica, biología molecular, inmunología y farmacología, dentro de la habilidad de la técnica. Estas técnicas se explican completamente en la literatura. Véanse, por ejemplo, las referencias 208 – 215, etc.

40 [0200] El término “que comprende” abarca “que incluye” así como “que consiste” por ejemplo, una composición “que comprende” X puede consistir exclusivamente de X o puede incluir algo adicional por ejemplo, X + Y.

45 [0201] El término “aproximadamente” con respecto a un valor numérico x significa, por ejemplo, $x \pm 10\%$.

50 [0202] Se utiliza en la presente la numeración “GI”. Un número GI, o “GenInfo Identifier”, es una serie de dígitos asignados consecutivamente a cada registro de secuencia procesado por NCBI cuando las secuencias se añaden a

sus bases de datos. El número GI no tiene ninguna semejanza con el número de acceso del registro de secuencia. Cuando se actualiza una secuencia (por ejemplo, para la corrección o para añadir más anotación o información), entonces recibe un nuevo número GI. Por tanto, la secuencia asociada con un número GI dado nunca se cambia.

5 [0203] Las referencias a un porcentaje de identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos significa que, cuando se alinean, ese porcentaje de aminoácidos es igual al comparar las dos secuencias. Este alineamiento y el porcentaje de homología o identidad de secuencia se puede determinar utilizando programas de software conocidos en la técnica, por ejemplo, aquellos descritos en la sección 7.7.18 de la referencia 216. Se determina un alineamiento preferido por el algoritmo de búsqueda de homología Smith – Waterman utilizando una búsqueda de huecos afines con penalización por abertura de hueco de 12 y penalización por extensión de hueco de 2 utilizando la matriz de puntuación de afinidad, matriz BLOSUM de 62. El algoritmo de búsqueda de homología de Smith – Waterman se describe en la referencia 217.

10 [0204] Un experto en la técnica entenderá que “aislado” significa alterado “por la mano del hombre” de su estado natural, es decir, si se produce en la naturaleza, se ha cambiado o retirado de su ambiente original, o ambos. Por ejemplo, un polinucleótido o un polipéptido presente de forma natural en un organismo vivo no está “aislado” cuando está en este organismo vivo, pero el mismo polinucleótido o polipéptido separado de los materiales coexistentes de su estado natural está “aislado”, tal y como el término se utiliza en esta descripción. Además, un polinucleótido o polipéptido que se introduce en un organismo por transformación, manipulación genética o por cualquier otro método de recombinación se entenderá que está “aislado” incluso si todavía está presente en dicho organismo, el organismo puede estar vivo o no vivo, excepto cuando tal transformación, manipulación genética u otro método de recombinación produce un organismo que, de otro modo, es indistinguible del organismo que se produce de forma natural.

25 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0205]

30 La Figura 1 muestra un alineamiento CLUSTALW de las SEC ID Nº 2 a 16. Las regiones N – terminales que se pueden eliminar para incrementar la solubilidad mientras mantienen sustancialmente la misma inmunogenicidad se muestran en la parte inferior del alineamiento. La región N – terminal hasta el conector gly – ser o la región gly – ser se representa con “G” y la región rica en prolina se representa con “P”.

35 La Figura 2 muestra la entidad de aminoácidos entre pares de secuencias.

40 La Figura 3 muestra el análisis en gel de la proteína purificada con bandas de alto PM visibles en ausencia de DTT.

45 La Figura 4 muestra la membrana de Western de cepas patógenas y no patógenas de *E. coli* utilizando un suero anti – AcfD (orf3526). La imagen (A) es una membrana de Western del lisado celular total. La imagen (B) es una membrana de Western del sobrenadante del cultivo. Los carriles en cada una de las imágenes (A) y (B) de izquierda a derecha son los siguientes: Carril M – proteínas marcadoras con peso molecular en kDa de cada proteína marcadora mostrada en el lado izquierdo de la imagen (A); 1 - IHE3034; 2 - CFT073; 3 - 536; 4 - BL21; 5 - MG 1655; 6 - W3110; 7 - NISSLE1917; 8 - IHE3034ΔAcfD. Como se observa en el análisis, las cepas patógenas (IHE3034, carril 1; 536, carril 3) expresan y segregan AcfD (orf3526) mientras que las cepas no patógenas (MGL 655, carril 5; W3110, carril 6; Nissle 1917, carril 7) expresan la proteína pero su secreción es defectuosa. Las cepas CFT073 (carril 2) e IHE3034ΔAcfD (carril 8) se utilizan como control negativo, ya que no contienen el gen AcfD (orf3526). La cepa BL21 (carril 4) es una cepa de laboratorio utilizada como control positivo, ya que expresa y segregá AcfD (orf3526).

50 La Figura 5 muestra una comparación de la solubilidad de la proteína AcfD (orf3526) y varios fragmentos de la proteína. La imagen (A) es un gel gradiente de SDS – PAGE (tampón MOPS al 4 – 12 %) de muestras a 37 °C que compara el pellet (carril izquierda para cada proteína o fragmento) con el sobrenadante (carril derecha para cada proteína o fragmento). Los carriles de izquierda a derecha son: marcadores de peso molecular (se marcan las bandas 191 KDa, 97 KDa y 64 KDa), bacterias de control transformadas con el vector de expresión pET sin inserción, expresión bacteriana de 3526 (etiqueta his, péptido líder suprimido), expresión bacteriana de L3526 (etiqueta his, longitud completa), expresión bacteriana de L3526 – 2 finalizadora (longitud completa con un codón finalizador antes de la etiqueta His), expresión bacteriana de Δ3526 (etiqueta His, supresión del N – terminal AcfD (orf3526) en el conector flexible de glicina – serina), y la expresión bacteriana de ΔP3526 (etiqueta his + supresión del N – terminal de AcfD (orf3526) a través de la región rica en prolina). La imagen (B) es un gel gradiente de SDS – PAGE (tampón MOPS al 4 – 12 %) de muestras a 25 °C que siguen el mismo orden que los carriles de la imagen (A).

65 La Figura 6 muestra una comparación de la expresión y purificación de la proteína AcfD (orf3526) y varios fragmentos de la proteína. La imagen (A) es un gel de SDS – PAGE (tampón MOPS al 12 %) de muestras de bacterias que expresan 3526 (etiqueta his, péptido líder suprimido), cultivadas a 25 °C que comparan

fracciones de varias etapas de la purificación. Los carriles de izquierda a derecha son: M: marcadores de peso molecular (se marcan las bandas 191 KDa, 97 KDa y 64 KDa), TOT: lisado bacteriano total, INS: fracción insoluble de lisado bacteriano, SM: fracción soluble de lisado bacteriano, FT: flujo a través de columna de níquel; E1, E2 y E3 tres eluciones con tampón de imidazol de 500 mM. La imagen (B) muestra un gel SDS – PAGE (tampón MOPS al 12 %) de muestras de bacterias que expresan ΔG3526 (etiqueta his, supresión del N – terminal de AcfD (orf3526) en el conector flexible de glicina – serina) cultivadas a 25 °C que comparan fracciones de varias etapas de la purificación. Los carriles de izquierda a derecha son: M: marcadores de peso molecular (se marcan las bandas 191 KDa, 97 KDa y 64 KDa), TOT: lisado bacteriano total, INS: fracción insoluble de lisado bacteriano, SM: fracción soluble de lisado bacteriano, FT: flujo a través de columna de níquel; E1, E2 y E3 tres eluciones con tampón de imidazol de 500 mM. La imagen (C) es un gel SDS – PAGE (tampón MOPS al 12 %) de muestras de bacterias que expresan ΔP3526 (etiqueta his, supresión del N – terminal de AcfD (orf3526) a través de la región rica en prolina), cultivadas a 25 °C que comparan fracciones de varias etapas de la purificación. Los carriles de izquierda a derecha son: M: marcadores de peso molecular (se marcan las bandas 191 KDa, 97 KDa y 64 KDa), TOT: lisado bacteriano total, INS: fracción insoluble de lisado bacteriano, SM: fracción soluble de lisado bacteriano, FT: flujo a través de columna de níquel; E1, E2 y E3 tres eluciones con tampón de imidazol de 500 mM.

La Figura 7 muestra la entidad de aminoácidos entre pares adicionales de secuencias. Se descubrió que dieciséis *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) no tienen el gen AcfD (orf3526) (no se muestra). Las secuencias (donde se representan) de izquierda a derecha o de arriba a abajo son las siguientes: 10 cepas no patógenas o comensales (1: cepa comensal de *E. coli*, 2: cepa DH10B, 3: cepa MG1655, 4: cepa W3110 (SEC ID Nº 14); 5: cepa HS (SEC ID Nº 13); 9: otra cepa comensal de *E. coli*; y 10: otra cepa comensal de *E. coli*); tres cepas NMEC (1: cepa NMEC RS218; 2: cepa NMEC IHE3034 (SEC ID Nº 2); y 3: cepa NMEC S88 (SEC ID Nº 141)); una cepa APEC (1: cepa APEC01); seis cepas UPEC (2: cepa UPEC 536 (SEC ID Nº 4); 3: UTI89; 4: cepa UPEC F11 (SEC ID Nº 10); 5: cepa UPEC IAI39 (SEC ID Nº 133); y 6: cepa UPEC UMN026 (SEC ID Nº 137)); tres cepas EAEC (1: cepa EAEC 101 – 1 (SEC ID Nº 3); 2: cepa EAEC 042 (SEC ID Nº 12; y 3: cepa EAEC 55989 (SEC ID Nº 129)); una cepa EIEC (1: cepa EIEC 53638 (SEC ID Nº 5)); cuatro cepas EPEC (2: cepa EPEC E22 (SEC ID Nº 8)); 3: cepa EPEC E2348 / 69 (SEC ID Nº 16); y 4: cepa EPEC E110019 (SEC ID Nº 7)); tres cepas ETEC (1: cepa ETEC B7A (SEC ID Nº 6); 2: cepa ETEC E24377A (SEC ID Nº 9); y 3: cepa ETEC H10407 (SEC ID Nº 11)); y una cepa resistente a antibióticos (1: cepa resistente a antibióticos SECEC (SEC ID Nº 15)).

La Figura 8 muestra los motivos de secuencia identificados en AcfD (orf3526) incluidos de izquierda a derecha: un motivo de lipidación; una región rica en prolina, un motivo WxxxE, un motivo de unión a zinc, y un dominio RGD.

La Figura 9 muestra las relaciones familiares de varias zinc metaloproteasas. Las zinquinas se resaltan con un cuadro gris puesto que el motivo zinquina es el motivo encontrado en AcfD (orf3526) (véase la Figura 8).

La Figura 10 muestra un SDS – PAGE (gradiente al 4 – 12 %, Bis – Tris) de la expresión de orf3526C. Los carriles están marcados a través de la parte superior de la siguiente manera: (1) lisado celular total sin IPTG, 6 horas a 25 °C; (2) lisado celular total – IPTG 1 mM, 3 horas a 25 °C; (3) lisado celular total – IPTG 1 mM, 6 horas a 25 °C; (M) marcadores (se indican los tamaños en KDa en el lado izquierdo del gel); (4) fracción soluble después del tratamiento con ultrasonidos IPTG 1 mM, 3 horas a 25 °C; y (5) fracción soluble después del tratamiento con ultrasonidos IPTG 1 mM, 6 horas a 25 °C.

BREVE DESCRIPCIÓN DEL LISTADO SECUENCIAL

[0206]

50

55

60

65

SEC ID	Descripción
SECs ID Nº 1 – 19 = secuencias de aminoácidos de longitud completa	
1	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC IHE3034
2	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 101-1 (GI: 83587587)
3	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC 536 (GI: 110643204)
4	Secuencia de aminoácidos de la cepa EIEC 53638 (GI: 75515237)
5	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC B7A (GI: 75227618)
6	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E110019 (GI: 75239450)
7	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E22 (GI: 75259912)
8	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC E24377A (GI: 157156747)
9	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC F11 (GI: 75241179)
10	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC H10407
11	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 042
12	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal HS (GI: 157162442)
13	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal W3110 (GI: 89109748)
14	Secuencia de aminoácidos de la cepa resistente a antibióticos SECEC
15	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E2348/69
16	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 55989
17	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC IAI39
18	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC UMN026
19	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC S88
SECs ID Nº 20 – 38 = secuencias de aminoácidos de delección C - terminal	
20	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC IHE3034 con delección C - terminal
21	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC (GI: 83587587) con delección C – terminal
22	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC 536 (GI: 110643204) con delección C – terminal
23	Secuencia de aminoácidos de la cepa EIEC 53638 (GI: 75515237) con delección C – terminal
24	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC B7A (GI: 75227618) con delección C – terminal
25	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E110019 (GI: 75239450) con delección C – terminal
26	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E22 (GI: 75259912) con delección C – terminal
27	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC E24377A (GI: 157156747) con delección C – terminal
28	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC F11 (GI: 75241179) con delección C – terminal
29	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC H10407 con delección C – terminal
30	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC O42 con delección C – terminal
31	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal HS (GI: 157162442) con delección C – terminal
32	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal W3110 (GI: 89109748) con delección C – terminal
33	Secuencia de aminoácidos de la cepa resistente a antibióticos SECEC con delección C – terminal
34	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E2348/69 con delección C – terminal
35	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 55989 con delección C – terminal
36	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC IAI39 con delección C – terminal
37	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC UMN026 con delección C – terminal
38	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC S88 con delección C - terminal
SECs ID Nº 39 – 57 = secuencias de aminoácidos de delección N - terminal	
39	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC IHE3034 con delección N - terminal
40	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 101-1 (GI: 83587587) con delección N - terminal
41	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC 536 (GI: 110643204) con delección N – terminal
42	Secuencia de aminoácidos de la cepa EIEC 53638 (GI: 75515237) con delección N – terminal
43	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC B7A (GI: 75227618) con delección N – terminal
44	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E110019 (GI: 75239450) con delección N – terminal
45	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E22 (GI: 75259912) con delección N – terminal
46	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC E24377A (GI: 157156747) con delección N - terminal
47	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC F11 (GI: 75241179) con delección N – terminal
48	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC H10407 con delección N – terminal
49	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC O42 con delección N – terminal
50	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal HS (GI: 157162442) con delección N – terminal
51	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal W3110 (GI: 89109748) con delección N – terminal
52	Secuencia de aminoácidos de la cepa resistente a antibióticos SECEC con delección N – terminal
53	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E2348/69 con delección N – terminal
54	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 55989 con delección N - terminal
55	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC IAI39 con delección N – terminal
56	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC UMN026 con delección N – terminal
57	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC S88 con delección N - terminal
SECs ID Nº 58 – 76 = secuencias de aminoácidos de mutación puntual E1305A	
58	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC IHE3034 con una mutación puntual E1305A

59	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 101-1 (GI: 83587587) con una mutación puntual E1305A
60	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC 536 (GI: 110643204) con una mutación puntual E1305A
61	Secuencia de aminoácidos de la cepa EIEC 53638 (GI: 75515237) con una mutación puntual E1305A
62	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC B7A (GI: 75227618) con una mutación puntual E1305A
63	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E110019 (GI: 75239450) con una mutación puntual E1305A
64	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E22 (GI: 75259912) con una mutación puntual E1305A
65	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC E24377A (GI: 157156747) con una mutación puntual E1305A
66	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC F11 (GI: 75241179) con una mutación puntual E1305A
67	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC H10407 con una mutación puntual E1305A
68	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC O42 con una mutación puntual E1305A
69	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal HS (GI: 157162442) con una mutación puntual E1305A
70	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal W3110 (GI: 89109748) con una mutación puntual E1305A
71	Secuencia de aminoácidos de la cepa resistente a antibióticos SECEC con una mutación puntual E1305A
72	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E2348/69 con una mutación puntual E1305A
73	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 55989 con una mutación puntual E1305A
74	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC IAI39 con una mutación puntual E1305A
75	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC UMN026 con una mutación puntual E1305A
76	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC S88 con una mutación puntual E1305A
SECs ID Nº 77– 95 = secuencias de aminoácidos del fragmento orf3526C	
77	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC IHE3034 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
78	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 101-1 (GI: 83587587) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
79	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC 536 (GI: 110643204) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
80	Secuencia de aminoácidos de la cepa EIEC 53638 (GI: 75515237) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
81	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC B7A (GI: 75227618) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
82	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E110019 (GI: 75239450) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
83	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E22 (GI: 75259912) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
84	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC E24377A (GI: 157156747) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
85	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC F11 (GI: 75241179) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
86	Secuencia de aminoácidos de la cepa ETEC H10407 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
87	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC O42 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
88	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal HS (GI: 157162442) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
89	Secuencia de aminoácidos de la cepa comensal W3110 (GI: 89109748) con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
90	Secuencia de aminoácidos de la cepa resistente a antibióticos SECEC con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
91	Secuencia de aminoácidos de la cepa EPEC E2348/69 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
92	Secuencia de aminoácidos de la cepa EAEC 55989 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
93	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC IAI39 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
94	Secuencia de aminoácidos de la cepa UPEC UMN026 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
95	Secuencia de aminoácidos de la cepa NMEC S88 con región ΔG N – terminal y la parte C – terminal que incluye el motivo de unión a zinc suprimido
96 / 97	Motivos de unión a zinc

98 – 109	Cebadores
110 - 111	Secuencias IC31

MODOS PARA LLEVAR A CABO LA INVENCIÓN

5 [0207] Uno de los antígenos descritos en la referencia 5 se anota como accesorio del precursor del factor de colonización D (AcfD) (orf3526) (SEC ID Nº 2 de aminoácidos de la presente) de la cepa NMEC IHE3034. Esta proteína se ha expresado y purificado, y confiere protección contra cepas ExPEC en un modelo de sepsis animal.

10 [0208] Se obtuvieron secuencias para los ortólogos en otras cepas de *E. coli*. Las secuencias de aminoácidos observadas en IHE3034 también se vieron en las cepas APEC01 y UTI89, pero se encontraron 14 secuencias extra (SECs ID Nº 3 a 16). La Figura 1 muestra un alineamiento de SECs ID Nº 2 a 16.

[0209] Se conservaron al 100 % 30 aminoácidos N – terminales, y estos incluyen el péptido señal (aa 1 – 23) y la cisteína N – terminal de la lipoproteína nativa.

15 [0210] Algunas cepas tienen una mutación del marco de lectura en el gen AcfD (orf3526), que da como resultado la no expresión del polipéptido. El gen *acfD* estuvo totalmente ausente en las cepas CFT073, EDL933, Sakai y B171.

20 [0211] La Figura 2 muestra el % de identidad entre las secuencias de aminoácidos. Las etiquetas son SECs ID Nº, excepto para MG1655, RS218, DH10B, APEC01 y UTI89 donde se utiliza el nombre de la cepa. El nivel más bajo de identidad (marcado en cuadro en la Figura 2) fue del 85,9 %, entre las SECs ID Nº 2 y 4 (ambas cepas ExPEC).

Ejemplo 1. Inmunogenicidad de AcfD (orf3526) de longitud completa

25 [0212] La secuencia AcfD (orf3526) de la cepa IHE3034 se clonó y se expresó en un plásmido como una proteína etiquetada con His recombinante sin un péptido líder en un huésped de *E. coli*. La proteína se purificó y analizó. La filtración en gel mostró un peso molecular mucho mayor que el predicho basándose solo en la secuencia de aminoácidos. El análisis en gel en ausencia de DTT, pero no en su presencia, muestra formas de mayor peso molecular de la proteína (Figura 3). Por tanto, es probable que la proteína forme oligómeros.

30 [0213] Se utilizaron sueros formulados contra AcfD (orf3526) en transferencias Western contra lisados celulares totales (Figura 4A) o sobrenadantes de cultivo precipitados con TCA al 60 % (Figura 4(B)). Los sueros reconocieron una proteína de ~ 150 KDa en los lisados de cepas tanto patógenas como comensales. No reaccionan con esta banda en lisados de CFT073 o de un mutante *knockout* de IHE3034. La reactividad con estas proteínas en los sobrenadantes indica que la proteína se puede segregar.

35 [0214] Se inmunizaron subcutáneamente ratones CD1 (5 semanas de edad) utilizando 20 µg del antígeno más el adyuvante de Freund (u otro adyuvante como se indica a continuación). Los ratones se inocularon en 0, 21 y 35 días. Catorce días después de la tercera inoculación, los ratones se estimularon con una dosis letal (LD80) de una cepa patógena de *E. coli*. La sangre se recogió de la cola 24 horas después de la estimulación para evaluar la bacteremia. La mortalidad se controló durante cuatro días después del estímulo. La proporción de protección se puede calcular como (% muertes en grupo de control (sin inmunización - % muertes en grupo experimental (inmunizados)) / % muertes en grupo de control x 100.

TABLA 1

Candidatos	Modelo de sepsis animal		
	Supervivencia con vacunación (%)	Supervivencia sin vacunación (%)	Valor P
20 µg 3526 / aluminio	64 / 78 (82)	9 / 80 (11)	0,0001

45 [0215] De este modo, el preciso AcfD (orf3526) es un candidato eficaz para el uso como vacuna o componente de vacuna.

50 [0216] Para demostrar adicionalmente la utilidad del precursor AcfD (orf3526) como candidato para una vacuna o un componente de vacuna, el precursor AcfD (orf3526) se probó por su capacidad para proporcionar protección cruzada contra otras cepas patógenas de *E. coli* utilizando el modelo de sepsis animal como se indica anteriormente. Los resultados de estas pruebas se indican en la Tabla 2 a continuación (con los resultados de la Tabla 1 incluidos para fines de comparación).

55

TABLA 2

20 µg 3526 / aluminio, cepa de estímulo (porcentaje de identidad en IHE3024)	Modelo de sepsis animal		
	Supervivencia con vacunación (%)	Supervivencia sin vacunación (%)	Valor P
IHE3024 (100)	64 / 78 (82)	9/80 (11)	0,0001
9855 / 93 (87)	9/16 (56)	4/15 (26)	0,14
BK658 (98)	4/8 (50)	1/8 (12,5)	0,28
B616 (100C)	6/8 (78)	0/8 (0)	0,007
536 (86)	6/7 (85)	3/8 (37,5)	0,11

5 [0217] Por tanto, el precursor AcfD (orf3526) es un candidato eficaz para el uso como vacuna o componente de vacuna no solo contra la cepa de la que se derivó la proteína, sino también contra proteínas relacionadas, aumentando de este modo la utilidad. En base a la similitud entre la respuesta al precursor AcfD (orf3526) y la respuesta a los tres fragmentos inmunógenos probados a continuación (3526A, 3526B, y 3526C), se esperaría que estos tres fragmentos proporcionen también protección cruzada similar.

10 *Ejemplo 2. Fragmentos de AcfD (orf3526) con solubilidad aumentada*

15 [0218] De forma inesperada, la proteína AcfD (orf3526) mostró baja solubilidad a pesar de que la proteína es una proteína segregada. Como se muestra en la Figura 5(B), la supresión del N – terminal de AcfD (orf3526) a través del conector gly – ser o región gly – ser incrementó de manera significativa la solubilidad cuando se expresó a 25 °C (véase, pK1 – ΔG3526, Figura 5B)). De manera similar, la supresión del N – terminal de AcfD (orf3526) a través de la región rica en prolina aumentó de manera significativa la solubilidad cuando se expresó a 25 °C (véase pK1 – ΔP3526, Figura 5(B)).

20 [0219] Para confirmar que los dos fragmentos tienen sustancialmente la misma inmunogenicidad que la AcfD (orf3526) de longitud completa, se purificaron los fragmentos. Los fragmentos purificados se utilizaron en tres experimentos de inmunización en ratones, con adyuvante completo de Freund. A continuación, los ratones inmunizados se estimularon con una dosis subletal de *E. coli*. La inmunización con AcfD (orf3526) con el N – terminal a través del conector gly – ser o región gly – ser suprimida protegió de la muerte al 100 % de los ratones, ya que la muerte ocurrió en el 90 % de los animales en el grupo de control sin inmunizar. La inmunización con AcfD (orf3526) con el N – terminal hasta la región rica en prolina suprimida protegió de la muerte al 90 % de los ratones, ya que la muerte ocurrió en el 90 % de los animales en el grupo de control sin inmunizar.

Expresión y purificación

30 [0220] Las bacterias con uno de los tres constructos que expresan variantes etiquetadas con his de AcfD (orf3526) se cultivaron en 30 ml de medio y se indujeron para expresar la variante de AcfD (orf3526) a 25 °C AcfD (orf3526) sin el péptido líder (3526), AcfD (orf3526) con el N – terminal suprimido a través del conector gly – ser o región gly – ser (ΔG3526), y AcfD (orf3526) con el N – terminal suprimido a través de la región rica en prolina (ΔP3526). Las bacterias se recogieron y se lisaron por tratamiento con ultrasonidos. Las fracciones solubles se aislaron y se cargaron en una columna IMAC. La columna se lavó tres veces con 20 mM de tampón imidazol. Las variantes AcfD (orf3526) se eluyeron con tres lavados de 500 mM de tampón imidazol. Como se muestra en la Figura 6, la supresión del N – terminal de AcfD (orf3526) a través del conector gly – ser o región gly – ser aumentó de manera significativa la solubilidad y el rendimiento de la proteína purificada. El rendimiento obtenido se estimó por el ensayo de Bradford de la siguiente manera: 0,18 mg de 3526 y 2,4 mg de ΔG3526.

40 *Ejemplo 3. Mutantes de AcfD (orf3526) con toxicidad reducida*

45 [0221] Se identificó un motivo de unión a zinc en la proteína AcfD (orf3526) (véase la Figura 8). El motivo de zinc – metaloproteasa de zinquiña también se encuentra en StcE (proteasa segregada del inhibidor de la esterasa C1 de EHEC) que es una proteína segregada por EHEC que está implicada en la patogénesis de dicha *E. coli*.



50 [0222] Dado que este motivo está conservado en todas las variantes de AcfD (orf3526) y EHEC fue el único patotipo en el cual no se identificó AcfD (orf3526), se supuso que AcfD (orf3526) de manera similar en una zinc – metaloproteasa implicada en la patogenia de los patotipos de *E. coli* en los que se expresa y se segregá. Por tanto, se busca la inactivación de la toxicidad de AcfD (orf3526). Un experto en la técnica no tendrá dificultad en modificar AcfD (orf3526) para inactivar la metaloproteasa. Puesto que el residuo Glu del motivo es conocido por ser el más importante en la actividad catalítica mientras que los dos residuos His coordinan el Zinc, el Glu se mutó a Ala como una mutación ejemplar que inactiva la actividad de la metaloproteasa – SECs ID Nº 58 – 76 (Véase, por ejemplo,

Microbiology and Molecular Biology Reviews, septiembre de 1998, págs 597 – 635, vol 62, Nº 3). Además, se diseñaron dos variantes adicionales detoxificadas: una con el C – terminal suprimido – SECs ID Nº 20 – 38, y una con el N – terminal suprimido – SECs ID Nº 39 – 57.

5 Prueba de toxicidad in vitro de AcfD (orf3526) de longitud completa

[0223] Se probaron dos líneas celulares diferentes por su capacidad para valorar la toxicidad de la proteína AcfD (orf3526): células endoteliales de médula ósea humana (HEMEC) y células de ovario de hámster chino (células CHO). Para HEMEC, el efecto de aumentar las dosis de la proteína AcfD (orf3526) (0,1 µg / ml, 1 µg / ml, y 10 µg / ml) se comparó a TNF – α (como control positivo). Las células tratadas con TNF – α mostraron un promedio de muerte celular de ~ 22,5 % (promedio de tres experimentos) ya que la dosis más alta de la proteína AcfD (orf3526) mostró solo un promedio de muerte celular de ~ 5 % (promedio de tres experimentos) en comparación con el control negativo que mostró solo un promedio de muerte celular de ~ 2,5 % (promedio de tres experimentos). Para células CHO, el efecto de aumentar las dosis de proteína de AcfD (orf3526) (0,1 µg / ml, 1 µg / ml, y 10 µg / ml) se comparó a TNF – α (como control positivo) al medir el cambio en la diferencia potencial con el paso del tiempo debido a la alteración del citoesqueleto de las células CHO. En el nivel más alto de la prueba de la proteína AcfD (orf3526), se detectó una disminución significativa después de 46 horas, pero la disminución en la respuesta en TNF – α fue notablemente mayor.

10 [0224] Por lo tanto, puesto que no se ha identificado una prueba preferente para la toxicidad con una señal fuerte, los fragmentos identificados a continuación aún tienen utilidad significativa. Como se analizó anteriormente, estos tres fragmentos deben proporcionar un grado similar de protección cruzada al igual que la versión de longitud completa probada anteriormente. Adicionalmente, el comensal de *E. coli* es una cepa preferente para la expresión de la proteína AcfD (orf3526). Sin embargo, como se indica en la Figura 4, el comensal de *E. coli* expresa una versión de la proteína AcfD (orf3526), pero no segregá la proteína. De esta modo, la expresión de un fragmento de una proteína AcfD (orf3526) tiene la ventaja de permitir la separación del fragmento de la proteína AcfD (orf3526) endógena en base a la diferencia y tamaño sin necesidad de una etiqueta de purificación por afinidad.

15 Clonación y expresión 3526A y 3526B

20 [0225] Se obtuvieron mutantes utilizando el sistema de mutagénesis dirigida al sitio de GeneTailor (Invitrogen). Los genes se clonaron en los vectores pET – 21b (Novagen) y se transformaron en células químicamente competentes DH5α – T1 para la propagación (Invitrogen). Se utilizaron para la expresión células químicamente competentes BL21 (DE3). Todos los candidatos se clonaron y se expresaron sin la secuencia de señal y como proteínas de fusión de etiqueta his, siendo purificadas por cromatografía de afinidad.

25 **Cebadores utilizados para la amplificación de fragmentos (columna final es SEC ID Nº):**

30 [0226]

3526A	3526F	GGAATTCCATATGTGTGATGGTGGTGGTTCA	Ndel	98
	3526AR	CCGCTCGAGGTTGTTCACCAACCGATT	Xhol	99
3526B	3526BF	GGAATTCCATATGGATCCGCAAGGGTATCC	Ndel	100
	3526R	CCGCTCGAGCTGGCAGACATCTTATG	Xhol	101

35 **Cebadores utilizados para la mutación:**

40 [0227]

Muestra	Nombre oligo	Secuencia de nucleótidos (5' - 3')	
3526E1305A	3526GTF1	ACGACTGGCTGATTGGCACGCAGTCGGTCATA	102
	3526GTR1	GTGCCAAATCAGCCAGTCGTTCAGCGCGT	103

45 Inmunogenicidad – 3526 y 3526B

50 [0228] Para confirmar que los dos fragmentos y la mutación puntual tienen sustancialmente la misma inmunogenicidad que la AcfD (orf3526) de longitud completa, se purificaron dos fragmentos. Los fragmentos purificados se utilizaron en tres experimentos de inmunización en ratones, con adyuvante completo de Freund. Los ratones inmunitados se estimularon con una dosis letal de *E. coli*. Los resultados de la estimulación se muestran en la Tabla 3 a continuación.

55 TABLA 3

Candidatos	Modelo de sepsis animal				
	Supervivencia vacunación (%)	con	Supervivencia vacunación (%)	sin	Valor P
3526A (AcfD – delección C – terminal)	7/8 (87,5)		1/8 (12,5)		0,01
3526B (AcfD – delección N – terminal)	6/8 (75)		1/8 (12,5)		0,04

Clonación y expresión – ΔG3526C

5 [0229] Como confirmación adicional, se diseñó un constructo que combinó la delección N – terminal de ΔG3526 que mejoró la solubilidad con la delección del C – terminal a través del motivo de zinc (ΔG3526C). Los constructos exemplares se proporcionan como SECs ID Nº 77 a 95.

10 [0230] Un vector de expresión no etiquetado con his para el constructo ΔG3526C (cepa *E. coli* IHE3034 – SEC ID Nº 77) se obtuvo por PCR utilizando cebadores indicados a continuación (ΔG3526A / C_For y ΔG3526C_NatRev). El fragmento purificado por PCR se digirió con NdeI y Xhol, se ligó en un vector pET – 24b (+) (Novagen) y se transformó en células clínicamente competentes DH5α – T1 para la propagación (Invitrogen). Para la expresión se utilizaron células químicamente competentes BL21 (DE3).

15 [0231] Un vector de expresión etiquetado con his para el constructo ΔG3526C (cepa *E. coli* IHE3034 – SEC ID Nº 77) se obtuvo utilizando extensión de cebador incompleta de polimerasa (PIPE) utilizando cebadores indicados a continuación (ΔG3526A / C_For y ΔG3526C_Nat para I – PCR y p – pet1 y pet3 para V – PCR del vector pET – 21b (Novagen)). El vector de expresión se transformó en células clínicamente competentes DH5α – T1 para la propagación (Invitrogen). Para la expresión se utilizaron células químicamente competentes BL21 (DE3).

20 [0232] La versión etiquetada con his de ΔG3526C se expresó (véase, por ejemplo, la Figura 10) sin la secuencia de señal y se purificó por cromatografía de afinidad en base a la etiqueta de his.

Cebadores utilizados para la amplificación del fragmento no marcado con his (SECs ID Nº 104 y 105)

25 [0233]

ΔG3526C	ΔG3526A / C_For (NdeI) ΔG3526C_NatRev (Xhol)	gaaggagatatacatatqGATACGCCGCTGTAGATTCTGG gtggtgtgctcqaaTTACCAAATGCCAGTCGTTCAAGC
---------	-------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------

Cebadores utilizados para la amplificación del fragmento marcado con his (I – PCR): SECs ID Nº 106 y 107

30 [0234]

ΔG3526C	ΔG3526A / C_For (NdeI) ΔG3526C_NatRev (Xhol)	gaaggagatatacatatqGATACGCCGCTGTAGATTCTGG gtggtgtgctcqaaCCAAATGCCAGTCGTTCAAGC
---------	-------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------

Cebadores utilizados para la amplificación del vector de expresión (V – PCR): SECs ID Nº 108 y 109

35 [0235]

pET-21b	p-pet1	catatgatatctcccttctaaagTTAACAAAATTATTTCTAG
	p-pet3	CTCGAGCACCACCAC

Inmunogenicidad - ΔG3526C

40 [0236] Para confirmar que el fragmento adicional tiene sustancialmente la misma inmunogenicidad que la AcfD (orf3536) de longitud completa, se purificó el fragmento. El fragmento purificado se probó de la siguiente manera. Se inmunizaron dos grupos de 8 ratones CD1 (4 semanas de edad) por vía subcutánea con tres dosis del antígeno ΔG3526C (2 µg o 20 µg), formuladas en aluminio en los días 0, 31 y 35. 14 días de la última inmunización, se infectaron ratones (11 semanas de edad) por vía intraperitoneal con la cepa patógena de *E. coli* IHE3034. Se recogió sangre de la cola después de 24 horas para evaluar la bacteremia. Se controló la mortalidad durante 4 días después de la infección. La protección se calculó como el % de supervivencia en el día 4 y se llevó a cabo el análisis estadístico por el test exacto de Fisher. Los resultados de la estimulación se muestran en la Tabla 4.

TABLA 4

Candidato: ΔG3526C	Modelo de sepsis animal				Valor P
	Supervivencia vacunación (%)	con	Supervivencia vacunación (%)	sin	
2 µg / aluminio	13/16 (81)		0/7 (0)		0,0005
20 µg / aluminio	15/16 (93)		0/7 (0)		0,0001

5 Inmunogenicidad cruzada de cepas - ΔG3526C

[0237] Para confirmar adicionalmente la utilidad del fragmento adicional proporcionando protección contra múltiples cepas, el fragmento purificado se probó adicionalmente de la siguiente manera. Se inmunizaron ratones CD1 (4 semanas de edad) por vía subcutánea con tres dosis del antígeno ΔG3526C (10 µg o 20 µg), formuladas en aluminio en los días 0, 31 y 35. 14 días de la última inmunización, se infectaron ratones (11 semanas de edad) por vía intraperitoneal con la cepa patógena de *E. coli* IHE3034 como se indica en la Tabla 5. Se recogió sangre de la cola después de 24 horas para evaluar la bacteremia. Se controló la mortalidad durante 4 días después de la infección. La protección se calculó como el % de supervivencia en el día 4 y se llevó a cabo el análisis estadístico por el test exacto de Fisher. Los resultados de la estimulación se muestran a continuación en la Tabla 5.

15

TABLA 5

Cepa de estímulo (dosis infecciosa)	ΔG3526C candidato con aluminio	
	20 µg / aluminio	10 µg / aluminio
IHE3034 (1 x 10 ⁷ CFU)	Supervivencia: 15/16 (93%) PE: 93%	Supervivencia: 6/8 (75%) PE: 75%
536 (1 x 10 ⁷ CFU i.v.)	Supervivencia: 5/8 (62,5%) PE: 50%	Supervivencia: 6/8 (75%) PE: 66%
9855/93 (1 x 10 ⁷ CFU)		Supervivencia: 23/47 (49%) PE: 39%
B616 (2.5 x 10 ⁷ CFU)	Supervivencia: 6/8 (75%) PE: 66%	Supervivencia: 22/24 (91%) PE: 87%
UR41/S (2.5 x 10 ⁷ CFU)		Supervivencia: 4/8 (50%) PE: 50%
UR40/R (5 x 10 ⁶ CFU)	Supervivencia: 5/8 (62,5%) PE: 62.5%	%
IN22/R (1 x 10 ⁷ CFU)	Supervivencia: 7/8 (87,5%) PE: 80%	

20 **REFERENCIAS** (los contenidos se incorporan en la presente en su totalidad)

[0238]

- [1] Kaper et al. (2004) Nat Rev Microbiol. 2(2): 123 - 40.
 25 [2] Anjum et al. (2007) Appl Environ Microbiol 73 : 5692 - 7.
 [3] Russo & Johnson (2000) J Infect Dis 181: 1753 - 1754.
 [4] Smith et al. (2007) Foodborne Pathogens And Disease 4: 134 - 63.
 [5] WO2006 / 089264.
 [6] WO2006 / 091517.
 30 [7] Needleman y Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48, 443 - 453.
 [8] Rice et al. (2000) Trends Genet 16: 276 - 277.
 [9] Geysen et al. (1984) PNAS USA 81: 3998 - 4002.
 [10] Carter (1994) Methods Mol Biol 36: 207 - 23.
 35 [11] Jameson, BA et al. 1988, CABIOS 4(1): 181 - 186.
 [12] Raddrizzani & Hammer (2000) Brief Bioinform 1(2): 179 - 89.
 [13] Bublil et al. (2007) Proteins 68(1): 294 - 304.
 [14] De Lalla et al. (1999) J. Immunol. 163: 1725 - 29.
 [15] Kwok et al. (2001) Trends Immunol 22: 583 - 88.
 [16] Brusic et al. (1998) Bioinformatics 14(2): 121 - 30
 40 [17] Meister et al. (1995) Vaccine 13(6): 581 - 91.
 [18] Roberts et al. (1996) AIDS Res Hum Retroviruses 12(7): 593 - 610.
 [19] Maksyutov & Zagrebelnaya (1993) Comput Appl Biosci 9(3): 291 - 7.
 [20] Feller & de la Cruz (1991) Nature 349(6311): 720 - 1.
 [21] Hopp (1993) Peptide Research 6: 183 - 190.

- [22] Welling et al. (1985) FEBS Lett. 188: 215 - 218.
- [23] Davenport et al. (1995) Immunogenetics 42: 392 - 297.
- [24] Tsurui & Takahashi (2007) J Pharmacol Sci. 105(4): 299 - 316.
- 5 [25] Tong et al. (2007) Brief Bioinform. 8(2): 96 - 108.
- [26] Schirle et al. (2001) J Immunol Methods. 257(1-2):1 -16.
- [27] Chen et al. (2007) Amino Acids 33(3): 423 - 8.
- [28] Patente US 5.707.829
- [29] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al. eds., 1987) Supplement 30.
- 10 [30] Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).
- [31] Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols (Volume 42 of Methods in Molecular Medicine series). ISBN: 1-59259-083-7. Ed. O'Hagan.
- [32] Patente US 6355271.
- 15 [33] WO00/23105.
- [34] WO90/14837.
- [35] WO90/14837.
- [36] Podda & Del Giudice (2003) Expert Rev Vaccines 2:197-203.
- [37] Podda (2001) Vaccine 19: 2673-2680.
- 20 [38] Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).
- [39] Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols (Volume 42 of Methods in Molecular Medicine series). ISBN: 1-59259-083-7. Ed. O'Hagan.
- [40] Allison & Byars (1992) Res Immunol 143:519-25.
- 25 [41] Hariharan et al. (1995) Cancer Res 55:3486-9.
- [42] US-2007/014805.
- [43] Suli et al. (2004) Vaccine 22(25-26):3464-9.
- [44] WO95/11700.
- [45] Patente US 6.080.725.
- 30 [46] WO2005/097181.
- [47] WO2006/113373.
- [48] Han et al. (2005) Impact of Vitamin E on Immune Function and Infectious Diseases in the Aged at Nutrition, Immune functions and Health EuroConference, Paris, 9-10 June 2005.
- [49] US - 6630161.
- 35 [50] US 5.057.540.
- [51] WO96/33739.
- [52] EP-A-0109942.
- [53] WO96/11711.
- [54] WO00/07621.
- [55] Barr et al. (1998) Advanced Drug Delivery Reviews 32:247-271.
- 40 [56] Sjolanderet et al. (1998) Advanced Drug Delivery Reviews 32:321-338.
- [57] Niikura et al. (2002) Virology 293:273-280.
- [58] Lenz et al. (2001) J Immunol 166:5346-5355.
- [59] Pinto et al. (2003) J Infect Dis 188:327-338.
- [60] Gerber et al. (2001) J Virol 75:4752-4760.
- 45 [61] WO03/024480.
- [62] WO03/024481.
- [63] Gluck et al. (2002) Vaccine 20:B10-B16.
- [64] EP-A-0689454.
- [65] Johnson et al. (1999) Bioorg Med Chem Lett 9:2273-2278.
- 50 [66] Evans et al. (2003) Expert Rev Vaccines 2:219-229.
- [67] Meraldi et al. (2003) Vaccine 21:2485-2491.
- [68] Pajak et al. (2003) Vaccine 21:836-842.
- [69] Kandimalla et al. (2003) Nucleic Acids Research 31:2393-2400.
- [70] WO02/26757.
- 55 [71] WO99/62923.
- [72] Krieg (2003) Nature Medicine 9:831-835.
- [73] McCluskie et al. (2002) FEMS Immunology and Medical Microbiology 32:179-185.
- [74] WO98/40100.
- [75] Patente US 6.207.646.
- 60 [76] Patente US 6.239.116.
- [77] Patente US 6.429.199.
- [78] Kandimalla et al. (2003) Biochemical Society Transactions 31 (part 3):654-658.
- [79] Blackwell et al. (2003) J Immunol 170:4061-4068.
- [80] Krieg (2002) Trends Immunol 23:64-65.
- 65 [81] WO01/95935.
- [82] Kandimalla et al. (2003) BBRC 306:948-953.

- [83] Bhagat et al. (2003) BBRC 300:853-861.
[84] WO03/035836.
[85] WO01/22972.
5 [86] Schellack et al. (2006) Vaccine 24:5461-72.
[87] WO95/17211.
[88] WO98/42375.
[89] Beignon et al. (2002) Infect Immun 70:3012-3019.
[90] Pizza et al. (2001) Vaccine 19:2534-2541.
10 [91] Pizza et al. (2000) Int J Med Microbiol 290:455-461.
[92] Scharton-Kersten et al. (2000) Infect Immun 68:5306-5313.
[93] Ryan et al. (1999) Infect Immun 67:6270-6280.
[94] Partidos et al. (1999) Immunol Lett 67:209-216.
[95] Peppoloni et al. (2003) Expert Rev Vaccines 2:285-293.
[96] Pine et al. (2002) J Control Release 85:263-270.
15 [97] Tebbey et al. (2000) Vaccine 18:2723-34.
[98] Domenighini et al. (1995) Mol Microbiol 15:1165-1167.
[99] WO99/40936.
[100] WO99/44636.
[101] Singh et al. (2001) J Cont Release 70:267-276.
20 [102] WO99/27960.
[103] Patente US 6.090.406.
[104] Patente US 5.916.588.
[105] EP-A-0626169.
[106] WO99/52549.
25 [107] WO01/21207.
[108] WO01/21152.
[109] Andrianov et al. (1998) Biomaterials 19:109-115.
[110] Payne et al. (1998) Adv Drug Delivery Review 31:185-196.
[111] Patente US 4.680.338.
30 [112] Patente US 4.988.815.
[113] WO92/15582
[114] Stanley (2002) Clin Exp Dermatol 27:571-577.
[115] Wu et al. (2004) Antiviral Res. 64(2):79-83.
[116] Vasilakos et al. (2000) Cell Immunol. 204(1):64-74.
35 [117] Patentes US 4689338, 4929624, 5238944, 5266575, 5268376, 5346905, 5352784, 5389640, 5395937, 5482936, 5494916, 5525612, 6083505, 6440992, 6627640, 6656938, 6660735, 6660747, 6664260, 6664264, 6664265, 6667312, 6670372, 6677347, 6677348, 6677349, 6683088, 6703402, 6743920, 6800624, 6809203, 6888000 y 6924293.
[118] Jones (2003) Curr Opin Investig Drugs 4:214-218.
40 [119] WO03/011223.
[120] Johnson et al. (1999) Bioorg Med Chem Lett 9:2273-2278.
[121] Evans et al. (2003) Expert Rev Vaccines 2:219-229.
[122] WO2004/060308.
[123] WO2004/064759.
45 [124] Patente US 6.924.271.
[125] US2005/0070556.
[126] Patente US 5.658.731.
[127] Patente US 5.011.828.
[128] WO2004/87153.
50 [129] Patente US 6.605.617.
[130] WO02/18383.
[131] WO2004/018455.
[132] WO03/082272.
[133] Wong et al. (2003) J Clin Pharmacol 43(7):735-42.
55 [134] US2005/0215517.
[135] Dyakonova et al. (2004) Int Immunopharmacol 4(13):1615-23.
[136] Patente FR-2859633.
[137] Signorelli & Hadden (2003) Int Immunopharmacol 3(8):1177-86.
[138] WO2004/064715.
60 [139] De Libero et al, Nature Reviews Immunology, 2005, 5: 485-496
[140] Patente US 5.936.076.
[141] Oki et al, J. Clin. Investig., 113: 1631-1640
[142] US2005/0192248
[143] Yang et al, Angew. Chem. Int. Ed., 2004, 43: 3818-3822
65 [144] WO2005/102049
[145] Goff et al, J. Am. Chem., Soc., 2004, 126: 13602-13603

- 5 [146] WO03/105769
 [147] Cooper (1995) *Pharm Biotechnol* 6:559-80.
 [148] WO99/11241.
 [149] WO94/00153.
 [150] WO98/57659.
 [151] *Solicitudes de Patentes Europeas* 0835318, 0735898 y 0761231.
 [152] Durant et al. (2007) *Infect Immun* 75:1916-25.
 [153] WO02/081653.
 10 [154] Donnelly et al. (1997) *Annu Rev Immunol* 15:617-648.
 [155] Strugnell et al. (1997) *Immunol Cell Biol* 75(4):364-369.
 [156] Cui (2005) *Adv Genet* 54:257-89.
 [157] Robinson & Torres (1997) *Seminars in Immunol* 9:271-283.
 [158] Brunham et al. (2000) *J Infect Dis* 181 Suppl 3:S538-43.
 [159] Svanholm et al. (2000) *Scand J Immunol* 51(4):345-53.
 15 [160] *DNA Vaccination - Genetic Vaccination* (1998) eds. Koprowski et al. (ISBN 3540633928).
 [161] *Gene Vaccination : Theory and Practice* (1998) ed. Raz (ISBN 3540644288).
 [162] Findeis et al., *Trends Biotechnol.* (1993) 11:202
 [163] Chiou et al. (1994) *Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer*. ed. Wolff
 20 [164] Wu et al., *J. Biol. Chem.* (1988) 263:621
 [165] Wu et al., *J. Biol. Chem.* (1994) 269:542
 [166] Zenke et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* (1990) 87:3655
 [167] Wu et al., *J. Biol. Chem.* (1991) 266:338
 [168] Jolly, *Cancer Gene Therapy* (1994) 1:51
 25 [169] Kimura, *Human Gene Therapy* (1994) 5:845
 [170] Connelly, *Human Gene Therapy* (1995) 1:185
 [171] Kaplitt, *Nature Genetics* (1994) 6:148
 [172] WO 90/07936.
 [173] WO 94/03622.
 [174] WO 93/25698.
 30 [175] WO 93/25234.
 [176] Patente US 5,219,740.
 [177] WO 93/11230.
 [178] WO 93/10218.
 [179] Patente US 4.777.127.
 35 [180] Patente GB Nº 2.200.651.
 [181] EP-A-0345242.
 [182] WO 91/02805.
 [183] WO 94/12649.
 [184] WO 93/03769.
 40 [185] WO 93/19191.
 [186] WO 94/28938.
 [187] WO 95/11984.
 [188] WO 95/00655.
 [189] Curiel, *Hum. Gene Ther.* (1992) 3:147
 45 [190] Wu, *J. Biol. Chem.* (1989) 264:16985
 [191] Patente US 5.814.482.
 [192] WO 95/07994.
 [193] WO 96/17072.
 [194] WO 95/30763.
 50 [195] WO 97/42338.
 [196] WO 90/11092.
 [197] Patente US 5.580.859
 [198] Patente US 5.422.120
 [199] WO 95/13796.
 55 [200] WO 94/23697.
 [201] WO 91/14445.
 [202] EP-0524968.
 [203] Philip, *Mol. Cell Biol.* (1994) 14:2411
 [204] Woffendin, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1994) 91:11581
 60 [205] Patente US 5.206.152.
 [206] WO 92/11033.
 [207] Patente US 5.149.655.
 [208] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
 [209] *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
 65 [210] *Handbook of Experimental Immunology*, Vols. I-IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications)

- [211] Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [212] Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
- [213] Ausubel et al. (eds) (2002) Short protocols in molecular biology, 5th edition (Current Protocols).
- 5 [214] Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press)
- [215] PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
- [216] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987) Supplement 30
- 10 [217] Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489.

LISTADO SECUENCIAL

[0239]

SEC ID Nº 1

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGGSSSDTPSVDSGSGTLPEVKPDPTPTEPTPEPTPDPEPTPDPTPDP
EPTPEPEPEPVPTKGYLTGGSQRVTGATCNGESSDGFTFTPGNTVSCVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVS
FSLEDAQELANSENKKTNAILSNTVSDSCPADAECQLCLTFSSVVDRARFEKLYKQIDLATDNFSKLVNEEVENNA
TDKAPSTHTSTVVPVTTEGTPDNLASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEQLVDSLGNVGAGVDYTNSGRGVTDEN
20 GKFSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHRYSSTGQNNTRVPPDDVRKVFAEYPNV
INEIIINLSLSNGATLDEGDQNVVLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKL
WGVDTNYQSVSFKHFHDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNSAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPS
25 IVQPENVRTDTATFNLPFISLGQVGEKGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWGGGVNSKGECTLSDGSDDMKHFMQNVL
RYLSNDIWQPNTKSINTVGTNLENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLILNGFEYV
TQWSGDPYAVPLRADTSKPQLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLSMALNKSVVN
30 NDPQGYPDRVRQRATGIWVYERYPAADGAQPPYTIDPNTGEVTWKYQQDNKPDDPKLEVASWQEEVEGKQVTRY
AFIDEAEYTTEESLEAAKAKIFEKFPGLQECKDSTYHYEINCLERRPGTDVPVTGGMYVPRYQLNLDADTAKAMV
QAADLGTNIQRLYQHELYFRTKGSKGERLNSVDLERLYQNMWSVWLWNDTKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYAND
AYAGGTCKCSADLKSLVDNNMIFYGDGSSKAGMMNPSPYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNIKVDVEKYPGSVSAKGE
35 SVTENISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQDVTIKSSASPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTITLE
ANGEVTFKVPYGGLIYIKGDSKDDVSANFTFTGVVKAPFYKDGEWKNDLDSAPLGELESASFVYTTPKKNLEASN
FTGGVAEFAKDLDFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTTL
PTTPLNDWLIWHEVGHNAETPLNPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLDENQAWARGGAG
40 DRLLMYAQLKEWAEEFNFDIKQWYPDGEIPKFYSDRKGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAAD
TMLMCASWVAQADLSEFFKKWNPGASAYQLPGATEMSFQGGVSSSSAYSTLASLKLKPKEKGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID Nº 2

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGGSSSDTPVDSGTGSLPEVKPDPTPNEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPDP
EPTPEPEPEPVPTKGYLTGGSQRITGATCNGESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKV
45 SFLEDAQELAASDDKKSNAVSLVTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNA
ATDKAPSTHTSPVVPVTPPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSLNGVVGVNYYTSSGRGVTE
NGKFNFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVPDVVRKVFAEYPN
VINEIIINLSLSNGEALSEGDQTFERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINK
LWGVDKDYKSVTFHVFHDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAP
50 SLVEPENVRTDTATFNLPFISLGQVGEKGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVL
LYRLSDDKWTPTAKASMTVGTNLDTVYFKRGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSYGDLDQEMPLLILNGFEY
VTOVGNDPYAIPLRADTSKPQLTQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVV
NNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDPKLEVASWLEDVDGKQETRY
AFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFEKFPGLKECKDPTYHYEVNCLEYRPGBTGGMYVPRQYTQLSLNADTAKAMV
55 QAADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSSVDLERLYQNMWSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYAND
AYTGGTQCSDELKKSVDNNMIFYGEKSVNKAGMMNPSPYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNIKVDVEKYPGAVSAEG
EKVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIESSASPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTIEL
KANGEVKFTVPGGLIYIKGNNSPQNEAFTFTGVVKAPFYKDGAWKNALNSPAPLGELESDAFVYTTPKKNLEAS
NFTGGVAEFAKDLDFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTT
60 LPTTPLNDWLIWHEVGHNAETPLNPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGA
GDRLLMYAQLKEWAEEFNFDIKQWYPGDLPKFYSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVGKTKFGERNYCAESNGNAAD
DKMLMCASWVAQTDLSEFFKKWNPGASAYQLPGASEMNFEGGVSQSAYETLAALNLPKPQOQPETINQVTEHKMSAE
E

SEC ID N° 3

5 MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
 EPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGSQRITGATCNGESSDGFTFTPDKVTCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKV
 FSLEDAQELAASDDKSNAVS LVTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNA
 ATDKAPSTHTSPVVPVTPGT KPDLNASF VSANA EQFYQYQPTEII LSEGR LVDSM GNGVVGVNYYTSSGRGVGTGE
 NGKFNFSWGETISFGIDT FELGSVRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSQAGKNDEREV P D VVRK VFAEYPN
 VINEIINLSLSNGEALSEG DQT FERTNEFLEQFESQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSL TARNVNDGQI QGVINK
 10 LWGVDTNYKS VSKFH VFD STNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPI LMARNDKNYWL AFGEKRAWDKN ELAYITEAP
 SLVEPENVTRDTATFNL PFISLGQVGE GKLMVIGNPHN SILRC PNGSWE GGVDKG QCTR NSDSNDM KHF MQNV
 LRYLSDDKWT PDAK ASMTV GTNLD TVF KRHG QVTG NSAE FGFPDFAG ISVEH LSSYGD LPQEMPLL I LNGFEY
 VTQVGNDPYAIPLRADTSKP KL TQD VTD LIAYLNKGGSV LIMEN VM S NLKEE SASGF VRLL DAAGL S M ALNK SVV
 15 NNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDS KTGEVWK YQVENK PDDKPKLEVASWLEDV DGKQETRY
 AFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFEFK PGLKECKD PTYHYEVNCLEYRPGTGPV TGGM YVPOYT QLSLNADTA KAMV
 QAADL GTNIQRLYQH ELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDK DDELGF KFTF EFLNCY AND
 AYTGGTQCSDELKKS LVDNNM IYGEKSVN KAGMMNPSYPLN YM EKPLTRI MLGRS WWDLN KVDV EKYPGA VSAEG
 EKV TETISL YSNPTK WFAG NMQ STGLWAPA QKEV TIE STAS VAVT VVALADDL TGREKHEV ALNR PPKV TKYEL
 20 KANGEV KFTV PYG GLIYIKGNSP QNE SAETFTGVVKAPFYKD GAWK NALN SPAPL GELES DAFV YTTPKN LEAS
 NYKGGQE QFAEELDT FASSM NDYGRN DEDG KHRMFTYK NL TGH KHRFTNDVQI SIGDAHSGY PV MNSS FSTN STT
 LPTT PLNDW LIWHEAGH NAAETPLTV PGATEV ANN VLA LYMQDRYLGK MN RV ADDITV APEY LEES NNQ AWARG GA
 GD RLL MYAQL KEWA EK NF DITK WYPEGNLPKFYSEREGMKGWNL FQ LMRK ARGDEV GKT KFGERN YCAE SNG NAA
 DTMLC ASWVAQ TDLS AFFKKWNP GANAY QLPGASE MNFEGG VSQ SAYETLA ALN L PPKQ QG PETINK VTEY S MP
 25 E

SEC ID N° 4

30 MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDP
 EPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGSQRVTGATCNGESSDGFTFKPGEDVTCVAGNNTIATFNTQSEAARSLRAVEKV
 FSLEDAQELAGSDDKSNAVS LVTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNA
 TDKAPSTHTSPVVPVTPGT KPDLNASF VSANA EQFYQYQPTEII LSEGR LVDSM GNGVVGVNYYTSSGRGVGTGEN
 GEF SF SWGETISFGIDT FELGSVRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSSTG QNNTRV PDDVRK VFAEYPN
 35 INE IINLSLSNGATLG EGEQVVNLPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSL TTRN VNDGQI QGVINKL
 WG VDTNYKS VSKFH VFD STNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPI LMARNDKNYWL AFGEKRAWDKN ELAYITEAPS
 LVEPENVTRDTATFNL PFISLGQVGE GKLMVIGNPHN SILRC PNGSWE GGVDKG QCTR NSDSNDM KHF MQNV
 RYLSDDKWT PDAK ASMTV GTNLD TVF KRHG QVTG NSAE FGFPDFAG ISVEH LSSYGD LPQEMPLL I LNGFEYV
 TQVGNDPYAIPLRADTSKP KL TQD VTD LIAYLNKGGSV LIMEN VM S NLKEE SASGF VRLL DAAGL S M ALNK SVV
 40 NNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDS KTGEVWK YQVENK PDDKPKLEVASWLEDV DGKQETRYA
 FIDEADHKTEDSLKAAKEKIFA AF PGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGPV TGGM YVPOYT QLSLNADTA KAMVQ
 AADL GTNIQRLYQH ELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWN DTSYR YEEG KND E LGF KFTF EFLNCY ANDA
 YAGGT KCSADLKKS LVDNNM IYGDGSSKAGMMNPSYPLN YM EKPLTRI MLGRS WWDLN KVDV EKYPGA VSEEQ QN
 VTETISL YSNPTK WFAG NMQ STGLWAPA QKEV TIE STAS VAVT VVALADDL TGREKHEV ALNR PPKV TKYSLDA
 45 SGTVKF KPYG GLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKD GAWK NDLN SPAPL GELES DAFV YTTPKK NLNAS NY
 TGGLEQFANDLDT FASSM NDYGRN DEDG KHRMFTYK NL TGH KHRFTNDVQI SIGDAHSGY PV MNSS FSPN STTLP
 TTPLNDW LIWHEAGH NAAETPLTV PGATEV ANN VLA LYMQDRYLGK MN RV ADDITV APEY LEES NNQ AWARG GAD
 RLL MYAQL KEWA EK NF DITK WYPEGNLPKFYSEREGMKGWNL FQ LMRK ARGDEV SNDK FGGK NYCAE SNG NAA
 50 TLMLC ASWVAQ TDLS AFFKKWNP GANAY QLPGASE MSFEGG VSQ SAYNTLASLDLPKPEQG PETINQVTEH KMSAE

55

60

65

SEC ID Nº 5

MNKKFKYKKSLLAAIISATLLAGCDGGGSGSSSDTPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
5 EPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGSLRVTGDITCNDDESDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEK
VSFSLEDAQELAGSDNKKSNALSLVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENN
AATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIIILSEGRLVDQSGQYGVAGVNYYTNSGRVTG
ENGEFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPDDVRKVFAEYP
NVINEIINSLSLNGATLDEGEQVNVLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVIN
10 KLWGVDTNYKSVSKFHVFDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFLGEKRAWDKNELAYITEA
PSLVEPENVRTDATTNLPISLGQVGECKLMVIGNPHYNISIIRCPNGYSWNGCVNKGQCTLNSPDDMKNFMEN
VLRYLSDDKWPDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQVTGNSAAFDHFDFAGISVEHLOSSYGDLDPPQEMPLLILNGFE
YVTQVGNDPYAIPLRADTSKPQLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS
15 VNNDPQGYPNVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETR
YAFIDEADHKTEDSLKAKEKIFFAEPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGPVTGGMVVPQYTQLSLNADTAKAM
VQAADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGRKGERLSCVDLERLYQNMSVWLWNTDSYRYYEGKNDLGFKTFTEFLNCYAN
DAYAGGTKCSADLKKSIVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWDLNIKVDVEKYPGAVSEEG
20 QNVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIKSANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSL
DASGTVKFKVPGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNAS
NYTGGLEQFANDLDTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTT
LPTTPLNDWLWIWHEVGHNAAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWRGGA
GDRLLMYAQLKEWAEKNFEDIKKWPDGTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNA
25 ADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLKLKPKEQGPETINKVTEHKMS
VE

SEC ID Nº 6

30 FAFIDEADHKTPESLAAKQRILDAFPGLEVKDSDYHYEVNCLEYRPGSGPVTGGMYVPQYTQLDLGADTAKAM
LQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNETKYRYEEGKEDELGFKTFTFLNCYT
NAYVGTQCSAELKKSLIDNKMIYGEESSKAGMMNPSYPLNMEEKPLTRLMLGRSWWDLNIVDVEKYPCAVSEEGQ
35 NVTETISLYSNPTKWFGNMQSTGLWAPAQEVTIKSANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLD
ASGTVKFKVPGGLIYIKGNSSNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASN
YTGGLEQFANDLDTFASSMNDYGRDSESKGHRMFTYKNLTHKHFRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTTL
PTTPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAG
DRLLMYAQLKEWAEKNFDIKKWYPEGELPKFFSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNKTFGGKNYCAESNGNAAD
40 SLMLCASWAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGVQSAYSTLASLKLKPPEQGPETINKVTEHKMSLE
MNKKFKYKKSLLAIALSATLLAGCDGGGSGSSDTPPVDSGTGSLPEVKPDPTNPPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
EPTPEPEPEPVPTKGYLTLGSSLRVTDITCNDDESDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEK
VSFSLEDAQELAGSDNKKSNALSLVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDLSLYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENN
45 AATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSRGVTG
ENGEFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGEDEVORGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPDDVRKVFAEYP
NVINEIINSLSNGATLGEQEQQVNLPNEFIEQFKTQAKEIDTAICAKTDCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVIN
KLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNDLAYITEA
PSIVRPENVTRETATFNLPFISLQVGQDGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWNGGVNKGQCTLNSPDDMKNFMEN
50 VLRYLSNDRWLPDAKSSMTVGTNLDTVYFKKGQVLGNSAPFAFKDFTGITVKPMTSYGNLNPDEVPLLILNGFE
YVTQWGSDPYSIPLRADTSKPKLTQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSV
VNNDPQGYPDRVRQRSTPIWVYERYPAVDGKPYTIDDTKEVIWKYQZENKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTO

55

60

65

SEC ID N° 7

5 MNKKFKYKKSLLAIALSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGT GSLPEVKPDPTNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
 EPTPEPEPEPVPTKTYLTGGSLRVTGDITCNDESDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEK
 VSFSLEDAQELAGSDNKSNALSLVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDLSLYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENN
 AATDKAPSTHTSPVPVTPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIIILSEGRLVDSQGDGVGVNVYYTNSGRVTG
 ENGEFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANI DQLIHYRYSTTGQNNTTRVPDDVRKVF AEYP
 NVINEIINLSSLNGATLDEGEQVVLNPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVIN
 KLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFYGSTGNARGAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEA
 PSLVEPVNTRDATFNLPLFISLGQVGEGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNMEN
 VLRLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQVTGNSAAFDHFDFAGISVEHLSSYGDLDPQEMPLLILNGFE
 YVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS
 VNNDPQGYPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKLEVASWLEDVDGKQETR
 10 YAFIDEADHKTEDSLKAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGBTGVPTGGMYVPQYTQSLNADTAKAM
 VQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNNTSYRYEEGKNDLGFKTFTEFNLNCYAN
 DAYAGGTCKSADLKKS LVDNNM IYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEG
 QNVETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTKISNANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSL
 15 DASGTVKFKV PYGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGA WKNLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNAS
 NYTGGLEQFANDLDTFASSMNDFYGRDETSGKHRMFTYKNLTGHKH RFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTT
 20 LPTPLNDWLWHEVGHNAEATPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMN RVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGA
 GDRLLMYAQLKEWAEKNF DIKKWYPEGELPKFFSDREGMKGWNL FQLMHRKARGDDVGDKT FGGKNYCAESNGNAA
 DTLMLCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGVQSAYSTLASLKLKPPEQGPETINKVTEHKMSL
 25 E

SEC ID N° 8

30 MNKKFKYKKSLLAIALSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGT GSLPEVKPDPTNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
 EPTPEPEPEPVPTKTYLTGGSLRVTGDITCNDESDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEK
 VSFSLEDAQELAGSDNKSNALSLVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDLSLYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENN
 AATDKAPSTHTSPVPATT PGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGDGVGVNVYYTNSGRVTG
 ENGEFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANI DQLIHYRYSKAGQNNTTRVPDEVRKVF AEYP
 NVINEIINLSSLNGATLGEQEQQVVLNPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVIN
 KLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFYGSTGNARGAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEA
 PSIVRPENVTRETATFNLPLFISLGQVGDKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNMEN
 VLRLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQVTGNSAAFDHFDFAGISVEHLSSYGDLDPQEMPLLILNGFE
 YVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS
 VNNDPQGYPNRVRQRSTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWKYQDENKPDDPKLEVASWQEEVEGKVTQ
 40 FAFIDEADHKTPESLAAKQRILDAFPGLEVCKDSDYH YEVNCLEYRPGBTDVPTGGMYVPQYTQLDLSADTAKAM
 LQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLNSVDLERLYQNMSVWLNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFNLNCYTN
 NAYVGTQCSAELKKS LIDNKMIYGEESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGVNTNGE
 TVTQNIINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVIESKATVPTVVALADDLTGREKHEVSLNRPPRVTKTYDLK
 45 ANDKVTFKV PYGGLIYIKGDSKEVQSADFTFTGVVKAPFYKDGA WKNLPGHKhRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTT
 YTGGLEQFANDLDTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKhRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTT
 PTTPLNDWLWHEVGHNAEATPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMN RVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAG
 DRLLMYAQLKEWAEKNF DIKKWYPDGTPLPFYSEREGMKGWNL FQLMHRKARGDEV SNDKFGGKNYCAESNGNAA
 DTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGVQSAYNTLASLKLKPPEQGPETINKVTEHKMSV
 50 E

55

60

65

SEC ID Nº 9

5 MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPSVDSGSGTLPEVKPDPTPTEPTPEPTPDPEPTPDPTPDP
 DPEPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGSRVTGATCNGESSDGFTFTPGNTVSCVVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDK
 VSFSLEDAQELANSENKKTNASI SVTSSDSCPADAQLCLTFSSVVDRARFEKLYKQIDLATDNFSKLVNEEVENN
 AATDKAPSTHTSTVVPVTTEGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGQLVDSLGNVAGVDDYNTNSGRGVTD
 ENGKFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYP
 NVINEIINLSLSNGATLDEGDQNVLPLNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTNGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVIN
 10 KLWGVDTNYSQSVSKFHVFHDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEA
 PSIVQOPENVTRDTATFNLPIFISLGQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWGGGVNSKGECTLSGDSDDMKHFMQN
 VLRLYLSNDIWPNTKSIMTVGTNLENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLLNGFE
 YVTQWSGDPYAVPLRADTSKPKLQQDVTDLIAVLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLSMALNKS
 15 VNNDPQGYPDRVRQREKGWIWVYERYPFVDGKPPYTIDETTKEVIWKYQODNPKDDKPKLEVASWLEDVDGKQVKR
 YAFIDEAEHETNESLEAAKAKIKAFPGLEECKDPTYHYEVNCLEYRPGTVNPTVGGMYVPRYQLNLSADTAKAM
 VQAADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGRGERLSSVDLERLYQNMWSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTEFLN
 DAYTKGTLCSAELKQSLIDNKMIYGEGSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSVGE
 EVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIKNANVPVTVALADDLGREKHEVALNRPPRVTKTYSLD
 20 ASGTVFKVFPYGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESASFVYTPPKNLNASN
 YTGGLDQFAKDLTFASSMNDFYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNST
 PTTPLNDWLIWEVGHNAETPLNVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLDESNGQAWARGGAG
 DRLLMYAQLKEWAEKNFIDTKWYPDGKLPFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAAD
 25 TLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGAAEMSFEggVSSSAYSTLASLNLPKPEKGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID Nº 10

30 MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPD
 EPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGSRVTGATCNGESSDGFTFKPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVS
 FSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLVTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFFKLVNEEVENNAA
 TDKAPSTHTSPVVPVTPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNNYNTNSGRGVGEN
 GEFSFSWGEAISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNV
 35 INEIIINLSLSNGATLGEQEQQVNLPLNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKL
 WGVDTNYSQSVSKFHVFHDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPS
 IVROPENVTRETASFNLPIFISLGQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWGGVNKGQCTLNSDPDDMKNFMENVL
 RYLSNDRWLPDAKSSMTVTNLETVYFKKGQVLGNSAPFAFHKDFGTITVKPMTSYGNLNPDDEVPLLILNGFEYV
 40 TQWGSQDPSIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAVMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS
 NDQGYPDRVRQRRSTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTKEVIWKYQDENPKDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFA
 FIDEADHKTPELAAKQRIIDAFPGLEVCKDSDYHYEVNCLEYRPGTVNPTVGGMYVPOYTQLDLSADTAKAMLO
 AADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGRGERLNSVDLERLYQNMWSVWLNETKRYEEGKEDELGFKTFTEFLN
 YVGTQCSAELKKSLLIDNKMIYGEESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGVNTNGETV
 45 TQONINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVIESKSTVPTVVALADDLGREKHEVSLNRRPPRVTKTYDLKAN
 DKVTFKVPYGGLIYIKGDSKEVQSADFTFTGVVKAPFYKDGWQHDLNNSPAPLGELESASFVYTPPKNLNASNYT
 GGLEQFANDLTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKGHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPT
 TPLNDWLIWEVGHNAETPLNVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDR
 LLMYAQLKEWAEKNFIDKKWYPDGTPLEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADT
 50 LMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEggVQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINQVTEHKMSAE

55

60

65

SEC ID Nº 11

5 MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
 EPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGQRITGATCNGESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKV
 SFSLEDAQELAASDDKKSNAVSLSVTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFKKLVNEVENNA
 ATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKPDLNASFVSANAEQFYQYQOPTEIIILSEGRLVDMSGNGVVGVNYYTSSGRGVGE
 10 NGKFNFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVPDVVRKVFAYPN
 VINEIINLSLSNGEALSEGDDQTFFERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINK
 LWGVDKDYKSVTKFHFDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFILMARNDKNYWLAFAKRAWDKNELAYITEAP
 SLVEPENVRTDTATFNLPFISLGQVGEKGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNV
 LRYLSNDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQVTGNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLPQKMPLLILNGFEY
 15 VTQVGGDPYAVPLRADTSKPQLSQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVV
 NNDPQGYPDRVRQRATGIWVYERYPVVEGELPYTIDSKTGVTWKYQIDNKPDKKPKLEVASWQEEVDGKQVTQF
 AFIDEADHKTTESLDAAKKKILEFKGLECKDSTYHYEINCLEYRPGTNVPATGGMYVPRYTQLNSADTAKAMV
 QAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTFLNCYAND
 AYTGGTQCSDELKKSLVDNNMIYGEKSVNKAGMMNPYPLNYMEKPLTRIMLGRSWWDLNIKVDVEKYPGAVSEEG
 20 QEVTESISLISNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIKSNADVPTVVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYEL
 KANGEVKFTVPYGGLIYIKGNSKENNSASFTFTGVVKAPFYKNGAWKNALNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLEA
 SNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDFYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFTNST
 TLPTTPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWARGG
 25 AGDRLLMYAQLKEWAEKNF DIKKWYPDGTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGRNYCAESNGN
 TADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPKPKQGPETINKVTEYSM
 PAE

SEC ID Nº 12

30
 35
 40 MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPI PDP
 EPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGQRVTGATCNGESSDGFTFKPGEDVTCVAGNNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVS

45
 50
 55

60
 65

FSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLVTSSNCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAA
 TDKAPSTHTSPVPVTPGTPDNLASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGEN
 GEFSSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTELGEDEVGRGANIDQLIHYRSTTGQNNTRVPPDDVRKVFAEYPNV
 INEIINLSLSNGATLGEQEQQVNLNPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKL
 WGVDTNYKSFKHFHDSTNFYGTGNARGAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPS
 IVRPENVTRETATFNLPFIISLGQVGDKLMVIGNPHYSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMENVL
 RYLSNDRWLPAKSNMTVGTNLDTVYFKHGQVTGNSAAFGHPDFAGISVEHLSYGDLPQEMPLLIINGFEYV
 TQVGNDPYAIPLRADTSKPFLTQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVLLDAAGLSMALNKSVVN
 NDPOQGPDRVRQRRTPIIWVYERYPAVDGKPPYTIDTTKEVIWKYQQENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTQFA
 FIDEADHKTPELAAAKRILDAPGLEECKDSDYHYEVNCLEYRPGTGPVTTGGMYVPQYTQSLNADTAKAMVQ
 AADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANNA
 YDGGTQCSAELKQSLIDNKMIYEGSKAGMMNPSYPLNYPEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAECEE
 TETINLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSIIKSNAKVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDAS
 GTVKFKVPGYGLIYIKSDSKEEKSANFTFTGVVKAPFYKDWKWNLKSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNYK
 GGLKQFAEDLDTFASSMNDFYGRDGEKGHRMFTYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMSSFSPNSTTLPT
 TPLNDWLIWEVGHNAAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWRGGAGDR
 LLMYAQLKEWAEKNFIDIKWYPEGSLPAFYSERGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNDKFGNRNYCAESNGNAADTL
 TLMCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGSQSAYNTLASLDLPKPKQGPETINKVTEYSMPAE

SEC ID N° 13

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDP
 EPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGSRVTGATCNGESSDGFTFKPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVS
 FSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLVTSSNCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAA
 TDKAPSTHTSPVPVTPGTPDNLASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGEN
 GEFSSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTELGEDEVGRGANIDQLIHYRSTTGQNNTRVPPDDVRKVFAEYPNV
 INEIINLSLSNGATLGEQEQQVNLNPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKL
 WGVDTNYKSFKHFHDSTNFYGTGNARGAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPS
 LVEPENVTREDTATFNLPFIISLGQVGEGKLMVIGNPHYSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMENVL
 RYLSDDKWKPDAKASMTVGTNLDTVYFKRGQVTGNSAAFDHFHDFAGISVEHLSYGDLPQEMPLLIINGFEYV
 TQVGNDPYAIPLRADTSKPFLTQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVLLDAAGLSMALNKSVVN
 NDPOQGPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETRYA
 FIDEADHKTEDSLKAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGPVTTGGMYVPQYTQSLNADTAKAMVQ
 AADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNTDSYRYEEGKDELGFKTFTEFLNCYANDA
 YAGGKCSADLKSLVDNNMIYDGSSKAGMMNPSYPLNYPEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQN
 VTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVTIKSANVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDA
 SGTVFKVPGYGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKLNASNY
 TGGLEQFANDLDTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMSSFSPNSTTLPT
 TPLNDWLIWEVGHNAAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWRGGAGD
 RLMLYAQLKEWAEKNFIDIKWYPDGTPLPEFYSERGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDFGGKNYCAESNGNAAD
 TLMCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGSQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID N° 14

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVVDGTGLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPI PDP
 EPTPEPEPEPVPVPTKGTLGGSQRTGATCNGESSDGFTFKPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVS
 FSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLVTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNA
 TDKAPSTHTSPVVPVTPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRVTGEN
 GEFSSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHYRSTTGQNNTRVVPEDVRKVFAEYPNV
 INEIINLSLSNGATLGEQEQQVNLNPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKL
 WGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFYGTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAEGEKRAWDKNELAYITEAPS
 IVRPENVTRETATFNLPFISLGQVGDKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSPDDMKNFMENVL
 RYLSNDRWLPAKSNMTVGTNLDTVFKKHGQVTGNSAAFGHPDFAGISVEHLSSYGDLPQEMPLLIINGFEYV
 TQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVV
 NDHQGPDRVRQRRTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTKEVIWKYQQENKPDDKPCKELEVASWQEEVEGKQVTQFA
 FIDEADHKTPESLAAAKRILDAPGLEECKDSDYHYEVNCLEYRPGTGPVTGGMYVPQYTKLSLNADTAKAMVQ
 AADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANNA
 YDGGTQCSAELKQSLIDNKMIYEGSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGEEV
 TETINLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSIKSNAKVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDAS
 GTVKFKVPYGGLIYIKSDSKEEKSANFTFTGVVKAPFYKDGVKNDLKSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNYK
 GGLKQFAEDLDTFASSMNDFYGRDGESGKHMFTYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMSSFPNSTLPT
 TPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWRGAGDR
 LILMYAQLKEWAENFDIKQWYPEGSLPAFYSERGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNDKFGNRNYCAESNGNAADTL
 MLCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDPKPEQGPETINQVTEHKMSAE

SEC ID Nº 15

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSGPSSDTPPVVDGTGLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPDPTPDP
 EPTPEPEPEPVPVPTKGTLGGSQRTGATCNGESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKV
 FSLEDAQELAASDDKKSNAVSLVTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNA
 ATDKAPSTHTSPVVPVTPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRVTGEN
 NGEFSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHYRSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPN
 VINEIIINLSLSNGATLDEGDQNVVLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINK
 LWGVDKDYKSVTKFHVFHDSTNFYGTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAEGEKRAWDKNELAYITEAP
 SIVOPENVTRDTATFNLPFISLGQVGEGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLSGDSDDMKHFMQNV
 LRYLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLPQEMPLLIINGFEY
 VTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVV
 NTDPQGPNRVRQQREKGIWVYERYPAVDSAQPPYTIDPDTGKVTWKYQEEGKPDDKPCKELEVASWQEDVDGKQVTR
 YAFIDEAEHSTEESLEAAKAKIFEKFPGLQECKDSTHYEINCLERRPGTDPVTGGMYVPRTQLNLDADTAKAM
 VQAADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYAN
 NAYSEGQCSADLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEG
 EKVTTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVTIESTASVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYDL
 KANDKVTFKVPYGGLIYIKGNSPKNEAFTFTGVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDFSFTVYTAPELN
 NYSNYTDGVAEFAKEELDTFASSMNDFYGRDGESGNHRMFTYKALTGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMSSFSTN
 STTLPTTPLNDWLIWHEVGHNAETPLNVPGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLDESNGQAWAR
 GGAGDRLMLMYAQLKEWAENFDIKQWYPGELPKFYDRKGGMKGWNLFQLMHRKARGDDVSNDKFGGRNYCAESNG
 NAADTMLMCASWVAQADLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLAAMHLSKPEKGPETINKVTEYS
 MPAE

SEC ID Nº 16

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
 EPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGSLRTGDTICNDESSDGFTFTPGBKTCVAGNTTIATFDTQSEAARSLRAVEK
 VSFSLEDAQELAGSDNKKSNALSLVTSMNSCPANTEQVCLFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENN
 AATDKAPSTHTSPVPATTPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGDGVGVNVYYTNSGRGVTG
 ENGEFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHRYSKAGQNHTRVVDEVRKVFAEYP
 NVINEIINLSLSNGATLGEGEQVVNLNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVIN
 KIWGVDTNYKSFSKFHVFDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEA
 PSIVRPENVTRETATFNLPFISLGQVGDKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNF MEN
 VLRYLSNDRWLPDAKSSMTVGTNLDTUVFKKHGQVLGNSAPFAHKDFTGITVKPMTSYGNLNPDDEVPLLILNGFE
 YVTQWGSDPYSIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS V
 VNNDPQGYPDRVRQRSTPIWVYERYPAVDGKPPYTIIDTTKEVIWKYQQENKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQ
 FAFIDEADHKTPESLAAKQRILDAFPGLEVCKDSDYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVPQYTQLDLGADTAKAM
 LQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGLQGERLNSVDLERLYQNMSVWLNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYT N
 NAVVTQCSAELKKSIDNKMIVGEESSKAGMMNPSPYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGVNTNGE
 TVTQNIINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQEVIESKATVPVTVALADDL GREKHEVSLNRPPRVTKTYDLK
 ANDKVTFKVPYGGLIYIKGDSKEVQSADEFITFTGVVKAPFYKDQWQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNAS N
 YTGGLEQFANDLDTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTT L
 PTTPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWRGGAG DR
 DRLLMYAQLKEWAEKNFIDIKWYPDGTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAA
 DTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGVQSAYNTLASLNLPKPKQGPETINKVTEYSMPA E

SEC ID № 17

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDP
 EPEPEPEPVPTKTYLTLGGSRVTGATCNGESSDGFTFTPGEDVTCVAGNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFS
 LEDAQELAASDDKKSNAVSLVTSSNSCPANTEQVCLFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAA TD
 KAPSTHTSPVPVTPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSMGNGGVNVYYTSSGRGVGTGENK FN
 FNSWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVPDVVRKVFAEYPN VI
 EIINLSLSNGEALSEGDQTFERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICSLGGNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINKLWG VD
 VDKDYKSVTKFHVFDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSL V E
 EPENVRTDTATFNLPFISLGQVGEGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVLR Y LS
 LSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVFKRHGQVTGNSAEFGFHPDFAGISVETHSSYGDLDPQEMPLLILNGFEYVTQ VG
 GNDPYAIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNND PQ
 QGPYPRVRRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDS KTGEVWKWYQVENKPDDKPKLEVASWLEDV DGKQETRYAFI DEAD
 HKTEDSLKAAKAKIFEKFPGLKECKDPTYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVPQYTQLSINADTA KAMVQAA DL
 GTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSV DLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANDAYT GGT
 QCSDELKKSVDNNMIYGEKSVNKAGMMNPSPYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAE GEKV TET
 ISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQEVIESSASVPVTVALADDL GREKHEVALNRPKVTKTYDLKAN DK
 VTFKVPYGGLIYIKGNSPKNESEAFTFTGVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLEASNFT

5

GGVAEFAKDLTFASSMNDFYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTT LPT
 TPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWRGGAGDR LL
 LMYAQLKEWAEKNFIDIKWYPEGDLPKFYSREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGKTFGERNYCAESNGNAADKL MLC
 ASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMNFE GGVSQSAYETLAALNLPKPKQGPETINQVTEHKMSAE

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGSGTLPEVKPDPTPPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTGGSQRVTGATCNGESSDGFTFTPGBTVCAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQEELAASDNKKSNAVSLSVTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFSWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGEQVVNLNPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTSYKSVSKFHVFHDSTNFYGTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRETATFNLPFIISLGQVGKGKLMVIGNPHYNILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVLRYLSNDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLPQKMPILLIINGFEYVTOVGGDPYAVPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNDPQGYPDRVRQRRTGWIWVYERYPVVEGELPYTIDSKTGKVTWKYQIDNKPDKKPKLEVASWQEEVDGKQVTQFAFIDEADHKTTESLDAAKKILEKFKGLEEKDSTYHYEINCLEYRPGTNPVPTGGMYVPRYTQLNLSADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGRKGERLSSVDLERLYQNMWSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFTFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKKSLVDNNMIIYGEKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKIVDVEKYPGAVSAEGERVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTESSASVPVTVTVALADDLGREKHEVALNRPPKVTKYDLKANDKVTFKVPGGLIYIKGNSPKNEAEFTFTGVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHFNTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLIWHEVGHNAAETPLVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKTWWPDGNLPFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVGKTFGERNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMNFEGGVSQSAYETLAALNLPKQQGPETINQVTEHKMSAE

SEC ID N° 19

MNKKFKYKKSLLAAILSATLLAGCDGGGSSSDTPVDSGSGTLPEVKPDPTPPEPTPEPTPDPEPTPDPTPDPDEPTPEPEPEPVPTKGYLTGGSQRVTGATCNGESSDGFTFTPGBTVCVVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQEELANSENKTKNAISLVTSSDSCPADAECQLCLTFSSVVDRARFEKLYQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTTATEGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGQLVDSLGNVAGVDDYNTNSGRGVTDENGKFSFSWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNVLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTSYGDLNPEEIPLLIINGFEYVTOWGGDPYAVPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSEFVRLDAAGLSMALNKSVVNDPQGYPDRVRQRRTGWIWVYERYPAADGAQPPYTIDPNTGEVTWKYQQDNKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTRYAFIDEAEYTTESLEAAKAKIFEFKPGQLQECKDSTYHYEINCLERRPGTDVPTGGMYVPRYTQLNDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGRKGERLSSVDLERLYQNMWSVWLWNTDKYRYEEGKEDELGFTFTEFLNCYANDAYAGGTCKSADLKKSLVDNNMIIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKIVDVEKYPGVSAKGESVTENISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQDVTISSLASVPVTVTVALADDLGREKHEVALNRPPRVTKYTLANGEVTFKVPGGLIYIKGDSKDDVSANFTFTGVVKAPFYKDGEWKNLDDSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHFNTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLIWHEVGHNAAETPLVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLDESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAEEENFDIKQWYPDGELPKFYSDRKGKGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQADLSEFFKKWNPAGASAYQLPGATEMSFQGGVSSSSAYSTLASLKLKPKPEKGPETINKVTEHKMSAE

5

SEC ID N° 20

CDGGGSGSSSDTPVDSGSGTLPEVKPDPTPPEPTPEPTPDPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTGGSQRVTGATCNGESSDGFTFTPGBTVCVVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQEELANSENKTKNAISLVTSSDSCPADAECQLCLTFSSVVDRARFEKLYQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTTATEGTKPDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGQLVDSLGNVAGVDDYNTNSGRGVTDENGKFSFSWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVORGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNVLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYQSVSKFHVFHDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNSAFCILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVOPENVTRDTATFNLPFIISLGQVGEKGKLMVIGNPHYNILRCPNGYSWGGGVNSKGECTLSGDSDDMKHFMQNLVRLYLSNDIWPNTKSIMTVGTNLENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLIINGFEYVTQWGGDPYAVPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSEFVRLDAAGLSMALNKSVVNN

10

SEC ID N° 21

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRITGATCNGESSDGFFTP GDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSN A VSL

VTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKP
DLNASFVSANAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDMSGNGVGVNVY TS SGRVTGENGKFNF SWGETISFGIDT FELGS
VRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSQAGKNDEREV P D V VR KVFAEYPVN VINEIINLSLSN GEA LSEGDQTF
ERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSL TARNVNEGQIQGVINKLWGVKD YKS VTKFHVFD STNF
YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKN YWL AFGEKRAWDKN ELAYITEAPSLV EPENVTRDTATFNLPFISLG
QVGEKLMVIGNPHYN S ILRCPNGY SWEGV DKNGQCTR NSD SDM KHF M QNV LRY LSDDKWT PDAK ASMTVGTNL
DTVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLLDPQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLT
QQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRL DAAGL SMA LNKS VVNN

5

SEC ID N° 22

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRITGATCNGESSDGFFTP GDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSN A VSL
VTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKP
DLNASFVSANAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDMSGNGVGVNVY TS SGRVTGENGKFNF SWGETISFGIDT FELGS
VRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSQAGKNDEREV P D V VR KVFAEYPVN VINEIINLSLSN GEA LSEGDQTF
ERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSL TARNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYKS VSKFHVFD STNF
YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKN YWL AFGEKRAWDKN ELAYITEAPSLV EPENVTRDTATFNLPFISLG
QVGEKLMVIGNPHYN S ILRCPNGY SWEGV DKNGQCTR NSD SDM KHF M QNV LRY LSDDKWT PDAK ASMTVGTNL
DTVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLLDPQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLT
QQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRL DAAGL SMA LNKS VVNN

10

SEC ID N° 23

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRVTGATCNGESSDGF FKP GEDVTCVAGNNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSN A VSL
TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKPD
LNASFVSANAEQFYQYQPTEII LSEGRLVD SQGYGVAGNVY TS SGRVTGENGEFSFSWGETISFGIDT FELGSV
RGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSSTTGQN NTRV PDDVR KVFAEYPVN VINEIINLSLSN GATLGE GEQV NV
LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSL TTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYKS VSKFHVFD STNF
GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKN YWL AFGEKRAWDKN ELAYITEAPSLV EPENVTRDTATFNLPFISLGQ
VGEKLMVIGNPHYN S ILRCPNGY SWNGGVNKDGQCTLNSDPDMKNFMEN VLRY LSDDKWT PDAK ASMTVGTNL
TVYFKRHGQVTGNSAEFDHPDFAGISVEHLSSYGDLLDPQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLTQ
QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRL DAAGL SMA LNKS VVNN

SEC ID N° 24

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
LRVTGDT CND ESSDGF FTP GDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKKSN A L S
LVTSMNSCPANTEQVCLFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTK
PD LN ASF VSANAEQFYQYQPSEII LSEGRLVD SQGYGVAGNVY TS SGRVTGENGEFSFSWGETISFGIDT FELG
SVRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSSTTGQN NTRV PDDVR KVFAEYPVN VINEIINLSLSN GATLDEGEQV
VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSL TTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYKS VSKFHVFD STNF
FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKN YWL AFGEKRAWDKN ELAYITEAPSLV EPENVTRDTATFNLPFISL
GQVGEKLMVIGNPHYN S ILRCPNGY SWNGGVNKDGQCTLNSDPDMKNFMEN VLRY LSDDKWT PDAK ASMTVGTN
LDTVYFKRHGQVTGNSAEFDHPDFAGISVEHLSSYGDLLDPQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLT
TQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRL DAAGL SMA LNKS VVNN

15

SEC ID N° 25

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
LRTGDITCNDDESSDGFTFTP GDKVCAGNNTTIAFDTQSEARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDN KSNALS
LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTT PGTK
PDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELG
SVRGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHRYSTTGQNTRVVPDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLGEQE
VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYSKSFHVFHDSTN
FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPENVTRETATFNLPFISL
GQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNDGQCTLNSDPDDMKNFMENVLRYLSNDRWPDAKSSMTVGTN
LDTVYFKKHGQVLGNSAPFAFHKDFTGITVKPMTSYGNLPDEVPLLILNGFEYVTQWGSDPYIPLRADTSKPKL
TQQDVTDLIAYMNKGGSV LIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSMALNKS VNN

SEC ID Nº 26

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
LRTGDITCNDDESSDGFTFTP GDKVCAGNNTTIAFDTQSEARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDN KSNALS
LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTT PGTK
PDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELG
SVRGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHRYSTTGQNTRVVPDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGE
VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYSKSFHVFHDSTN

5 FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPENVTRETATFNLPFISL
GQVGEGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNDGQCTLNSDPDDMKNFMENVLRYLSDDKWPDAKSSMTVGTN
LDTVYFKRHGQVTGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLD PQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKL
TQQDVTDLIAYLNKGGSV LIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSMALNKS VNN

SEC ID Nº 27

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
LRTGDITCNDDESSDGFTFTP GDKVCAGNNTTIAFDTQSEARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDN KSNALS
LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATT PGTK
PDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGDGVGVNVYYTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELG
SVRGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHRYSKAGQNTRVVPDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLGEQE
VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYSKSFHVFHDSTN
FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPENVTRETATFNLPFISL
GQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNDGQCTLNSDPDDMKNFMENVLRYLSDDKWPDAKSSMTVGTN
LDTVYFKRHGQVTGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLD PQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKL
TQQDVTDLIAYLNKGGSV LIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSMALNKS VNN

10 **SEC ID Nº 28**

CDGGGSGSSSDTPSVDGGTLPEVKPDPTPEPTPEPTPDPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LG
GSQRVTGATCNGESSDGFTFTP GNTVSCVVGSTTIAFNTQSEARSLRAVDKVSFSLEDAQELANSENKTN
LVTSSDSCPADA EQCLCTFSSVVDRARFEKLYKQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTT EGTK
PDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGQLVDSLGNVAGV DYTNSGRGVTDENKGFSFWGETISFGIDTFELG
SVRGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHRYSTTGQNTRVVPDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQN
VVL PNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTNGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYSQSVSKHF
VFDSTN FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQPEVTRDTATFNLPFISL
GQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNSKGECTLSGDSDDMKHFMQNVL RYLSNDI WQPNTKSIMTVGTN
LENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLILNGFEYVTQWGSDPYAVPLRADTSKPKL
TQQDVTDLIAYLNKGGSV LIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLMSMALNKS VNN

SEC ID Nº 29

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRVTGATCNGESSDGF FKG DVEDTCVAGNTT IATF NTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLV
TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKPD
LNASF VSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGV TGENGEFSFSWGEAISFGIDT FELGSV
RGNKSTIALTEL GDEVRGANI DQLI HRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSN GATLGEGEQVNN
LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQI QGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFY
GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRTASFNLPFISLGQ
VGDGKLMVIGNPHYNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDMKFMENVLRLSNDRWPDAKSSMTVGTNLE
TVYFKKHGQVLGNSAPFAFKDFTGITVKPMTSYGNLPDEVPLLILNGFEYVTQWGSDPYIPLRADTSKP KLTQ
QDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNN

SEC ID N° 30

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRITGATCNGESSDGF FKG DVEDTCVAGNTT IATF DTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSL
VTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPK P
DLNASF VSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSMGNVGVGVNYYTSSGRGV TGENGEKFNSWGETISFGIDT FELGS
VRGNKSTIALTEL GDEVRGANI DQLI HRYSQAGKNDEREV PDKVFAA YPNVINEIINLSLSN GATLGEGEQDQT
ERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINKLWGVKD YKSVTKFHVFDSTNF
YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRTATFNLPFISLG
QVGEKLMVIGNPHYNSILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDM KHM QNV LRLSNDKWT PDAKASMTVGTN L
DTVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEH LSSYGDLD PQEMPLLILNGFEYVTQVGDPYAVPLRADTSKP KLS
QQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNN

5

SEC ID N° 31

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRVTGATCNGESSDGF FKG DVEDTCVAGNTT IATF NTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLV
TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKPD
LNASF VSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGV TGENGEFSFSWGETISFGIDT FELGSV
RGNKSTIALTEL GDEVRGANI DQLI HRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSN GATLGEGEQVNN
LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQI QGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFY
GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRTATFNLPFISLGQ
VGDGKLMVIGNPHYNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDMKFMENVLRLSNDRWPDAKSNMTVGTNLD
TVYFKKHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEH LSSYGDLD PQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLTQ
QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNN

SEC ID N° 32

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRVTGATCNGESSDGF FKG DVEDTCVAGNTT IATF NTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLV
TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKPD
LNASF VSANAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGV TGENGEFSFSWGETISFGIDT FELGSV
RGNKSTIALTEL GDEVRGANI DQLI HRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSN GATLGEGEQVNN
LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQI QGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFY
GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRTATFNLPFISLGQ
VGEKLMVIGNPHYNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDMKFMENVLRLSDDKWPDAKASMTVGTNLD
TVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEH LSSYGDLD PQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLTQ
QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNN

10

SEC ID N° 33

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRVTGATCNGESSDGFTEPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLV
TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKPD
LNASFVSA NAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGTGENGEFSFWGETISFGIDT FELGSV
RGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPEDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLGEQE QVN
LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLGVDNTYKSVSKFHVFHDSTNFY
GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPENVTRETATFNLPFISLGQ
VGDGKLMVIGNPHYSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLNSDPDDMKNFMENVLRLSNDRWPDAKSMTVGTNLD
TVYFKKHGQVTGNSAEGFHPDFAGISVEHLSSYGDLLPQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLTQ
QDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNN

SEC ID Nº 34

CDGGGSGPSSDT P P VDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRITGATCNGESSDGFTEPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSL
VTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKP
DLNASFVSA NAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGTGENGEFSFWGETISFGIDT FELGS
VRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNV
VLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLGVDKDYSVTKFHVFHDSTNF
YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQPVENVT RDTATFNLPFISLG
QVGEKGKLMVIGNPHYSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLSGDSDDMKHFMQNVLRLSDDKWT PDAKSMTVGTNLD
TVYFKKHGQVTGNSAEGFHPDFAGISVEHLSSYGDLLPQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLT
QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNT

5

SEC ID Nº 35

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
LRVTGDT CND ESSDGFTEPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKK SNAVSL
LVTSMNSCPANTEQVCLFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATT PGTK
PDLNASFVSA NAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDSQGDGVGVNVYTNSGRGTGENGEFSFWGETISFGIDT FELG
SVRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIHRYSKAGQNHTRVVPEDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLGEQE
VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLGVDNTYKSVSKFHVFHDSTNF
FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPENVTRETATFNLPFISLG
GQVGDGKLMVIGNPHYSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLNSDPDDMKNFMENVLRLSNDRWPDAKSMTVGTNLD
LDTVYFKKHGQVLGN SAPFAHKDFTGTVKPM TSYGNLPDEVPLLILNGFEYVTQWGSDPYSIPLRADTSKP KLT
TQQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNN

SEC ID Nº 36

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGSQR
VTGATCNGESSDGFTEPGEDVTCVAGNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSLVTS
SNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKPDLN
ASFVSA NAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDSMNGNGVGVNVYTNSGRGTGENGEFSFWGETISFGIDT FELGSVRG
NKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIHRYSQAGKNDEREV P D V VR KVFAEYPNVINEIINLSLSNGEALSEGDQT FERT
NEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINKLGVDKDYSVTKFHVFHDSTNFYGS
TGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVLVEPVENVT RDTATFNLPFISLGQVG
EGKLMVIGNPHYSILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDM KHFMQNVLRLSDDKWT PDAKSMTVGTNLD
YFKRHGQVTGNSAEGFHPDFAGISVEHLSSYGDLLPQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLTQD
VTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKS VVNN

10

SEC ID Nº 37

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
QRVTGATCNGESSDGFTEPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDNKK SNAVSLV
TSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKPD

LNASFVSANAEQFYQYQPTEIISEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGEQVNLPENEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLGVDTSYKSFSKFHVFDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVREPVNTRETATFNLPFISLGQVGKGKLMVIGNPHYNISILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVRLYLSNDKWPDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLPQKMPILLNGFEYVTQVGGDPYAVPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNN

SEC ID N° 38

CDGGGSGSSSDTPSVDGSGLPEVKPDPTPTPEPTPEPTPDPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTGGSQRVTGATCNGESSDGFFTPNTVSCVVGTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQELANSENKTKNAISLVTSSDSCPADAECQLCLTFSSVVDRARFEKLYKQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTTEGKPDLNASFVSAEAEQFYQYQPTEIISEGQLVDSLGNVGAGVDYYTNSGRGVTDENGKFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNVNLPENEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLGVDTNYQSVSKFHVFDSTNFYGSTGNARGQAVVNISNSAFAPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVTRDTATFNLPFISLGQVGEKGKLMVIGNPHYNISILRCPNGYSWGGGVNSKGECTLSGDSDMFKHFMQNVRLYLSNDIWQPNKSIIMTVGTNLENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLILNGFEYVTQWSGDPYAVPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLSMALNKSVVNN

5

SEC ID N° 39

DPQGYPDRVRQRATGIWVYERYPAADGAQPPYTIDPNTGEVTWKYQQDNKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTRYAFIDEAEYTTESLEAAKAKIFEKFPGLQECKDSTHYEINCLERRPGTDVPTGGMYVPRYTQQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTKGSKGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNDKYRYEEGKEDELGFKTTEFLNCYANDAYAGGTCASDLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGSVAKGESVTENISLYSNPTKWFAGNMOSTGLWAPAQQDVTIKSSASAVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKYTLAANGEVTFKVPYGGIYIKGDSKDDVSANFTFTGVVKAPFYKDGEWKNDLSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDTFASSMNDFYGRNDEDGKHMFTYKNLGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTTLP TTPLNDWLIWHEVGHNAETPLNPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLDENQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAEEFNDFIKQWYDLPKFYSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVGKTFGERNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQADLSEFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFQGGVSSSAYSTLASLKLKPKEKGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID N° 40

10

DPQGYPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFEKFPGLKECKDPTHYEVNCLEYRPGTGPVTGGMYVPRYTQQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRNGRGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKKSVDNNMIYGEKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGERVTETISLYSNPTKWFAGNMOSTGLWAPAQEVTISSASAVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKYELKANGEVFKFTVPYGGIYIKGNSPQNESAEFTFTGVVKAPFYKDGAWNALNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDTFASSMNDFYGRNDEDGKHMFTYKNLGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTTLP TTPLNDWLIWHEVGHNAETPLNPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAEEFNDFIKQWYDLPKFYSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVGKTFGERNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGASEMNFEGGVQSAYETLAALNLPKPEQGQPETINKVTEHKMSAE

SEC ID N° 41

DPQGYPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFEKFPGLKECKDPTHYEVNCLEYRPGTGPVTGGMYVPRYTQQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRNGRGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKKSVDNNMIYGEKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGERVTETISLYSNPTKWFAGNMOSTGLWAPAQEVTIESTASAVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKYELKANGEVFKFTVPYGGIYIKGNSPQNESAEFTFTGVVKAPFYKDGAWNALNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLEASNFKGGQEFAELDTFASSMNDFYGRNDEDGKHMFTYKNLGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTTLP TTPLNDWLIWHEAGHNAETPLNPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNNQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAEEFNDFIKWYPEGNLKPFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVGKTFGERNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGASEMNFEGGVQSAYETLAALNLPKPEQGQPETINKVTEYSMPAE

15

SEC ID N° 42

DPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAF
 IDEADHKTEDSLKAAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNTDSYRYEEGKNDLGFKTTEFLNCYANDAY
 AGGTCKCSADLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQNV
 TETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIKSANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDAS
 GTVKFKVPYGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASNYT
 GGLEQFANDLDTFASSMNDFHGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKGHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPT

TPLNDWLIWHEVGHNAAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWARGGAGDR
 LLMYAQLKEWAENFDIKKWPDGTPLEFYSERGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADT
 LMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINQVTEHKMSAE

5

SEC ID N° 43

DPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAF
 IDEADHKTEDSLKAAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSCVDLERLYQNMSVWLWNTDSYRYEEGKNDLGFKTTEFLNCYANDAY
 AGGTCKCSADLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQNV
 TETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIKSANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDAS
 GTVKFKVPYGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASNYT
 GGLEQFANDLDTFASSMNDYGRDSESGKHRMFTYKNLTGHKGHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPT
 TPLNDWLIWHEVGHNAAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDR
 LLMYAQLKEWAENFDIKKWPDGTPLEFYSERGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADT
 LMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLKLKPKEQGPETINKVTEHKMSVE

SEC ID N° 44

DPQGYPDVRQRRTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWQYQDENKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAF
 IDEADHKTPESLAAAKQRILDAFPGLEVKDSDYHYEVNCLEYRPGSGVPVTGGMYVPQYTQLDLGADTAKAMLQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRQGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNETKYRYEEGKEDELGFKTTEFLNCYTNAY
 VGTQCSAELKKSOLIDNKMIYGEESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQNV
 ETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIKSANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASG
 TVVKFKVPYGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASNYTG
 GLEQFANDLDTFASSMNDYGRDSESGKHRMFTYKNLTGHKGHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPT
 PLNDWLIWHEVGHNAAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRL
 LLMYAQLKEWAENFDIKKWPPEGELPKFFSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNKTFGGKNYCAESNGNAADSLM
 LCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYSTLASLKLKPKEQGPETINKVTEHKMSLE

10

SEC ID N° 45

DPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAF
 IDEADHKTEDSLKAAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNTDSYRYEEGKNDLGFKTTEFLNCYANDAY
 AGGTCKCSADLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQNV
 TETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTIKSANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDAS
 GTVKFKVPYGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASNYT
 GGLEQFANDLDTFASSMNDYGRDSESGKHRMFTYKNLTGHKGHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPT
 TPLNDWLIWHEVGHNAAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDR
 LLMYAQLKEWAENFDIKKWPPEGELPKFFSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGDKTFGGKNYCAESNGNAADTL
 MLCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYSTLASLKLKPKEQGPETINKVTEHKMSLE

SEC ID N° 46

15

DPQGYPNRVRQRRTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWKYQQENKPDDPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAF
IDEADHKTPESLAAAKQRILDAFPGLEVKDSDYHYEVNCLEYRPGTDVPVTGGMYVPQYTQLDSADTAKAMLQA
ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYTNAY
VGTQCSAELKKSLIDNKMIYGEESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGVVNTNGETVT
QNINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSIESTVPTVVALADDLTGREKHEVSLNRPPRVTKTYDLKAND
KVTFKVPYGGLIYIKGDSKEVQSADFTFTGVVKAPFYKDGMWQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTG
GLEQFANDLDTFASSMNDYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTT
PLNDWLIWEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRL
LMYAQLKEWAENFDIKKWPDGTPLEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTL
MLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGSQSAYNTLASLKLKPKEQGPETINKVTEHKMSVE

SEC ID N° 47

DPQGYPDRVRQQREKGIWVYERYPFVDGKPPYTIDETTKEVIWKYQQDNKPDDPKLEVASWLEDVGKQVKRYAF
IDEAEHETNESLEAAKAKI IKAEPGLEECKDPTYHYEVNCLEYRPGTNVPVTGGMYVPRTQNLNSADTAKAMVQA
ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTEFLNCYANDAY
TKGTLCSAELKQSLIDNKMIYGEESKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVVGGEVT
ETISLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVTKISANVPVTVVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASG
TVFKVPYGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGMWQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTG
GLDQFAKDLDTFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLPGHKRFNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTT
PLNDWLIWEVGHNAETPLNVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLDESNGQAWARGGAGDRL
LMYAQLKEWAENFDITKWYPDGKLPFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADTL
LCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGAAEMSFEGGVSAYSTLASLNLKPKEKGPETINKVTEHKMSAE

5

SEC ID N° 48

DPQGYPDRVRQRRTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWKYQQENKPDDPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAF
IDEADHKTPESLAAAKQRILDAFPGLEVKDSDYHYEVNCLEYRPGTDVPATGGMYVPRTQNLNSADTAKAMVQA
ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYTNAY
VGTQCSAELKKSLIDNKMIYGEESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVVGGEVT
QNINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSIESTVPTVVALADDLTGREKHEVSLNRPPRVTKTYDLKAND
KVTFKVPYGGLIYIKGDSKEVQSADFTFTGVVKAPFYKDGMWQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTG
GLEQFANDLDTFASSMNDYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTT
PLNDWLIWEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRL
LMYAQLKEWAENFDIKKWPDGTPLEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTL
MLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGSQSAYNTLASLDPKPEQGPETINQVTEHKMSAE

SEC ID N° 49

DPQGYPDRVRQRRTGIWVYERYPVVEGELPYTIDSKTGKVWKYQIDNKPDKKPKLEVASWQEEVDGKQVTQFAF
IDEADHKTTESLDAAKKILEFKGLEECKDSTHYEINCLEYRPGTNPATGGMYVPRTQNLNSADTAKAMVQA
ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTEFLNCYANDAY
TGGTQCSDELKKSLVDNNMIYGEKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQE
VTEISLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVTKISNADVPVTVVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYELKA
NGEVKFTVYGGIYIKGNSKENNKSASFIFTGVVKAPFYKNGAWKNALNSPAPLGELESDAFYTPKKNLEASN
FTGGVAEFAKDLDTFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLPGHKRFNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTL
PTTPLNDWLIWEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWARGGAG
DRLLMYAQLKEWAENFDIKKWPDGTPLEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGGRNYCAESNGNTA
DTIMLCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGSQSAYNTLASLDPKPEQGPETINKVTEYSMPA
E

10

SEC ID N° 50

DPQGYPDRVRQRRTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWQYQQENKPDDPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAF
 IDEADHKTPESLAAAKKRILDAFPGLEECKDSYHENCLEYRPGTPVTGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANNAY
 DGGTQCSAELQSLIDNKMIYGEGSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGEEVT
 ETINLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSIKSNAKVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASG
 TVFKFVPGGLIYIKSDSKEEKSANFTFTGVVKAPFYKDGGWKNDLKSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNYKG
 GLKQFAEDLDTFASSMNDFYGRDGEKGHRMFTYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTT
 PLNDWLIWEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRL
 LMYAQLKEWAENFDIKQWYPEGLPAFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNDKFGNRNYCAESNGNAADTLM
 LCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGSQSAYNTLASLDLPKPKQGPETINKVTEYSMPAE

SEC ID N° 51

DPQGYPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSCTGEVKWQYQVENKPDDPKLEVASWLEDVDGKQETRYAF
 IDEADHKTEDSLKAKEIFI-AAFPGLKECTNPAYHENCLEYRPGTPVTGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNDSYRYEEGKNDLGFKTFTEFLNCYANDAY
 AGGTKCSADLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQNV
 TETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVTKISANVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDAS
 GTVKFVPGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASNYT
 GGLEQFANDLDTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTT
 TPLNDWLIWEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWARGGAGDRL
 LMYAQLKEWAENFDIKKWPDTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADT
 LMLCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGSQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINKVTEHKMSAE

5

SEC ID N° 52

DPQGYPDRVRQRRTPIWVYERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWQYQQENKPDDPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAF
 IDEADHKTPESLAAAKKRILDAFPGLEECKDSYHENCLEYRPGTPVTGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANNAY
 DGGTQCSAELQSLIDNKMIYGEGSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGEEVT
 ETINLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSIKSNAKVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASG
 TVFKFVPGGLIYIKSDSKEEKSANFTFTGVVKAPFYKDGGWKNDLKSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNYKG
 GLKQFAEDLDTFASSMNDFYGRDGEKGHRMFTYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTT
 PLNDWLIWEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRL
 LMYAQLKEWAENFDIKQWYPEGLPAFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNDKFGNRNYCAESNGNAADTLM
 LCASWVAQTDLSAFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGSQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID N° 53

DPQGYPNRVRQQREKGIVWVYERYPAVDSAQPPYTIDPDTGKVWQYQEEGKPDPKLEVASWQEDVDGKQVTRYA
 FIDEAEHSTEESLEAAKAKIFEFKPGQECKDSTYHYEINCLERRPGTDVPTGGMYVPRTQLNLDADTAKAMVQ

10

AADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANNA
 YSEGTCSDLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGEK
 VTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVTIESTASPVVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYDLKA
 NDKVTFVPGGLIYIKGNSPKNESEAFTFTGVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDFSVYTAPEKNLNASNY
 SNYTDGVAEFAKELDTFASSMNDFYGRDGEKGHRMFTYKALTGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNST
 TLPTTPLNDWLIWEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRVADDITVAPEYLDESNGQAWARGG
 AGDRLLMYAQLKEWAENFDIKQWYPDGELPKFYSDRKGWNLFQLMHRKARGDDVSNDKFGGRNYCAESNGNA
 ADTLMLCASWVAQADLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMSFEGGSQSAYNTLAAMHLSKPEKGPETINKVTEYSMP
 AE

SEC ID N° 54

DPQGYPDRVRQRRTPIWVYERYPAVDGKPYTIDDTTKEVIWKYQQENKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAF
 IDEADHKTEPESLAAAKQRILDAFPGLEVKDSDYHENCLEYRPGTVTGGMYVPQYTQLDLGADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGLQGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNETKRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYTNAY
 VGTQCSAELKKSLIDNKMIYGEESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGVNTGETVT
 QNINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVIESKATPVTVTVALADDLTGREKHEVSLNRPVRTKTYDLKAND
 KVTFKVPYGGIYIKGDSKEVQSAFTFTGVVKAPFYKDQWQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTG
 GLEQFANDLDTFASSMNDYGRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTT
 PLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGAGDRL
 LMYAQLKEWAENFDIKWYPDGTPLPEFYSEREGMKGNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTL
 MLMCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGATEMSFEGGSQSAYNTLASLNLPKPKQGPETINKVTEYSPMAE

SEC ID N° 55

DPQGYPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWQYQVENKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAF
 IDEADHKTEDSLKAAKAKIFEKPGLECKDPTYHENCLEYRPGTVTGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGRGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNEKRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANDAY
 TGGTQCSDELKKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGER
 VTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVIESASFVYTPKKNLASNF
 TGGVAEFAKDLDTFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTT
 TTPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGAGD
 RLLMYAQLKEWAENFDIKWYPEGDLPKFYSREGMKGNLFQLMHRKARGDDVGKTFGERNYCAESNGNAADK
 MLMCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMNFEGGVSQSAYETLAALNLPKPKQGPETINKVTEHKMSAE

5

SEC ID N° 56

DPQGYPDRVRQRATGIWVYERYPVVEGELPYTIDSKTGVTKWYQIDNPDKPKLEVASWQEEVDGKQVTQFAF
 IDEADHKTTESLDAAKKILEFKGLEECKDSTYHENCLEYRPGTVTGGMYVPRTQIQLNLSADTAKAMVQA
 ADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGRGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNEIESYDSSKEDELGFKTFTEFLNCYANDAY
 TGGTQCSDELKKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGER
 VTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVIESASFVYTPKKNLASNF
 TGGVAEFAKDLDTFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTT
 TTPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGAGD
 RLLMYAQLKEWAENFDIKWYPDGNLPFYSREGMKGNLFQLMHRKARGDEVGKTFGERNYCAESNGNAADT
 MLMCASWVAQTDLSEFFKKWNPGANAYQLPGASEMNFEGGVSQSAYETLAALNLPKPKQGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID N° 57

DPQGYPDRVRQRATGIWVYERYPAADGAQPPYTIDPNTGEVTWKYQQDNKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTRYA
 FIDEAEYTTEESLEAAKAKIFEKPGLQECKDSTYHENCLEYRPGTVTGGMYVPRTQIQLNLDADTAKAMVQA
 AADLGTNIQRLYQHELYFRTRNGSKGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNTKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYANDA
 YAGGKTCSDLKKSLVDNNMIYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGSVAKGES
 VTENISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQDVTIKSSASFVYTPKKNLASNF
 TGGVAEFAKDLDTFASSMNDYGRNDEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTT
 TTPLNDWLIWHEVGHNAETPLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLDENSGQAWARGAGD
 RLLMYAQLKEWAEEENFDIKWYPDGELPKFYSDRKGKGNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADT
 MLMCASWVAQADLSEFFKKWNPGASAYQLPGATEMSFQGGVSSSAYSTLASLKLKPKEGPETINKVTEHKMSAE

10

SEC ID N° 58

CDGGGSGSSSDTPSVDSGSGTLEVKPDPTPPEPTPEPTPDPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGS
 QRVTGATCNGESSDGFFTPNTVSCVVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQELANSENKTKNAISLV
 TSSDSCPADAQCLTFSSVVDRARFEKLYQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTTEGKPD
 LNASFVSANAEQFYQYQPTEIILSEGQLVDSLGNVAGVDYYTNSGRGVTDENGKFSFWGETISFGIDTTELGSV
 RGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNVV

LPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYQSVSKFHVFHDSTNFY
GSTGNARGQAVVNISNSAFTPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVTRDTATFNLPFIISLGQ
VGEGLMVGPNPHNSILRCPNGYSWGGVNSKGECTLSGDSDDMKHFMQNVLRLSNDIWQPNTKSIMTVGTNLE
NVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLILNGFEYVTQWSGDPYAVPLRADTSKPFLTQ
QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRATGIWVYER
YPAADGAQPPYTIDPNTGEVTWKYQQDNKPDDPKLEVASWQEEVEGKQVTRYAFIDEAEYTTEESLEAAKAKIFE
KFPGLQECKDSTYHYEINCLERRPGTDVPVTGGMYVPRYTQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTKG
SKGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNDFKYRYEEGKEDELGFKTFTEFNLNCYANDAYAGGTKCSADLKKSVDNNMIY
GDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGSVSAKGESVTENISLYSNPTKWFAGNMQST
GLWAPAQQDVTIKSSASPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYLEANGEVTFKVPYGGLIYIKGDSKD
DVSANFTFTGVVKAPFYKDGEWKNDLSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDY
GRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTPLNDWLIWHAVGHNAETPL
NVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRAADDITVAPEYLDENQWAARGGAGDRLLMYAQLKEAENFDIKQWY
PDGELPKFYSDRGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQADLSEFFKKWP
GASAYQLPGATEMSFQGGVSSAYSTLASLKLKPKEGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID N° 59

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTGG
QRITGATCNGESSDGETFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSL
VTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDLSLYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVPVTPGK
DLNASFVSANAEOFYQYQPTEIILSEGRLVDSMGNGVVGVNYYTSSGRGVGTENGKFNFSWGETISFGIDTFELGS
VRGNKSTIALTELGDEVRGANI DQLIHRYSQAGKNDEREVPDVVKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGEALSEGDQTF
ERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNNEGQIQGVINKLWGVDKDYKSVTKFHVFDSTNF
YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVTRDTATFNLPFISLG
QVGEGLMVGPNPHNSILRCPNGYSWGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVLRLSDDKWTDAKASMTVGTNL
DTVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLILNGFEYVTQVGNPDYAIPLRADTSKPFLTQ
QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPNVRQQRATGIWVYE
RYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWVQVENKPDPKLEVASWLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFE
KFPGLKECKDPTYHYEVNCLEYRPGTVTGGMYVPOYTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNG
RKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFNLNCYANDAYGGTQCSDELKKSLVDNNMIY
GEKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGERVETISLYSNPTKWFAGNMQS
TGLWAPAQKEVTIESASPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYELKANGEVFKFTVYGGLIYIKGNSP
QNESAEFTFTGVVKAPFYKDGAWNALNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDY
YGRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTPLNDWLIWHAVGHNAETPL
LTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRAADDITVAPEYLEESNGWAARGGAGDRLLMYAQLKEAENFDIKQWY
YPEGDLPKEYSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVGKTKFGERNYCAESNGNAADKLMLCASWVAQTDLSEFFKKWP
PGANAYQLPGASEMNFEGGVSQSAYETLAALNLPKPOQGPETINQVTEHKMSAE

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
 QRITGATCNGESSDGFIFT PGDKVTCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKS NAVSL
 VTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVPVT PGT KPD
 DLNASFVSANAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDSMGNGVGVNVY TS SGRGV TGENGEFSFSWGETISFGIDT FELGS
 VRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLI HRYSQAGKNDEREV P D VVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGEALSEG DQTF
 ERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSL GCGNSQRWFSL TARNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNF
 YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVRTDTATFNL PFISLG
 QVGEKLMVIGNPHYN SIRCPNGSWE GGVDKNGQCTRNSDSNDM KHM QNV LRYLSDDKWT PDAKASMTVGTNL
 DT VYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLLSSYGDLD PQEMPLLI LNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLT
 QQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGL SMLNKSVVNNNDPQGYPN RQQRATGIWVYE
 RYPAVDGALPYTIDS KGEVKWVQ VENK PDDKPKLEV ASWLEDV DGKQETR YAFIDEADHKTEDSLKA AKAKI FE
 KFPGLKECKDPYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMYVPOYTQLS LNADTA KAMVQA ADL GTNIQRLYQHELYFRTNG
 RKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGF KFTFEFLNCYANDAYTGGTQCSDELK KSLVDNNMIY
 GEKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLN KVDVEKYPGAVSAEGEKVTETISLYSNPTKWFAGNMQS
 TGLWAPAQKEVTIESTASVAVTVTVALADDL TGREKHEVALNRP PKVTKTYELKANGEVKFTV PYGGLIYIKGN SP
 QNESAEFTFTGVVKAPFYKDGA WKNALNSPAPLGELESDAFVYTTPKKNLEASNYKGGQEFAQEELDTFASSM NDF
 YGRNDEDGKHMFTYKNLTGHK RFTNDVQISIGDAHSGYPMN SSFSTN STLPTPLNDWLIWAAGHNA AETP
 LT VPGATEVANNVL ALYMQDRYLGKMN RVADDITVAPEYLEE SNNQAWARGGAGD RLLMYAQLKEWA EKNFDITK W
 YPEGNLPKFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVGKTKFGERNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSAFFKKW N
 PGANAYQLPGASEMN FEGGV SQSAYETLAALNLPK PQQGPETINKVTEY SMPAE

SEC ID N° 61

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTEPI P DPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
 QRVTGATCNGESSDGFIFT FKPGEDVT C VAGNNTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKS NAVSLV

5

TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKL VNEEVENNAATDKAPSTHTSPVPVT PGT KPD
 LN ASFVSANAEQFYQYQPTEII LSEGRLVDSQGYGVAGVNVY TS SGRGV TGENGEFSFSWGETISFGIDT FELGS
 RGKSTIALTEL GDEVRGANIDQLI HRYSTTGQNNTRV VPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSN GATLGEGEQV VN
 LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSL TTRN VNDGQIQGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNF
 GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVRTDTATFNL PFISLG
 VGEKLMVIGNPHYN SIRCPNGSWE GGVDKNGQCTLNSDP DDMK NMEN VL RYL SDDKWKPD A KASMTVGTN LD
 TVYFKRHGQVTGNSA AFDFHPDFAGISVEHLLSSYGDLD PQEMPLLI LNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KLT Q
 QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGL SMLNKSVVNNNDPQGYPN RQQRATGIWVY ER
 YPAVDGALPYTIDS KGEVKWVQ VENK PDDKPKLEV ASWLEDV DGKQETR YAFIDEADHKTEDSLKA AKAKI FA
 FPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMYVPOYTQLS LNADTA KAMVQA ADL GTNIQRLYQHELYFRTN GR
 KGERLSSVDLERLYQNMSVWLWN DTSYR YEEGK NDELGF KFTFEFLNCYANDAYAGG KCSADLK KSLVDNNM IY
 DGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLN KVDVEKYPGAVSEEGQNV TETISLYSNPTKWFAGNM QSTG
 LWAPAQKEVTIKS NANPVTVTVALADDL TGREKHEVALNRP PRVTKTYSLDASGTVKFKV PYGGLIYIKGN S STN
 ESASFTFTGVVKAPFYKDGA WKNALNSPAPLGELESDAFVYTTPKKNLN ASNYTGGLEQFANDLDTFASSM NDF HG
 RDSEDGKHMFTYKNLPGH KHRFTNDVQISIGDAHSGYPMN SSFSPN STLPTPLNDWLIWA VGHNA AETPLT
 VPGATEVANNVL ALYMQDRYLGKMN RVADDITVAPEYLEE SNNQAWARGGAGD RLLMYAQLKEWA EKNFDIKK W P
 DGTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEV SNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKW N P
 GANAYQLPGASEMS FEGGV SQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINQVTEHKMSAE

SEC ID N° 62

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYTLGGS
 LRVTDITCNDDESSDGFFTPDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKNNSALS
 LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGK
 PDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELG
 SVRGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHYRSTTGQNNTRVVPDDRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLDEGEQV
 VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLGVDTNYSKVSFKHFVHDSTN
 FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVRTDTATFNLPFISL
 GQVGEKGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMEVLRYLSDDKWPDAKASMTVGTN
 LDTVYFKRHGQVTGNSAADFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIANGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKL
 TQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSMALNKSVVNNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVY
 ERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAKEKIF
 AAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGVPTGGMVYQPQTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRN
 GRKGERLSCVDLERLYQNMSVWLWNTSYRYEEGKNDLGFKFTTEFLNCYANDAYAGGKCSADLKSLVDNNMI
 YGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSEEGQNVETISLYSNPTKWFAGNMQS
 TGLWAPAQKEVTIKSANVPVTVTVALADDL GREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFV PYGGLIYIKGNSS
 TNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASNYTGGLEQFANDLDTFASSMNDY
 YGRDSEDGKHMFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTTLPPLNDWLIWHAVGHNAEETPL
 LTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRAADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLMYAQLKEWAENFDIKKW
 YPDGTPLEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSAFFKKW
 NPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLKLKPSEQGPETINKVTEHKMSVE

SEC ID Nº 63

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYTLGGS
 LRVTDITCNDDESSDGFFTPDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKNNSALS
 LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGK
 PDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELG
 SVRGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHYRSTTGQNNTRVVPDDRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLDEGEQV
 VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLGVDTNYSKVSFKHFVHDSTN
 FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPENVTRETATFNLPFISL
 GQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMEVLRYLSNDRWPDAKSSMTVGTN
 LDTVYFKKHGQVLGNSAPFAFKDFTGITVKPMTSYGNLNPDEVPLLIANGFEYVTQWGSDPYSIPLRADTSKPKL
 TQDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSMALNKSVVNNNDPQGYPDRVRQRRSTPIWVY
 ERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWKYQQENKPDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPESLAAKQRIL
 DAFPGLEVCKDSDYHYEVNCLEYRPGVPTGGMVYQPQTQLDLGADTAKAMLQAADLGTNIQRLYQHELYFRN
 GRQGERLNSVDLERLYQNMSVWLNETKYRYEEGKEDELGFKFTTEFLNCYTNNAVGTQCSAELKSLIDNKMIV
 GEESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSEEGQNVETISLYSNPTKWFAGNMQST
 GLWAPAQKEVTIKSANVPVTVTVALADDL GREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFV PYGGLIYIKGNSS
 NESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLNASNYTGGLEQFANDLDTFASSMNDY
 GRDSESGKHMFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTTLPPLNDWLIWHAVGHNAEETPL
 TTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRAADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLMYAQLKEWAENFDIKWW
 PEGELPKFFSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNKTFGGKNYCAESNGNAADSLMCASWVAQTDLSAFFKKWNP
 GANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYSTLASLKLKPSEQGPETINKVTEHKMSLE

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
 LRVTDITCNDDESDGFTFTP GDKVCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKKSNALS
 LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKL VNNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATT PGTK
 PDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIIILSEGRLVDSQGVGVNVYNTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDT FELG
 SVRGNKSTIALTELGDDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTTRVVPDDR KVF A EYPNVINEIINLSLSNGATLDEGEQV
 VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRVN DQIQGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFDSTN
 FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWL AFGEKRAWDKN ELAYI TEAPS LVEPENVT RDTATFNL PFI SL
 GQVGEKGKLMVIGNPHYNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNF MENVRLYLSDDKWT PDAKASMT VGTN
 LDTVYFKRHGQVTGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KL
 TQDVTDLIA YLNKGGSVLIMENVMSNLKEE SASGFVRLLDAAGL SMLNKS VVNNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVY
 ERYPAVDGALPYTIDSKTGEVKWQYQVENK PDDKPKLEVASWLEDV DGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKA AKEKIF
 AA PGKLKECTNPAYHYEVNCLEYRP GTGPV TGGM YV P QYTQLS LNADTA KAMVQA ADLG TNIQRLYQHELYFR TN
 GRKGERLSSV DLERLYQNM SVWLWN DTSYR YEEG KND E LGF KTFT EFL NCYANDA YAGG KCSADLK KS LV DNNM I
 YGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLN KVDV EKYPGAVSEEQNV TETISLYSNPTKWFAG NMQS
 TGLWAPAQKEVTIKSANVPVTVTVALADDL TGREKHEVALNRRPRVTKT YSL DASGTVKFV PYG GLIYIKGNSS
 TNESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTTPKKNLNASNYTGGLEQFANDLDTFASSMND F
 YGRDETSGKHRMFTYKNLTGHKHFRTNDQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTT PLNDWL IWHAVGHNAE TPL
 LTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMN RVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWA EKNFDIKK WY
 YPEGELPKFFSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGDKTFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKW N
 PGANAYQLPGATEMSFEGGSQSAYSTLASLKLKPEQGPETINKVTEHKMSLE

SEC ID Nº 65

CDGGGSGSSSDTPPVDSGT GSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS
 LRVTDITCNDDESDGFTFTP GDKVCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKKSNALS
 LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKL VNNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATT PGTK
 PDLNASFVSANAEQFYQYQPSEIIILSEGRLVDSQGVGVNVYNTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDT FELG
 SVRGNKSTIALTELGDDEVRGANIDQLIHRYSKAGQNHTRVVPD E VRKVFA EYPNVINEIINLSLSNGATLDEGEQV
 VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRVN DQIQGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFDSTN
 FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWL AFGEKRAWDKN ELAYI TEAPS IVPENVT RETATFNL PFI SL
 GQVGDGKLMVIGNPHYNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNF MENVRLYLSDDKWT PDAKASMT VGTN
 LDTVYFKRHGQVTGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKP KL
 TQDVTDLIA YLNKGGSVLIMENVMSNLKEE SASGFVRLLDAAGL SMLNKS VVNNNDPQGYPNRVRQRRSTPIWVY
 ERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWKYQQENK PDDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPESLA AKQRI L
 DA PGLEVKC DSYHYEVNCLEYRP GTDV PVTGGM YV P QYTQLD LSADTA KMLQ AADLG TNIQRLYQHELYFR TN
 GRQGERLNSV DLERLYQNM SVWLNETK YR YEEG KED E LGF KTFT EFL NCYTN NAYVGTQCSAELK KSLIDN KMI Y
 GE ESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLN KVDV EKYPG VVNTN GETVTQN INLYSAPTKWFAG NMQST
 GIWAPAQQEVSIESKATPVTVTVALADDL TGREKHEVSLNRPRVTKT YDLKANDKVTFKV PYG GLIYIKGDSKE
 VQSADFTFTGVVKAPFYKDGK WQHD LNSPAPLGELESASFVYTTPKKNLNASNYTGGLEQFANDLDTFASSMND F
 GRDSEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPN STTLP TTPLNDWL IWHAVGHNAE TPL
 TVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMN RVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWA EKNFDIKK WY
 PDGTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKW N
 PGANAYQLPGASEMSFEGGSQSAYNTLASLKLKPEQGPETINKVTEHKMSVE

CDGGGSGSSSDTPSVDGSGLPEVKPDPTPPEPTPEPTPDPEPTPDPTPDPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTG
 GSQRVTGATCNGESSDGFTFPGNTVSCVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQELANSENKKTNAIS
 LVTSSDSCPADAECQLCLTFSSVVDRARFEKLYKQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPTTEGTK
 PDLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGQLVDLSLGNGVAGVDYTNSGRGVTDENKGFSFSWGETISFGIDTFELG
 SVRGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHYRSTTGQNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSSLNGATLDEGDQN
 VVLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTNGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYQSVSKFHVFHDSTN
 FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVTRDATFNLPFISL
 GQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWGGGVNSKGETLSGDSDDMKHFMQNVRLYLSNDIWQPNTKSIMTVGTN
 LENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGLNPEEIPLLILNGFEYVTQWSGDPYAVPLRADTSKPKL
 TQQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLSSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQQREKGIVVY
 ERYPFDGKPPYTIDETTKEVIWKYQQDNKPDDKPKLEVASWLEDVDGKQVKRYAFIDEAEHETNESLEAAKAKII
 KAFPGLEEKDPTYHYEVNCLEYRPGTNPVPTGGMYVPRYTQLNLSADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRN
 GRKGERLSSVDLERLYQNMWSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTEFLNCYANDAYTKGTLCSAELKQSLIDNKMI
 YGEGSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNIVDVEKYPGAVSVGEEVTETISLYSNPTKWFAGNMQST
 GLWAPAQKEVTIKSANANPVTVALADDLGTREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFKVPGGLIYIKGNSST
 NESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTGGLDQFAKDLTFASSMNDY
 GRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLIWHAVGHNAETPL
 NVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRAVADDITVAPEYLDENQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDITKWY

PDGKLPFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNP
 GANAYQLPGAAEMSFE GGVS S AY ST LAS NL PKPEKG PET IN KV TE HKM SAE

SEC ID N° 67

5

CDGGGSGSSSDTPPVDGSLPEVKPDPTPNEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTGGS
 QRVTGATCNGESSDGFTFKPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKSNASLVT
 TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLQYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPD
 LNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFSWGEAISFGIDTFELGSV
 RGNKSTIALTELGEVRGANIDQLIHYRSTTGQNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSSLNGATLGEQEQQVN
 LPNEFIEQFTGQAKEIDTAICAKTDCGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFY
 GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVENTRETASFNLPFISLGQ
 VGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLNSDPDDMKNFMEVRLYLSNDRWPDAKSSMTVGTNLE
 TVYFKKHGQVLGNSAPFAFHKDFTGITVKPMTSYGNLNPDEVPLLILNGFEYVTQWGSQDPYSIPLRADTSKPKLTQ
 QDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRRSTPIWVYER
 YPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWKYQQENKPPDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPELAAKQRILDA
 FPGLEVKDSDYHYEVNCLEYRPDTVPVTGGMYVPOYTQLDLASADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRN
 QGERLNSVDLERLYQNMWSVWLWNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYTNAYVGTQCSAELKSLIDNKMIYGE
 ESSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNIVDVEKYPGVNTNGETVTQNIONLYSAPT KWFAGNMQSTGL
 WAPAQQEVIESKSTVPVTVALADDLGTREKHEVSLNRPPRVTKTYDLKANDKVTFKVPGGLIYIKGDSKEVQ
 SADFTFTGVVKAPFYKDGMWQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTGGLEQFANDLDTFASSMNDYGR
 DSEDGKHRMFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLIWHAVGHNAETPLTV
 PGATEVANNVLALYMQDRYLGKMNRAVADDITVAPEYLEESENQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKKWP
 GTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNP
 GANAYQLPGASEMSFE GGVS Q SAY NT LAS LD LPKPEQGPETINQVTE HKM SAE

SEC ID N° 68

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPPIPDPDPEPTPEPEPEPEPVPTKTYLTLGGS
 QRITGATCNGESSDGFIFTPGDKVTCVAGNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSL
 VTSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYKOIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVPVTGPKPD
 DLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSMGNGVGVNYYTSSGRGVGTGENGEFSFSWGETISFGIDTFELGS
 VRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVPDVVRKVFAAYPNVINEIINLSLSNGEALSEGDQTF
 ERTNEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINKLWGVKDYKSVTKFHVFDSTNF
 YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVEPVNTRDTATFNLPFISLG
 QVGEGLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVLRYLSNDKWTDAKASMTVGTNL
 DTVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLLDPQKMPLLILNGFEYVTQVGGDPYAVPLRADTSKPCLS
 QQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRRATGIWVYE
 RYPVVEGELPYTIDSCTGKVTWKYQIDNKPDKKPKLEVASFQEEVDGKQVTQFAFIDEADHKTTESLDAAKKKILE
 KFKGLEECKDSTHYEINCLEYRPGTNVPATGGMYVPRYTQLNLSADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNG
 RKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKKSVDNNMIY
 GEKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSEEGQEVTESISLYSNPTKWFAGNMQS
 TGLWAPAQKEVTIKSNADVPVTVALADDL GREKHEVALNRPPKVTKTYELKANGEVFKFTVYGGLIYIKGNSK
 ENNKSASFTFTGVVKAPFYKNGAWKNALNSPAPLGELESADFVYTTPKNLEASNFTGGVAEFAKDLTFASSMND
 FYGRNDEDGKHRMFTYKNLTGKHFRFTNDQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTPLNDWLIWHAVGHNAET
 PLTVPGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWRGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKK
 WYPDGTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGRNYCAESNGNTADTLMLCASWVAQTDLSEFFKK
 WNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPPKQGPETINKVTEYSMPAE

SEC ID N° 69

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPPIPDPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGS
 QRVTGATCNGESSDGFIFTPGKGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLV
 TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYKOIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVPVTGPKPD
 LNASCFSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNVYYTNSGRGVGTGENGEFSFSWGETISFGIDTFELGSV
 RGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLGEQEJVNN
 LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLWGVDTNYKSVSKFHVFDSTNFY
 GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRETATFNLPFISLGQ
 VGDGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMENVRLYLSNDRWPDAKSNTVGTNLD
 TVYFKKHGQVTGNSAAFGHPDFAGISVEHLSSYGDLLDPQEMPLLIINGFEYVTQVGDYPAIPLRADTSKPKLQ
 QDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRRSTPIWVYER
 YPAVDGKPPYTIDDTTKEVIWKYQQENKPPDKPKLEVASFQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPESLAAKKRILDA
 FPGLEECKDSDYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVQYQTLQLSNAUTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGR
 KGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNLKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANNAYDGGTQCSAELKQSLIDNKMIY
 EGSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGEEVTETINLYSNPTKWFAGNMQSTGL
 WAPAQQEVSIKSNAKVPVTVALADDL GREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFKVYGGLIYIKSDSKEEK

5

SANFTFTGVVKAPFYKDGKWKNDLKSPAPLGELESASFVYTTPKNLEASNYKGLKQFAEDLDTFASSMNDYGR
 DGESGKHRMFTYEALTGHKHFRFTNDQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLIWHAVGHNAETPLTV
 PGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWRGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKQWYPE
 GSLPAFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNDKFGRNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSAFFKKWNP
 GANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPPKQGPETINKVTEYSMPAE

SEC ID N° 70

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGS
QRVTGATCNGESSDGFDFKPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLV
TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPD
LNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELGSV
RGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLGEGEQVNN
LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLGVDTNYSKSFHVFHDSTNFY
GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSILVEPENVRTDTATFNLPFISLGQ
VGEKGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLNSDPDMKFMENVRLYLSDDKWPDAKASMTVGTNLD
TVYFKRHGQVTGNSA邢DFHPDFAGISVEHLSSYGDLDPOEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQ
QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLMSMALNKSVVNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYER
YPAVDGALPYTIDSKTGEVKWQYQVENKPPDKPKLEVASWLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAKEKIFAA
FPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGPVTPGGMVYVPQYTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTN
KGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNTSYRVEEGKNDLGFKTFTFLNCYANDAYAGGKCSADLKSLVDNNMIFYG
DGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNIVKDVEKYPGAVSEEQNVETISLNSNPTKWFAGNMQSTG
LWAPAQEVTIKSNANVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPRTKTYSLDASGTVFKVPGGLIYIKGNSSTN
ESASFTFTGVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFVYTTPKKLNASNYTGGLEQFANDLDTFASSMNDFYG
RDSEDGKHRMFTYKNLPGKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLWAVGHNAETPLT
PGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLEESNNQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKKWYP
DGTPLEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNP
GANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINQVTEHKMSAE

SEC ID N° 71

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGS
QRVTGATCNGESSDGFDFKPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLV
TSSNSCPANTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPD
LNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELGSV
RGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPEDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLGEGEQVNN
LPNEFIEQFNTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLGVDTNYSKSFHVFHDSTNFY
GSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRETATFNLPFISLGQ
VGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLNSDPDMKFMENVRLYLSDRWLPAKSNMTVGTNLD
TVYFKKHGQVTGNSA邢GFHPDFAGISVEHLSSYGDLDPOEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQ
QDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLMSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRRSTPIWVYER
YPAVDGKPPYTIDDTKEVIWQYQENKPPDKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPESLAAKKRILDA
FPGLEECKDSDYHYEVNCLEYRPGTGPVTPGGMVYVPQYTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTN
KGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTFLNCYANNAYDGGTQCSAELKQSLIDNKMIYG
EGSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNIVKDVEKYPGAVSAEGEEVETINLYSNPTKWFAGNMQSTG
WAPAQQEVSIKSNAKVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPRTKTYSLDASGTVFKVPGGLIYIKSDSKEEK
SANFTFTGVVKAPFYKDGKWKNDLKSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNYKGGLQFAEDLDTFASSMNDFYGR
DGESEKGKHRMFTYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLWAVGHNAETPLT
PGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKQWYPE
GSLPAFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNDKFGNRNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSAFFKKWNP
NAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPKPEQGPETINQVTEHKMSAE

5

SEC ID N° 72

CDGGGSGPSSDTTPVDSGTGSLEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGS
QRITGATCNGESSDGFDFKPGEDVTCVAGNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSL
VTSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPD
DLNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRVTGENGEFSFWGETISFGIDTFELGS
VRGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLDEGDQNV
VLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDQIQGVINKLGVDKDYSVTKFHVHDSTNF
YGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVRTDTATFNLPFISLG
QVGEKGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLSDGDSDDMKHFMQNVLRYLSDDKWPDAKASMTVGTN
DTVYFKRHGQVTGNSA邢GFHPDFAGISVEHLSSYGDLDPOEMPLLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQ
QQDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLMSMALNKSVVNTDPQGYPNRVRQQREKGIVWY
RYPAVDSAQPPYTIDPDTGKVTWKYQEEGKPPDDKPKLEVASWQEDVDGKQVTRYAFIDEAEHSTEESLEAAKAKIF
EKFGLQECKDSTYHYEINCLERRPGTDVPTGGMYPRYTQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTN

GRKGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDDELGFKTFTEFLN CYANNAYSEGTQCSADLKKS LVDNNM IYGDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLN KVDVEKYPGA VSAE GEKVTETISLYSNPTKWFAGNMQS TGLWAPAQEV TIESTASPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKYDLKANDKVTFKVPYGLIYIKGN SPKNESA EFTFTGVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDFS VY TAPKNNLN ASNYSN YTDGVAEFAKELDTFASSM NDFYGRDGESENHRMFTYKALTGHKHRFANDVQISIGDAHSGY PVMNSSFSTNSTTLP TPLNDWL IWHAVGHNA AETPLN VPGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLDESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDI KQWYPDGELPKFYSDRKG MKGWNLFQLMHRKARGDDVSNDKF GGRNYCAESNGNAADTLMLC ASWVAQADLSEFFK KWNPGANAYQLPGASEMSFEGGSQSAYNTLAAMHLSKPEKG PETINKVTEYSMPAE

SEC ID Nº 73

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS LRVTDITCNDDESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDN KKS NALS LVTSMNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATT PGTK PDLN ASFVSANAEQFYQYQPT EII LSEGRLVDSQGDGVGVNVYNTNSGRGV TGENGEFSFWGET ISFGIDT FELG SVRGNKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSKAGQNHTRVVPDEVRKVFAEPNVINEIINLSLSNGATLGE GEQV VNLPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRVN DQIQGVINKLGVD NYKSVSKFHVHD STN FYGSTGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWL AFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPEVNTRETATFNL PFISL GQVGDGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKGQCTLNSDP DDMK FMEN VLRYLSNDRWLPDAKSSMTVG TN LDTVYFKKHGQVLGNSAPFAFH KDFT GITVKPM TSYGNLNPDEVPLL LINGFEYV TQWGS DPYSIPLRADTSKP KL TQQDVTDLIA YMNKGGSV LIMENVMSNLKEE SASGFV RLLDAAGL SMLNKS VVNN D P QGY PDRVQR RSTPIWVY ERYPAVDGKPPYTIDDTTKEVIW KYQ QENK PDDKPKLEV ASWQEEVEGKQV TQFAFIDEADHK TPE SLAAK QRI L DAFPGLEVCKDSDYHYEVNCLEYRP GTGV PVTGGM YV P QY TQD LGADTA KAMLQ AADLG TNIQRLYQHELYFRTN GLQGERLNSVDLERLYQNMSVWLNETK YR YEEG KEDEL GFKTFT EFLN C YTN NAYVGTQCSA ELKKSLIDN KMI Y GEES SKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLN KVDVEKYPGV VNTN GETV TQN INLYSAPTKWFAGNM QST GLWAPAQEV SIESKATPVTVTVALADDLTGREKHEV S LNR P PRV TKT YDLKANDKVTFKVPYGLIYIKGDSKE VQSADFTFTGVVKAPFYKD GKWQHD LNSPAPLGELESASFVY TPKK NLNA SNTGGLEQF ANDL DTFASSMNDY GRDSEDGKHMFTYK NLP GHKHFANDVQISIGDAHSGY PVMNSSFSPN STTLP TPLNDWL IWHAVGHNA AETPL TVPGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDI KWK YPDGTPLPEFYSEREGMKGWNLFQLMHRKARGDEVSNDKF GGRNYCAESNGNAADTLMLC ASWVAQTDLSEFFKKW NPGANAYQLPGATEMSFEGGSQSAYNTLASLNP KPKQGPETINKVTEYSMPAE

5

SEC ID Nº 74

CDGGGSGSSSDTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPEPEPVPTKTGYLT LGGS QR VTGATCNGESSDGFTFTPGEDVTCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKS NAVSLV TS SNSCPANTEQVCLEFSSVIESKRFDSL YKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVT PGT KPDLN ASFVSANAEQFYQYQPT EII LSEGRLVDSMGNGVVNVYNTSSGRGV TGENGKFNFWSGET ISFGIDT FELGS VRG NKSTIALTEL GDEVRGANIDQLIH RYSQAGKNDEREV P D VVR KVFAEPNVINEIINLSLSNGE AL SEGDQTFERT NEFLEQFESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINKLGVDKDYKSVTFKHFVHD STN FYGS TGNARGQAVVNISNAAFPILMARNDKNYWL AFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPEVNTRDATFNL PFISL GQVG EGKLMVIGNPHNSILRCPNGYSWEGGV DKNGQCTR NSDSNDMKHFMQNVLRYLSDDKWTPDAKASMTVG TN LDTV YFKRHGQVTGNSAEFGFHPDFAGISV EHLSSYGDLD PQEMPL L LINGFEYV TQVGNDPYAIPLRADTSKP KL TQD VTDLIA YLNKGGSV LIMENVMSNLKEE SASGFV RLLDAAGL SMLNKS VVNN D P QGY PNVR QRATGIWVYERYP AVD GAL PYTIDSKTGEVKW KYQ VENK PDDKPKLEV ASWLEDVGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKA AKAKI FEKFP GLKECKDPTYHYEVNCLEYRP GTGV PVTGGM YV P QY TQLSLNADTA KAMV Q AADLG TNIQRLYQHELYFRTN GRKG ERLSSVDLERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFT EFLN C YANDAYTGGTQCSDELKKS LVDNNM IYGEK SVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLN KVDVEKYPGA VSAE GEKVTETISLYSNPTKWFAGNM QST GL WAPAQEV TIESSASPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKT YDLKANDKVTFKVPYGLIYIKGN SPKNE SAEFTFTGVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDFS VY TPKK NLEASNFTGGVAEFAKDL DTFASSMNDYGR NDEDGKHMFTYK NLTGHKHRFNDVQISIGDAHSGY PVMNSSFSTNSTTLP TPLNDWL IWHAVGHNA AETPL TV PGATEVANNVLALYMQDRYLGMNRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDI KQWYPE GDLPKFYSDREGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGKTFGERNYCAESNGNAADKLMLC ASWVAQTDLSEFFKKW NPGANAYQLPGASEMN FEGGSQSAYETLAALNLPKPKQGPETINQVTEHKMSAE

SEC ID Nº 75

CDGGGSGSSSDTPVDSGTSLPEVKPDPTPNEPTPEPTPEPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGS
 QRVTGATCNGESSDGFFTPAGEDVTCVAGNTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDNKKSNAVSLV
 TSSNSCPADTEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTKPD
 LNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYTNSGRGVTGENGEFSFSWGETISFGIDTFELGSV
 RGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGEQVNV
 LPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLWGVDTSYKSVSKFHVFHDSTNFY
 GSTGNARGQAVVNISNSAFAPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRETATFNLPFISLGQ
 VGKGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVLRYLSDNWTDAKASMTVGTNLD
 TVYFKRHGQVTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSYGDLPQKMPILLNGFEYVTQVGGDPYAVPLRADTSKPKLQ

QDVTDLIAYMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRATGIWVYER
 YPVVEGELPYTIDSKTGKVTWKYQIDNKPDKKPKLEVASFQEEVDGKQVTQFADFIDEADHKTTESLDAAKKKILEK
 FKGLEEKDSTYHYEINCLEYRPGTVPTVGGMYVPRYTQLNSADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGR
 KGERLSSVDLERLYQNMSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTFLNCYANDAYTGGTQCSDELKKSVDNNMIYG
 EKSVNKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGERVETISLYSNPTKWFAGNMQST
 GLWAPAQKEVTIESSASVPTVVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYDLKANDKVTFKVPYGGLIYIKGNSPK
 NESAEFTFTGVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDAFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDTFASSMNDY
 GRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWAVGHNAETPL
 TVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKTWY
 PDGNLPFYSEREGMKGNLFQLMHRKARGDEVGKTKFGERNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQTDLSEFFKKWNP
 GANAYQLPGASEMNFEGGVSQSAYETLAALNLPKQQGPETINQVTEHKMSAE

SEC ID N° 76

5

CDGGGSGSSSDTPVDSGTSLPEVKPDPTPNEPTPEPTPEPDPEPTPEPEPEPVPTKTYLTLGGS
 QRVTGATCNGESSDGFFTPAGEDVTCVAGNTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDNKKSNAVSLV
 TSSNSCPADAEQLCLTFSSVVDRARFEKLYQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTTEGKPD
 LNASFVSANAEQFYQYQPTEIIILSEGQLVDSLNGVAGVDYYTNSGRGVTDENGKFSFSWGETISFGIDTFELGSV
 RGNKSTIALTELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNV
 LPNEFIEQFKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLWGVDTNYQSVSKFHVFHDSTNFY
 GSTGNARGQAVVNISNSAFAPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVTRDTATFNLPFISLGQ
 VGEKGKLMVIGNPHYNISLRCPNGYSWEGGVNSKGECLTSGDSDDMKHFMQNVLRYLSDNWIOPNTKSIMTVGTNLE
 NVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLILNGFEYVTQWSDPYAVPLRADTSKPKLQ
 QDVTDLIAYLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRATGIWVYER
 YPAADGAQPPYTIDPNTGEVTWKYQQDNKPDDKPKLEVASFQEEVEGKQVTRYAFIDEAEYTTEESLEAAKAKIFE
 KFPGHQECKDSTYHYEINCLEARPGTDVPTVGGMYVPRYTQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTKG
 SKGERLNSVDLERLYQNMSVWLWNNDTKYRYEEGKEDELGFKTFTFLNCYANDAYAGGTKCSADLKKSVDNNMIY
 GDGSSKAGMMNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKYPGVSAGESVTENISLYSNPTKWFAGNMQST
 GLWAPAQDVTIKSSASVPTVVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYLEANGEVTFKVPYGGLIYIKGDSKD
 DVSANFTFTGVVKAPFYKDGEWKNLDSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDTFASSMNDY
 GRNDEDGKHRMFTYKNLTGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWAVGHNAETPL
 NVPGATEVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLDESNGQAWARGGAGDRLLMYAQLKEWAENFDIKQWY
 PDGELPKFYSDRKGKGNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASWVAQADLSEFFKKWNP
 GASAYQLPGATEMSFQGGVSSSAYSTLASLKLKPKEKGPETINKVTEHKMSAE

SEC ID N° 77

DTPSVDSGSGTLPEVKPDPTPPEPTPEPTPDPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTLLGSQRVTGATCNG
 ESSDGFTFTPGNTVSCVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQELANSENKTKNAISLVTSSDSCPADA
 EQCLCTFSSVVDRARFEKLYKQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTTEGTKPDLNASFVSANA
 EQFYQYQPTEIIILSEGQLVDSLGNVAGVDDYTNSGRGVTDENKGFSFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALT
 ELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPPDDVRKVAEYPNVINEIIINLSLSNGATLDEGDQNVVLPNEFIEQFK
 TGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKLGVDTNYQSVSKFHFDSTNFYGSTGNARGQA
 VVNISNSAFAPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVTRDTATFNLPIISLGQVGEKLMVIG
 NPHYNSILRCPNGYSWGGGVNSKGECTLSDSDDMKHFMQNVRLYLSNDIWPNTKSIMTVGTLNENVYFKKAGQV
 LGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYQDNLNPEEPLLILNGFEYVTQWSGDPYAVPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYL
 NKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRATGIWVYERYPAADGAQPP
 YTIDPNTGEVTWKYQDQDNKPKDDPKLEVASFQEEVEGKQVTRYAFIDEAEYTTESLEAAKAKIFEKFPGLQECKD
 STYHYEINCLERRPGTDVPTGGMVPRYQTLNLDADTAKAMVQAADLGNTIQRLYQHELYFRTKGSKGERLNSVD
 LERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFNLCYANDAYAGGTKCSADLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMM
 NPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGSVSAKGESVTENISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQDV
 TIKSSASVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPVTKTYTLEANGEVTFKPYGGLIYIKGDSKDDVSANFTFTG
 VVKAPFYKDGEWKNDLDSPAPILEASAFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDFYGRNDEDGKHR
 MFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFNSTLPTTPLNDWLIW

SEC ID N° 78

TPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTLLGSQRITGATCNG
 SSDGFTFTPGDKTCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVLVTSSNSCPANT
 EQVCLTFSSVIESKRFDSLYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTPDNLNASFVSANA
 EQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSMGNGVGVNYYTSSGRGVTGENGKFNFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIALT
 ELGDEVRGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVPDVVRKVAEYPNVINEIIINLSLSNGEALSEGDQTFERTNEFLEQFE
 SGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINKLGVDKDYKSVTKFHVFDSTNFYGSTGNARGQA
 VVNISNSAFAPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVEPENVTRDTATFNLPIISLGQVGEKLMVIG
 NPHYNSILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVRLYLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQV
 TGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYQDLPQEMPLLIINGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAYL

5

NKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALPY
 TIDSktGEVKWQYQVENKPDDPKLEVASFQLEDVQKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAACAKIFEKFPGLKECKDP
 TYHYEVNCLEYRPGTGPVTGGMVVPQYQTLQSLNADTAKAMVQAADLGNTIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDL
 ERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFNLCYANDAYTGGTQCSDELKKSLVDNNMIYGEKSVNKAGMM
 NPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGERVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEV
 TIESSASVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPVTKTYELKANGEVTFKPYGGLIYIKGNSPQNESAEFTFTG
 VVKAPFYKDGAWSNLPAPILEASAFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDFYGRNDEDGKHR
 MFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFNSTLPTTPLNDWLIW

SEC ID N° 79

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTLLGSQRITGATCNG
 ESSDGFTFTPGDKTCVAGNNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVLVTSSNSCPAD
 TEQVCLTFSSVIESKRFDSLYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTTPGTPDNLNASFVSAN
 AEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSMGNGVGVNYYTSSGRGVTGENGKFNFWGETISFGIDTFELGSVRGNKSTIAL
 TELGDEVRGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVPDVVRKVAEYPNVINEIIINLSLSNGEALSEGDQTFERTNEFLEQF
 ESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNDGQIQGVINKLGVDTNYKSVSKFHFDSTNFYGSTGNARGQ
 AVVNISNSAFAPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVEPENVTRDTATFNLPIISLGQVGEKLMVI
 GNPHYNISILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVRLYLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQ
 VTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYQDLPQEMPLLIINGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQQDVTDLIAY
 LNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPNRVRQRATGIWVYERYPAVDGALP
 YTIDSktGEVKWQYQVENKPDDPKLEVASFQLEDVQKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAACAKIFEKFPGLKECKD
 PTYHYEVNCLEYRPGTGPVTGGMVVPQYQTLQSLNADTAKAMVQAADLGNTIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVD
 LERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFNLCYANDAYTGGTQCSDELKKSLVDNNMIYGEKSVNKAGM
 MNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGERVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKE
 VTIESTASVAVTVALADDLTGREKHEVALNRPPVTKTYELKANGEVTFKPYGGLIYIKGNSPQNESAEFTFT
 GVVKAPFYKDGAWSNLPAPILEASAFVYTPKKNLEASNFTGGVAEFAKDLDFASSMNDFYGRNDEDGKHR
 RMFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFNSTLPTTPLNDWLIW

10

SEC ID N° 80

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPPIPDPPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGGSRVTGATCNG
 ESSDGFTFKPGEDVTCVAGNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKSNAVSLVTSSNSCPANT
 EQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPDLNASFVANA
 EQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALT
 ELGDEVORGANIDQLIHRYSTTGQNTRVPPDDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLGEQEQQVNLNPNEFIEQFN
 TGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKLGVDTNYKSFSKFHVFDSTNFYGSTGNARGQA
 VVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPEVNTRDTATFNLPFISLGQVGEKLMVIG
 NPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNMENVLRLYLSDDKWPDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGV
 TGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLPQEMPLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQDVTDLIAYL
 NKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSFSVNNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPY
 TIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKLEVASFLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAKEKIFAAFPGLKECTNP
 AYHYEVNCLEYRPGTGPVTPGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSSVDL
 ERLYQNMSVWLWNNTSYREEGKNDLGFKTFTEFLNCYANDAYAGGKCSADLKSLVDNNMIYGDGSSKAGMMN
 PSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSEEGQNVTTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVT
 IKSANANVPTVVALADDLGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFKVPGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGV
 VKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFYTTPKKLNNASNYTGLEQFANDLTFASSMNDFHGRDSEDGKHM
 FTYKNLPGHHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLIW

SEC ID № 81

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPPIPDPPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGGSLRVTDITCN
 DESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKSNAVSLVTSSNSCPA
 NTEQVCLFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPDLNASFVSA
 NAEQFYQYQPSEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIA
 LTELGDEVORGANIDQLIHRYSTTGQNTRVPPDDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLDEGEQEQQVNLNPNEFIEQ
 FKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKLGVDTNYKSFSKFHVFDSTNFYGSTGNARG
 QAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPEVNTRDTATFNLPFISLGQVGEKLMV
 IGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNMENVLRLYLSDDKWPDAKASMTVGTNLDTVYFKRH
 QVTGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLPQEMPLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQDVTDLIA
 YLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSFSVNNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGAL
 PYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKLEVASFLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAKEKIFAAFPGLKECT
 NPAYHYEVNCLEYRPGTGPVTPGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSCV
 DLERLYQNMSVWLWNNTSYREEGKNDLGFKTFTEFLNCYANDAYAGGKCSADLKSLVDNNMIYGDGSSKAGM
 MNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSEEGQNVTTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKE
 VTIKSANANVPTVVALADDLGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFKVPGGLIYIKGNSSTNESASFTFT

5

GVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFYTTPKKLNNASNYTGLEQFANDLTFASSMNDFYGRDSEDGKH
 RMFTYKNLPGHHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLIW

SEC ID № 82**SEC ID № 83**

10

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPPIPDPPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGGSLRVTDITCN
 DESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKSNAVSLVTSSNSCPA
 NTEQVCLFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPDLNASFVSA
 NAEQFYQYQPSEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIA
 LTELGDEVORGANIDQLIHRYSTTGQNTRVPPDDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLDEGEQEQQVNLNPNEFIEQ
 FKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTRNVNDGQIQGVINKLGVDTNYKSFSKFHVFDSTNFYGSTGNARG
 QAVVNISNAAFPILMARNDKNYLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPEVNTRDTATFNLPFISLGQVGEKLMV
 IGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNMENVLRLYLSDDKWPDAKASMTVGTNLDTVYFKRH
 QVTGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLPQEMPLILNGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLQDVTDLIA
 YLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSFSVNNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGAL
 PYTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKLEVASFLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAKEKIFAAFPGLKECT
 NPAYHYEVNCLEYRPGTGPVTPGGMYVPQYTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRNGRKGERLSSV
 DLERLYQNMSVWLWNNTSYREEGKNDLGFKTFTEFLNCYANDAYAGGKCSADLKSLVDNNMIYGDGSSKAGM
 MNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSEEGQNVTTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKE
 VTIKSANANVPTVVALADDLGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFKVPGGLIYIKGNSSTNESASFTFT
 GVVKAPFYKDGAWKNDLNSPAPLGELESDAFYTTPKKLNNASNYTGLEQFANDLTFASSMNDFYGRDSESGKH
 RMFTYKNLPGHHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLIW

SEC ID N° 84

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTEPEPEPVPTKTGYLTLLGSSLRVTDITCN
DESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKSNAISLVTSMNSCPA
NTEQVCLEFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATTPGTKPDLNASFVSA
NAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGDGVGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIA
LTELGDEVORGANIDQLIHYRSKAGQNHTRVPDEVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLGEQEQQVNLNPNEFIEQ
FKTGQAKEIDTAICAKTDCNEARWFSLTRNVNDGKIQGVINKLWGVDTNYSKSVSKFHFDSTNFYGTGARNARG
QAVVNISNAAFPILMARNDKNWLAFLGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRETATFNLPFISLGQVGDGKLMV
IGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNMENVLRYLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHG
QVTGNSAAFDFHPDFAGISVEHLLSYGDLDPQEMPLIILNGFEYVTQVGNDPYAPIPLRADTSKPKLTQDVTDLIA
YLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPNRVRQRSTPIWVYERYPAVDGKP
PYTIDDTKEVIWKYQQENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPESLAAAKQRILDAFPGLEVCK
DSDYHYEVNCLEYRPGLDVPVTGGMYVPQYTQDLSADTAKAMLQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRQGERLNSV
DLERLYQNMWSVWLWNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYTNAYVGTQCSAELKSLIDDNKMIYGEESSKAGMM
NPSYPLNMEKPLTRMLGRSWWDLNIKVDVEKYPGVNTNGETVTQNIINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEV
SIESKATVPVTVALADDLTLGREKHEVSLNRRPRVTKTYDLKANDKVTFKVPGGLIYIKGDSKEVQSADFTFTG
VVKAPFYKDGKQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTGGLEQFANDLTFASSMNDFYGRDSEDGKHR
MFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLIW

SEC ID N° 85

5 DTPSVDSGSGTLPEVKPDPTPTPEPTPEPTPDPEPTPDPTPDPEPTPEPPEPEPVPTKTGYLTLLGGSQRTGATC
NGESSDGFTFTPGNTVSCVVGSTTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQELANSENKKTNAISLVTSSDSCPA
DAEQLCLTFSSVVDRARFEKLYQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTTEGTPKDLNASFVSA

NAEQFYQYQPTEIILSEGQLVDSLGNVAGVDYYTNSGRGVTDENKGFSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIA
LTELGDEVORGANIDQLIHYRSTGQNNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLDEGDQNVVLNPNEFIEQ
FKTGQAKEIDTAICAKTNGCNEARWFSLTRNVNDGKIQGVINKLWGVDTNYSKSVSKFHFDSTNFYGTGARNARG
QAVVNISNAAFPILMARNDKNWLAFLGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVTRDTATFNLPFISLGQVGDGKLMV
IGNPHNSILRCPNGYSWNGGVNSKGECTLSDGSDDMKHMFMQNVLRYLSNDIWPQNTKSIMTGTNLENVYFKKAG
QVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLPPEEIPPLIILNGFEYVTQWSDPYAVPLRADTSKPKLTQDVTDLIA
YLNKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRREKGIVWVYERYPFVDGKP
PYTIDETTKEVIWKYQQDNKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQVCRYAFIDEAEHETNESLEAAKAKIIKAFPGLEECK
DPTYHYEVNCLEYRPGLDVPVTGGMYVPRTQDLSADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRQGERLSSV
DLERLYQNMWSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTEFLNCYANDAYTKGTLCSAELKOSLIDDNKMIYGEESSKAGMM
NPSYPLNMEKPLTRMLGRSWWDLNIKVDVEKYPGAVSVGGEVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEV
TIKSANVPVTVALADDLTLGREKHEVALNRRPRVTKTYSLDASGTVFKVPGGLIYIKGNSSTNESASFTFTG
VVKAPFYKDGKQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTGGLEQFAKLDTFASSMNDFYGRNDEDGKHR
MFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLIW

SEC ID N° 86

10 DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTEPIPDPEPTPEPPEPVPTKTGYLTLLGGSQRTGATCNG
ESSDGFTFKPGEDVTCVAGNNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKSNAISLVTSSNSCPANT
EQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKDLNASFVSA
EQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYYTNSGRGVTGENGEFSFWGEAISFGIDTTELGSVRGNKSTIALT
ELGDEVORGANIDQLIHYRSTTQNNTRVPDDVRKVFAEYPNVINEIIINLSLSNGATLGEQEQQVNLNPNEFIEQFN
TQGQAKEIDTAICAKTDCNEARWFSLTRNVNDGKIQGVINKLWGVDTNYSKSVSKFHFDSTNFYGTGARNARGQA
VWNISNAAFPILMARNDKNWLAFLGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPNVTRETASFNLPFISLGQVGDGKLMVIG
NPHNSILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNMENVLRYLSNDRWPDAKSSMTVGTNLETVYFKKHGQV
LGNSAPFAFHDKFTGITVKPMTSYGNLNPDDEVPLLIILNGFEYVTQWSDPYSIPLRADTSKPKLTQDVTDLIAYM
NKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRSTPIWVYERYPAVDGKPPY
TIDDTTKEVIWKYQQENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPESLAAAKQRILDAFPGLEVCKDS
DYHYEVNCLEYRPGLDVPVTGGMYVPQYTQDLSADTAKAMLQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRQGERLNSV
DLERLYQNMWSVWLWNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYTNAYVGTQCSAELKSLIDDNKMIYGEESSKAGMMNP
SYPLNMEKPLTRMLGRSWWDLNIKVDVEKYPGVNTNGETVTQNIINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSI
ESKSTVPVTVALADDLTLGREKHEVSLNRRPRVTKTYDLKANDKVTFKVPGGLIYIKGDSKEVQSADFTFTG
VVKAPFYKDGKQHDLNSPAPLGELESASFVYTPKKNLNASNYTGGLEQFANDLTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMF
TYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLIW

SEC ID N° 87

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGSQRVTGATCNG
 ESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSLVTSSNSCPAN
 TEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKPDLNASFVSA
 AEQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSMGNGVGVNVYNTSSGRGVTGENGFNFWSGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIAL
 TELGDEVRGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVDVVRKFAAYPNVINEIINLSNGEALSEGDQTFERTNEFLEQF
 ESGQAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNNEGQIQGVINKLGVDKDYKSVTKFHFDSTNFYGSTGNARGQ
 AVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVRTDTATFNLPFISLGQVGEKLMVI
 GNPHYNISILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHFMQNVLRYLSNDKWPDAKASMTVGTNLDTVYFKRHQ
 VTGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLDQKMPPLLILNGFEYVTQVGGDPYAVPLRADTSKPQLSQDVTDLIA
 LNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRRSTPIWVYERYPAVDGKPP
 YTIDSKTGTWKYQIDNPDKPKLEVASWQEEVDGKQVTQFADHKTTESDAAKKILEFKGLEECKD
 STYHYEINCLEYRPGTVPATGGMYVPRYQNLNSADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVD
 LERLYQNMSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSVNKAGM
 MNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSEEGQEVTESISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKE
 VTIKSADVPTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYELKANGEVKFTVPGGLIYIKGNSKENNKASFT
 TGVVKAPFYKNGAWKNALNSPAPLGELESADFVYTPKKNLEASNFTGGVAFAKDLTFASSMNDFYGRNDEDGK
 HRMFYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTPLNDWLIW

SEC ID N° 88

5

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGSQRVTGATCNG
 ESSDGFTFKPGEDVTCVAGNNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLVTSSNSCPANT
 EQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKPDLNASFVSA
 EQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNVYNTNSGRGVTGENGEFSFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIAL
 ELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPPDDVRKFAEYPNVINEIINLSLNGATLGEQEQQVNLNEFIEQFN
 TGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLGVDTNYKSVSKFHFDSTNFYGSTGNARGQA
 VVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVRTDTATFNLPFISLGQVGDGKLMVIG
 NPHYNISILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMDENVLRYLSNDRWPDAKSNMTVGTNLDTVYFKHGQ
 TGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNPQYAIPLRADTSKPQLTQDVTDLIA
 YM

NKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSALNKSVVNNDPQGYPDRVRQRRSTPIWVYERYPAVDGKPP
 TIDDTTKEVIWKYQQENKPDCKPLEVASWQEEVEGKQVTQFADHKTPESLAAKKRILDAPGLLEECKDS
 DYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVPQYTQSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDL
 ERLYQNMSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFEFLNCYANNAYDGGTQCSAELKQSLDNKMIYGEGSKAGMMNP
 SYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSAECEEVTETINLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEVSI
 KSNAKVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFKVPGGLIYIKSDSKEEKSANFTFTGV
 KAPFYKDGVKNDLKSPAPLGELESASFVYTPKKNLEASNKGGLQFAEDLDTFASSMNDFYGRDGESGKHRMF
 TYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLIW

SEC ID N° 89

10

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGSQRVTGATCNG
 ESSDGFTFKPGEDVTCVAGNNTTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDDKKSNAVSLVTSSNSCPANT
 EQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGTPKPDLNASFVSA
 EQFYQYQPTEIIILSEGRLVDSQGYGVAGVNVYNTNSGRGVTGENGEFSFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIAL
 ELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNNTRVPPDDVRKFAEYPNVINEIINLSLNGATLGEQEQQVNLNEFIEQFN
 TGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLGVDTNYKSVSKFHFDSTNFYGSTGNARGQA
 VVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVRTDTATFNLPFISLGQVGEKLMVIG
 NPHYNISILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMDENVLRYLSDDKWPDAKASMTVGTNLDTVYFKHGQ
 TGNSAAFDFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNPQYAIPLRADTSKPQLTQDVTDLIA
 YL
 NKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSALNKSVVNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPY
 TIDSKTGEVKWQYQVENKPDCKPLEVASWLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAKEKIFAAFPGKECTNP
 AYHYEVNCLEYRPGTVPTGGMYVPQYTQSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDL
 ERLYQNMSVWLWNTSYREEGKNDLGKTFTEFLNCYANDAYAGGKCSADLKKSLVDNNMIYGDGSSKAGMMN
 PSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKPGAVSEEGQNVETETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVT
 IKSANVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYSLDASGTVKFKVPGGLIYIKGNSSTNESASFTFTGV
 VKAPFYKDGVKNDLKSPAPLGELESADFVYTPKKNLNASNTGGLQFANDLDTFASSMNDFYGRDSEDGKHRMF
 FTYKNLPGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTPLNDWLIW

SEC ID N° 90**SEC ID N° 91**

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGSQRITGATCNG
 ESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVSLVTSSNSCPAD
 TEQVCLTFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATTGKPDLNASFVSA
 AEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGYGVAGVNYTNSGRGTGENGEFSFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIAL
 TELGDEVORGANIDQLIHRYSSTGQNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNVVLPNEFIEQF
 KTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLGVDKDYKSVTKEFHVFDSTNFYGSTGNARGQ
 AVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVQOPENVTRTDTATFNLPFISLGQVGEKLMVI
 GNPHYNISILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLSDGSDDMKHFMQNVLRYLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQ
 VTGNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIANGFEYVTQVGNDPYAIPLRADTSKPKLTQQDVTDLIAY
 LNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVVNTDPQGYPNRVRQQREKGIVWVYERYPAVDSAQP
 PYTIDPDTGKVTKWYQEEGKPDCKPKLEVASWQEDVDGKQVTRYAFIDEAEHSTEESLEAAKAKIFEKFPGLOECK
 DSTYHYEINCLERRPGTDVPVTGGMYVPRYTQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSV
 DLERLYQNMWSVWLWNKIEYRYENDKDELGFKTFTEFLNCYANNASEGTQCSADLKSLVDNNMIYGDGSSKAGM
 MNPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGAVSAEGEKVTETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQE
 VTIESTASVPVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYDLKANDKVTFKVPGGLIYIKGNSPKNESAEFTFT

5

GVVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDFSFTVYTAPEKNNLNASNNSNYTDGVAFAKELDTFASSMNDFYGRDGES
 GNHRMFTYKALTGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLIW

SEC ID N° 92

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNPEPTPEPTPDPEPTPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKTGYLTLLGSLRVTGDITCN
 DESSDGFTFTPGDKVTCVAGNNTTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAGSDNKKSNALSLVTSMNSCPA
 NTEQVCLFSSVIESKRFDSLKYKQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPATTGKPDLNASFVSA
 NAEQFYQYQPTEIILSEGRLVDSQGDGVGVNYTNSGRGTGENGEFSFSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIA
 LTELGDEVORGANIDQLIHRYSKAGQNHTRVPDEVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLGEQEQQVNVLPNEFIEQ
 FKTGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDGQIQGVINKLGVDTNYKSVSKFHVFHDSTNFYGSTGNARG
 QAVVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVROPENVTRETATFNLPFISLGQVGDGKLMV
 IGNPHYNISILRCPNGYSWNGGVNKDGQCTLNSDPDDMKNFMENTRLYLSNDRWLPDAKSSMTVGTNLDTVYFKKHG
 QVLGNSAPFAFKDFTGITVKPMTSYGNLPDEVPLILNGFEYVTQWGSDPYSIPLRADTSKPKLTQQDVTDLIAY
 YMNKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLSMALNKSVNNDPQGYPDRVRQRRSTPIWVYERYPAVDGKP
 PYTIDDTTKEVIWKYQQENKPDCKPKLEVASWQEEVEGKQVTQFAFIDEADHKTPESLAAKQRIILDAPGLEVCK
 DSDYHYEVNCLEYRPGTGPVTGGMYVPQYTQDLGADTAKAMLQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGLQGERLNSV
 DLERLYQNMWSVWLNETKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYTNNAVGTQCSAELKKSLIDNKMIVGEESSKAGMM
 NPSYPLNYMEKPLTRMLGRSWWDLNKVDVEKYPGVNTNGETVTQNIINLYSAPTKWFAGNMQSTGLWAPAQQEV
 SIESKATVPVTVALADDLTGREKHEVSLNRPVTKTYDLKANDKVTFKVPGGLIYIKGDSKEVQSADFTFTG
 VVKAPFYKDGMQHDLNSPAPLGELESASVYTTPKKNLNASNNTGGLEQFANDLDTFASSMNDFYGRDSEDGKHR
 MFTYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLIW

10

SEC ID N° 93

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTLLGSQRVTGATCNGES
 SDGFTFTPGEDVTCVAGNTIATFDTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDDKKSNAVLVTSSNSCPANTEQ
 VCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPDLNASFVSNAAEQ
 FYQYQOPTEIISEGRLVDSMGNVGVGVNYTSSGRGVGTGENGFNFNSWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALTEL
 GDEVRGANIDQLIHRYSQAGKNDEREVPDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGEALSEGDQTFERTNEFLEQFESG
 QAKEIDTAICDSLGGCNSQRWFSLTARNVNEGQIQGVINKLGVDKDYKSVTKFHVFDSTNFYGTGNARGQAVV
 NISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSLVEPENVRTDTATFNLPFISLGQVGEKLMVIGNP
 HYNSILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHMQNVLRLSDDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQVTG
 NSAEGFHPDFAGISVEHLSSYGDLPQEMPLLILNGFEYVTQVGNPQYAIPLRADTSKPFLTQQDVTDLIAYLNK
 GGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSMALNKSVVNNDPQGYPNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALPYTI
 DSKTGEVKWKYQVENKPDFDKPLEVASWLEDVDGKQETRYAFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFEKFPGLKECKDPTY
 HYEVNCLEYRPGTVTGGMYVQYTQLSLNADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLER
 LYQNMSVWLWNKIEYYENDKDELGFKTFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKKSVDNNMIYGEKSVNKAGMMNP
 SYPLNMYMEKPLTRMLGRSWDLNIKVDVEKYPGAVSAEGERVETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEVTI
 ESSASVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYDLKANDKVTFKVPYGGLIYIKGNSPKNESAEFTFTGVV
 KAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDAFVYTTPKNLEASNFTGGVAEFAKDLTFASSMNDFYGRNDEDGKHRMF
 TYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTPLNDWLIW

SEC ID № 94

DTPPVDSGTGSLPEVKPDPTPNEPTPEPTPDPEPTPEPIPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTLLGSQRVTGATCNG
 ESSDGFTFTPGEDVTCVAGNTIATFNTQSEAARSLRAVEKVSFSLEDAQELAASDNKKSNAVLVTSSNSCPADT
 EQVCLTFSSVIESKRFDSLKYQIDLAPEEFKKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSPVVPVTPGKPDLNASFVANA
 EQFYQYQOPTEIISEGRLVDSQGYGVAGVNYTNSGRGVGTGENGEFSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALT
 ELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGEQVNVLPNEFIEQFK
 TGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLGVDTSYKSVSKFHVFDSTNFYGTGNARGQA
 VVNISNAAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIVRPENVTRETATEFNLPFISLGQVKGKLMVIG
 NPHYNSILRCPNGYSWEGGVDKNGQCTRNSDSNDMKHMQNVLRLSNDKWTDAKASMTVGTNLDTVYFKRHGQV
 TGNSAEFGHPDFAGISVEHLSSYGDLPQKMPILLINGFEYVTQVGGDPYAVPLRADTSKPFLTQDVTDLIAYM
 NKGGSVLIMENVMSNLKEESASGFVRLDAAGLMSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQQRATGIWVYERYPVVEGELPY
 TIDSKTGKVTWKYQIDNPKDPPKLEVASWQEEVDGKQVTQFAFIDEADHKTTESLDAAKKILEKFGLEECKDS
 TYHYEINCLEYRPGTVTGGMYVPRYTQLNLADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDL
 ERLYQNMSVWLWNEIEYSYDSSKEDELGFKTFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKKSVDNNMIYGEKSVNKAGMM
 NPSYPLNMYMEKPLTRMLGRSWDLNIKVDVEKYPGAVSAEGERVETISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQKEV
 TIESSASVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPKVTKTYDLKANDKVTFKVPYGGLIYIKGNSPKNESAEFTFTG
 VVKAPFYKDGEWKNALNSPAPLGELESDAFVYTTPKNLEASNFTGGVAEFAKDLTFASSMNDFYGRNDEDGKHR
 MFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTPLNDWLIW

5

SEC ID № 95

DTPSVDSGSGTLPEVKPDPTPPEPTPEPTPDPEPTPDPEPTPEPEPEPVPTKGYLTLLGSQRVTGATCNG
 ESSDGFTFTPGNTVSCVGSTIATFNTQSEAARSLRAVDKVSFSLEDAQELANSENKTKNAISLVTSSDSCPADA
 EQLCLTFSSVVDRARFEKLYQIDLATDNFSKLVNEEVENNAATDKAPSTHTSTVVPVTEGTPDLNASFVANA

EQFYQYQOPTEIISEGQLVDSLNGVAGVYYTNSGRGVTDENGKFSFWGETISFGIDTTELGSVRGNKSTIALT
 ELGDEVRGANIDQLIHRYSTTGQNTRVVPDDVRKVFAEYPNVINEIINLSLSNGATLDEGDQNVLPNEFIEQFK
 TGQAKEIDTAICAKTDGCNEARWFSLTTRNVNDQIQGVINKLGVDTSYQSVSKFHVFDSTNFYGTGNARGQA
 VVNISNSAFPILMARNDKNYWLAFGEKRAWDKNELAYITEAPSIQOPENVTRDTATFNLPFISLGQVGEKLMVIG
 NPHYNSILRCPNGYSWGGGVNSKGECTLSGDSDDMKHMQNVLRLSNDIWPNTKSIMTVGTNLENVYFKKAGQV
 LGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLPPEEIPLLILINGFEYVTQWSGDPYAVPLRADTSKPFLTQDVTDLIAYL
 NKGGSVLIMENVMSNLKEESASSFVRLDAAGLMSMALNKSVVNNDPQGYPDRVRQQRATGIWVYERYPAADGAQPP
 YTIDPNTGEVTWKYQQDNKPDDPKLEVASWQEEVEGKQVTRYAFIDEAEYTTESLEAAKAKIFEKFPGLQECKD
 STYHYEINCLERRPGTDVPTGGMYVPRYTQLNLDADTAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTKGSKGERLNSVD
 LERLYQNMSVWLWNTDKYRYEEGKEDELGFKTFTEFLNCYANDAYAGGTKCSADLKKSVDNNMIYGDGSSKAGMM
 NPSYPLNMYMEKPLTRMLGRSWDLNIKVDVEKYPGGSVSAKGESVTENISLYSNPTKWFAGNMQSTGLWAPAQDV
 TIKSSASVPVTVTVALADDLTGREKHEVALNRPPRVTKTYTLEANGEVTFKVPYGGLIYIKGDSKDDVSANFTFTG
 VVKAPFYKDGEWKNLDSPAPLGELESASFVYTTPKNLEASNFTGGVAEFAKDLTFASSMNDFYGRNDEDGKHR
 MFTYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTPLNDWLIW

10

SEC ID № 96
HEVGHNYGLGH

5 **SEC ID Nº 97**
HEVGHNAAETP

10 **SEC ID Nº 98**
GGAATTCCATATGTGTGATGGTGGTGGTTCA

15 **SEC ID Nº 99**
CCGCTCGAGGTTGTTACCCACCGATT

20 **SEC ID Nº 100**
GGAATTCCATATGGATCCGCAAGGGTATCC

25 **SEC ID Nº 101**
CCGCTCGAGCTCGGCAGACATCTTATG

30 **SEC ID Nº 102**
ACGACTGGCTGATTGGCACGCAGTCGGTCATA

35 **SEC ID Nº 103**
GTGCCAAATCAGCCAGTCGTTCAGCGCGT

40 **SEC ID Nº 104**
GAAGGAGATATACATATGGATACGCCGTCTGTAGATTCTGG

45 **SEC ID Nº 105**
GTGGTGGTGCTCGAGTTACCAAATCAGCCAGTCGTTCAGC

50

55

60

65

Reivindicaciones

- 5 1. Un polipéptido inmunogénico que comprende un polipéptido AcfD (orf 3526) de *E. coli* que comprende una mutación con respecto a la proteína AcfD (orf 3526) de *E. coli* que disminuye la toxicidad del polipéptido inmunogénico en comparación a la proteína AcfD (orf 3526) de *E. coli*, en el que la mutación se selecciona de una delección completa o parte de un dominio de zinquina metaloproteasa y una mutación puntual en el dominio de la zinquina metaloproteasa que reduce la actividad de la proteasa y en el que polipéptido inmunogénico mejora una respuesta inmunitaria sustancialmente similar en un sujeto como la proteína AcfD (orf 3526) de *E. coli*.
- 10 2. El polipéptido inmunogénico según la reivindicación 1, en el que la proteína AcfD (orf 3526) de *E. coli* tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SECs ID Nº 1 – 19.
- 15 3. El polipéptido inmunogénico según cualquiera de las reivindicaciones 1 – 2, en el que la mutación puntual es una mutación de un residuo de unión a zinc o una mutación de un residuo catalítico.
- 20 4. El polipéptido inmunogénico según cualquiera de las reivindicaciones 1 – 3, en el que el residuo de unión a zinc es el aminoácido número 1305 en base al alineamiento con la SEC ID Nº 1.
- 25 5. El polipéptido inmunogénico según cualquiera de las reivindicaciones 1 – 4, en el que el polipéptido inmunogénico no comprende, al menos, los últimos 100 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 200 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 300 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 400 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 500 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 600 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 700 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los últimos 750 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los últimos 758 aminoácidos C – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* o no comprende, al menos, los primeros 100 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 200 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 300 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 400 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 500 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 600 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 700 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 750 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos los primeros, 760 aminoácidos N – terminales de la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.
- 30 6. El polipéptido inmunogénico según cualquiera de las reivindicaciones 1 – 4, en el que el fragmento de polipéptido inmunogénico comprende una secuencia de aminoácidos que comprende:
- 40 (a) la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo entre las SECs ID Nº 20 a 38, 58 a 76 y 77 a 95;
- 45 (b) de 1 a 10 alteraciones individuales de aminoácidos en comparación con las SECs ID Nº 20 a 38, 58 a 76 y 77 a 95;
- 50 (c) al menos el 85 % de identidad de secuencia de cualquiera de las SECs ID Nº 20 a 38, 58 a 76 y 77 a 95; o
- 55 (d) cuando se alinea con cualquiera de las SECs ID Nº 20 a 38, 58 a 76 y 77 a 95 utilizando un algoritmo de alineamiento por pares, cada ventana móvil de x aminoácidos desde N – terminal a C – terminal tiene al menos xy aminoácidos alineados idénticos, donde x es 30; e y es 0,75, en el que el fragmento de polipéptido inmunogénico mejora una respuesta inmune sustancialmente similar en un sujeto como la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.
- 60 7. El polipéptido inmunogénico según cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, en el que el polipéptido inmunogénico contiene además una delección con respecto a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* que aumenta la solubilidad del polipéptido inmunogénico en comparación con la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli* en la que la delección es la supresión de sustancialmente todos los aminoácidos N – terminales hasta la región gly – ser, la supresión completa o una parte de la repetición rica en prolina N – terminal, o ambos.
- 65 8. El polipéptido inmunogénico de la reivindicación 7, en el que la delección es la supresión de, al menos, los primeros 20 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 30 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 38 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 40 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 50 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 60 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*,

- de *E. coli*, al menos, los primeros 70 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 80 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, al menos, los primeros 90 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*, o al menos, los primeros 94 aminoácidos N – terminales en comparación a la proteína AcfD (orf3526) de *E. coli*.
- 5 9. El polipéptido inmunogénico de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 8 en el que el polipéptido inmunogénico es aislado, purificado o recombinante.
- 10 10. El polipéptido inmunogénico de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 9 que comprende además un adyuvante.
- 15 11. Un polinucleótido que codifica el polipéptido inmunogénico de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 7.
- 16 12. Una célula de *E. coli*, que contiene un plásmido que codifica el polipéptido inmunogénico de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 7.
- 20 13. Un componente de vacuna que comprende un polipéptido inmunogénico de la reivindicación 9.
- 21 14. Una vacuna que comprende un componente de vacuna de la reivindicación 13.
- 22 15. La vacuna de la reivindicación 14 que comprende además un adyuvante.
- 25 16. La vacuna de la reivindicación 14 o la reivindicación 15 que comprende además un componente de vacuna adicional seleccionado entre: un antígeno de *Neisseria meningitidis*, un antígeno de *Streptococcus pneumoniae*, un antígeno de *Streptococcus pyogenes*, un antígeno de *Moraxella catarrhalis*, un antígeno de *Bordetella pertussis*, un antígeno de *Staphylococcus aureus*, un antígeno de *Staphylococcus epidermidis*, un antígeno de *Clostridium tetan*, un antígeno de *Corynebacterium diphtheriae*, un antígeno de *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib), un antígeno de *Pseudomonas aeruginosa*, un antígeno de *Legionella pneumophila*, un antígeno de *Streptococcus agalactiae*, un antígeno de *Neisseria gonorrhoeae*, un antígeno de *Chlamydia trachomatis*, un antígeno de *Treponema pallidum*, un antígeno de *Haemophilus ducreyi*, un antígeno de *Enterococcus faecalis*, un antígeno de *Enterococcus faecium*, un antígeno de *Helicobacter pylori*, un antígeno de *Staphylococcus saprophyticus*, un antígeno de *Yersinia enterocolitica*, un antígeno adicional de *E. coli*, un antígeno de *Bacillus anthracis*, un antígeno de *Yersinia pestis*, un antígeno de *Mycobacterium tuberculosis*, un antígeno de *Rickettsia*, un antígeno de *Listeria monocytogenes*, un antígeno de *Chlamydia pneumoniae*, un antígeno de *Vibrio cholerae*, un antígeno de *Salmonella typhi*, un antígeno de *Borrelia burgdorferi*, un antígeno de *Porphyromonas gingivalis*, y un antígeno de *Klebsiella*.
- 30 17. Una composición inmunogénica que comprende un polipéptido inmunogénico de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 9.
- 31 18. La composición inmunogénica de la reivindicación 17, que comprende además un adyuvante.
- 35 19. La composición inmunogénica de la reivindicación 18, en la que el adyuvante comprende (a) 1 – 12 % en volumen de un aceite metabolizable, y (b) de 0,2 % a 2,5 % en peso de un agente emulsionante, en el que el aceite metabolizable del agente emulsionante está presente en forma de emulsión de aceite en agua con gotas de aceite sustancialmente inferiores a 1 micra de diámetro.
- 40 20. La composición inmunogénica de la reivindicación 18, en la que el adyuvante comprende un 4 – 5 % en peso de escualeno, y (b) un 1 % de un agente emulsionante que comprende polioxietilensorbitán monooleato y trioleato de sorbitán, en el que el escualeno y el agente emulsionante están presentes en forma de una emulsión de aceite en agua con gotas de aceite sustancialmente inferiores a 1 micra de diámetro.
- 45 21. Una vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 14 – 16, o una composición inmunogénica según cualquiera de las reivindicaciones 17 – 20 para su uso en un método para inducir una respuesta inmune contra *E. coli*, en el que el método comprende la administración de dicha vacuna o composición inmunogénica a un sujeto.
- 50 60

FIGURA 1

ES 2 526 996 T3

ES 2 526 996 T3

ES 2 526 996 T3

	640	650	660	670	680	690	700
SEQID3	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID4	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID12	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID16	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID5	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID14	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID6	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID8	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID9	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAEFGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID11	GTNLLETVYFKKHGQVLGNSAPFAFHAKDFTGITVKPMTSYGNLNPDEVPLLILNGFEYVTQWSDPYSIPL						
SEQID7	GTNLDTVYFKKHGQVLGNSAPFAFHAKDFTGITVKPMTSYGNLNPDEVPLLILNGFEYVTQWSDPYSIPL						
SEQID13	GTNLDTVYFKKHGQVTGSNSAAGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID15	GTNLDTVYFKKHGQVTGSNSAAGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
SEQID2	GTNLENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLILNGFEYVTQWSDPYSAVPL						
SEQID10	GTNLENVYFKKAGQVLGNSAPFAFHEDFTGITVKQLTSYGDLNPEEIPLLILNGFEYVTQWSDPYSAVPL						
PRIM-CONS.	*****:*****: *** *** * ** :***:***:*****:*****:***** ..*****:***						
	GTNLDTVYFKRHGQVTGSNSAAGFHPDFAGISVEHLSSYGDLDQEMPLLIILNGFEYVTQVGNNDPYAIP						
	710	720	730	740	750	760	770
SEQID3	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID4	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID12	RADTSKPPLSQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID16	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID5	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID14	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID6	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID8	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID9	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID11	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYMNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID7	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYMNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID13	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYMNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID15	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYMNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID2	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYMNKGGSVLIHENVMSNLKEESASSFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
SEQID10	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYMNKGGSVLIHENVMSNLKEESASSFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
PRIM-CONS.	*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****						
	RADTSKPPLTQQDVTDLIAYLNKGGSVLIHENVMSNLKEESASGFVRLLDAAGLSMALNKSVVNNDPQGY						
	780	790	800	810	820	830	840
SEQID3	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALP-YTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETRY						
SEQID4	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALP-YTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETRY						
SEQID12	PDRVRQRRAATGIWVYERYPVVEGELP-YTIDSKTGVTKWYQIDNKPDDPKPLEVASWQEEVDGKQVTFQ						
SEQID16	PNRVRQQREKGIGWVYERYPAVDSAQPPYTIDPDTGKVTWYQEEGKPDPPDKPKLEVASWQEDVDGKQVTRY						
SEQID5	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALP-YTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETRY						
SEQID14	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALP-YTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETRY						
SEQID6	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALP-YTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETRY						
SEQID8	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALP-YTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWLEDVDGKQETRY						
SEQID9	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGKPP-YTIDDTTKEVIWKYQDENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTFQ						
SEQID11	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGKPP-YTIDDTTKEVIWKYQDENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTFQ						
SEQID7	PDRVRQRRSTPIWVYERYPAVDGKPP-YTIDDTTKEVIWKYQDENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTFQ						
SEQID13	PDRVRQRRSTPIWVYERYPAVDGKPP-YTIDDTTKEVIWKYQDENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTFQ						
SEQID15	PDRVRQRRSTPIWVYERYPAVDGKPP-YTIDDTTKEVIWKYQDENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTFQ						
SEQID2	PDRVRQRRATGIWVYERYPAADGAQPPYTIDPNTGEVTWYQDENKPDDPKPLEVASWQEEVEGKQVTRY						
SEQID10	PDRVRQREKGIGWVYERYPFVG-KPPYTIDETTKEVIWKYQDENKPDDPKPLEVASWQEDVDGKQVTRY						
PRIM-CONS.	*****:*****: . *****: . * ****: * :****: .****:*****:*****:*****: . :						
	PNRVRQQRATGIWVYERYPAVDGALP-YTIDSKTGEVKWKYQVENKPDDPKPLEVASWQEDVDGKQVTRY						

ES 2 526 996 T3

	850	860	870	880	890	900	910
SEQID3	AFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFEFKFPGLKECKDPTHYHEVNCLERYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID4	AFIDEADHKTEDSLKAAKAKIFEFKFPGLKECKDPTHYHEVNCLERYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID12	AFIDEADHKTTESLDAAKKKILEFKGLEECKDSTHYHEINCLEYRPGTNPATGGMMYVPRYTQLNLSD						
SEQID16	AFIDEAEHSTEESLEAAKAKIFEFKFPGLQECKDSTHYHEINCLERRPGTDVPTGVTGMMYVPRYTQLNLSD						
SEQID5	AFIDEADHKTEDSLKAAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID14	AFIDEADHKTEDSLKAAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID6	AFIDEADHKTEDSLKAAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID8	AFIDEADHKTEDSLKAAKEKIFAAFPGLKECTNPAYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID9	AFIDEADHKTPESLAAAKQRLDAFPGLEVCKDSDYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLDSLSD						
SEQID11	AFIDEADHKTPESLAAAKQRLDAFPGLEVCKDSDYHYEVNCLEYRPGSGVPTGMMYVPQTQLDSLSD						
SEQID7	AFIDEADHKTPESLAAAKQRLDAFPGLEVCKDSDYHYEVNCLEYRPGSGVPTGMMYVPQTQLDSLAD						
SEQID13	AFIDEADHKTPESLAAAKKRILDAFPGLEECKDSDYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID15	AFIDEADHKTPESLAAAKKRILDAFPGLEECKDSDYHYEVNCLEYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
SEQID2	AFIDEAEYTTEESLEAAKAKIFEFKFPGLQECKDSTHYHEINCLERRPGTDVPTGGMYVPRYTQLNLSD						
SEQID10	AFIDEAEHETNESLEAAKAKIKIIFPGLEECKDPTHYHEVNCLERYRPGTNPVPTGGMYVPRYTQLNLSD						
PRIM. CONS.	*****: * *** *** :: * * : . . . *****: ****: . . . *****: ****: . . .						
	AFIDEADHKTEESLKAAKAKIF2AfpGLEECKDSTHYHEVNCLERYRPGTGVPTGGMMYVPQTQLSLNAD						
	920	930	940	950	960	970	980
SEQID3	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID4	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID12	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID16	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID5	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID14	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID6	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID8	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID9	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID11	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID7	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID13	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID15	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID2	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
SEQID10	*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:						
PRIM. CONS.	TAKAMVQAADLGTNIQRLYQHELYFRTNGRKGERLSSVDLERLYQNMsvwlwlnkIEYRYENDKDDDELGFK						
	990	1000	1010	1020	1030	1040	1050
SEQID3	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID4	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID12	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID16	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID5	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID14	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID6	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID8	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID9	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID11	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID7	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID13	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID15	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID2	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
SEQID10	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						
PRIM. CONS.	*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:						
	TFTEFLNCYANDAYTGGTQCSDELKSLVDNNMIYGEKSvnKAGMNNPSYPLNYMEKPLTRLMLGRSWWD						

ES 2 526 996 T3

	1270	1280	1290	1300	1310	1320	1330
SEQID3	TYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID4	TYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID12	TYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID16	TYKALTGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID5	TYKNLPGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID14	TYKNLPGHKHRFTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID6	TYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID8	TYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID9	TYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID13	TYKNLPGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID7	TYKNLTGHKHRFANDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID15	TYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID2	TYEALTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSPNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
SEQID10	TYKNLTGHKHRTNDVQISIGDAHSGYPVMNSSFSTNSTLPTTPLNDWLWIHEVGHNAAETPLTVPGAT						
PRIM.-CONS.	***: *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:						
	1340	1350	1360	1370	1380	1390	1400
SEQID3	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKQWY						
SEQID4	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNNQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID12	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNNQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID16	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNNQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID5	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNNQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID14	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNNQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID6	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID8	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID9	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID11	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID7	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID13	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID15	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID2	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
SEQID10	EVANNVLALYMQDRYLGKMRVADDITVAPEYLEESNGQAUARGGAGDRLMLYAQLKEWAENFDIKWY						
PRIM.-CONS.	*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:						
	1410	1420	1430	1440	1450	1460	1470
SEQID3	PEGD-LPKFYSDREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVGKTKFGERNYCAESNGNAADKLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID4	PEGN-LPKFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVGKTKFGERNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSA						
SEQID12	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGGRNYCAESNGNTADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID16	PDGE-LPKFYSDRKGMKGWNLFQLMHRKARGDDVSNDKFGGGRNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID5	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID14	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID6	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID8	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID9	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID13	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID7	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID15	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVSNDKFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID2	PDGE-LPKFYSDRKGMKGWNLFQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
SEQID10	PDGK-LPAFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDDVGNSTFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						
PRIM.-CONS.	***: ***:*****:*****:***.. ***:*****:***:*****:***						
	PDGTPLPFYSEREGMKGWNLFLQLMHRKARGDEVGNDFGGKNYCAESNGNAADTLMLCASUVAQTDLSE						

	1480	1490	1500	1510	1520	1530
SEQID3	FFKKUNPGANAYQLPGASEMNFE GGVSQSAYETLAALNLPKPQQGPETINQVTEHKMSAE					
SEQID4	FFKKUNPGANAYQLPGASEMNFE GGVSQSAYETLAALNLPKPQQGPETINKVTEYSMPAE					
SEQID12	FFKKUNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPLPKKQQGPETINKVTEYSMPAE					
SEQID16	FFKKUNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLAAMHLSKPEKQQGPETINKVTEYSMPAE					
SEQID5	FFKKUNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPLPKPQQGPETINQVTEHKMSAE					
SEQID14	FFKKUNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPLPKPQQGPETINQVTEHKMSAE					
SEQID6	FFKKUNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLKLPLPKPQQGPETINKVTEHKMSVE					
SEQID8	FFKKUNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYSTLASLKLPLPKPQQGPETINKVTEHKMSLE					
SEQID9	FFKKUNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLKLPLPKPQQGPETINKVTEHKMSVE					
SEQID11	FFKKUNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPLPKPQQGPETINQVTEHKMSAE					
SEQID7	FFKKUNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYSTLASLKLPLPKPQQGPETINKVTEHKMSLE					
SEQID13	FFKKUNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPLPKKQQGPETINKVTEYSMPAE					
SEQID15	FFKKUNPGANAYQLPGATEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPLPKPQQGPETINQVTEHKMSAE					
SEQID2	FFKKUNPGASAYQLPGATEMSFQGGVSSSSAYSTLASLKLPLPKEGKQQGPETINKVTEHKMSAE					
SEQID10	FFKKUNPGANAYQLPGAAEMS FEGGVSSSSAYSTLASLNLPKPKEGKQQGPETINKVTEHKMSAE					
PRIM-CONS.	*****.*****:*.*****.*****:*.*****:*****:*****:*****:*. * FFKKUNPGANAYQLPGASEMSFEGGVSQSAYNTLASLDLPLPKPQQGPETINKVTEHKMSAE					

FIGURA 2

ES 2 526 996 T3

FIGURA 3



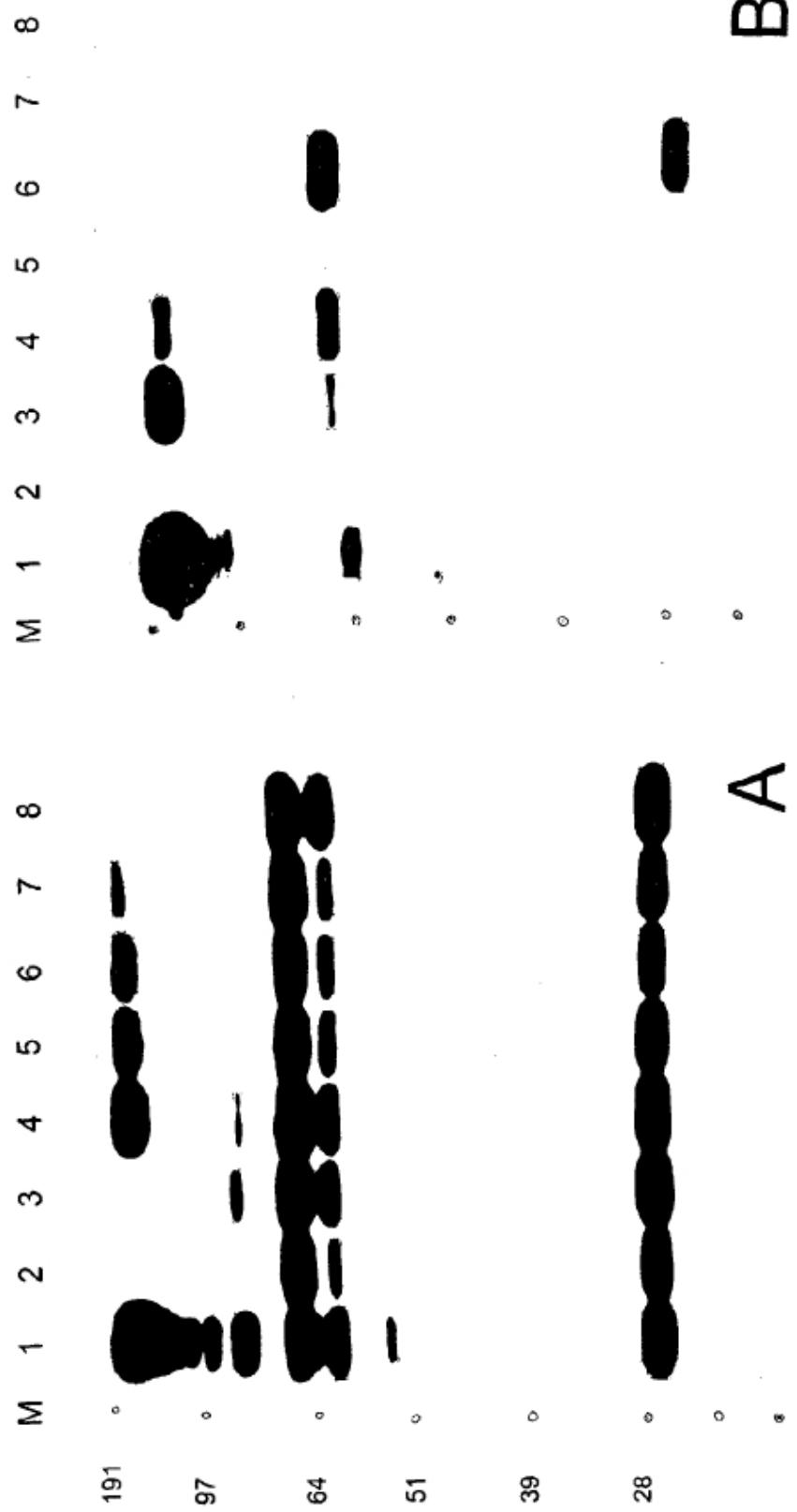
FIGURA 4

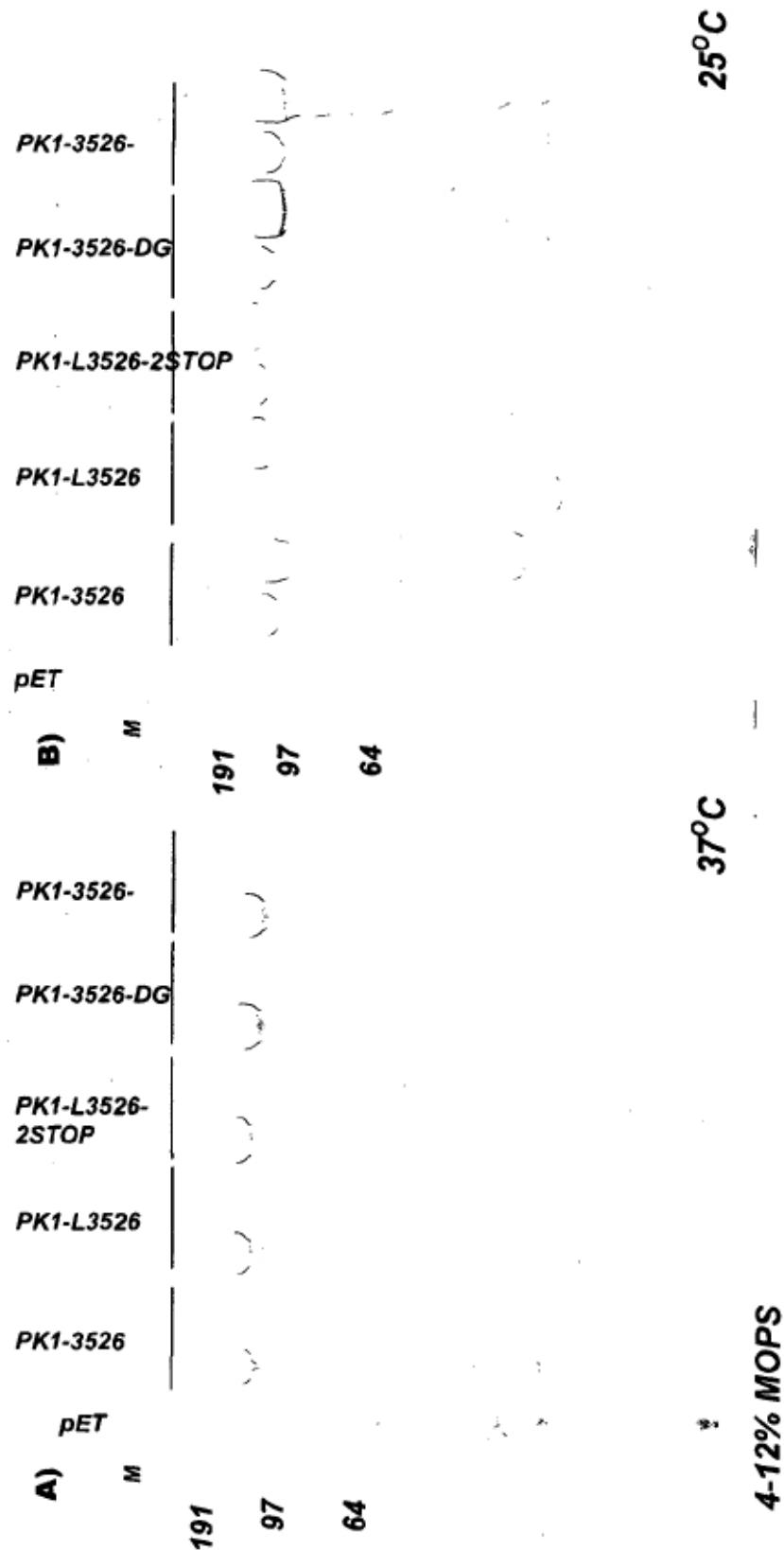
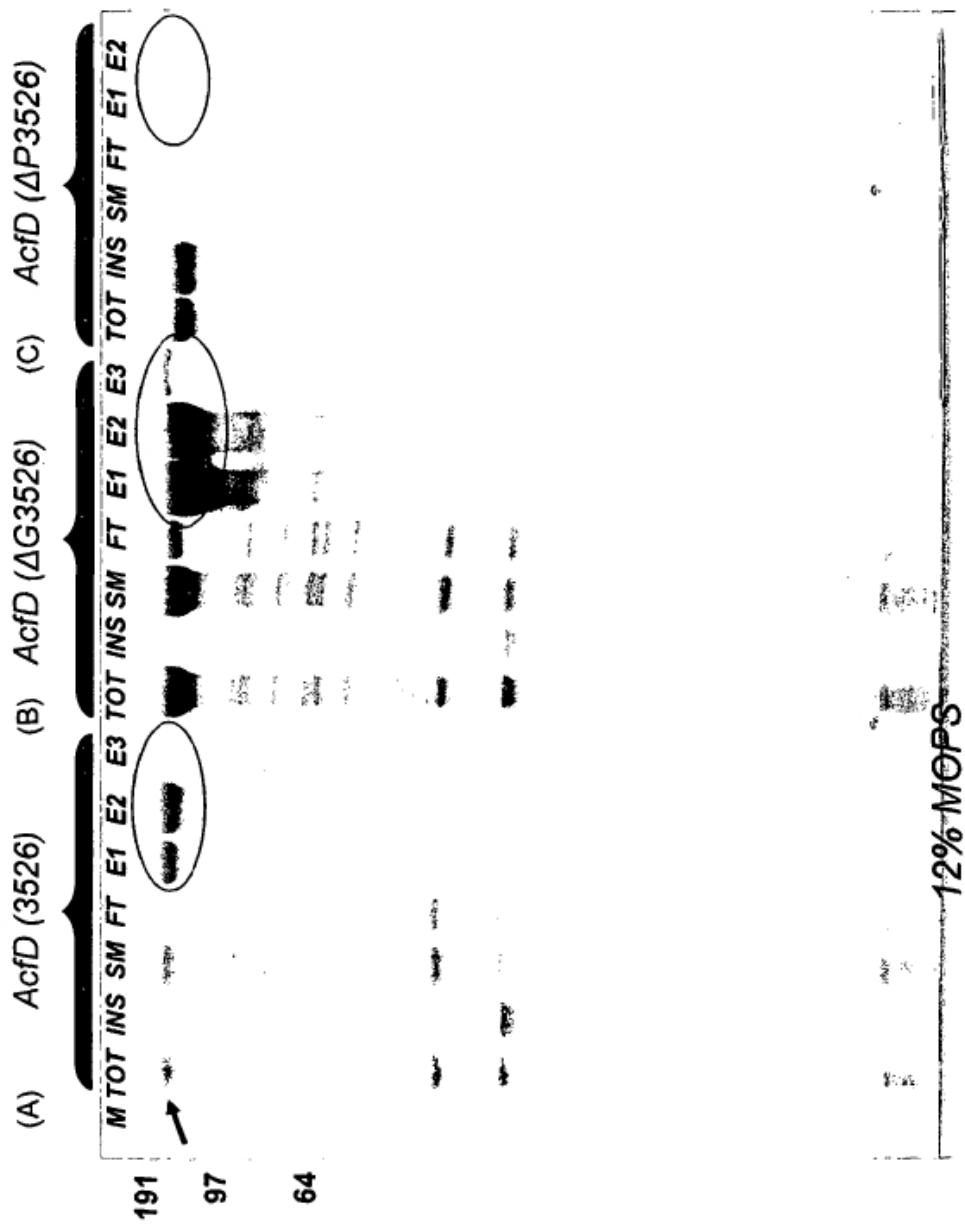
FIGURA 5

FIGURA 6

ES 2 526 996 T3

FIGURA 7

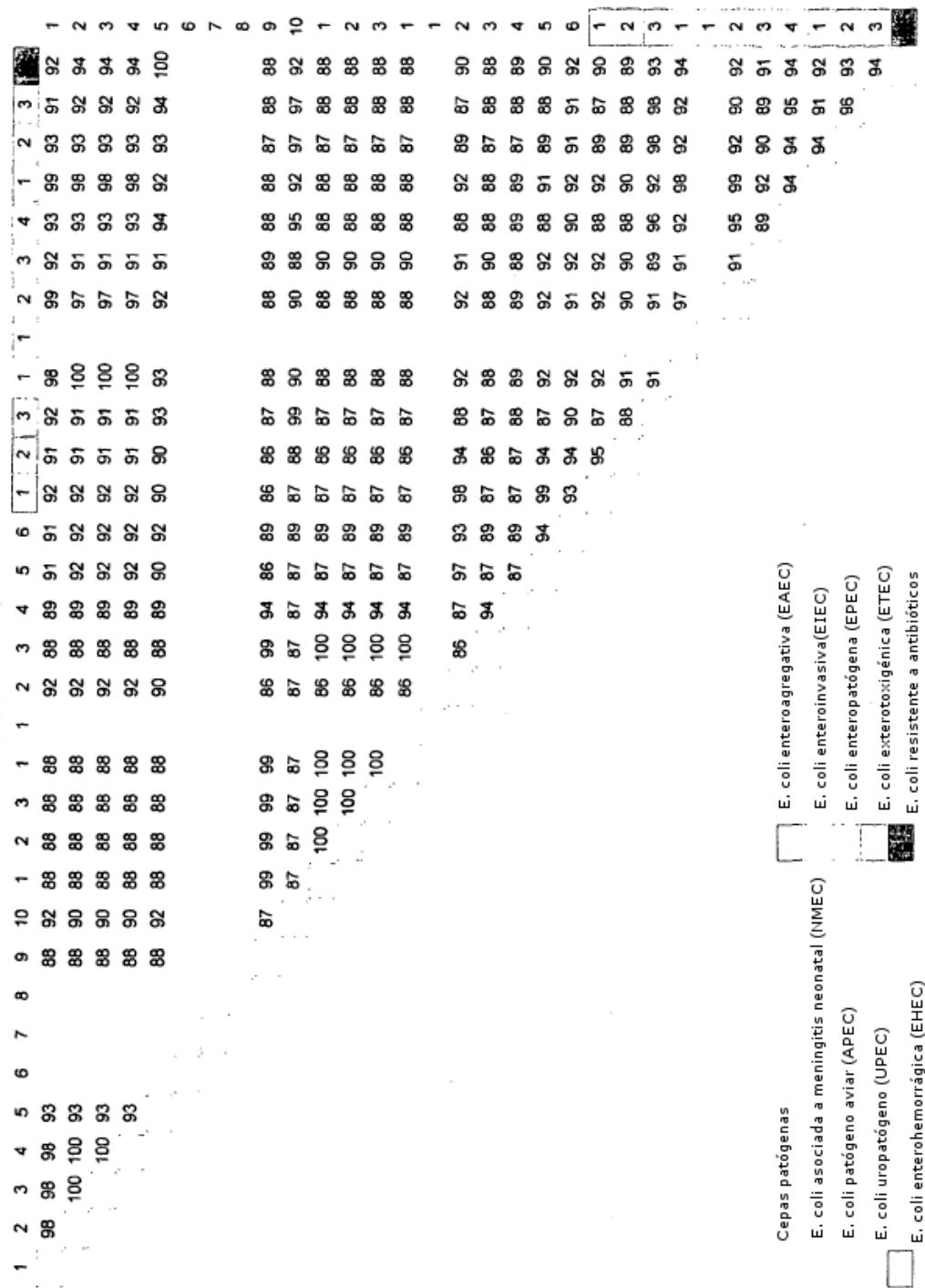


FIGURA 8

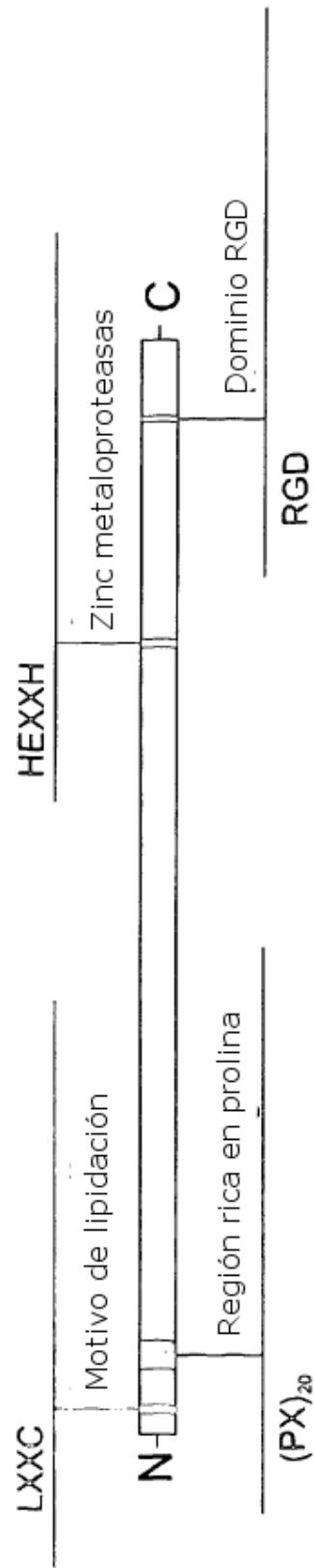


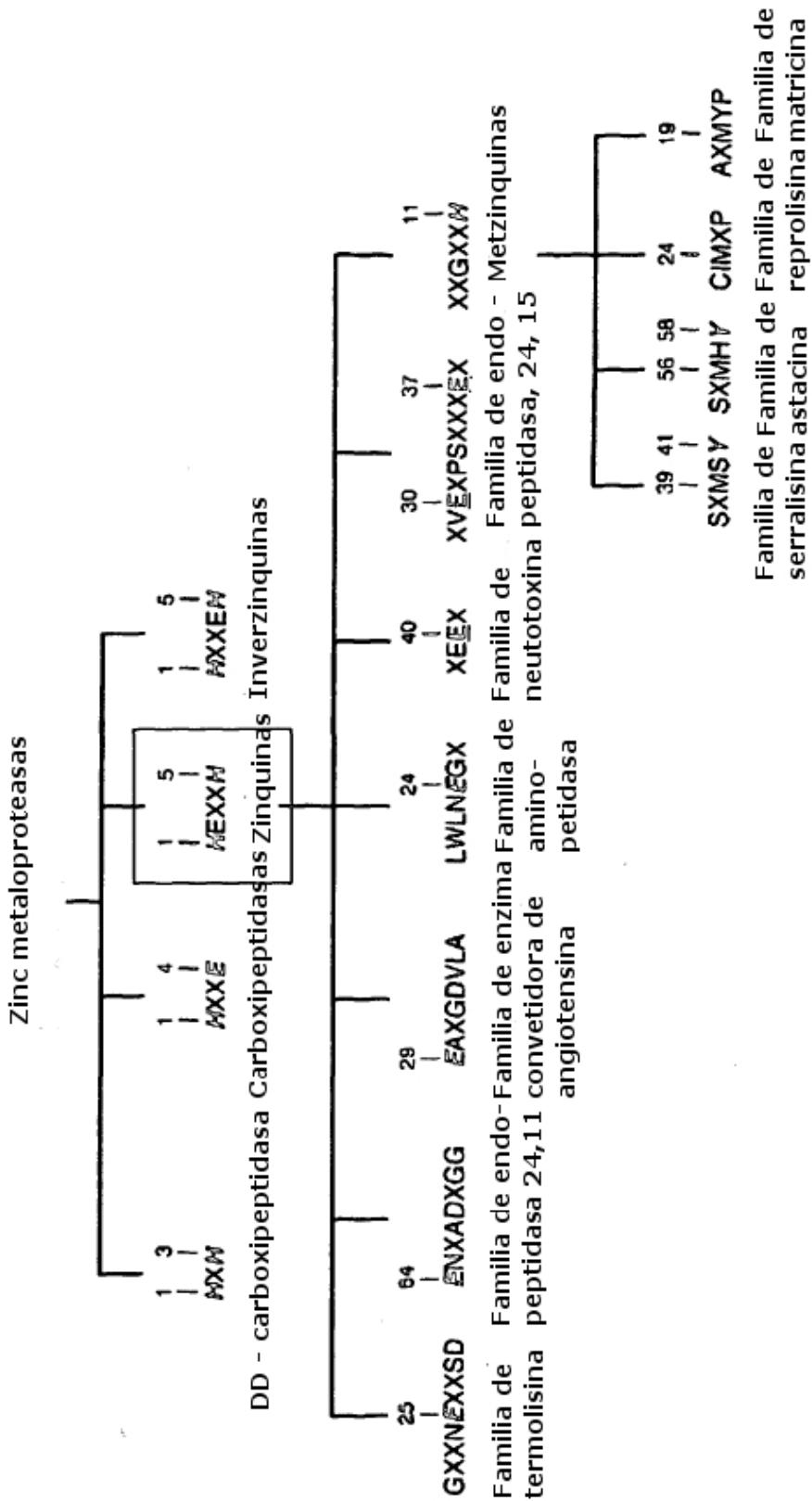
FIGURA 9

FIGURA 10

