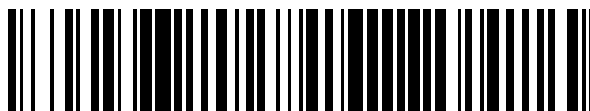


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 611 157**

51 Int. Cl.:

C07K 14/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2007** **E 11189814 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016** **EP 2463297**

54 Título: **Composiciones y métodos para la administración de oxígeno**

30 Prioridad:

22.05.2006 US 921505 P

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

05.05.2017

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607, US**

72 Inventor/es:

**CARY, STEPHEN P.L.;
BOON, ELIZABETH M.;
WEINERT, EMILY;
WINGER, JONATHAN A. y
MARLETTA, MICHAEL A.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 611 157 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos para la administración de oxígeno

5 Campo técnico

La presente solicitud describe proteínas H-NOX y los métodos para usarlas para administrar oxígeno. Las proteínas H-NOX proporcionan una nueva herramienta terapéutica para administrar O₂ a seres humanos y, para fines veterinarios, a animales.

10 Antecedentes de la invención

El actual sistema de bancos de sangre tiene riesgos inherentes y graves limitaciones. Los errores de tipado de la sangre, inmunogenicidad, transmisión de agentes bacterianos e infecciones víricas tales como VIH-1 y hepatitis plantean peligros potencialmente mortales a los pacientes de transfusión. Además, la limitada disponibilidad de donantes, el requisito de tipos de sangre específicos, la corta estabilidad en almacén de glóbulos rojos y la necesidad de refrigeración limitan todos la accesibilidad de las transfusiones a pacientes. El desarrollo de un sucedáneo de la sangre estable podría eliminar los riesgos del actual sistema de bancos de sangre y aumentar la disponibilidad de transfusiones a pacientes en la mayoría de los entornos. Por tanto, la administración de oxígeno (O₂) a órganos y tejidos para aliviar síntomas debidos a pérdida de sangre o hipoxia es un objetivo terapéutico importante.

Las terapias basadas en no hemoglobina han sido aprobadas para su uso en seres humanos en los EE.UU. Posibles terapias incluyen varios transportadores de O₂ artificiales (revisado por Spahn, D. R. *et al.* (2005). "Artificial O₂ carriers: status in 2005," *Curr. Pharm. Des.*, 11(31):4099-4114), tal como hemoglobinas manipuladas (por ejemplo, patente de EE.UU. n.º 6.022.849). Sin embargo, algunos posibles sucedáneos de la sangre, tales como sucedáneos de la sangre basados en hemoglobina, están limitados debido a su reactividad con óxido nítrico (NO). En particular, el NO actúa de mensajero químico en el control de muchos procesos importantes *in vivo*, que incluyen neurotransmisión, inflamación, agregación de plaquetas y regulación del tono de músculo liso gastrointestinal y vascular. El NO reacciona directamente con el O₂ que está unido a hemoglobina para formar metahemoglobina y nitrato. Tanto el hierro del hemo como el NO son oxidados por los átomos de oxígeno unidos, y la reacción se produce tan rápidamente que no se observa la sustitución de O₂ por NO (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 6.455.676).

Como el NO se produce y se consume continuamente, hay una renovación natural del NO *in vivo*. Cuando se administra hemoglobina sin células, el equilibrio entre la producción de NO y el consumo se altera mediante reacciones con hemoglobina sin células. La reacción oxidativa entre NO y O₂ unido a hemoglobina es irreversible, produciendo la destrucción de NO, O₂ y hemoglobina. La unión de NO a hemoglobina sin O₂ unido es eficazmente irreversible en escalas de tiempo fisiológicas ya que la semivida para la disociación de la nitrosilhemoglobina es 5-6 horas, inactivando así eficazmente la hemoglobina como transportador de O₂ sin células.

Una vez una molécula de NO reacciona con hemoglobina, se elimina del conjunto de moléculas señal, produciendo así ciertas condiciones adversas. Por ejemplo, la unión de NO a hemoglobina (con o sin O₂ unido) puede prevenir relajación vascular y posiblemente conduce a hipertensión, que se observa algunas veces después de la administración de ciertas soluciones de hemoglobina extracelular.

El NO también se necesita para mediar en ciertas respuestas inflamatorias. Por ejemplo, el NO producido por el endotelio inhibe la agregación de plaquetas. Por consiguiente, como el NO se une por hemoglobina sin células (con o sin O₂ unido), la agregación de plaquetas puede aumentar. A medida que se agregan las plaquetas, liberan potentes compuestos vasoconstrictores tales como tromboxano A₂ y serotonina. Estos compuestos pueden actuar sinérgicamente con los niveles de NO reducidos producidos por la captación de hemoglobina para producir vasoconstricción significativa. Además de inhibir la agregación de plaquetas, el NO también inhibe la unión de neutrófilos a paredes celulares, que a su vez puede conducir a lesión de la pared celular. La lesión de la pared de células endoteliales se ha observado con la infusión de ciertas soluciones de hemoglobina.

Otro inconveniente importante de los sucedáneos de la sangre basados en hemoglobina es su alta afinidad por O₂. Esta alta afinidad limita la capacidad de la hemoglobina para liberar oxígeno a una velocidad clínicamente útil en localizaciones deseadas (tal como tejidos periféricos). Alternativamente, la liberación de O₂ por sucedáneos de la sangre basados en hemoglobina de menor afinidad en arterias antes de alcanzar los lechos microvasculares puede producir vasoconstricción debido a una respuesta vasoconstrictora hiperóxica (hipótesis de Winslow). Adicionalmente, los sucedáneos de la sangre basados en hemoglobina son evitados por la rápida eliminación de hemoglobina sin células del plasma debido a la presencia de receptores para hemoglobina que eliminan la hemoglobina sin células del plasma. La hemoglobina sin células también puede producir toxicidad renal, posiblemente debido al agotamiento del NO en los glomerulos, causando constricción y posterior disfunción.

Debido a las limitaciones de los actuales sucedáneos de la sangre y la escasez crónica de sangre donada, sigue existiendo un nivel significativo de interés en y necesidad de terapias adicionales o alternativas para administrar oxígeno. En particular se desean sucedáneos de la sangre con una menor reactividad del NO y/o un tiempo de retención en plasma prolongado. También se necesitan transportadores de oxígeno con constantes de disociación para la unión a O₂ que sean apropiados para aplicaciones clínicas o industriales particulares. Una aplicación industrial a modo de ejemplo para la que son deseables transportadores de O₂ incluye el crecimiento de células en cultivo, que está frecuentemente limitado por la cantidad de O₂ que llega a las células.

El documento WO 02/02757 divulga adenilil y guanilil ciclasas (ADGUC) humanas y métodos para el diagnóstico, tratamiento o prevención de trastornos asociados a la expresión anómala de las ADGUC.

Breve resumen de la invención

La presente invención se basa en parte en el sorprendente descubrimiento de que las proteínas H-NOX naturales y mutantes tienen una reactividad del NO mucho menor que la hemoglobina y, por tanto, son transportadores de O₂ deseables. Si se desea, las mutaciones pueden introducirse en proteínas H-NOX para alterar su unión de O₂ y ligandos de NO para optimizar adicionalmente el uso de proteínas H-NOX como transportadores de O₂.

La invención proporciona una composición farmacéutica adecuada para la administración de O₂ a seres humanos que comprende (i) una cantidad farmacéuticamente aceptable de una proteína H-NOX y (ii) un transportador farmacéuticamente aceptable, en la que, ya sea

(a) la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre 1 nM y 1 mM a 20 °C y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a 700 s⁻¹ a 20 °C, o

(b) la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está dentro de dos órdenes de magnitud de la de la hemoglobina alfa humana y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina alfa humana

y en la que la proteína H-NOX comprende al menos una mutación en el bolsillo distal, siendo dicha mutación de un resto en la hélice alfa A, D, E o G
y en la que la proteína H-NOX no es inmunogénica en seres humanos.

Por consiguiente, en algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una proteína H-NOX aislada que tiene al menos una mutación que altera la constante de disociación del O₂ o reactividad del NO en comparación con la de una proteína H-NOX natural correspondiente. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 2 nM y aproximadamente 50 µM a 20 °C, aproximadamente 50 nM y aproximadamente 10 µM a 20 °C, aproximadamente 20 nM y aproximadamente 2 µM a 20 °C, aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 µM a 20 °C, aproximadamente 150 nM y aproximadamente 1 µM a 20 °C, o aproximadamente 100 nM y aproximadamente 255 nM a 20 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 80 nM a 20 °C, tal como entre aproximadamente 20 nM y aproximadamente 75 nM a 20 °C. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 100 veces menor que la de la hemoglobina, tal como al menos 1.000 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C, tal como inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 400 s⁻¹, 300 s⁻¹, 200 s⁻¹, 100 s⁻¹, 75 s⁻¹, 50 s⁻¹, 25 s⁻¹, 20 s⁻¹, 10 s⁻¹, 50 s⁻¹, 3 s⁻¹, 2 s⁻¹, 1,8 s⁻¹, 1,5 s⁻¹, 1,2 s⁻¹, 1,0 s⁻¹, 0,8 s⁻¹, 0,7 s⁻¹ o 0,6 s⁻¹ a 20 °C. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 200 s⁻¹ a 20 °C, tal como aproximadamente 1,0 s⁻¹ y aproximadamente 16,0 s⁻¹. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 µM a 20 °C, y la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 1,35 s⁻¹ y aproximadamente 14,5 s⁻¹ a 20 °C. En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h⁻¹ a 37 °C. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 1,35 s⁻¹ y aproximadamente 14,5 s⁻¹ a 20 °C, y la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h⁻¹ a 37 °C. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 1,35 s⁻¹ y aproximadamente 14,5 s⁻¹ a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h⁻¹ a 37 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C).

En algunas realizaciones, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende una proteína H-NOX aislada que tiene al menos una mutación que altera la k_{dis} para el oxígeno o reactividad del NO en comparación con la de una proteína H-NOX natural correspondiente. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 200 s^{-1} a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX mutante tiene una k_{dis} para el oxígeno que es inferior a o igual a aproximadamente 0,65 s^{-1} a 20 °C (tal como entre aproximadamente 0,21 s^{-1} y aproximadamente 0,65 s^{-1} a 20 °C). En algunas realizaciones, la proteína H-NOX mutante se deriva de una proteína de *T. tengcongensis* y tiene k_{dis} para el oxígeno entre aproximadamente 1,35 s^{-1} y aproximadamente 18 s^{-1} a 20 °C. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 100 veces menor que la de la hemoglobina, tal como al menos 1.000 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s^{-1} a 20 °C, tal como inferior a aproximadamente 600 s^{-1} , 500 s^{-1} , 400 s^{-1} , 300 s^{-1} , 200 s^{-1} , 100 s^{-1} , 75 s^{-1} , 50 s^{-1} , 25 s^{-1} , 20 s^{-1} , 10 s^{-1} , 50 s^{-1} , 3 s^{-1} , 2 s^{-1} , 1,8 s^{-1} , 1,5 s^{-1} , 1,2 s^{-1} , 1,0 s^{-1} , 0,8 s^{-1} , 0,7 s^{-1} o 0,6 s^{-1} a 20 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM a 20 °C, entre aproximadamente 2 nM y aproximadamente 50 μ M a 20 °C, entre aproximadamente 50 nM y aproximadamente 10 μ M a 20 °C, o entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μ M a 20 °C. En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h^{-1} a 37 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μ M a 20 °C y la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h^{-1} a 37 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μ M a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s^{-1} a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s^{-1} , 500 s^{-1} , 100 s^{-1} , 20 s^{-1} o 1,8 s^{-1} a 20 °C). En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h^{-1} a 37 °C y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s^{-1} a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s^{-1} , 500 s^{-1} , 100 s^{-1} , 20 s^{-1} o 1,8 s^{-1} a 20 °C).

En diversas realizaciones, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende una proteína H-NOX aislada que tiene al menos una mutación que altera la constante de disociación del O₂ o reactividad del NO en comparación con la de una proteína H-NOX natural correspondiente. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 255 nM a 20 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante es inferior a 80 nM a 20 °C, tal como entre aproximadamente 20 nM y aproximadamente 75 nM a 20 °C. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 100 veces menor que la de la hemoglobina, tal como al menos 1.000 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX mutante tiene una k_{dis} para el oxígeno que es inferior a o igual a aproximadamente 0,65 s^{-1} a 20 °C (tal como entre aproximadamente 0,21 s^{-1} y aproximadamente 0,65 s^{-1} a 20 °C). En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 1,35 s^{-1} y aproximadamente 2,9 s^{-1} a 20 °C. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 5,8 s^{-1} y aproximadamente 19 s^{-1} a 20 °C. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX mutante es estable a 4 °C en aire.

En algunas realizaciones, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende una proteína H-NOX aislada que tiene al menos una mutación que altera la k_{dis} para el oxígeno o reactividad del NO en comparación con la de una proteína H-NOX natural correspondiente. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante es inferior a o igual a aproximadamente 0,65 s^{-1} a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 0,21 s^{-1} y aproximadamente 0,65 s^{-1} a 20 °C. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es al menos 100 veces menor que la de la hemoglobina, tal como al menos 1.000 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s^{-1} a 20 °C, tal como inferior a aproximadamente 600 s^{-1} , 500 s^{-1} , 400 s^{-1} , 300 s^{-1} , 200 s^{-1} , 100 s^{-1} , 75 s^{-1} , 50 s^{-1} , 25 s^{-1} , 20 s^{-1} , 10 s^{-1} , 50 s^{-1} , 3 s^{-1} , 2 s^{-1} , 1,8 s^{-1} , 1,5 s^{-1} , 1,2 s^{-1} , 1,0 s^{-1} , 0,8 s^{-1} , 0,7 s^{-1} o 0,6 s^{-1} a 20 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μ M a 20 °C. En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h^{-1} a 37 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μ M a 20 °C y la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h^{-1} a 37 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX mutante está entre aproximadamente entre 100 nM y aproximadamente 1,9 μ M a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 700 s^{-1} a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s^{-1} , 500 s^{-1} , 100 s^{-1} , 20 s^{-1} , 1,8 s^{-1} o 0,7 a 20 °C). En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX mutante es inferior a aproximadamente 1 h^{-1} a 37 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX mutante es inferior a

aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹, 1,8 s⁻¹ o 0,7 a 20 °C).

En diversas realizaciones, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende una proteína H-NOX aislada seleccionada del grupo que consiste en H-NOX I5A de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L-P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-N74A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9Y de *T. tengcongensis*, H-NOX W9H de *T. tengcongensis*, H-NOX W9N de *T. tengcongensis*, H-NOX N74E de *T. tengcongensis*, H-NOX N74H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74A de *T. tengcongensis*, H-NOX N74H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74A-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y-Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX R135Q de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140A de *T. tengcongensis*, I75F-His6 de *T. tengcongensis*, I75F de *T. tengcongensis*, L144F-His6 de *T. tengcongensis*, L144F de *T. tengcongensis*, L2 F9W-F142Y, H-NOX(728-899) de *D. desulfuricans*, H-NOX Y139L de *D. desulfuricans*, β 1(1-385), β 1(1-385) I145Y, β 1(1-385) I145H, β 1(1-194), β 1(1-194) I145Y, β 1(1-194) L9W-I145Y, β 2(1-217), β 2(1-217) I142Y, H-NOX(1-175) de *C. botulinum*, H-NOX(1-186) de *C. botulinum*, H-NOX(1-197) de *C. acetobutylicum*, H-NOX(1-183) de *C. acetobutylicum* y H-NOX GCY-35(1-252) de *C. elegans*. En algunas realizaciones, la proteína β 1 o β 2 se deriva de una proteína β 1 o β 2 de *R. norvegicus* u *H. sapiens*.

En diversas realizaciones, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende una proteína H-NOX aislada seleccionada del grupo que consiste en H-NOX 15A de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L-P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-N74A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9Y de *T. tengcongensis*, H-NOX W9N de *T. tengcongensis*, H-NOX W9H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74E de *T. tengcongensis*, H-NOX N74H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74A-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y-Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX R135Q de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140A de *T. tengcongensis*, I75F-His6 de *T. tengcongensis*, I75F de *T. tengcongensis*, L144F-His6 de *T. tengcongensis*, L144F de *T. tengcongensis*, 2 F9W-F142Y de *L. pneumophila*, H-NOX(728-899) de *D. desulfuricans*, H-NOX Y1.39L, β 1(1-385) I145H, β 1(1-194), β 1(1-194) I145Y, β 1(1-194) L9W-I145Y, β 2(1-217), β 2(1-217) I142Y de *D. desulfuricans*, H-NOX(1-175) de *C. botulinum*, H-NOX(1-186) de *C. botulinum*, H-NOX(1-197) de *C. acetobutylicum*, H-NOX(1-183) de *C. acetobutylicum* y H-NOX GCY-35(1-252) de *C. elegans*. En algunas realizaciones, la proteína β 1 o β 2 se deriva de una proteína β 1 o β 2 de *R. norvegicus* u *H. sapiens*.

En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*, tal como una constante de disociación del O₂ entre 0,1 y 10 veces o entre 0,5 y 2 veces la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*, tal como al menos 100 veces o 1.000 veces menor que la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX contiene una o más mutaciones (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mutaciones) en comparación con la proteína H-NOX de la que se derivó. En diversas realizaciones, la proteína H-NOX contiene menos de 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 mutaciones en comparación con la proteína H-NOX de la que se derivó. En algunas realizaciones de las proteínas H-NOX aisladas, la proteína H-NOX tiene al menos una mutación en el bolsillo distal. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene al menos una mutación que no está en el bolsillo distal. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene al menos una mutación en la que un resto que se corresponde con Ile5, Trp9, Asn74, Pro115 o Arg135 de H-NOX de *T. tengcongensis* o I145 de β 1(1-385) está sustituido con cualquier otro aminoácido. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene al menos dos mutaciones, en la que al menos una mutación es la sustitución de un resto que se corresponde con Ile5, Trp9, Asn74, Pro115 o Arg135 de H-NOX de *T. tengcongensis* o I145 de β 1(1-385) con cualquier otro aminoácido. En algunas realizaciones, la mutación en la proteína H-NOX se corresponde con una mutación I5A, una mutación I5L, una mutación W9F, una mutación Y140F, una mutación Y140H, una mutación doble W9F Y140H, o una mutación doble F78Y Y140F de *T. tengcongensis* o una mutación I145Y de β 1. En algunas realizaciones, la mutación en la proteína H-NOX se corresponde con una mutación W9Y, una mutación W9H, una mutación W9N, una mutación N74H, una mutación N74E, una mutación N74A, una mutación P115A, una mutación R135Q, un mutante doble I5L P115A, un mutante doble N74A Y140H, o un doble W9F N74A de *T. tengcongensis*. En algunas realizaciones, al menos un aminoácido del extremo C (tal como al menos aproximadamente 50 aminoácidos del extremo C contiguos o entre aproximadamente 25 y aproximadamente 200 aminoácidos del extremo C contiguos) en la proteína H-NOX ha sido eliminado en comparación con la proteína natural correspondiente.

En algunas realizaciones, la proteína H-NOX se deriva de una proteína de mamífero (por ejemplo, una proteína humana tal como β 1). En diversas realizaciones, la proteína H-NOX se derivó de una proteína bacteriana (por ejemplo, una proteína de *T. tengcongensis*). En algunas realizaciones, la proteína H-NOX está covalentemente unida a otra molécula o fracción, tal como polietilenglicol. El hemo puede o puede no unirse a la proteína H-NOX. En algunas realizaciones, el oxígeno está unido a la proteína H-NOX. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX es una proteína de fusión que incluye un dominio de H-NOX y parte o toda de otra proteína, tal como albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano).

En algunas realizaciones la proteína H-NOX no es H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX de *T. tengcongensis* natural, o 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es β 2(1-217) de *R. norvegicus*, β 1(1-194) de *R. norvegicus*, β 1(1-385) de *R. norvegicus* o β 1(1-385) I145Y de *R. norvegicus*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, o β 1 H-NOX (1-385) I145Y de *H. sapiens*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*, β 1 I140Y de *H. sapiens* o β 1 I145Y de *H. sapiens*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, β 1 H-NOX I140Y de *H. sapiens*, β 1 H-NOX de *H. sapiens* natural, sGC β 1 H-NOX (1-385) de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX (1-385) I145Y de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105G de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105F de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX I145Y de *R. norvegicus*, β 1 H-NOX de *R. norvegicus* natural, β 1 H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA H-NOX de *D. melanogaster* natural, GCY-35 H-NOX de *C. elegans* natural, H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural o H-NOX de *C. acetobutylicum* natural. En algunas realizaciones la proteína H-NOX no es H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX de *T. tengcongensis* natural, 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, β 1 H-NOX I140Y de *H. sapiens*, β 1 I145Y de *H. sapiens*, β 1 H-NOX de *H. sapiens* natural, sGC β 1 H-NOX (1-385) de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX (1-385) I145Y de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105G de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105F de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX I145Y de *R. norvegicus*, β 1 H-NOX de *R. norvegicus* natural, β 1 H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA H-NOX de *D. melanogaster* natural, GCY-35 H-NOX de *C. elegans* natural, H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural o H-NOX de *C. acetobutylicum* natural. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es ninguna de las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de gen, seguido de su abreviatura de especie e identificadores de Genbank (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 21 de mayo de 2007; o 22 de mayo de 2007): Npun5905_Npu_23129606, alr2278_Ana_17229770, SO2144_Sone_24373702, Mdeg1343_Mde_23027521, VCA0720_Vch_15601476, CC2992_Ccr_16127222, Rsph2043_Rhsp_22958463 (gi:46192757), Mmc10739_Mcsp_22999020, Tar4_Tte_20807169, Ddes2822_Dde_23475919, CAC3243_Cac_15896488, gcy-31_Ce_17568389, CG14885_Dm_24647455, GUCY1B3_Hs_4504215, HpGCS-beta1_Hpul_14245738, Gycbeta100B_Dm_24651577, CG4154_Dm_24646993 (gi:NP_650424.2, gi:62484298), gcy-32_Ce_13539160, gcy-36_Ce_17568391 (gi:32566352, gi:86564713), gcy-35_Ce_17507861 (gi:71990146), gcy-37_Ce_17540904 (gi:71985505), GCY1 α 3_Hs_20535603, GCY1 α 2-Hs_899477 o GYC α -99B_Dm_729270 (gi:68067738) (Lakshminarayan *et al.* (2003). "Ancient conserved domains shared by animal soluble guanylyl cyclases and bacterial signaling proteins", BMG Genomics 4:5-13). Las abreviaturas de especies usadas en estos nombres incluyen Ana - *Anabaena* Sp; Ccr - *Caulobacter crescentus*; Cac - *Clostridium acetobutylicum*; Dde - *Desulfovibrio desulfuricans*; Mcsp - *Magnetococcus* sp.; Mde - *Microbulbifer degradans*; Npu - *Nostoc punctiforme*; Rhsp - *Rhodobacter sphaeroides*; Sone - *Shewanella oneidensis*; Tte - *Thermoanaerobacter tengcongensis*; Vch - *Vibrio cholerae*; Ce - *Caenorhabditis elegans*; Dm - *Drosophila melanogaster*; Hpul - *Hemicentrotus pulcherrimus*; Hs - *Homo sapiens*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es ninguna de las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de organismo y número de acceso de la base de datos Pfam (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 17 de mayo de 2007; 21 de mayo de 2007; o 22 de mayo de 2007): Q622M5_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61P44_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61R54_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61V90_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61A94_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60TP4_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60M10_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, GCY37_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY31_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY36_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY32_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY35_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY34_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY33_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, Q7T040_ORYCU de *Oryzias latipes*, Q75WFO_ORYCU de *Oryzias latipes*, P79998_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q7ZS25_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q4SW38_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4RZ94_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4S6K5_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q90VY5_FUGRU de *Fugu rubripes*, Q6INK9_XENLA de *Xenopus laevis*, Q5T8J7_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYA2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB1_HUMAN de *Homo sapiens*, Q9N193_9PRIM de *Gorilla*, Q5RAN8_PONPY de *Pongo pygmaeus*, Q9N192_PANTR de *Pan troglodytes*, Q9N194_MACMU de *Macaca mulatta*, Q9N191_HYLLA de *Hylobates lar*, Q8BXH3_MOUSE de *Mus musculus*, GCYB1_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UTI4_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UH83_MOUSE de *Mus musculus*, Q6XE41_MOUSE de *Mus musculus*, Q80YP4_MOUSE de *Mus musculus*, Q80WX7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX8_RAT de *Rattus norvegicus*, Q920Q1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q54A43_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY0_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY4_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH85_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY5_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH90_RAT de *Rattus norvegicus*, Q91XJ7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX9_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB2_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYA2_RAT de *Rattus norvegicus*, Q4ZHR9_CANFA de *Canis familiaris*, GCYB1_BOVIN de *Bos taurus*, Q4ZHR7_PIG de *Sus scrofa*, Q59HN5_GRYBI de *Gryllus bimaculatus*, O77106_MANSE de *Manduca sexta*, O76340_MANSE de *Manduca sexta*, Q5UAF0_APIME de *Apis mellifera*, Q5FAN0_APIME de *Apis mellifera*, Q6L5L6_APIME de *Apis mellifera*, PEST Q7PYK9_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7Q9W6_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7QF31_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PS01_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PFY2_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, Q7KQ93_ANOGA de *Anopheles gambiae*, Q24086_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYH_DROME de

Drosophila melanogaster, GCY8E_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDA_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDB_DROME de *Drosophila melanogaster*, Q9VA09_DROME de *Drosophila melanogaster*, Q29CE1_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C8_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q29BU7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q7YWK7_APLCA de *Aplysia californica*, Q95NK5_HEMPU de *Hemicentrotus pulcherrimus*, Q5YLC2_CHLRE de *Chlamydomonas reinhardtii*, Q8YUQ7_ANASP de *Anabaena* sp, BBFL7 Q26GR8_9BACT de *Flavobacterium bacterium*, ATCC 700755 Q1VQE5_9FLAO de *Psychroflexus torquis*, HTCC2207 Q1YPJ5_9GAMM de proteobacteria gamma marina, HTCC2207 Q1YTK4_9GAMM de proteobacteria gamma marina, Q9A451_CAUCR de *Caulobacter crescentus*, JF-5 Q2DG60_ACICY de *Acidiphilium cryptum*, Q3JOU9_RHOS4 de *Rhodobacter sphaeroides*, Q5LPV1_SILPO de *Silicibacter pomeroyi*, PD1222, Q3PC67_PARDE de *Paracoccus denitrificans*, TM1040 Q3QNY2_9RHOB de *Silicibacter* sp, Q28ML8_JANSC de *Jannaschia* sp, MC-1 Q3XT27_9PROT de *Magnetococcus* sp, Q5WXP0_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5WTZ5_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5X268_LEGPA de *Legionella pneumophila*, Q5X2R2_LEGPA de *Legionella pneumophila*, Q5ZWM9_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q5ZSQ8_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q47Y43_COLP3 de *Colwellia psychrerythraea*, T6c Q3CSZ5_ALTAT de *Pseudoalteromonas atlantica*, Q8EF49_SHEON de *Shewanella oneidensis*, Q21E20_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, Q21ER7_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, S 14 Q1ZWE5_9VIBR de *Vibrio angustum*, Q8DAE2_VIBVU de *Vibrio vulnificus*, 12G01 Q1VCP6_VIBAL de *Vibrio alginolyticus*, DAT722 Q2FA22_9VIBR de *Vibrio* sp, Q87NJ1_VIBPA de *Vibrio parahaemolyticus*, Q5E1F5_VIBF1 de *Vibrio fischeri*, Q7MJS8_VIBVY de *Vibrio vulnificus*, SKA34 Q2C6Z5_9GAMM de *Photobacterium* sp, Q2SFY7_HAHCH de *Hahella chejuensis*, MED92 Q2BKV0_9GAMM de *Oceanospirillum* sp, RED65 Q1N035_9GAMM de *Oceanobacter* sp, Q310U7_DESDG de *Desulfovibrio desulfuricans*, H 168 Q2AIW5_9FIRM de *Halothermothrix orenii*, Q8RBX6_THETN de *Thermoanaerobacter tengcongensis*, DSM 8903 Q2ZH17_CALSA de *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, Q97E73_CLOAB de *Clostridium acetobutylicum*, QYMF Q3C763_9CLOT de *Alkaliphilus metalliredigenes*, Q899J9_CLOTÉ de *Clostridium tetani* y NCIMB 8052 Q2WVN_CLOBE de *Clostridium beijerinckii*. En algunas realizaciones de las proteínas H-NOX aisladas, la proteína H-NOX no es sGC β 1 H-NOX C78S de *R. norvegicus* o sGC β 1 H-NOX C78E de *R. norvegicus*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no tiene una mutación en el motivo Y-S-R, que incluye Tyr135, Ser137 y Arg139 de H-NOX humana.

En el presente documento también se describe un ácido nucleico recombinante que codifica una cualquiera o más de las proteínas H-NOX mutantes descritas en el presente documento. En particular, el ácido nucleico puede incluir un segmento de o la secuencia de ácidos nucleicos entera de cualquiera de los ácidos nucleicos mostrados en las FIGS. 2-4D o 8A-8DD. El ácido nucleico puede codificar una proteína de fusión que incluye un dominio de H-NOX y parte o toda de otra proteína, tal como albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano). El ácido nucleico puede incluir al menos aproximadamente 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 o más nucleótidos contiguos de un ácido nucleico de H-NOX y contiene una o más mutaciones (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mutaciones) en comparación con el ácido nucleico de H-NOX del que se derivó. El ácido nucleico de H-NOX mutante puede contener menos de aproximadamente cualquiera de 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 mutaciones en comparación con el ácido nucleico de H-NOX del que se derivó. También se describen variantes degeneradas de cualquier ácido nucleico que codifica una proteína H-NOX mutante.

También se describe un vector que incluye uno cualquiera o más de los ácidos nucleicos de H-NOX mutantes descritos en el presente documento. También se describe una célula que incluye uno cualquiera o más de los ácidos nucleicos de H-NOX mutantes descritos en el presente documento. La célula puede incluir cualquier vector descrito en el presente documento.

En el presente documento se describe un método de producción de una proteína H-NOX. Este método implica cultivar una célula que tiene un ácido nucleico que codifica una cualquiera o más de las proteínas H-NOX mutantes descritas en el presente documento en condiciones adecuadas para la producción de la proteína H-NOX mutante. También se describe la inclusión de la etapa de purificar la proteína H-NOX mutante.

La invención presenta composiciones farmacéuticas que incluyen una o más proteínas H-NOX, tales como cualquiera de las proteínas H-NOX naturales o mutantes descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica incluye una cantidad farmacéuticamente aceptable de una proteína H-NOX descrita en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 20 nM y aproximadamente 2 μ M a 20 °C, y la K_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1,0 s⁻¹ y 16,0 s⁻¹ a 20 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 20 nM y aproximadamente 2 μ M a 20 °C, y la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 1 h⁻¹ a 37 °C. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 20 nM y aproximadamente 2 μ M a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). En algunas realizaciones, la K_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1,0 s⁻¹ y aproximadamente 16,0 s⁻¹ a 20 °C, y la velocidad de auto-oxidación del hemo de la

proteína X es inferior a aproximadamente 1 h^{-1} a 37°C . En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre aproximadamente $1,0 \text{ s}^{-1}$ y aproximadamente $16,0 \text{ s}^{-1}$ a 20°C , y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s^{-1} a 20°C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s^{-1} , 500 s^{-1} , 100 s^{-1} , 20 s^{-1} o $1,8 \text{ s}^{-1}$ a 20°C).

En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica que incluye una cantidad farmacéuticamente aceptable de una proteína H-NOX y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O_2 de la proteína H-NOX está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre aproximadamente $0,01$ y aproximadamente 200 s^{-1} a 20°C , en la que la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina.

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la constante de disociación del O_2 de la proteína H-NOX está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*, tal como una constante de disociación del O_2 entre $0,1$ y 10 veces o entre $0,5$ y 2 veces la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*, tal como al menos 100 veces o 1.000 veces menor que la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX es una proteína natural. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX es una proteína mutante como se describe en el presente documento. En diversas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX tiene al menos una mutación que altera la constante de disociación del O_2 , la k_{dis} para oxígeno, la velocidad de auto-oxidación del hemo, la reactividad del NO, la estabilidad del NO o cualesquiera dos o más de las anteriores en comparación con la de una proteína natural correspondiente. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX es una seleccionada del grupo que consiste en H-NOX de *T. tengcongensis* natural, H-NOX I5A de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L-P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-N74A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9Y de *T. tengcongensis*, H-NOX W9N de *T. tengcongensis*, H-NOX W9H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74E de *T. tengcongensis*, H-NOX N74A de *T. tengcongensis*, H-NOX N74H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74A-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y-Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX R135Q de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140A de *T. tengcongensis*, I75F-His6 de *T. tengcongensis*, I75F de *T. tengcongensis*, L144F-His6 de *T. tengcongensis*, L144F de *T. tengcongensis*, 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*, 1 H-NOX de *L. pneumophila* natural, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, 2 F9W-F142Y de *L. pneumophila*, H-NOX de *D. desulfuricans* natural, H-NOX(728-899) de *D. desulfuricans*, H-NOX Y139L de *D. desulfuricans*, $\beta 1$ H-NOX de *H. sapiens* natural, $\beta 1$ I145Y de *H. sapiens*, $\beta 1(1-385)$ de *H. sapiens*, $\beta 1(1-385)$ I145Y de *H. sapiens*, $\beta 1(1-385)$ I145H de *H. sapiens*, $\beta 1(1-194)$ de *H. sapiens*, $\beta 1(1-194)$ I145Y de *H. sapiens*, $\beta 1(1-194)$ L9W-I145Y de *H. sapiens*, $\beta 2(1-217)$ de *H. sapiens*, $\beta 2(1-217)$ I142Y de *H. sapiens*, $\beta 1$ H-NOX H105G de *H. sapiens*, $\beta 1$ H-NOX H105F de *H. sapiens*, $\beta 1$ H-NOX de *R. norvegicus* natural, $\beta 1(1-385)$ de *R. norvegicus*, $\beta 1(1-385)$ I145Y de *R. norvegicus*, $\beta 1(1-385)$ I145H de *R. norvegicus*, $\beta 1(1-194)$ de *R. norvegicus*, $\beta 1(1-194)$ I145Y de *R. norvegicus*, $\beta 1(1-194)$ L9W-I145Y de *R. norvegicus*, $\beta 2(1-217)$ de *R. norvegicus*, $\beta 2(1-217)$ I142Y de *R. norvegicus*, $\beta 1$ H-NOX H105G de *R. norvegicus*, $\beta 1$ H-NOX H105F de *R. norvegicus*, H-NOX(1-175) de *C. botulinum*, H-NOX(1-186) de *C. botulinum*, H-NOX de *C. acetobutylicum* natural, H-NOX(1-197) de *C. acetobutylicum*, H-NOX(1-183) de *C. acetobutylicum*, GCY-35 H-NOX de *C. elegans* natural, H-NOX GCY-35(1-252) de *C. elegans*, $\beta 1$ H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA de *D. melanogaster* natural, CG14886 de *D. melanogaster* natural, CG4154 de *D. melanogaster* natural; H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural, H-NOX de *M. musculus* natural, H-NOX de *C. familiaris* natural, H-NOX de *B. taurus* natural, *R. norvegicus* natural; H-NOX de *X. laevis* natural, H-NOX de *O. latipes* natural, H-NOX de *O. curvinotus* natural, H-NOX de *F. rubripes* natural, H-NOX de *A. gambiae* natural, H-NOX de *M. sexta* natural; gcy-31 de *C. elegans* natural, gcy-32 de *C. elegans*, gcy-33 de *C. elegans* natural, gcy-34 de *C. elegans* natural, gcy-35 de *C. elegans* natural, gcy-36 de *C. elegans* natural, gcy-37 de *C. elegans* natural; H-NOX de *V. cholera* natural, H-NOX de *V. fischeri* natural y H-NOX de *N. punctiforme* natural. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la composición farmacéutica incluye uno o más liposomas o nanopartículas que incluyen o encapsulan la proteína H-NOX.

En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX de *T. tengcongensis* natural o 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es $\beta 2(1-217)$ de *R. norvegicus*, $\beta 1(1-194)$ de *R. norvegicus*, $\beta 1(1-385)$ de *R. norvegicus* o $\beta 1(1-385)$ I145Y de *R. norvegicus*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis* o $\beta 1$ H-NOX (1-385) I145Y de *H. sapiens*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*, $\beta 1$ I140Y de *H. sapiens* o $\beta 1$ I145Y de *H. sapiens*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140F

de *T. tengcongensis*, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, β 1 H-NOX I140Y de *H. sapiens*, β 1 H-NOX de *H. sapiens* natural, sGC β 1 H-NOX (1-385) de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX (1-385) I145Y de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105G de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105F de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX I145Y de *R. norvegicus*, β 1 H-NOX de *R. norvegicus* natural, β 1 H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA H-NOX de *D. melanogaster* natural, GCY-35 H-NOX de *C. elegans* natural, H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural o H-NOX de *C. acetobutylicum* natural. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX de *T. tengcongensis* natural, 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, β 1 H-NOX I140Y de *H. sapiens*, B1 I145Y de *H. sapiens*, β 1 H-NOX de *H. sapiens* natural, sGC β 1 H-NOX (1-385) de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX (1-385) I145Y de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105G de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX H105F de *R. norvegicus*, sGC β 1 H-NOX I145Y de *R. norvegicus*, β 1 H-NOX de *R. norvegicus* natural, β 1 H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA H-NOX de *D. melanogaster* natural, GCY-35 H-NOX de *C. elegans* natural, H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural o H-NOX de *C. acetobutylicum* natural. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es ninguna de las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de gen, seguido de su abreviatura de especie e identificadores de Genbank (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 21 de mayo de 2007; o 22 de mayo de 2007): Npun5905_Npu_23129606, alr2278_Ana_17229770, SO2144_Sone_24373702, Mdeg1343_Mde_23027521, VCA0720_Vch_15601476, CC2992_Ccr_16127222, Rsph2043_Rhsp_22958463 (gi:46192757), Mmc10739_Mcsp_22999020, Tar4_Tte_20807169, Ddes2822_Dde_23475919, CAC3243_Cac_15896488, gcy-31_Ce_17568389, CG14885_Dm_24647455, GUCY1B3_Hs_4504215, HpGCS-beta1_Hpu1_14245738, Gycbeta100B_Dm_24651577, CG4154_Dm_24646993 (gi:NP_650424.2, gi:62484298), gcy-32_Ce_13539160, gcy-36_Ce_17568391 (gi:32566352, gi:86564713), gcy-35_Ce_17507861 (gi:71990146), gcy-37_Ce_17540904 (gi:71985505), GCY1 α 3_Hs_20535603, GCY1 α 2-Hs_899477 o GYC α -99B_Dm_729270 (gi:68067738) (Lakshminarayan *et al.* (2003). "Ancient conserved domains shared by animal soluble guanylyl cyclases and bacterial signaling proteins", BMG Genomics 4:5-13). Las abreviaturas de especies usadas en estos nombres incluyen Ana - *Anabaena* Sp; Ccr - *Caulobacter crescentus*; Cac - *Clostridium acetobutylicum*; Dde - *Desulfovibrio desulfuricans*; Mcsp - *Magnetococcus* sp.; Mde - *Microbulbifer degradans*; Npu - *Nostoc punctiforme*; Rhsp - *Rhodobacter sphaeroides*; Sone - *Shewanella oneidensis*; Tte-*Thermoanaerobacter tengcongensis*; Vch - *Vibrio cholerae*; Ce - *Caenorhabditis elegans*; Dm - *Drosophila melanogaster*; Hpu - *Hemicentrotus pulcherrimus*; Hs - *Homo sapiens*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es sGC β 1 H-NOX C78S de *R. norvegicus* o sGC β 1 H-NOX C78E de *R. norvegicus*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no es ninguna de las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de organismo y número de acceso de la base de datos Pfam (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 17 de mayo de 2007; 21 de mayo de 2007; o 22 de mayo de 2007): Q622M5_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61P44_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61R54_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61V90_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61A94_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60TP4_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60M10_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, GCY37_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY31_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY36_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY32_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY35_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY34_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY33_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, Q7T040_ORYCU de *Oryzias curvinotus*, Q75WF0_ORYCU de *Oryzias curvinotus*, P79998_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q7ZS25_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q4SW38_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4RZ94_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4S6K5_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q90VY5_FUGRU de *Fugu rubripes*, Q6INK9_XENLA de *Xenopus laevis*, Q5T8J7_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYA2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB1_HUMAN de *Homo sapiens*, Q9N193_9PRIM de *Gorilla*, Q5RAN8_PONPY de *Pongo pygmaeus*, Q9N192_PANTR de *Pan troglodytes*, Q9N194_MACMU de *Macaca mulatta*, Q9N191_HYLLA de *Hylobates lar*, Q8BXH3_MOUSE de *Mus musculus*, GCYB1_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UT14_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UH83_MOUSE de *Mus musculus*, Q6XE41_MOUSE de *Mus musculus*, Q80YP4_MOUSE de *Mus musculus*, Q80WX7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX8_RAT de *Rattus norvegicus*, Q920Q1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q54A43_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY0_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY4_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH85_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY5_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH90_RAT de *Rattus norvegicus*, Q91XJ7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX9_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB2_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYA2_RAT de *Rattus norvegicus*, Q4ZHR9_CANFA de *Canis familiaris*, GCYB1_BOVIN de *Bos taurus*, Q4ZHR7_PIG de *Sus scrofa*, Q59HN5_GRYBI de *Gryllus bimaculatus*, O77106_MANSE de *Manduca sexta*, O76340_MANSE de *Manduca sexta*, Q5UAF0_APIME de *Apis mellifera*, Q5FANO_APIME de *Apis mellifera*, Q6L5L6_APIME de *Apis mellifera*, PEST Q7PYK9_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7Q9W6_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7QF31_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PS01_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PFY2_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, Q7KQ93_ANOGA de *Anopheles gambiae*, Q24086_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYH_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCY8E_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDA_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDB_DROME de *Drosophila melanogaster*, Q9VA09_DROME de *Drosophila melanogaster*, Q29CE1_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C8_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q29BU7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q7YWK7_APLCA de *Aplysia californica*, Q95NK5_HEMPU de *Hemicentrotus*

pulcherimus, Q5YLC2_CHLRE de *Chlamydomonas reinhardtii*, Q8YUQ7_ANASP de *Anabaena* sp, BBFL7 Q26GR8_9BACT de *Flavobacterium bacterium*, ATCC 700755 Q1VQE5_9FLAO de *Psychroflexus torquis*, HTCC2207 Q1YJP5_9GAMM de proteobacteria gamma marina, HTCC2207 Q1YTK4_9GAMM de proteobacteria gamma marina, Q9A451_CAUCR de *Caulobacter crescentus*, JF-5 Q2DG60_ACICY de *Acidiphilium cryptum*, 5 Q3J0U9_RHOS4 de *Rhodobacter sphaeroides*, Q5LPV1_SILPO de *Silicibacter pomeroyi*, PD1222, Q3PC67_PARDE de *Paracoccus denitrificans*, TM1040 Q3QNY2_9RHOB de *Silicibacter* sp, Q28ML8_JANSC de *Jannaschia* sp, MC-1 Q3XT27_9PROT de *Magnetococcus* sp, Q5WXP0_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5WTZ5_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5X268_LEGPA de *Legionella pneumophila* Q5X2R2_LEGPA, de *Legionella pneumophila*, Q5ZWM9_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q5ZSQ8_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q47Y43_COLP3 de *Colwellia psychrerythraea*, T6c Q3CSZ5_ALTAT 10 de *Pseudoalteromonas atlantica*, Q8EF49_SHEON de *Shewanella oneidensis*, Q21E20_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, Q21ER7_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, S14 Q1ZWE5_9VIBR de *Vibrio angustum*, Q8DAE2_VIBVU de *Vibrio vulnificus*, 12G01 Q1VCP6_VIBAL de *Vibrio alginolyticus*, DAT722 Q2FA22_9VIBR de *Vibrio* sp, Q87NJ1_VIBPA de *Vibrio parahaemolyticus*, Q5E1F5_VIBF1 de *Vibrio fischeri*, Q7MJS8_VIBVY de *Vibrio vulnificus*, SKA34 Q2C6Z5_9GAMM de *Photobacterium* sp, Q2SFY7_HAHCH de *Hahella chejuensis*, MED92 15 Q2BKV0_9GAMM de *Oceanospirillum* sp, RED65 Q1N035_9GAMM de *Oceanobacter* sp, Q310U7_DESDG de *Desulfovibrio desulfuricans*, H 168 Q2AIW5_9FIRM de *Halothermothrix orenii*, Q8RBX6_THETN de *Thermoanaerobacter tengcongensis*, DSM 8903 Q2ZH17_CALSA de *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, Q97E73_CLOAB de *Clostridium acetobutylicum*, QYMF Q3C763_9CLOT de *Alkaliphilus metalliredigens*, Q899J9_CLOTE de *Clostridium tetani* y NCIMB 8052 Q2WVN0_CLOBE de *Clostridium beijerinckii*. En algunas realizaciones de las composiciones farmacéuticas, la proteína H-NOX no tiene una mutación en el motivo Y-S-R, que incluye Tyr135, Ser137 y Arg139 de H-NOX humana.

A menos que se observe o dicte explícitamente de otro modo por el contexto, todas las proteínas H-NOX naturales y 25 mutantes descritas en el presente documento pueden usarse en cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento. La proteína H-NOX puede o puede no tener hemo y/u oxígeno unido y puede o puede no unirse covalentemente a otra molécula o fracción, tal como polietilenglicol. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX es una proteína de fusión que incluye un dominio de H-NOX y parte o toda de otra proteína, tal como albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano).

30 En el presente documento se describen métodos para administrar oxígeno a un individuo (por ejemplo, un mamífero, tal como un primate (por ejemplo, un ser humano, un simio inferior, un gorila, un simio superior, un lémur, etc.), un bovino, un equino, un porcino, un canino o un felino) usando una proteína H-NOX. El individuo puede padecer o está en riesgo de una enfermedad cardiovascular, una enfermedad neurológica, hipoxia tumoral, una pérdida de sangre o una herida. Indicaciones cardiovasculares a modo de ejemplo incluyen infarto de miocardio (por ejemplo, infarto de 35 miocardio por elevación del segmento ST), cardioplejia, anemia de células falciformes, isquemia perioperativa, oclusión vascular periférica y angioplastia. Indicaciones neurológicas a modo de ejemplo incluyen accidente cerebrovascular isquémico, lesión cerebral traumática y lesión de médula espinal. Para el tratamiento de hipoxia tumoral, las proteínas H-NOX pueden usarse, por ejemplo, como un complemento de radioterapia en tumores 40 sólidos (por ejemplo, individuos con malos pronósticos pre-metastásicos) o como un complemento de terapia PDT en tumores superficiales (por ejemplo, cáncer de colon, pulmón o piel, o cáncer en otra superficie o localización accesible). Las aplicaciones de proteínas H-NOX como alternativa a la transfusión de sangre incluyen traumatismo (por ejemplo, campo de batalla, alivio de desastres o accidentes), cirugía (por ejemplo, cirugía de aneurisma abdominal, cirugía ortopédica tal como cirugía de atroplastia de cadera, o cualquier otra cirugía que produce alta 45 pérdida de sangre), hemorragias, choque hemorrágico, hemodilución, y usos de extensión de sangre (por ejemplo, auto-donación suplementante). Ejemplos de aplicaciones de reparación de heridas incluyen cicatrización después de radiación (por ejemplo, efecto de oxígeno hiperbárico), reparación posquirúrgica, reparación de úlceras diabéticas y heridas por quemaduras.

50 En el presente documento se describe un método para administrar oxígeno a un individuo (por ejemplo, un ser humano) administrando a un individuo en necesidad de las mismas una proteína H-NOX en una cantidad suficiente para administrar una cantidad eficaz de oxígeno al individuo. La constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está 55 dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina.

60 En algunas realizaciones de las composiciones, el oxígeno está unido a la proteína H-NOX antes de la administración de la proteína H-NOX al individuo. En algunas realizaciones de las composiciones, el oxígeno no se une a la proteína H-NOX antes de la administración de la proteína H-NOX al individuo y la proteína H-NOX transporta oxígeno de una localización en el individuo a otra localización en el individuo. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX se administra a la sangre del individuo. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX se administra a la sangre, una herida, un tumor, un tejido hipóxico o un órgano 65 hipóxico del individuo. En algunas realizaciones de las composiciones, el individuo padece o está en riesgo de una pérdida de sangre. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX se administra al individuo al

menos dos veces.

En algunas realizaciones de las composiciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*, tal como una constante de disociación del O₂ entre 0,1 y 10 veces o entre 0,5 y 2 veces la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*. En algunas realizaciones de las composiciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*, tal como al menos 100 veces o 1.000 veces menor que la de la hemoglobina alfa de *Homo sapiens*. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX es una proteína natural. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX es una proteína mutante como se describe en el presente documento. En diversas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX tiene al menos una mutación que altera la constante de disociación del O₂, la K_{dis} para el oxígeno, la velocidad de auto-oxidación del hemo, la reactividad del NO, o cualesquiera dos o más de las anteriores en comparación con las de una proteína natural correspondiente. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX es una seleccionada del grupo que consiste en H-NOX de *T. tengcongensis* natural, H-NOX I5A de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L de *T. tengcongensis*, H-NOX I5L-P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F-N74A de *T. tengcongensis*, H-NOX W9Y de *T. tengcongensis*, H-NOX W9N de *T. tengcongensis*, H-NOX W9H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74E de *T. tengcongensis*, H-NOX N74A de *T. tengcongensis*, H-NOX N74H de *T. tengcongensis*, H-NOX N74A-Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y-Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX P115A de *T. tengcongensis*, H-NOX R135Q de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140A de *T. tengcongensis*, I75F-His6 de *T. tengcongensis*, I75F de *T. tengcongensis*, L144F-His6 de *T. tengcongensis*, L144F de *T. tengcongensis*, 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*, 1 H-NOX de *L. pneumophila* natural, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, 2 F9W-F142Y de *L. pneumophila*, H-NOX de *D. desulfuricans* natural, H-NOX(728-899) de *D. desulfuricans*, H-NOX Y139L de *D. desulfuricans*, β1 H-NOX de *H. sapiens* natural, β1 I145Y de *H. sapiens*, β1(1-385) de *H. sapiens*, β1(1-385) I145Y de *H. sapiens*, β1(1-385) I145H de *H. sapiens*, β1(1-194) de *H. sapiens*, β1(1-194) I145Y de *H. sapiens*, β1(1-194) L9W-I145Y de *H. sapiens*, β2(1-217) de *H. sapiens*, β2(1-217) I142Y de *H. sapiens*, β1 H-NOX H105G de *H. sapiens*, β1 H-NOX H105F de *H. sapiens*, β1 H-NOX de *R. norvegicus* natural, β1(1-385) de *R. norvegicus*, β1(1-385) I145Y de *R. norvegicus*, β1(1-385) I145H de *R. norvegicus*, β1(1-194) de *R. norvegicus*, β1(1-194) I145Y de *R. norvegicus*, β1(1-194) L9W-I145Y de *R. norvegicus*, β2(1-217) de *R. norvegicus*, β2(1-217) I142Y de *R. norvegicus*, β1 H-NOX H105G de *R. norvegicus*, β1 H-NOX H105F de *R. norvegicus*, H-NOX(1-175) de *C. botulinum*, H-NOX(1-186) de *C. botulinum*, H-NOX de *C. acetobutylicum* natural, H-NOX(1-197) de *C. acetobutylicum*, H-NOX(1-183) de *C. acetobutylicum*, GCY-35 H-NOX de *C. elegans* natural, H-NOX GCY-35(1-252) de *C. elegans*, β1 H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA de *D. melanogaster* natural, CG14886 de *D. melanogaster* natural, CG4154 de *D. melanogaster* natural; H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural, H-NOX de *M. musculus* natural, H-NOX de *C. familiaris* natural, H-NOX de *B. taurus* natural, *R. norvegicus* natural; H-NOX de *X. laevis* natural, H-NOX de *O. latipes* natural, H-NOX de *O. curivatus* natural, H-NOX de *F. rubripes* natural, H-NOX de *A. gambiae* natural, H-NOX de *M. sexta* natural; gcy-31 de *C. elegans* natural, gcy-32 de *C. elegans*, gcy-33 de *C. elegans* natural, gcy-34 de *C. elegans* natural, gcy-35 de *C. elegans* natural, gcy-36 de *C. elegans* natural, gcy-37 de *C. elegans* natural; H-NOX de *V. cholera* natural, H-NOX de *V. fischeri* natural y H-NOX de *N. punctiforme* natural. En algunas realizaciones de las composiciones, uno o más liposomas o nanopartículas incluyen o encapsulan la proteína H-NOX.

En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX de *T. tengcongensis* natural o 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no es β2(1-217) de *R. norvegicus*, β1(1-194) de *R. norvegicus*, β1(1-385) de *R. norvegicus* o β1(1-385) I145Y de *R. norvegicus*. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no es H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis* o β1 H-NOX (1-385) I145Y de *H. sapiens*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*, β1 I140Y de *H. sapiens* o β1 I145Y de *H. sapiens*. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, β1 H-NOX I140Y de *H. sapiens*, β1 H-NOX de *H. sapiens* natural, sGC β1 H-NOX (1-385) de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX (1-385) I145Y de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX H105G de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX H105F de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX I145Y de *R. norvegicus*, β1 H-NOX de *R. norvegicus* natural, β1 H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA H-NOX de *D. melanogaster* natural, GCY-35 H-NOX de *C. elegans* natural, H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural o H-NOX de *C. acetobutylicum* natural. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no es H-NOX Y40L de *T. tengcongensis*, H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*, H-NOX W9F de *T. tengcongensis*, H-NOX Y140F de *T. tengcongensis*, H-NOX de *T. tengcongensis* natural, 2 H-NOX F142Y de *L. pneumophila*, 2 H-NOX de *L. pneumophila* natural, β1 H-NOX I140Y de *H. sapiens*, β1 I145Y de *H. sapiens*, β1 H-NOX de *H. sapiens* natural, sGC β1 H-NOX (1-385) de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX (1-385) I145Y de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX H105G de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX H105F de *R. norvegicus*, sGC β1 H-NOX I145Y de *R. norvegicus*, β1 H-NOX de *R. norvegicus* natural, β1 H-NOX de *D. melanogaster* natural, CG14885-PA H-NOX de *D. melanogaster* natural, GCY-35 H-NOX de *C. elegans*

natural, H-NOX de *N. punctiforme* natural, H-NOX de *C. crescentus* natural, H-NOX de *S. oneidensis* natural o H-NOX de *C. acetobutylicum* natural. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no es ninguna de las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de gen, seguido de su abreviatura de especie e identificadores de Genbank (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 21 de mayo de 2007 o 22 de mayo de 2007): Npun.5905_Npu_23129606, alr2278_Ana_17229770, SO2144_Sone_24373702, Mdeg1343_Mde_23027521, VCA0720_Vch_15601476, CC2992_Ccr_16127222, Rsph2043_Rhsp_22958463 (gi:46192757), Mmc10739_Mcsp_22999020, Tar4_Tte_20807169, Ddes2822_Dde_23475919, CAC3243_Cac_15896488, gcy-31_Ce_17568389, CG14885_Dm_24647455, GUCY1B3_Hs_4504215, HpGCS-betal_Hpu1_14245738, Gycbeta100B_Dm_24651577, CG4154_Dm_24646993 (gi:NP_650424.2, gi:62484298), gcy-32_Ce_13539160, gcy-36_Ce_17568391 (gi:32566352, gi:86564713), gcy-35_Ce-17507861 (gi:71990146), gcy-37_Ce-17540904 (gi:71985505), GCY1a3_Hs_20535603, GCY1a2-Hs_899477 o GYCa-99B_Dm_729270 (gi:68067738) (Lakshminarayan *et al.* (2003). "Ancient conserved domains shared by animal soluble guanylyl cyclases and bacterial signaling proteins", BMG Genomics 4:5-13). Las abreviaturas de especies usadas en estos nombres incluyen Ana - *Anabaena* Sp; Ccr - *Caulobacter crescentus*; Cac - *Clostridium acetobutylicum*; Dde - *Desulfovibrio desulfuricans*; Mcsp - *Magnetococcus* sp.; Mde - *Microbulbifer degradans*; Npu - *Nostoc punctiforme*; Rhsp - *Rhodobacter sphaeroides*; Sone - *Shewanella oneidensis*; Tte - *Thermoanaerobacter tengcongensis*; Vch - *Vibrio cholerae*; Ce - *Caenorhabditis elegans*; Dm - *Drosophila melanogaster*; Hpul - *Hemicentrotus pulcherrimus*; Hs - *Homo sapiens*. En algunas realizaciones de los métodos, la proteína H-NOX no es ninguna de las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de organismo y número de acceso de la base de datos Pfam (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 17 de mayo de 2007; 21 de mayo de 2007; o 22 de mayo de 2007): Q622M5_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61P44_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61R54_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61V90_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61A94_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60TP4_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60M10_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, GCY37_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY31_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY36_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY32_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY35_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY34_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, GCY33_CAEBR de *Caenorhabditis elegans*, Q7T040_ORYCU de *Oryzias curvnotus*, Q75WF0_ORYCU de *Oryzias curvnotus*, P79998_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q7ZSZ5_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q4SW38_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4RZ94_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4S6K5_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q90VY5_FUGRU de *Fugu rubripes*, Q6INK9_XENLA de *Xenopus laevis*, Q5T8J7_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYA2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB1_HUMAN de *Homo sapiens*, Q9N193_9PRIM de *Gorilla*, QSRAN8_PONPY de *Pongo pygmaeus*, Q9N192_PANTR de *Pan troglodytes*, Q9N194_MACMU de *Macaca mulatta*, Q9N191_HYLLA de *Hylobates lar*, Q8BXH3_MOUSE de *Mus musculus*, GCYB1_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UTI4_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UH83_MOUSE de *Mus musculus*, Q6XE41_MOUSE de *Mus musculus*, Q80YP4_MOUSE de *Mus musculus*, Q80WX7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX8_RAT de *Rattus norvegicus*, Q920Q1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q54A43_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY0_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY4_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH85_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY5_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH90_RAT de *Rattus norvegicus*, Q91XJ7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX9_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB2_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYA2_RAT de *Rattus norvegicus*, Q4ZHR9_CANFA de *Canis familiaris*, GCYB1_BOVIN de *Bos taurus*, Q4ZHR7_PIG de *Sus scrofa*, Q59HN5_GRYBI de *Gryllus bimaculatus*, Q77106_MANSE de *Manduca sexta*, Q76340_MANSE de *Manduca sexta*, Q5UAF0_APIME de *Apis mellifera*, Q5FAN0_APIME de *Apis mellifera*, Q6L5L6_APIME de *Apis mellifera*, PEST Q7PYK9_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7Q9W6_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7QF31_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PS01_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PFY2_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, Q7KQ93_ANOGA de *Anopheles gambiae*, Q24086_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYH_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCY8E_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDA_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDB_DROME de *Drosophila melanogaster*, Q9VA09-DROME de *Drosophila melanogaster*, Q29CE1_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C8_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q29BU7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q7YWK7_APLCA de *Aplysia californica*, Q95NK5_HEMPU de *Hemicentrotus pulcherrimus*, QSYLC2_CHLRE de *Chlamydomonas reinhardtii*, Q8YUQ7_ANASP de *Anabaena* sp, BBFL7_Q26GR8_9BACT de *Flavobacterium bacterium*, ATCC 700755 Q1VQE5_9FLAO de *Psychroflexus torquis*, HTCC2207_Q1YJP5_9GAMM de proteobacteria gamma marina, HTCC2207_Q1YTK4_9GAMM de proteobacteria gamma marina, Q9A451_CAUCR de *Caulobacter crescentus*, JF-5 Q2DG60_ACICY de *Acidiphilium cryptum*, Q3J0U9_RHOS4 de *Rhodobacter sphaeroides*, Q5LPV1_SILPO de *Silicibacter pomeroyi*, PD1222, Q3PC67_PARDE de *Paracoccus denitrificans*, TM1040_Q3QNY2_9RHOB de *Silicibacter* sp, Q28ML8_JANSC de *Jannaschia* sp, MC-1_Q3XT27_9PROT de *Magnetococcus* sp, Q5WXP0_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5WTZ5_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5X268_LEGPA de *Legionella pneumophila*, Q5X2R2_LEGPA de *Legionella pneumophila*, QSZWM9_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q5ZSQ8_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q47Y43_COLP3 de *Colwellia psychrerythraea*, T6c_Q3CSZ5_ALTAT de *Pseudoalteromonas atlantica*, Q8EF49_SHEON de *Shewanella oneidensis*, Q21E20_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, Q21ER7_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, S14 Q1ZWE5_9VIBR de *Vibrio angustum*, Q8DAE2_VIBVU de *Vibrio vulnificus*, 12G01_Q1VCP6_VIBAL de *Vibrio alginolyticus*, DAT722_Q2FA22_9VIBR de *Vibrio* sp, Q87NJ1_VIBPA de *Vibrio parahaemolyticus*, QSE1F5_VIBF1 de *Vibrio fischeri*, Q7MJS8_VIBVY de *Vibrio vulnificus*, SKA34_Q2C6Z5_9GAMM de *Photobacterium* sp, Q2SFY7_HAHCH de *Hahella chejuensis*, MED92_Q2BKV0_9GAMM de *Oceanospirillum* sp, RED65

Q1N035_9GAMM de *Oceanobacter sp.*, Q310U7_DESDG de *Desulfovibrio desulfuricans*, H 168 Q2AIW5_9FIRM de *Halothermothrix orenii*, Q8RBX6_THETN de *Thermoanaerobacter tengcongensis*, DSM 8903 Q2ZH17_CALSA de *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, Q97E73_CLOAB de *Clostridium acetobutylicum*, QYMF Q3C763_9CLOT de *Alkaliphilus metalliredigenes*, Q899J9_CLOTE de *Clostridium tetani* y NCIMB 8052 Q2WVNO_CLOBE de *Clostridium beijerinckii*. En algunas realizaciones de los métodos, la proteína H-NOX no es sGC $\beta 1$ H-NOX C78S de *R. norvegicus* o sGC $\beta 1$ H-NOX C78E de *R. norvegicus*. En algunas realizaciones de las composiciones, la proteína H-NOX no tiene una mutación en el motivo Y-S-R, que incluye Tyr135, Ser137 y Arg139 de H-NOX humana.

A menos que se observe o dicte explícitamente de otro modo por el contexto, todas las proteínas naturales y mutantes y todas las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden usarse en cualquiera de los métodos de administración de oxígeno descritos en el presente documento. La proteína H-NOX puede o puede no tener hemo y/o oxígeno unido y puede o puede no unirse covalentemente a otra molécula o fracción, tal como polietilenglicol. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX es una proteína de fusión que incluye un dominio de H-NOX y parte o toda de otra proteína, tal como albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano).

En el presente documento también se describen kits que incluyen una o más proteínas H-NOX. En algunas realizaciones, el kit incluye una proteína H-NOX e instrucciones para usar el kit para administrar oxígeno a un individuo. La constante de disociación del O_2 de la proteína H-NOX puede estar entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). La constante de disociación del O_2 de la proteína H-NOX puede estar dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O_2 de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). En algunas realizaciones la proteína H-NOX no es H-NOX Y140H de *T. tengcongensis*. A menos que se observe o dicte explícitamente de otro modo por el contexto, todas las proteínas naturales y mutantes y todas las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden usarse en cualquiera de los kits descritos en el presente documento. La proteína H-NOX puede o puede no tener hemo y/o oxígeno unido y puede o puede no unirse covalentemente a otra molécula o fracción, tal como polietilenglicol. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX es una proteína de fusión que incluye un dominio de H-NOX y parte o toda de otra proteína, tal como albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano).

También se describe en el presente documento una proteína H-NOX (tal como cualquiera de las proteínas naturales o mutantes descritas en el presente documento) para su uso como un medicamento. La proteína H-NOX puede utilizarse en un método de administración de oxígeno a un individuo. La proteína H-NOX puede usarse para tratar cualquier afección para la que la administración de O_2 sea beneficiosa, tal como una enfermedad cardiovascular, una enfermedad neurológica, hipoxia tumoral, una pérdida de sangre o una herida.

También se describe en el presente documento el uso de una proteína H-NOX (tal como cualquiera de las proteínas naturales o mutantes descritas en el presente documento) para la fabricación de un medicamento, tal como un medicamento para la administración de oxígeno a un individuo.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1A es una imagen de la estructura tridimensional de restos del bolsillo distal de proteínas H-NOX de unión a NO y unión a O_2 (arriba hemo). Los restos de coordinación de hemo de las proteínas H-NOX de unión a NO y unión a O_2 también se muestran (debajo de hemo). La FIG. 1A se basa en la estructura tridimensional de H-NOX de *T. tengcongensis* informada por Pellicena, P. *et al.* (31 de agosto de 2004). "Crystal Structure of An Oxygen-Binding Heme Domain Related to Soluble Guanylate Cyclases", Proc Natl. Acad Sci USA 101(35):12854-12859.

La FIG. 1B es una vista lateral estereoscópica de la estructura tridimensional de HNOX de *T. tengcongensis* que ilustra rasgos estructurales del dominio de H-NOX. El pliegue de la proteína se representa por diagramas de cintas. El hemo, ligando de dioxígeno, y la histidina proximal se muestran como modelos de esferas y varillas. Las hélices α se marcan A-G según la nomenclatura mostrada en la FIG. 5B. Las cadenas β se marcan 1-4. La FIG. 1B es de Pellicena, P. *et al.* (31 de agosto de 2004). "Crystal Structure of An Oxygen-Binding Heme Domain Related to Soluble Guanylate Cyclases", Proc Natl. Acad Sci USA 101(35):12854-12859.

Las FIGS. 1C-1H son imágenes de la estructura tridimensional de HNOX de *T. tengcongensis* que ilustran restos del bolsillo distal a modo de ejemplo en HNOX de *T. tengcongensis*. Los siguientes restos representados en las FIGS. 1C-1H son los principales restos que comprenden el bolsillo distal de H-NOX: Thr4, Ile5, Thr8, Trp9, Trp67, Asn74, Ile75, Phe78, Phe82, Tyr104 y Leu144, que están contenidos dentro de las hélices A, D, E y G. Las FIGS. 1C-1H se crearon usando PYMOL (DeLano Scientific, LLP).

La FIG. 2 es un alineamiento de secuencias de las siguientes proteínas H-NOX que se unen o se predice que se unen a O_2 y NO: Majority (SEQ ID NO: 1); gcy-31 de Ce. (SEQ ID NO: 2); gcy-33 de Ce. (SEQ ID NO: 3); gcy-35 de Ce. (SEQ ID NO: 4); CG14885 HNOX de Dm. (SEQ ID NO: 5); CG4154 HNOX de Dm. (SEQ ID NO: 6); HNOX beta3 de Ms. (SEQ ID NO: 7); HNOX de *T.* (SEQ ID NO: 8); y HNOX de Ca (SEQ ID NO: 9). Se predice

que estas proteínas H-NOX se unen a O₂, además de a NO, debido a que tienen una tirosina en la posición correspondiente a Y140 de H-NOX de *T. tengcongensis*. La numeración de aminoácidos usada en la FIG. 2 empieza con el primer aminoácido en el dominio de H-NOX o proteína de longitud completa como número de resto 1. El alineamiento se generó usando los parámetros por defecto en el programa MegAlign. Las abreviaturas

usadas en la FIG. 2 se describen más adelante con respecto a las FIGS. 4A-4D. La FIG. 3A-3D son un alineamiento de secuencias de las siguientes proteínas H-NOX que se unen o se predice que se unen a NO, pero no a O₂: Majority (SEQ ID NO: 10); proteína sGC beta1 de Dm. (SEQ ID NO: 11); proteína sGC beta1 (SEQ ID NO: 12); proteína sGC beta1 de hs. (SEQ ID NO: 13); proteína beta2 de hs. (SEQ ID NO: 14); proteína sGC beta1 de Ms. (SEQ ID NO: 15); proteína sGC beta1 de Mm. (SEQ ID NO: 16); similar a HD beta1 de Np. (SEQ ID NO: 17); proteína sGC beta1 de Tr. (SEQ ID NO: 18); *Anopheles gambiae*|XP_310919 (SEQ ID NO: 19); *Apis mellifera*|NP_001011632 (SEQ ID NO: 20); proteína sGC beta1 de Bt. (SEQ ID NO: 21); *Chlamydomonas reinhardtii*|AAR02 (SEQ ID NO: 22); *Oryzias curvinotus*|BAC98396 (SEQ ID NO: 23); *Oryzias latipes*|BAA76691 (SEQ ID NO: 24); *Strongylocentrotus purpuratus*|X (SEQ ID NO: 25); y *Sus scrofa* beta1|NP_001018042+ (SEQ ID NO: 26). El alineamiento se generó usando los parámetros por defecto en el programa MegAlign. Las abreviaturas usadas en las FIGS. 3A-3D se describen a continuación con respecto a la FIG. 4.

Las FIGS. 4A-4D son un alineamiento de secuencias de proteínas H-NOX de las FIGS. 2 y 3A-3D: Majority (SEQ ID NO: 27); proteína sGC beta1 de Dm. (SEQ ID NO: 11); proteína sGC beta1 (SEQ ID NO: 12); proteína sGC beta1 de hs. (SEQ ID NO: 13); proteína beta2 de hs. (SEQ ID NO: 14); proteína sGC beta1 de Mm. (SEQ ID NO: 16); similar a HD beta1 de Np. (SEQ ID NO: 17); proteína sGC beta1 de Tr. (SEQ ID NO: 18); *Chlamydomonas reinhardtii*|AAR02 (SEQ ID NO: 22); *Oryzias curvinotus*|BAC98396 (SEQ ID NO: 23); *Strongylocentrotus purpuratus*|X (SEQ ID NO: 25); *Sus scrofa* beta1|NP_001018042 (SEQ ID NO: 26); gcy-31a (SEQ ID NO: 2); gcy-33 (SEQ ID NO: 3); HNOX de Ca. (SEQ ID NO: 9); similar a HD beta1 de T. (SEQ ID NO: 8); proteína sGC beta3 de Ms. (SEQ ID NO: 7); CG14885 (SEQ ID NO: 5) y variante corta de sGC de Dm. (SEQ ID NO: 6). El alineamiento se generó usando los parámetros por defecto en el programa MegAlign. Para las FIGS. 2-4D, "proteína Dm. sGC beta1" indica β 1 H-NOX de *Drosophila melanogaster*; "proteína sGC beta1" indica β 1 H-NOX de *Rattus norvegicus*; "proteína sGC beta1 de hs." indica β 1 H-NOX de *Homo sapiens*; "proteína beta2 de hs." indica β 2 H-NOX de *Homo sapiens*; "proteína sGC beta1 de Mm." indica β 1 H-NOX de *Mus musculus*; "similar a HD beta1 de Np." indica H-NOX de *Nostoc punctiforme*; "proteína sGC beta1 de Tr." indica β 1 H-NOX de *Takifugu rubripes*; "*Anopheles gambiae*|XP_310919" indica β 1 H-NOX de *Anopheles gambiae*; "*Apis mellifera*|NP_001011632" indica β 1 H-NOX de *Apis mellifera*; "proteína sGC beta1 de Bt." indica β 1 H-NOX de *Bos taurus*; "*Chlamydomonas reinhardtii*|AAR02" indica H-NOX de *Chlamydomonas reinhardtii*; "*Oryzias curvinotus*|BAC98396" indica β 1 H-NOX de *Oryzias curvinotus*; "*Oryzias latipes*|BAA76691" indica β 1 H-NOX de *Oryzias latipes*; "*Strongylocentrotus purpuratus*|X" indica β 1 H-NOX de *Strongylocentrotus purpuratus*; "beta1 de *Sus scrofa* |NP_001018042+" indica β 1 H-NOX de *Sus scrofa*; "gcy-31a" indica Gcy-31a H-NOX de *Caenorhabditis elegans*; "gcy-33" indica Gcy-33 H-NOX de *Caenorhabditis elegans*; "gcy-35" indica Gcy-35 H-NOX de *Caenorhabditis elegans*; "HNOX de Ca." indica H-NOX de *Clostridium acetobutylicum*; "similar a HD beta1 de T." indica 1H-NOX de *Thermoanaerobacter tengcongensis*; "proteína sGC beta3 de Ms." indica β 3 H-NOX de *Manduca sexta*; "CG14885" indica CG14885 H-NOX de *Drosophila melanogaster*; "variante corta de sGC de Dm." indica Gcy-88-E-S H-NOX de *Drosophila melanogaster*, y "CG4154 HNOX de Dm." indica CG4154 H-NOX de *Drosophila melanogaster*.

La FIG. 5A es un alineamiento de secuencias de miembros de la familia H-NOX. La numeración de secuencias es la de H-NOX de *T. tengcongensis*. Los restos invariantes se indican por "V", restos muy altamente conservados se indican por "s". Y140 de H-NOX de *T. tengcongensis* se indica por "H". Los restos de tirosina del bolsillo predichos que pueden estabilizar un complejo de Fe^{II}-O₂ en otras proteínas H-NOX son: posición 70 para GCY-35 de *Caenorhabditis elegans*; posición 140 en CG14885-PA de *Drosophila melanogaster*; posición 138 de GCY-35 de *Caenorhabditis elegans*; posición 140 de *Clostridium acetobutylicum*; numerado según *Thermoanaerobacter tengcongensis*. Los números de acceso son: β 1 [gi:2746083] de *Homo sapiens* (SEQ ID NO: 28), β 1 [gi:27127318] de *Rattus norvegicus* (SEQ ID NO: 29), β 1 [gi:861203] de *Drosophila melanogaster* (SEQ ID NO: 30), CG14885-PA [gi:23171476] de *Drosophila melanogaster* (SEQ ID NO: 31), GCY-35 [gi:52782806] de *Caenorhabditis elegans* (SEQ ID NO: 32), [gi:23129606] de *Nostoc punctiforme* (SEQ ID NO: 33), [gi:16127222] de *Caulobacter crescentus* (SEQ ID NO: 34), [gi:24373702] de *Shewanella oneidensis* (SEQ ID NO: 35), (ORF 2) [CUCGC_272624] de *Legionella pneumophila* (SEQ ID NO: 36), [gi:15896488] de *Clostridium acetobutylicum* (SEQ ID NO: 37) y [gi:20807169] de *Thermoanaerobacter tengcongensis* (SEQ ID NO: 38). Los alineamientos se generaron usando el programa MegAlign, Lasergene, DNA Star, (véase, la malla mundial en "DNASTar.com/products/megalign.php"). Se usaron los parámetros por defecto de Clustal-W.

La FIG. 5B es un alineamiento de secuencias de dominios de H-NOX a modo de ejemplo. Las anotaciones de la estructura secundaria y la numeración encima del alineamiento se corresponden con el dominio de H-NOX de *T. tengcongensis*. Las hélices α se representan por espirales, y las cadenas β por flechas. El bolsillo distal se define por las hélices α α A, α D, α E y α G. Los números de acceso de Pubmed/NCBI son del siguiente modo: Ther_tengcongensis gi | 20807169 | (SEQ ID NO: 39), Clos_acetobutylicum gi |15896488| (SEQ ID NO: 40), Clos_tetani GI:75543266 (SEQ ID NO: 41), Desu_desulfuricans gi | 23475919 | (SEQ ID NO: 42), Vibr_vulnificus gi |27361734| (SEQ ID NO: 43), Caul_crescentus gi |116127222 (SEQ ID NO: 44), Micr_degradans gi | 23027521 | (SEQ ID NO: 45), Vibr_cholerae gi |115601476| (SEQ ID NO: 46), Shew_oneidensis gi |24373702| (SEQ ID NO: 47), Rat_beta1_sGC gi |27127318| (SEQ ID NO: 48), Rat_beta2_sGC gi |21956635| (SEQ ID NO: 49), Nost

punctiforme gi |23129606| (SEQ ID NO: 50) y Nost_sp. gi |17229770| (SEQ ID NO: 51). La secuencia consenso se muestra en la parte inferior de la FIG. 5B (SEQ ID NO: 52). Los alineamientos se generaron usando el programa MULTALIN (Corpet, F. (1988) NucleicAcidsRes. 16:10881-10890) y la FIG. 5B se preparó usando el programa ESPRIPT (Gouet, P. *et al.* (1999) Bioinformatics 15: 305-308.).

Las FIGS. 6A y 6B son imágenes de la estructura tridimensional del entorno hemo del dominio de H-NOX de *T. tengcongensis*. Las FIGS. 6A y 6B son de Pellicena, P. *et al.* (31 de agosto de 2004). "Crystal Structure of An Oxygen-Binding Heme Domain Related to Soluble Guanylate Cyclases", Proc Natl. Acad Sci USA 101(35):12854-12859.

Las FIGS. 7A-7F son gráficas de la espectroscopia UV-visible de proteínas H-NOX después de la reducción anaerobia (complejos sin ligar de Fe^{II}; línea superior en cada gráfica) antes y después de exponerse a aire (complejos de Fe^{II}-O₂; línea inferior en cada gráfica) para *Tt* H-NOX (FIG. 7A), *Tt* Y140L (FIG. 7B), *Tt* W9F-Y140L (FIG. 7C), *Tt* F78Y-Y140L (FIG. 7D), *L2* H-NOX y *L2* F142Y (FIG. 7E), y β 1(1-385) y β 1(1-385) I145Y (FIG. 7F). Además de los complejos de Fe^{II} y Fe^{II}-O₂ de *L2* F142Y y β 1(1-385) I145Y se muestran el espectro de *L2* H-NOX y β 1-(1-385) H-NOX natural después de la reducción y exposición al aire en la línea central en la FIG. 7E y 7F, respectivamente, para demostrar que estas proteínas no se unen a O₂ antes de la adición de una tirosina del bolsillo distal. Los dos o tres números escritos en la esquina superior izquierda de cada panel representan la longitud de onda para el pico de las líneas en la gráfica. Los números están escritos verticalmente en el orden en el que aparecen las líneas correspondientes verticalmente en la gráfica. Por ejemplo, el valor de 430 nm en la FIG. 7A indica el pico de la longitud de onda para la línea superior en la gráfica (que representa un complejo sin ligar de Fe^{II}), y el valor de 416 nm en la FIG. 7A indica el pico de la longitud de onda para la línea inferior en la gráfica (que representa un complejo de Fe^{II}-O₂). Un desplazamiento en la longitud de onda en presencia de aire indica que la proteína se une a O₂. La formación de un doble pico entre 500 y 600 nm en presencia de aire también es indicativa de unión de O₂. Las FIGS. 7A-7F son de Boon, E. M. *et al.* (2005). "Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase", Nature Chem. Biol. 1:53-59.

Las FIGS. 8A-8DD contienen secuencias de polinucleótidos de ácidos nucleicos a modo de ejemplo que codifican proteínas H-NOX y las secuencias de aminoácidos de las proteínas H-NOX correspondientes (SEQ ID NO: 53-162).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa en parte en el sorprendente descubrimiento de que proteínas H-NOX tienen una reactividad del NO mucho menor que la hemoglobina. Esta baja reactividad del NO intrínseca (y alta estabilidad del NO) hace que las proteínas H-NOX naturales y mutantes sean sucedáneos de la sangre deseables debido a la menor probabilidad de inactivación de proteínas H-NOX por NO endógeno y la menor probabilidad de eliminación de NO endógeno por proteínas H-NOX. Y, lo que es más importante, la presencia de una tirosina del bolsillo distal en algunas proteínas H-NOX (Pellicena, P. *et al.* (31 de agosto de 2004). "Crystal Structure of An Oxygen-Binding Heme Domain Related to Soluble Guanylate Cyclases", Proc Natl. Acad Sci USA 101(35):12854-12859) sugiere alta reactividad del NO no deseable, contraindicando el uso como sucedáneo de la sangre. Por ejemplo, por analogía, una proteína hemoglobina de *Mycobacterium tuberculosis*, con una tirosina del bolsillo distal estructuralmente análoga, reacciona extremadamente rápidamente con NO, y es usada por la *Mycobacterium* para eliminar y evitar eficazmente el NO defensivo producido por un huésped infectado (Ouellet, H. *et al.* (30 de abril de 2002). "Truncated Hemoglobin HbN Protects Mycobacterium Bovis From Nitric Oxide", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99(9):5902-5907). Sin embargo, los presentes inventores descubrieron sorprendentemente que las proteínas H-NOX tienen en realidad una reactividad del NO mucho menor que la de la hemoglobina, haciendo posible su uso como sucedáneos de la sangre.

Adicionalmente se descubrió sorprendentemente que las proteínas H-NOX que se unen a NO pero no a O₂ pueden convertirse en proteínas H-NOX que se unen tanto a NO como a O₂ por la introducción de una mutación de un único aminoácido. Por tanto, la afinidad de proteínas H-NOX por O₂ y NO y la capacidad de proteínas H-NOX para discriminar entre ligandos de O₂ y de NO puede alterarse por la introducción de una o más mutaciones de aminoácidos, permitiendo que las proteínas H-NOX sean confeccionadas para unirse a O₂ o NO con afinidades deseadas. Pueden introducirse mutaciones adicionales para alterar adicionalmente la afinidad por O₂ y/o NO. Por tanto, la familia de proteínas H-NOX puede manipularse para presentar propiedades cinéticas y termodinámicas mejoradas u óptimas para administración de O₂. Por ejemplo, se han generado proteínas H-NOX mutantes con constantes de disociación alteradas para la unión a O₂ que mejoran la utilidad de proteínas H-NOX para varias aplicaciones clínicas e industriales. La capacidad para ajustar las proteínas H-NOX para que se unan a y administren O₂ es una vía terapéutica que trata y vence los defectos centrales de los presentes transportadores de O₂. Por consiguiente, la presente invención proporciona proteínas, composiciones, kits y métodos para la administración de oxígeno.

Hay numerosos beneficios de usar proteínas H-NOX para la administración de O₂. La principal función de la transfusión de sangre tras traumatismo y cirugía es administrar O₂. Un sucedáneo de la sangre ideal evita los desafíos de la sangre convencional: contaminación vírica, requisitos de tipado, estabilidad en almacén limitada y disponibilidad limitada. Las principales limitaciones de los sucedáneos de la sangre basados en hemoglobina son su alta afinidad por O₂ y su propensión a reaccionar con NO. Como se ha mencionado anteriormente, la destrucción de niveles de NO incluso bajos puede tener graves efectos sobre el estado de reposo tónico de la vasculatura y

órganos y conduce a hipertensión y dolor gastrointestinal. Adicionalmente, en el proceso de reaccionar con NO, la hemoglobina pierde su capacidad para administrar O₂ en un periodo de tiempo clínicamente relevante. Se han hecho numerosos intentos para minimizar la toxicidad de los transportadores de oxígeno basados en hemoglobina de primera generación (HBOC) que incluyen reticulación intra- e inter-molecular ("Blood Substitutes", R. Winslow ed. Academic Press, 2006). Aunque estas modificaciones vencieron algunos de los graves problemas de toxicidad relacionados con la extravasación de hemoglobina, siguió la destrucción de la unión de oxígeno debido a la alta reactividad del NO. Estos HBOC de segunda generación presentan afinidad reducida por el oxígeno, con valores de p50 próximos al valor de p50 de eritrocitos, ya han fracasado en ensayos clínicos. Winslow y colaboradores han propuesto una hipótesis alternativa: un HBOC de p50 baja con una viscosidad y presión oncótica coloidal apropiada es más apropiado para la administración de oxígeno sin células que un HBOC de p50 alta (Tsai, A. G. *et al.* (2003). "Targeted O₂ Delivery by low-P50 hemoglobin: A New Basis for O₂ Therapeutics," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 285:H1411-H1419; Winslow (2007). "Red Cell Substitutes", *Seminars in Hematology* 44:51-59). Queda por ver si la reactividad del NO de un HBOC tal se convierte o no en un problema en ensayos clínicos. La manipulación de proteínas H-NOX para unirse a y administrar O₂ con reactividad del NO mínima proporciona un nuevo transportador de O₂ gaseoso en la sangre para su uso en sucedáneos de la sangre, en donde las proteínas H-NOX administran O₂ sin eliminar NO o son inactivadas como transportadores de O₂ por NO. Estas proteínas H-NOX, composiciones, kits y métodos se describen adicionalmente en el presente documento.

Proteínas H-NOX

Visión general de la familia de proteínas H-*NOX

A menos que se indique lo contrario, cualquier proteína H-NOX natural o mutante puede usarse en las composiciones, kits y métodos como se describe en el presente documento. Como se usa en el presente documento, una "proteína H-NOX" significa una proteína que tiene un dominio de H-NOX (llamado dominio de unión al Hemo-Óxido Nítrico y Oxígeno). Una proteína H-NOX puede o puede no contener uno o varios de otros dominios, además del dominio de H-NOX. Las proteínas H-NOX son miembros de una familia bien caracterizada altamente conservada de hemoproteínas (Iyer, L. M. *et al.* (3 de febrero de 2003). "Ancient Conserved domains Shared by Animal Soluble Guanylyl Cyclases And Bacterial Signaling Proteins", *BMC Genomics* 4(1):5; Karow, D. S. *et al.* (10 de agosto de 2004). "Spectroscopic Characterization of the Soluble Guanylate Cyclase-Like Heme Domains From *Vibrio Cholerae* And *Thermoanaerobacter Tengcongensis*", *Biochemistry* 43(31):10203-10211; Boon, E. M. *et al.* (2005). "Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase", *Nature Chem. Biol.* 1:53-59; Boon, E. M. *et al.* (octubre de 2005). "Ligand Discrimination in Soluble Guanylate Cyclase and the H-NOX Family of Heme Sensor Proteins", *Curr. Opin. Chem. Biol.* 9(5):441-446; Boon, E. M. *et al.* (2005). "Ligand Specificity of H-NOX Domains: From sGC to Bacterial NO Sensors", *J. Inorg. Biochem.* 99(4):892-902). Las proteínas H-NOX también se denominan proteínas 07700 o proteínas HNOB de Pfam (Pfam – A database of protein domain family alignments and Hidden Markov Models, Copyright (C) 1996-2006 The Pfam Consortium; GNU LGPL Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place - Suite 330, Boston, MA 02111-1307, EE.UU.). En algunas realizaciones, una proteína H-NOX tiene, o se predice que tiene, una estructura secundaria que incluye seis hélices alfa, seguidas de dos cadenas beta, seguidas de una hélice alfa, seguida de dos cadenas beta. Una proteína H-NOX puede ser una apoproteína que puede unirse a hemo o una holoproteína con hemo unido. Una proteína H-NOX puede unirse covalentemente o no covalentemente a un grupo hemo. Algunas proteínas H-NOX se unen a NO, pero no a O₂, y otras se unen tanto a NO como a O₂. Los dominios de H-NOX de aerobios facultativos que han sido aislados se unen a NO, pero no a O₂. Las proteínas H-NOX de procariotas aerobios obligados, *C. elegans*, y *D. melanogaster*, se unen a NO y O₂. Los mamíferos tienen dos proteínas H-NOX: $\beta 1$ y $\beta 2$. Un alineamiento de secuencias de H-NOX de ratón, rata, vaca y humana muestra que estas especies comparten >99 % de identidad. En algunas realizaciones, el dominio de H-NOX de una proteína H-NOX o la proteína H-NOX entera es al menos aproximadamente cualquiera del 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 97, 98, 99 o el 99,5 % idéntica al de la región correspondiente de una proteína H-NOX de *Thermoanaerobacter tengcongensis* que se produce naturalmente o una proteína sGC que se produce naturalmente (por ejemplo, una proteína sGC $\beta 1$ que se produce naturalmente). Como se ha tratado adicionalmente en el presente documento, una proteína H-NOX puede contener opcionalmente una o más mutaciones con respecto a la proteína H-NOX que se produce naturalmente correspondiente. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX incluye uno o más dominios, además del dominio H-NOX. En realizaciones particulares, la proteína H-NOX incluye uno o más dominios o la secuencia entera de otra proteína. Por ejemplo, la proteína H-NOX puede ser una proteína de fusión que incluye un dominio de H-NOX y parte o toda de otra proteína, tal como albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano). En algunas realizaciones, solo el dominio de H-NOX está presente.

Una estructura de cristal de una H-NOX de unión a O₂ procariota de *Thermoanaerobacter tengcongensis* (Nioche, P. *et al.* (26 de noviembre de 2004). "Femtometer Sensitivity of a NO Sensor From *Clostridium Botulinum*", *Science* 306(5701):1550-1553; Pellicena, P. *et al.* (31 de agosto de 2004). "Crystal Structure of An Oxygen-Binding Heme Domain Related to Soluble Guanylate Cyclases", *Proc Natl. Acad Sci USA* 101 (35):12854-12859) muestra que un grupo hidroxilo de la cadena lateral de tirosina hace un enlace de H crítico con la fracción de Fe^{II}-O₂. Esta red de unión a hidrógeno del bolsillo distal, que implica principalmente Y140, estabiliza un complejo de Fe^{II}-O₂ (FIG. 6B). Esta tirosina no está presente en proteínas H-NOX que discriminan al O₂ y solo se unen a NO. Por ejemplo, se predice que esta red de enlace de hidrógeno está ausente en las proteínas H-NOX de sGC y procariotas aerobios, sugiriendo esto que un factor molecular clave en la sorprendente selectividad del ligando contra el O₂ mostrado por

estas proteínas hemo. Las FIGS. 7A-7G demuestran claramente que la adición de una tirosina en el bolsillo distal de una proteína H-NOX natural que se une a NO pero no a O₂ puede permitir que la proteína H-NOX mutante se una a O₂. Por tanto, una tirosina en el bolsillo hemo distal del pliegue hemo de H-NOX actúa de interruptor para activar o desactivar la unión de O₂.

Como se ilustra en las FIGS. 6A y 6B, la estructura de la porfirina está altamente distorsionada. Como se ilustra en la FIG. 6A, el motivo Y-S-R conservado hace interacciones enlace de hidrógeno con las de cadenas laterales de ácido propiónico del grupo hemo. FIG. 6B, el H102 conservado es el ligando proximal al hemo (FIG. 6B).

Como se usa en el presente documento, una "proteína" incluye proteínas y fragmentos de proteínas tanto si se aíslan de fuentes naturales, se producen por técnicas recombinantes como si se sintetizan químicamente. Una proteína puede tener una o más modificaciones, tales como una modificación postraducciona (por ejemplo, glucosilación, etc.) o cualquier otra modificación (por ejemplo, PEGilación, etc.). La proteína puede contener uno o más aminoácidos que no se producen naturalmente (por ejemplo, tales como un aminoácido con una modificación en la cadena lateral). En diversas realizaciones, la proteína H-NOX tiene al menos aproximadamente 50, 100, 150, 181, 200, 250, 300, 350, 400 o más aminoácidos. En algunas realizaciones, las proteínas H-NOX pueden incluir de aproximadamente 50 a aproximadamente 600 aminoácidos, tal como aproximadamente 100 a aproximadamente 500 aminoácidos, aproximadamente 150 a aproximadamente 400 aminoácidos, aproximadamente 150 a aproximadamente 300 aminoácidos, o aproximadamente 175 a aproximadamente 200 aminoácidos.

Fuentes de proteínas H-NOX

Pueden usarse en las composiciones, kits y métodos descritos en el presente documento proteínas H-NOX de cualquier género o especie. En diversas realizaciones, la proteína H-NOX es una proteína de un mamífero (por ejemplo, un primate (por ejemplo, ser humano, simio inferior, gorila, simio superior, lémur, etc.), un bovino, un equino, un porcino, un canino o un felino), un insecto, una levadura o una bacteria o se deriva de una proteína tal. Proteínas H-NOX de mamífero a modo de ejemplo incluyen guanilato ciclasa soluble humana y de rata natural (tal como la subunidad $\beta 1$). Ejemplos de proteínas H-NOX incluyen proteínas H-NOX de mamífero naturales, por ejemplo, *H. sapiens*, *M. musculus*, *C. familiaris*, *B. taurus* y *R. norvegicus*; y proteínas H-NOX de vertebrado no mamífero naturales, por ejemplo, *X. laevis*, *O. latipes*, *O. curvinotus* y *F. rubripes*. Ejemplos de proteínas H-NOX de unión a NO naturales de no mamífero incluyen proteínas H-NOX naturales de *D. melanogaster*, *A. gambiae* y *M. sexta*; ejemplos de proteínas H-NOX de unión a O₂ naturales de no mamífero incluyen proteínas H-NOX naturales de gcy-31, gcy-32, gcy-33, gcy-34, gcy-35, gcy-36 y gcy-37 de *C. elegans*; CG14885, CG14886 y CG4154 de *D. melanogaster*; y beta-3 de *M. sexta*; ejemplos de proteínas H-NOX naturales procariotas incluyen *T. tengcongensis*, *V. cholera*, *V. fischeri*, *N. punctiforme*, *D. desulfuricans*, *L. pneumophila* 1, *L. pneumophila* 2 y *C. acetobutylicum*.

Los números de acceso de NCBI para proteínas H-NOX a modo de ejemplo incluyen los siguientes: $\beta 1$ [gi:2746083] de *Homo sapiens*, $\beta 1^*$ [gi:27127318] de *Rattus norvegicus*, $\beta 1$ [gi:861203] de *Drosophila melanogaster*, CG14885-PA [gi:23171476] de *Drosophila melanogaster*, GCY-35 [gi:52782806] de *Caenorhabditis elegans*, [gi:23129606] de *Nostoc punctiforme*, [gi:16127222] de *Caulobacter crescentus*, [gi:24373702] de *Shewanella oneidensis*, [CUCGC_272624] de *Legionella pneumophila* (ORF 2), [gi:15896488] de *Clostridium acetobutylicum* y [gi:20807169] de *Thermoanaerobacter tengcongensis*.

Proteínas H-NOX a modo de ejemplo también incluyen las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de gen, seguido de su abreviatura de especie e identificadores de Genbank (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 21 de mayo de 2007 o 22 de mayo de 2007]):

Npun5905_Npu_23129606, alr2278_Ana_17229770, SO2144_Sone_24373702, Mdeg1343_Mde_23027521, VCA0720_Vch_15601476, CC2992_Ccr_16127222, Rsph2043_Rhsp_22958463 (gi:46192757), Mmc10739_Mcsp_22999020, Tar4_Tte_20807169, Ddes2822_Dde_23475919, CAC3243_Cac_15896488, gcy-31_Ce_17568389, CG14885_Dm_24647455, GUCY1B3_Hs_4504215, HpGCS-bctal_Hpul_14245738, Gycbeta100B_Dm_24651577, CG4154_Dm_24646993 (gi:NP_650424.2, gi:62484298), gcy-32_Ce_13539160, gcy-36_Ce_17568391 (gi:32566352, gi:86564713), gcy-35_Ce_17507861 (gi:71990146), gcy-37_Ce_17540904 (gi:71985505), GCY1a3_Hs_20535603, GCY1a2-Hs_899477 o GYCa-99B_Dm_729270 (gi:68067738) (Lakshminarayan *et al.* (2003). "Ancient conserved domains shared by animal soluble guanylyl cyclases and bacterial signaling proteins", *BMG Genomics* 4:5-13). Las abreviaturas de especies usadas en estos nombres incluyen Ana - *Anabaena* Sp; Ccr - *Caulobacter crescentus*; Cac - *Clostridium acetobutylicum*; Dde - *Desulfovibrio desulfuricans*; Mcsp - *Magnetococcus* sp.; Mde - *Microbulbifer degradans*; Npu - *Nostoc punctiforme*; Rhsp - *Rhodobacter sphaeroides*; Sone - *Shewanella oneidensis*; Tte - *Thermoanaerobacter tengcongensis*; Vch - *Vibrio cholerae*; Ce - *Caenorhabditis elegans*; Dm - *Drosophila melanogaster*; Hpul - *Hemicentrotus pulcherrimus*; Hs - *Homo sapiens*.

Otras proteínas H-NOX a modo de ejemplo incluyen las siguientes proteínas H-NOX que se enumeran por su nombre de organismo y número de acceso de la base de datos Pfam (tal como las siguientes secuencias de proteínas disponibles a partir de 21 de mayo de 2006; 22 de mayo de 2006; 17 de mayo de 2007; 21 de mayo de

2007 o 22 de mayo de 2007): Q622M5_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61P44_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61R54_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61V90_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q61A94_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60TP4_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, Q60M10_CAEBR de *Caenorhabditis briggsae*, GCY37_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY31_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY36_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY32_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY35_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY34_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, GCY33_CAEL de *Caenorhabditis elegans*, Q7T040_ORYCU de *Oryzias curvinotus*, Q75WF0_ORYCU de *Oryzias curvinotus*, P79998_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q7ZS25_ORYLA de *Oryzias latipes*, Q4SW38_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4RZ94_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q4S6K5_TETNG de *Tetraodon nigroviridis*, Q90VY5_FUGRU de *Fugu rubripes*, Q6INK9_XENLA de *Xenopus laevis*, Q5T8J7_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYA2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB2_HUMAN de *Homo sapiens*, GCYB1_HUMAN de *Homo sapiens*, Q9N193_9PRIM de *Gorilla gorilla*, Q5RAN8_PONPY de *Pongo pygmaeus*, Q9N192_PANTR de *Pan troglodytes*, Q9N194_MACMU de *Macaca mulatta*, Q9N191_HYLLA de *Hylobates lar*, Q8BXH3_MOUSE de *Mus musculus*, GCYB1_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UT14_MOUSE de *Mus musculus*, Q3UH83_MOUSE de *Mus musculus*, Q6XE41_MOUSE de *Mus musculus*, Q80YP4_MOUSE de *Mus musculus*, Q80WX7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX8_RAT de *Rattus norvegicus*, Q920Q1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q5A43_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY0_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY4_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH85_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WY5_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB1_RAT de *Rattus norvegicus*, Q8CH90_RAT de *Rattus norvegicus*, Q91XJ7_RAT de *Rattus norvegicus*, Q80WX9_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYB2_RAT de *Rattus norvegicus*, GCYA2_RAT de *Rattus norvegicus*, Q4ZHR9_CANFA de *Canis familiaris*, GCYB1_BOVIN de *Bos taurus*, Q4ZHR7_PIG de *Sus scrofa*, Q59HN5_GRYBI de *Gryllus bintaculatus*, Q77106_MANSE de *Manduca sexta*, Q76340_MANSE de *Manduca sexta*, Q5UAF0_APIME de *Apis mellifera*, Q5FAN0_APIME de *Apis mellifera*, Q6L5L6_APIME de *Apis mellifera*, PEST Q7PYK9_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7Q9W6_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7QF31_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PS01_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, PEST Q7PFY2_ANOGA de *Anopheles gambiae* str, Q7KQ93_ANOGA de *Anopheles gambiae*, Q24086_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYH_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYBE_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDA_DROME de *Drosophila melanogaster*, GCYDB_DROME de *Drosophila melanogaster*, Q9VA09_DROME de *Drosophila melanogaster*, Q29CE1_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q296C8_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q29BU7_DROPS de *Drosophila pseudoobscura*, Q7YWK7_APLCA de *Aplysia californica*, Q95NK5_HEMPU de *Hemicentrotus pulcherrimus*, Q5ILC2_CHLRE de *Chlamydomonas reinhardtii*, Q8YUQ7_ANASP de *Anabaena* sp, BBFL7_Q26GR8_9BACT de *Flavobacterium bacterium*, ATCC 700755 Q1VQE5_9FLAO de *Psychroflexus torquis*, HTCC2207_Q1YPJ5_9GAMM de proteobacteria gamma marina, HTCC2207_Q1YTK4_9GAMM de proteobacteria gamma marina, Q9A451_CAUCR de *Caulobacter crescentus*, JF-5 Q2DG60_ACICY de *Acidiphilium cryptum*, Q3J0U9_RHOS4 de *Rhodobacter sphaeroides*, Q5LPV1_SILPO de *Silicibacter pomeroyi*, PD1222 de *Paracoccus denitrificans*, Q3PC67_PARDE, TM1040_Q3QNY2_9RHOB de *Silicibacter* sp, Q28ML8_JANSC de *Jannaschia* sp, MC-1_Q3XT27_9PROT de *Magnetococcus* sp, Q5WXP0_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5WTZ5_LEGPL de *Legionella pneumophila*, Q5X268_LEGPA de *Legionella pneumophila*, Q5X2R2_LEGPA de *Legionella pneumophila*, Q5ZWM9_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q5ZSQ8_LEGPH de *Legionella pneumophila* subsp *pneumophila*, Q47Y43_COLP3 de *Colwellia psychrerythraea*, T6c_Q3CSZ5_ALTAT de *Pseudoalteromonas atlantica*, Q8EF49_SHEON de *Shewanella oneidensis*, Q21E20_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, Q21ER7_SACD2 de *Saccharofagus degradans*, S14 Q1ZWE5_9VIBR de *Vibrio angustum*, Q8DAE2_VIBVU de *Vibrio vulnificus*, 12G01_Q1VCP6_VIBAL de *Vibrio alginolyticus*, DAT722_Q2FA22_9VIBR de *Vibrio* sp, Q87NJ1_VIBPA de *Vibrio parahaemolyticus*, Q5E1F5_VIBF1 de *Vibrio fischeri*, Q7MJS8_VIBVY de *Vibrio vulnificus*, SKA34_Q2C6Z5_9GAMM de *Photobacterium* sp, Q2SFY7_HAHCH de *Hahella chejuensis*, MED92_Q2BKV0_9GAMM de *Oceanospirillum* sp, RED65_Q1N035_9GAMM de *Oceanobacter* sp, Q310U7_DESDG de *Desulfovibrio desulfuricans*, H 168_Q2AIW5_9FIRM de *Halothermothrix orenii*, Q8RBX6_THETN de *Thermoanaerobacter tengcongensis*, DSM 8903_Q2ZH17_CALSA de *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, Q97E73_CLOAB de *Clostridium acetobutylicum*, QYMF_Q3C763_9CLOT de *Alkaliphilus metalliredigenes*, Q899J9_CLOTE de *Clostridium tetani* y NCIMB 8052_Q2WVN0_CLOBE de *Clostridium beijerinckii*. Se predice que estas secuencias codifican proteínas H-NOX basadas en la identificación de estas proteínas como que pertenecen a la familia de proteínas H-NOX usando la base de datos Pfam como se describe en el presente documento.

Proteínas y ácidos nucleicos H-NOX adicionales, que pueden ser adecuados para su uso en las composiciones farmacéuticas y métodos descritos en el presente documento, pueden identificarse usando métodos convencionales. Por ejemplo, pueden usarse programas de alineamiento de secuencias y/o predicción de estructuras convencionales para identificar proteínas y ácidos nucleicos H-NOX adicionales basándose en la similitud de su estructura de proteína primaria y/o secundaria predicha con la de proteínas y ácidos nucleicos H-NOX conocidos. Por ejemplo, la base de datos Pfam usa algoritmos de alineamiento definidos y modelos de Hidden Markov (tal como Pfam 21.0) para clasificar proteínas en familias tales como la familia de proteínas H-NOX (Pfam - A database of protein domain family alignments and Hidden Markov Models, Copyright (C) 1996-2006 The Pfam Consortium; GNU LGPL Free Software Foundation, Inc., 59 Temple Place - Suite 330, Boston, MA 02111-1307, EE.UU.). También pueden usarse bases de datos convencionales tales como la base de datos swissprot-trembl (malla mundial en "expasy.org", Swiss Institute of Bioinformatics Swiss-Prot group CMU - 1 rue Michel Servet CH-1211 Geneva 4, Suiza) para identificar miembros de la familia de proteínas H-NOX. La estructura secundaria y/o terciaria de una proteína H-NOX puede predecirse usando los parámetros por defecto de programas de predicción de estructuras convencionales tales

como PredictProtein (630 West, 168 Street, BB217, Nueva York, N.Y. 10032, EE.UU.). Alternativamente, la estructura secundaria y/o terciaria real de una proteína H-NOX puede determinarse usando métodos convencionales.

- 5 En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene el mismo aminoácido en la posición correspondiente que cualquiera de los siguientes restos del bolsillo distal en H-NOX de *T. tengcongensis*: Thr4, Ile5, Thr8, Trp9, Trp67, Asn74, Ile75, Phe78, Phe82, Tyr140, Leu144, o cualquier combinación de dos o más de los anteriores. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una prolina o una arginina en una posición correspondiente a la de Pro115 o Arg135 de H-NOX de *T. tengcongensis*, respectivamente, basándose en el alineamiento de secuencias de sus
- 10 secuencias de aminoácidos. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una histidina que se corresponde con His105 de β 1 H-NOX de *R. norvegicus*. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene o se predice que tiene una estructura secundaria que incluye seis hélices alfa, seguidas de dos cadenas beta, seguidas de una hélice alfa, seguida de dos cadenas beta. Esta estructura secundaria se ha informado para proteínas H-NOX.
- 15 Si se desea, una proteína H-NOX recientemente identificada puede probarse para determinar si se une a hemo usando métodos convencionales. La capacidad de una proteína H-NOX para actuar de transportador de O₂ puede probarse determinando si la proteína H-NOX se une a O₂ usando métodos convencionales tales como aquellos descritos en el presente documento. Si se desea, una o más de las mutaciones descritas en el presente documento pueden introducirse en la proteína H-NOX para optimizar sus características como transportador de O₂. Por ejemplo,
- 20 una o más mutaciones pueden introducirse para alterar su constante de disociación del O₂, k_{dis} para oxígeno, velocidad de auto-oxidación del hemo, reactividad del NO, estabilidad del NO o cualquier combinación de dos o más de las anteriores. Pueden usarse técnicas convencionales tales como aquellas descritas en el presente documento para medir estos parámetros.
- 25 Como se ha tratado en el presente documento, las proteínas H-NOX mutantes (por ejemplo, mutantes de clase I y clase II tratados más adelante) pueden derivarse por mutagénesis de estas u otras secuencias de fuentes naturales (por ejemplo, las secuencias enumeradas en la FIG. 2-4D o 8A-8DD o cualquier otra secuencia descrita en el presente documento). Como se usa en el presente documento, “derivado de” se refiere a la fuente de la proteína en la que una o más mutaciones se introducen. Por ejemplo, una proteína que se “deriva de una proteína de mamífero”
- 30 se refiere a una proteína de interés que resulta de introducir una o más mutaciones en la secuencia de una proteína de mamífero natural (es decir, una secuencia que se produce en la naturaleza).

Proteínas H-NOX mutantes

- 35 Como se ha tratado adicionalmente en el presente documento, una proteína H-NOX puede contener una o más mutaciones, tales como una mutación que altera la constante de disociación del O₂, la k_{dis} para el oxígeno, la velocidad de auto-oxidación del hemo, la reactividad del NO, la estabilidad del NO, o cualquier combinación de dos o más de las anteriores en comparación con las de la proteína natural correspondiente. Pueden generarse paneles de proteínas H-NOX manipuladas por mutagénesis al azar seguido de cribado empírico para constantes de disociación
- 40 requeridas o deseadas, velocidades de disociación, reactividad del NO, estabilidad, fisio-compatibilidad, o cualquier combinación de dos o más de las anteriores en vista de la enseñanza proporcionada en el presente documento usando técnicas como se describen en el presente documento y, adicionalmente, como son conocidas por el experto. Alternativamente, la mutagénesis puede elegirse selectivamente como diana para regiones o restos particulares tales como restos de bolsillo distales evidentes de la estructura tridimensional experimentalmente determinada o predicha de una proteína H-NOX (FIG. 1A en el presente documento; y véase, por ejemplo, Boon, E. M. *et al.* (2005). “Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase”, *Nature Chemical Biology* 1:53-59, particularmente con respecto a las secuencias de proteínas H-NOX naturales y mutantes) o restos evolutivamente conservados identificados a partir de alineamientos de secuencias (FIGS. 2-4 en el presente documento; y véase, por ejemplo, Boon E.M. *et al.* (2005). “Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate
- 50 Cyclase”, *Nature Chemical Biology* 1:53-59, particularmente con respecto a las secuencias de proteínas H-NOX naturales y mutantes).

- Como se usa en el presente documento, una “proteína mutante” significa una proteína con una o más mutaciones en comparación con una proteína que se produce en la naturaleza. En una realización, la proteína mutante tiene una
- 55 secuencia que se diferencia de la de todas las proteínas que se producen en la naturaleza. En diversas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la proteína mutante es al menos aproximadamente cualquiera del 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 97, 98, 99 o el 99,5 % idéntica a la de la región correspondiente de una proteína que se produce en la naturaleza. En algunas realizaciones, la proteína mutante es un fragmento de proteína que contiene al menos aproximadamente cualquiera de 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300 o 400 aminoácidos contiguos de una proteína de longitud completa. La identidad de secuencias puede medirse, por ejemplo, usando software de análisis de secuencias con dichos parámetros por defecto especificados (por ejemplo, Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705). Este programa de software iguala secuencias similares asignando grados de homología a diversas sustituciones, delecciones y otras modificaciones de aminoácidos.
- 60

65

Como se usa en el presente documento, una “mutación” significa una alteración en una secuencia de ácidos nucleicos o de aminoácidos de referencia que se produce en la naturaleza. Mutaciones de ácidos nucleicos a modo de ejemplo incluyen una inserción, delección, mutación por desplazamiento del marco, mutación silenciosa, mutación terminadora o mutación de aminoácido. En algunas realizaciones, la mutación de ácido nucleico no es una mutación silenciosa. Mutaciones de proteínas a modo de ejemplo incluyen la inserción de uno o más aminoácidos (por ejemplo, la inserción de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos), la delección de uno o más aminoácidos (por ejemplo, una delección del extremo N, extremo C y/o restos internos tales como la delección de al menos aproximadamente cualquiera de 5, 10, 15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300 o más aminoácidos o una delección de aproximadamente cualquiera de 5, 10, 15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300 o 400 aminoácidos), la sustitución de uno o más aminoácidos (por ejemplo, la sustitución de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos), o combinaciones de dos o más de lo anterior. Un truncamiento funcional a modo de ejemplo de una proteína H-NOX incluye los restos 1-385 de la secuencia de β 1. En algunas realizaciones, una proteína mutante tiene al menos una alteración de aminoácidos en comparación con una proteína que se produce en la naturaleza. En algunas realizaciones, una secuencia de ácidos nucleicos mutante codifica una proteína que tiene al menos una alteración de aminoácidos en comparación con una proteína que se produce en la naturaleza. En algunas realizaciones, el ácido nucleico no es una versión degenerada de un ácido nucleico que se produce en la naturaleza que codifica una proteína con una secuencia de aminoácidos idéntica a una proteína que se produce en la naturaleza. La nomenclatura usada con referencia a una mutación de aminoácido particular identifica primero el aminoácido natural, seguido del número de resto y finalmente el aminoácido sustituto. Por ejemplo, Y140L significa que la tirosina ha sido sustituida con una leucina en el resto número 140.

Una “mutación evolutivamente conservada” es la sustitución de un aminoácido en una proteína con un aminoácido en la posición correspondiente de otra proteína en la misma familia de proteínas. Mutaciones evolutivamente conservadas a modo de ejemplo (también indicadas mutaciones de clase I) se enumeran en la Tabla 1A. En la Tabla 1A, las mutaciones se numeran/anotan según la secuencia de β 1 H-NOX humana, pero son análogas para todas las secuencias de H-NOX. Por tanto, la posición correspondiente en cualquier otra proteína H-NOX puede mutarse al resto indicado. Por ejemplo, Phe4 de β 1 H-NOX humana puede mutarse a una tirosina ya que otras proteínas H-NOX tienen una tirosina en esta posición. El resto de fenilalanina correspondiente puede mutarse a una tirosina en cualquier otra proteína H-NOX. En realizaciones particulares, la una o más mutaciones están confinadas en restos evolutivamente conservados. En algunas realizaciones, la una o más mutaciones pueden incluir al menos una mutación evolutivamente conservada y al menos una mutación no evolutivamente conservada. Si se desea, estas proteínas H-NOX mutantes se someten a cribado empírico para constantes de disociación de NO/O₂, reactividad del NO, estabilidad y fisio-compatibilidad en vista de la enseñanza proporcionada en el presente documento.

Tabla 1A. Mutaciones de H-NOX de clase I a modo de ejemplo que eligen como diana restos evolutivamente conservados

F4Y	Q30G	I145Y
F4L	E33P	I145H
H7G	N61G	K151E
A8E	C78H	I157F
L9W	A109F	E183F

En algunas realizaciones, la mutación es una mutación del bolsillo distal tal como mutación de un resto en la hélice alfa A, D, E o G (Pellicena, P. *et al.* (31 de agosto de 2004). “Crystal Structure of An Oxygen-Binding Heme Domain Related to Soluble Guanylate Cyclases”, *Proc Natl. Acad Sci USA* 101(35):12854-12859). Mutaciones del bolsillo distal a modo de ejemplo (también indicadas mutaciones de clase II) se enumeran en la Tabla 1B. En la Tabla 1B, las mutaciones se numeran/anotan según la secuencia de β 1 H-NOX humana, pero son análogas para todas las secuencias de H-NOX. Debido a que varias sustituciones proporcionan mutaciones viables en cada resto citado, el resto en cada posición indicada puede cambiarse a cualquier otro aminoácido que se produzca naturalmente o que no se produzca naturalmente (indicado “X”). Tales mutaciones pueden producir proteínas H-NOX con varias características de afinidad, estabilidad y reactividad deseadas.

Tabla 1B. Mutaciones de H-NOX de clase II a modo de ejemplo que eligen como diana restos del bolsillo distal

V8X	M73X	I145X
L9X	F77X	I149X
F70X	C78X	

En realizaciones particulares, la mutación es una mutación del bolsillo distal de hemo. Como se describe en el presente documento, un determinante molecular crucial que previene la unión de O₂ en miembros de unión de NO de la familia H-NOX es la falta de un donante de enlace de H en el bolsillo distal del hemo. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la mutación altera el enlace de H entre el dominio de H-NOX y el ligando dentro del bolsillo distal. En algunas realizaciones, la mutación interrumpe un donante de enlace de H del bolsillo distal y/o confiere unión al ligando de O₂ reducida con respecto al dominio de H-NOX natural correspondiente. Restos del bolsillo distal a modo de ejemplo incluyen hr4, Ile5, Thr8, Trp9, Trp67, Asn74, Ile75, Phe78, Phe82, Tyr140 y Leu144 de H-NOX de *T. tengcongensis* y los restos correspondientes en cualquier otra proteína H-NOX.

Los restos que no están en el bolsillo distal también pueden afectar la estructura tridimensional del grupo hemo; esta estructura afecta a su vez la unión de O₂ y NO al hierro en el grupo hemo. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una o más mutaciones fuera del bolsillo distal. Ejemplos de restos que pueden mutarse, pero que no están en el bolsillo distal, incluyen Pro115 y Arg135 de H-NOX de *T. tengcongensis*. En algunas realizaciones, la mutación está en el bolsillo proximal que incluye His105 como resto que se liga con el hierro del hemo.

En algunas realizaciones, cuando dos o más mutaciones están presentes; al menos una mutación está en el bolsillo distal y al menos una mutación está fuera del bolsillo distal (por ejemplo, una mutación en el bolsillo proximal). En algunas realizaciones, todas las mutaciones están en el bolsillo distal.

En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la proteína H-NOX no es idéntica a la secuencia de una proteína que se produce por un organismo en la naturaleza. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la proteína H-NOX no es idéntica a una secuencia encontrada en cualquier base de datos el 21 de mayo de 2006 o 22 de mayo de 2006 (tal como todas las secuencias conocidas predichas o conocidas por ser una secuencia de ácidos nucleicos o de aminoácidos de H-NOX). En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la proteína H-NOX no es idéntica a una secuencia encontrada en ninguna base de datos el 21 de mayo de 2007 o 22 de mayo de 2007 (tal como todas las secuencias conocidas predichas o conocidas por ser una secuencia de ácidos nucleicos o de aminoácidos de H-NOX).

Para reducir la inmunogenicidad de proteínas H-NOX derivadas de fuentes distintas de seres humanos, los aminoácidos en una proteína H-NOX pueden mutarse a los aminoácidos correspondientes en una H-NOX humana. Por ejemplo, uno o más aminoácidos sobre la superficie de la estructura terciaria de una proteína H-NOX no humana pueden mutarse al aminoácido correspondiente en una proteína H-NOX humana. En algunas variaciones, la mutación de uno o más aminoácidos de superficie puede combinarse con la mutación de dos o más restos del bolsillo distal, mutación de uno o más restos fuera del bolsillo distal (por ejemplo, una mutación en el bolsillo proximal), o combinaciones de dos o más de lo anterior.

Mutaciones a modo de ejemplo se muestran en la Tabla 2. Además, cualquiera de los restos enumerados en la Tabla 2 puede mutarse a cualquier otro aminoácido. Puede realizarse cualquier combinación de mutación descrita en el presente documento, tal como mutaciones dobles, triples o múltiples superiores. Por ejemplo, combinaciones de cualquiera de las mutaciones descritas en el presente documento pueden hacerse en la misma proteína H-NOX. Obsérvese que mutaciones en posiciones equivalentes en otras proteínas H-NOX de mamífero o de no mamífero también están englobadas por la presente invención. Si se desea también pueden mutarse restos distintos de los mencionados en la Tabla 2. Las proteínas H-NOX mutantes a modo de ejemplo comprenden una o más mutaciones que imparten unión a ligando de O₂ o NO alterada con respecto al dominio de H-NOX natural correspondiente y son operativas como transportador de gas O₂ en sangre de mamífero fisiológicamente compatible.

En la Tabla 2 y todas las tablas posteriores, el número de resto para una mutación indica la posición en la secuencia de la proteína H-NOX particular que se describe. Por ejemplo, I5A de *T. tengcongensis* se refiere a la sustitución de isoleucina por alanina en la quinta posición en H-NOX de *T. tengcongensis*. La misma isoleucina para la mutación de alanina puede hacerse en el resto correspondiente en cualquier otra proteína H-NOX (este resto puede o puede no ser el quinto resto en la secuencia de otras proteínas H-NOX). Como las secuencias de aminoácidos de dominios de β 1 H-NOX de mamífero se diferencian como máximo en dos aminoácidos, también se espera que las mutaciones que producen proteínas H-NOX mutantes deseables cuando se introducen en proteínas β 1 H-NOX de rata naturales produzcan proteínas H-NOX mutantes deseables cuando se introducen en proteínas β 1 H-NOX naturales de otros mamíferos, tales como seres humanos.

Tabla 2. Mutantes de H-NOX a modo de ejemplo de *T. tengcongensis* (Tt), *L. pneumophila* (Lp), *D. desulfuricans* (Dd), *V. cholera* (Vc), *N. punctiforme* (Np), *C. botulinum* (Cb), *C. acetobutylicum* (Ca), rata, ser humano, *C. elegans* (Ce).

Tt	Lp	Dd	Otras bacterias	Rata	Ser humano	Gusano
Tt H-NOX	L2 H-NOX	Dd H-NOX(728-899)	Vc H-NOX	β 1(1-385)	β 1(1-385)	Ce GCY-35(1-252)
Tt H-NOX His6	L2 F142Y	Dd Y139L	Np H-NOX	β 1(1-385) I145Y	β 1(1-385) I145Y	
Tt I5A	L2 F9W-F142Y		Cb H-NOX(1-175)	β 1(1-385) I145H	β 1(1-385) I145H	
Tt I5L	L1 H-NOX		Cb H-NOX(1-186)	β 1(1-385) C78Y	β 1(1-385) C78Y	

<i>Tt</i> I5L- P115A	<i>L1</i> F142Y	Ca H- NOX(1- 197)	β 1(1-194)	β 1(1-194)
<i>Tt</i> W9F		Ca H- NOX(1- 183)	β 1 H105F	β 1 H105F
<i>Tt</i> W9F-Y140L			β 1 H105G	β 1 H105G
<i>Tt</i> W9F- Y140H			β 1(1-194) I145Y	β 1(1-194) I145Y
<i>Tt</i> W9F- N74A			β 1(1-194) L9W-I145Y	β 1(1-194) L9W- I145Y
<i>Tt</i> W9Y			β 2(1-217)	β 2(1-217)
<i>Tt</i> W9N			β 2(1-217) I142Y	β 2(1-217) I142Y
<i>Tt</i> W9H				
<i>Tt</i> N74E				
<i>Tt</i> N74A				
<i>Tt</i> N74H				
<i>Tt</i> N74A- Y140H				
<i>Tt</i> I75F				
His6				
<i>Tt</i> F78Y- Y140L				
<i>Tt</i> F78Y- Y140F				
<i>Tt</i> P115A				
<i>Tt</i> R135Q				
His6				
<i>Tt</i> Y140F				
<i>Tt</i> Y140L				
<i>Tt</i> Y140H				
<i>Tt</i> Y140A				
<i>Tt</i> L144F				
His6				

Modificaciones a proteínas H-NOX

- 5 Cualquiera de las proteínas H-NOX naturales o mutantes puede modificarse y/o formularse usando métodos convencionales para potenciar aplicaciones terapéuticas o industriales. Por ejemplo, y particularmente como se aplica a proteínas H-NOX manipuladas heterólogas, en la técnica se conoce varios métodos para aislar tales agentes de supervisión inmune que incluyen reticulación, PEGilación, decoloración de hidratos de carbono, etc. (por ejemplo, Rohlf, R. J. *et al.* (15 de mayo de 1998). "Arterial Blood Pressure Responses to Cell-Free Hemoglobin Solutions And The Reaction With Nitric Oxide", J. Biol. Chem. 273(20):12128-12134; Migita, R. *et al.* (junio de 1997).
- 10 "Blood Volume And Cardiac Index in Rats After Exchange Transfusion With Hemoglobin-Based Oxygen Carriers", J. Appl. Physiol. 82(6):1995-2002; Vandegriff, K. D. *et al.* (15 de agosto de 2004). "Kinetics of NO and O₂ Binding to a Maleimide Poly(ethylene glycol)-Conjugated Human Haemoglobin", Biochem J. 382(Pt 1):183-189, particularmente con respecto a la modificación de proteínas), además de otras técnicas conocidas para el experto. Fusionando una proteína H-NOX con una proteína humana tal como albúmina de suero humano puede aumentarse la semivida en suero, viscosidad y presión oncótica coloidal. En algunas realizaciones, una proteína H-NOX se modifica durante o después de su síntesis para reducir su inmunogenicidad y/o para aumentar su tiempo de retención en plasma. Las proteínas H-NOX también pueden encapsularse (tal como encapsulación dentro de liposomas o nanopartículas).
- 15

Características de proteínas H-NOX naturales y mutantes

Como se describe en el presente documento, se ha generado un gran número de diversas proteínas mutantes H-NOX que proporcionan intervalos de constantes de disociación del NO y O₂, k_{dis} de O₂, reactividad y estabilidad del NO. Para proporcionar transportadores de gas en sangre operativos, las proteínas H-NOX pueden usarse para sustituir o complementar funcionalmente transportadores de O₂ endógenos tales como hemoglobina. Por consiguiente, en algunas realizaciones, una proteína H-NOX tiene una velocidad de asociación del O₂, velocidad de disociación del O₂, constante de disociación para la unión de O₂, estabilidad del NO, reactividad del NO, velocidad de auto-oxidación, tiempo de retención en plasma, o cualquier combinación de dos o más de las anteriores, similar o mejorada en comparación con un transportador de O₂ endógeno, tal como hemoglobina.

Como se usa en el presente documento, "hemoglobina" significa una proteína o un mutante de la misma de la familia bien caracterizada de hemoglobinas, que son metaloproteínas de transporte de O₂ que contienen hierro en glóbulos rojos. La hemoglobina humana libre de estromas purificada tiene una K_D cinética para O₂ de aproximadamente 200-500 nM. Este valor es dependiente de la subunidad.

Como se usa en el presente documento, una " k_{dis} " significa una velocidad de disociación, tal como la velocidad de liberación de O₂ o NO de una proteína. Una menor k_{dis} numérica indica una velocidad más lenta de disociación. En diversas realizaciones, la k_{dis} para O₂ para una proteína H-NOX está entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 200 s⁻¹ a 20 °C, tal como aproximadamente 0,1 y aproximadamente 200 s⁻¹, aproximadamente 0,1 y 100 s⁻¹, aproximadamente 1,0 y aproximadamente 16,0 s⁻¹, aproximadamente 1,35 y aproximadamente 23,4 s⁻¹, aproximadamente 1,34 y aproximadamente 18 s⁻¹, aproximadamente 1,35 y aproximadamente 14,5 s⁻¹, aproximadamente 0,21 y aproximadamente 23,4 s⁻¹, aproximadamente 1,35 y aproximadamente 2,9 s⁻¹, aproximadamente 2 y aproximadamente 3 s⁻¹, aproximadamente 5 y aproximadamente 15 s⁻¹, o aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1 s⁻¹. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una k_{dis} para el oxígeno que es inferior a o igual a aproximadamente 0,65 s⁻¹ a 20 °C (tal como entre aproximadamente 0,21 s⁻¹ y aproximadamente 0,65 s⁻¹ a 20 °C).

Por una " k_{as} " se indica una velocidad de asociación, tal como la velocidad de unión de O₂ o NO a una proteína. Una menor k_{as} numérica indica una velocidad más lenta de asociación. En diversas realizaciones, la k_{as} para O₂ para una proteína H-NOX está entre aproximadamente 0,14 y aproximadamente 60 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ a 20 °C, tal como aproximadamente 6 y aproximadamente 60 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, aproximadamente 6 y 12 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, aproximadamente 15 y aproximadamente 60 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, aproximadamente 5 y aproximadamente 18 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, o aproximadamente 6 y aproximadamente 15 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Por "constante de disociación" se indica una "constante de disociación cinética" o una "constante de disociación calculada". Una "constante de disociación cinética" o " K_D " significa una relación de velocidad de disociación cinética (k_{dis}) con respecto a velocidad de asociación cinética (k_{as}), tal como un valor de K_D determinado como un valor absoluto usando métodos convencionales (por ejemplo, métodos espectroscópicos convencionales, de flujo interrumpido o fotólisis de destello) que incluyen métodos conocidos para el experto y/o descritos en el presente documento. "Constante de disociación calculada" o " K_D calculada" se refiere a una aproximación de la constante de disociación cinética basándose en una t_{dis} medida. Un valor para la k_{as} se deriva mediante la correlación entre K_D y k_{dis} cinética como se describe en el presente documento.

En diversas realizaciones, la K_D cinética o calculada para la unión de O₂ por una proteína H-NOX está entre aproximadamente 1 nM y 1 mM, tal como aproximadamente 2 nM y aproximadamente 2 μM , aproximadamente 2 μM y aproximadamente 1 mM, aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1 μM , aproximadamente 9 μM y aproximadamente 50 μM , aproximadamente 100 μM y aproximadamente 1 mM, aproximadamente 50 nM y aproximadamente 10 μM , aproximadamente 2 nM y aproximadamente 50 μM , aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μM , aproximadamente 150 nM y aproximadamente 1 μM , o aproximadamente 100 nM y aproximadamente 255 nM, aproximadamente 20 nM y aproximadamente 2 μM , 20 nM y aproximadamente 75 nM, aproximadamente 1 μM y aproximadamente 2 μM , aproximadamente 2 μM y aproximadamente 10 μM , aproximadamente 2 μM y aproximadamente 9 μM , o aproximadamente 100 nM y 500 nM a 20 °C. En algunas realizaciones, la K_D cinética o calculada para la unión de O₂ es inferior a aproximadamente cualquiera de 100 nM, 80 nM, 50 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM o 10 nM a 20 °C.

En diversas realizaciones, la K_D cinética o calculada para la unión de O₂ por una proteína H-NOX está dentro de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 veces la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones (tal como a 20 °C), tal como entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10 veces o entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2 veces la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones (tal como a 20 °C). En diversas realizaciones, la K_D cinética o calculada para la unión de NO por una proteína H-NOX está dentro de aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 veces la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones (tal como a 20 °C), tal como entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10 veces o entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2 veces la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones (tal como a 20 °C).

Como se usa en el presente documento, "afinidad del oxígeno" es un término cualitativo que se refiere a la intensidad de la unión del oxígeno la fracción hemo de una proteína. Esta afinidad está afectada por tanto la k_{dis} como la k_{as} para el oxígeno. Un valor de K_D del oxígeno numéricamente menor significa una mayor afinidad.

“Afinidad de NO” es un término cualitativo que se refiere a la intensidad de la unión del NO a una proteína (tal como unión a un grupo hemo o a un oxígeno unido a un grupo hemo asociado a una proteína). Esta afinidad está afectada por tanto la k_{dis} como la k_{as} para el NO. Un valor de K_D del NO numéricamente menor significa una mayor afinidad.

5 Como se usa en el presente documento, “estabilidad del NO” se refiere a la estabilidad o resistencia de una proteína a la oxidación por NO en presencia de oxígeno. Por ejemplo, la capacidad de la proteína para no oxidarse cuando se une a NO en presencia de oxígeno es indicativa de la estabilidad del NO de la proteína. En algunas realizaciones, menos de aproximadamente cualquiera del 50, 40, 30, 10 o el 5 % de una proteína H-NOX se oxida después de incubación durante aproximadamente cualquiera de 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15 o 20 horas a 20 °C.

10 Como se usa en el presente documento, “reactividad del NO” se refiere a la velocidad a la que el hierro en el hemo de una proteína de unión a hemo se oxida por NO en presencia de oxígeno a una concentración de proteína 2 μ M. Un menor valor numérico para la reactividad del NO en unidades de s^{-1} indica una menor reactividad del NO. En diversas realizaciones, la reactividad del NO de una proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s^{-1} a 20 °C, tal como inferior a aproximadamente 600 s^{-1} , 500 s^{-1} , 400 s^{-1} , 300 s^{-1} , 200 s^{-1} , 100 s^{-1} , 75 s^{-1} , 50 s^{-1} , 25 s^{-1} , 20 s^{-1} , 10 s^{-1} , 50 s^{-1} , 3 s^{-1} , 2 s^{-1} , 1,8 s^{-1} , 1,5 s^{-1} , 1,2 s^{-1} , 1,0 s^{-1} , 0,8 s^{-1} , 0,7 s^{-1} o 0,6 s^{-1} a 20 °C. En diversas realizaciones, la reactividad del NO de una proteína H-NOX está entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 600 s^{-1} a 20 °C, tal como entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 400 s^{-1} , aproximadamente 0,5 y aproximadamente 100 s^{-1} , aproximadamente 0,5 y aproximadamente 50 s^{-1} , aproximadamente 0,5 y aproximadamente 10 s^{-1} , aproximadamente 1 y aproximadamente 5 s^{-1} , o aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2,1 s^{-1} a 20 °C. En diversas realizaciones, la reactividad de una proteína H-NOX es al menos aproximadamente 10, 100, 1.000 o 10.000 veces inferior a la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones, tal como a 20 °C.

25 Como se usa en el presente documento, una “velocidad de auto-oxidación” se refiere a la velocidad a la que el hierro en el hemo de una proteína de unión a hemo se auto-oxida. Una menor velocidad de auto-oxidación numérica en unidades de s^{-1} indica una menor velocidad de auto-oxidación. En diversas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de una proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 1,0 h^{-1} a 37 °C, tal como inferior a aproximadamente cualquiera de 0,9 h^{-1} , 0,8 h^{-1} , 0,7 h^{-1} , 0,6 h^{-1} , 0,5 h^{-1} , 0,4 h^{-1} , 0,3 h^{-1} , 0,2 h^{-1} , 0,1 h^{-1} o 0,05 h^{-1} a 37 °C. En diversas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de una proteína H-NOX está entre aproximadamente 0,006 y aproximadamente 5,0 h^{-1} a 37 °C, tal como aproximadamente 0,006 y aproximadamente 1,0 h^{-1} , 0,006 y aproximadamente 0,9 h^{-1} , o aproximadamente 0,06 y aproximadamente 0,5 h^{-1} a 37 °C.

30 En diversas realizaciones, una proteína H-NOX mutante tiene (a) una constante de disociación del O₂ o NO, velocidad de asociación (k_{as} para O₂ o NO) o velocidad de disociación (k_{dis} para O₂ o NO) dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina, (b) tiene una afinidad del NO más débil (por ejemplo, al menos aproximadamente 10 veces, 100 veces o 1000 veces más débil) que la de sGC β 1, respectivamente, (c) una reactividad del NO con O₂ unido al menos 1000 veces inferior a hemoglobina, (d) un tiempo de retención en plasma *in vivo* de al menos 2, 10, 100 o 1000 veces superior al de la hemoglobina, o (e) cualquier combinación de dos o más de las anteriores.

40 Transportadores de O₂ adecuados a modo de ejemplo proporcionan constantes de disociación dentro de dos órdenes de magnitud de la de la hemoglobina, es decir, entre aproximadamente 0,01 y 100 veces, tal como entre aproximadamente 0,1 y 10 veces, o entre aproximadamente 0,5 y 2 veces la de la hemoglobina. Puede usarse varias técnicas establecidas para cuantificar constantes de disociación, tales como las técnicas descritas en el presente documento (Boon, E. M. *et al.* (2005). “Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase”, Nature Chem. Biol. 1:53-59; Boon, E. M. *et al.* (octubre de 2005). “Ligand Discrimination in Soluble Guanylate Cyclase and the H-NOX Family of Heme Sensor Proteins”, Curr. Opin. Chem. Biol. 9(5):441-446; Boon, E. M. *et al.* (2005). “Ligand Specificity of H-NOX Domains: From sGC to Bacterial NO Sensors”, J. Inorg. Biochem. 99(4):892-902), Vandegriff, K. D. *et al.* (15 de agosto de 2004). “Kinetics of NO and O₂ Binding to a Maleimide Poly(ethylene glycol)-Conjugated Human Haemoglobin”, Biochem J. 382(Pt 1):183-189, particularmente con respecto a la medición de constantes de disociación), además de aquellas conocidas para el experto. Transportadores de O₂ a modo de ejemplo proporcionan reactividad del NO baja o minimizada de la proteína H-NOX con O₂ unido, tal como una reactividad del NO inferior a la de la hemoglobina. En algunas realizaciones, la reactividad del NO es mucho menor, tal como al menos aproximadamente 10, 100, 1.000 o 10.000 veces menor que la de la hemoglobina. Puede usarse varias técnicas establecidas para cuantificar la reactividad del NO (Boon, E. M. *et al.* (2005). “Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase”, Nature Chem. Biol. 1:53-59; Boon, E. M. *et al.* (octubre de 2005). “Ligand Discrimination in Soluble Guanylate Cyclase and the H-NOX Family of Heme Sensor Proteins”, Curr. Opin. Chem. Biol. 9(5):441-446; Boon, E. M. *et al.* (2005). “Ligand Specificity of H-NOX Domains: From sGC to Bacterial NO Sensors”, J. Inorg. Biochem. 99(4):892-902), Vandegriff, K. D. *et al.* (15 de agosto de 2004). “Kinetics of NO and O₂ Binding to a Maleimide Poly(ethylene glycol)-Conjugated Human Haemoglobin”, Biochem J. 382(Pt 1):183-189, particularmente con respecto a la medición de la reactividad del NO), además de aquellas conocidas para el experto. Debido a que la H-NOX de *T. tengcongensis* natural tiene una reactividad del NO tan baja, otras proteínas H-NOX naturales y proteínas H-NOX mutantes pueden tener una reactividad del NO baja similar. Por ejemplo, H-NOX Y140H de *T. tengcongensis* tiene una reactividad del NO similar a la de H-NOX de *T. tengcongensis* natural.

65 Además, transportadores de O₂ adecuados proporcionan alta estabilidad o maximizada, particularmente estabilidad *in vivo*. Puede usarse varias métricas de estabilidad, tal como estabilidad oxidativa (por ejemplo, estabilidad a la

auto-oxidación u oxidación por NO), estabilidad a la temperatura y estabilidad *in vivo*. Puede usarse varias técnicas establecidas para cuantificar la estabilidad, tal como las técnicas descritas en el presente documento (Boon, E. M. *et al.* (2005). "Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase", *Nature Chem. Biol.* 1:53-59; Boon, E. M. *et al.* (octubre de 2005). "Ligand Discrimination in Soluble Guanylate Cyclase and the H-NOX Family of Heme Sensor Proteins", *Curr. Opin. Chem. Biol.* 9(5):441-446; Boon, E. M. *et al.* (2005). "Ligand Specificity of H-NOX Domains: From sGC to Bacterial NO Sensors", *J. Inorg. Biochem.* 99(4):892-902), además de aquellas conocidas para el experto. Para la estabilidad *in vivo* en plasma, sangre o tejido, métricas de estabilidad a modo de ejemplo incluyen tiempo de retención, velocidad de eliminación y semivida. Se espera que las proteínas H-NOX de organismos termófilos sean estables a altas temperaturas. En diversas realizaciones, los tiempos de retención en plasma son al menos aproximadamente 2, 10, 100 o 1000 veces mayores que los de la hemoglobina (por ejemplo, Bobofchak, K. M. *et al.* (agosto de 2003). "A Recombinant Polymeric Hemoglobin With Conformational, Functional, And Physiological characteristics of an *in vivo* O₂ transporter", *Am. J. Physiol. Heart Circ.-c. Physiol.* 285(2):H549-H561). Como será apreciado por el experto, los sucedáneos de la sangre basados en hemoglobina están limitados por la rápida eliminación de la hemoglobina sin células del plasma debido a la presencia de receptores para la hemoglobina que eliminan la hemoglobina sin células del plasma. Como no hay receptores para proteínas H-NOX en el plasma, se espera que las proteínas H-NOX naturales y mutantes tengan un tiempo de retención en el plasma más largo que el de la hemoglobina. Si se desea, el tiempo de retención en el plasma puede aumentarse PEGilando o reticulando una proteína H-NOX o fusionando una proteína H-NOX con otra proteína usando métodos convencionales (tales como aquellos descritos en el presente documento y aquellos conocidos para el experto).

En diversas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una constante de disociación del O₂ entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM a 20 °C y una reactividad del NO de al menos aproximadamente 10 veces menor a la de la hemoglobina en las mismas condiciones, tales como a 20 °C. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una constante de disociación entre aproximadamente 1 nM a aproximadamente 1 mM a 20 °C y la reactividad del NO es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una constante de disociación del O₂ dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina y una reactividad del NO al menos aproximadamente 10 veces menor que la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones, tal como a 20 °C. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una *k_{dis}* para el oxígeno entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 200 s⁻¹ a 20 °C y una reactividad del NO al menos aproximadamente 10 veces menor que la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones, tal como a 20 °C. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX tiene una *k_{dis}* para el oxígeno que es inferior a aproximadamente 0,65 s⁻¹ a 20 °C (tal como entre aproximadamente 0,21 s⁻¹ y aproximadamente 0,64 s⁻¹ a 20 °C) y una reactividad del NO al menos aproximadamente 10 veces menor que la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones, tal como a 20 °C. En realizaciones particulares, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 2 nM y aproximadamente 50 μM, aproximadamente 50 nM y aproximadamente 10 μM, aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μM, aproximadamente 150 nM y aproximadamente 1 μM, o aproximadamente 100 nM y aproximadamente 255 nM a 20 °C. En diversas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 80 nM a 20 °C, tal como entre aproximadamente 20 nM y aproximadamente 75 nM a 20 °C. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos aproximadamente 100 veces inferior o aproximadamente 1.000 veces inferior a la de la hemoglobina bajo las mismas condiciones, tal como a 20 °C. En algunas realizaciones, la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C, tal como inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 400 s⁻¹, 300 s⁻¹, 200 s⁻¹, 100 s⁻¹, 75 s⁻¹, 50 s⁻¹, 25 s⁻¹, 20 s⁻¹, 10 s⁻¹, 50 s⁻¹, 3 s⁻¹, 2 s⁻¹, 1,8 s⁻¹, 1,5 s⁻¹, 1,2 s⁻¹, 1,0 s⁻¹, 0,8 s⁻¹, 0,7 s⁻¹ o 0,6 s⁻¹ a 20 °C. En algunas realizaciones, la *k_{dis}* para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre 0,01 y 200 s⁻¹ a 20 °C, tal como aproximadamente 0,1 y aproximadamente 200 s⁻¹, aproximadamente 0,1 y 100 s⁻¹, aproximadamente 1,35 y aproximadamente 23,4 s⁻¹, aproximadamente 1,34 y aproximadamente 18 s⁻¹, aproximadamente 1,35 y aproximadamente 14,5 s⁻¹, aproximadamente 0,21 y aproximadamente 23,4 s⁻¹, aproximadamente 2 y aproximadamente 3 s⁻¹, aproximadamente 5 y aproximadamente 15 s⁻¹, o aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1 s⁻¹. En algunas realizaciones, la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 100 nM y aproximadamente 1,9 μM a 20 °C, y la *k_{dis}* para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1,35 s⁻¹ y aproximadamente 14,5 s⁻¹ a 20 °C. En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 1 h⁻¹ a 37 °C, tal como inferior a aproximadamente cualquiera de 0,9 h⁻¹, 0,8 h⁻¹, 0,7 h⁻¹, 0,6 h⁻¹, 0,5 h⁻¹, 0,4 h⁻¹, 0,3 h⁻¹, 0,2 h⁻¹ o 0,1 h⁻¹. En algunas realizaciones, la *k_{dis}* para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1,35 s⁻¹ y aproximadamente 14,5 s⁻¹ a 20 °C, y la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 1 h⁻¹ a 37 °C. En algunas realizaciones, la *k_{dis}* para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre aproximadamente 1,35 s⁻¹ y aproximadamente 14,5 s⁻¹ a 20 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C). En algunas realizaciones, la velocidad de auto-oxidación del hemo de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 1 h⁻¹ a 37 °C, y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a aproximadamente 700 s⁻¹ a 20 °C (por ejemplo, inferior a aproximadamente 600 s⁻¹, 500 s⁻¹, 100 s⁻¹, 20 s⁻¹ o 1,8 s⁻¹ a 20 °C).

En algunas realizaciones, la viscosidad de la solución de proteína H-NOX está entre 1 y 4 centipoise (cP). En algunas realizaciones, la presión oncótica coloidal de la solución de proteína H-NOX está entre 20 y 50 mm de Hg.

La Tabla 3 enumera tamaños, afinidades del oxígeno, estabilidades de auto-oxidación, velocidades de reactividad del NO y modificaciones para proteínas H-NOX naturales y mutantes a modo de ejemplo. En la Tabla 3, el tamaño del transportador se refiere al peso molecular de una proteína H-NOX modificada (por ejemplo, PEGilada) o sin modificar.

5 **Tabla 3: Realizaciones a modo de ejemplo para proteínas H-NOX**

Tamaño del transportador	Afinidad del oxígeno	Estabilidad (auto-oxidación)	Reactividad del NO (s ⁻¹)	Decoración de la partícula
>1 MD	<1 nM	1 hora	0,01 a 0,1	Reticulación
0,5 kD a 1 MD	1 nM a 100 nM	1 h a 12 h	0,1 a 1	PEGilación
0,1 kD a 0,5 kD	100 nM a 1 uM	12 h a 48 h	1 a 10	Encapsulación
0,01 kD a 0,1 kD	1 uM a 10 uM	48 h a 2 semanas	10 a 100	

Datos a modo de ejemplo para mutantes particulares se informan en las Tablas 4-12. En la Tablas 4-12, $\beta 1$ y $\beta 2$ se refieren a proteínas derivadas de proteínas H-NOX de rata. Como las secuencias de aminoácidos de dominios de $\beta 1$ H-NOX de mamífero se diferencian como mucho por dos aminoácidos, se esperan resultados similares para las mutaciones correspondientes en otras proteínas $\beta 1$ H-NOX de mamífero, tales como $\beta 1$ humana. Como se muestra en la Tabla 4, la introducción de una o más mutaciones en proteínas H-NOX naturales permite alterar la velocidad de auto-oxidación y velocidad de disociación del O₂. Si se desea, la velocidad de auto-oxidación o velocidad de disociación del O₂ puede alterarse adicionalmente combinando cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 4 o introduciendo una o más mutaciones adicionales en una proteína H-NOX, como se describe en el presente documento.

Tabla 4. Se enumeran estabilidad a la auto-oxidación, propiedades de unión del O₂ (tales como velocidad de disociación del O₂) y restos de enlace de H del bolsillo distal para proteínas H-NOX naturales y mutantes de la clase II

Proteína	Estabilidad	Actividad de unión de O ₂ ^b	Restos del bolsillo distal
Tt H-NOX, una H-NOX procariota y un ligador de O₂ fuerte			
Tt H-NOX	$k_{ox} \sim 0^c$	$k_{dis} = 1,22$	Trp9, Phe78, Tyr140
Tt Y140F	$k_{ox} = 0,05$	$k_{dis} = 15,7^d$	Trp9, Phe78, Phe 140
Tt Y140L	$k_{ox} = 0,19$	$k_{dis} = 20.^d$	Trp9, Phe78, Leu 140
Tt Y140H	$k_{ox} = 0,87$	$k_{dis} = 5,03$	Trp9, Phe78, His140
Tt Y140A	Estable ^a	Complejo parcial ^{d,e}	Trp9, Phe78, Ala140
Tt W9F	$k_{ox} \sim 0^c$	$k_{dis} = 1,84$	Phe9, Phe78, Tyr140
Tt W9F-Y140L	$k_{ox} = 0,12$	No se forma complejo	Phe9, Phe78, Leu140
Tt W9F-Y140H	$k_{ox} = 0,11$	$k_{dis} = 23,4$	Phe9, Phe78, His140
Tt F78Y-Y140L	$k_{ox} \sim 0^c$	$k_{dis} = 0,83$	Trp9, Tyr78, Leu140
Tt F78Y-Y140F	$k_{ox} \sim 0^c$	$k_{dis} = 1,48$	Trp9, Tyr78, Phe140
Proteínas H-NOX procariotas para las que la proteína natural no se une a O₂			
L2 H-NOX	Estable ^a	No se forma complejo	Phe9, Phe78, Phe142
L2 F142Y	Estable ^f	$k_{dis} = 3,68$	Phe9, Phe78, Tyr142
L2 F9W-F142Y	Estable ^f	Se une a O ₂ ^e	Trp9, Phe78, Tyr142
L1 H-NOX	$k_{ox} = 0,31$	No se forma complejo	Leu9, Leu78, Phe142
L1 F142Y	$k_{ox} = 1,8$	$k_{dis} = 1,73^d$	Leu9, Leu78, Tyr142
H-NOX eucariotas para las que la proteína natural no se une a O₂			
$\beta 2(1-217)$	$k_{ox} = 0,18$	No se forma complejo	Leu9, Cys76, He142
$\beta 2(1-217)$ I142Y		g	Leu9, Cys76, Tyr142
$\beta 1(1-194)$	$k_{ox} = 4,3$	No se forma complejo	Leu9, Cys78, Ile145
$\beta 1(1-194)$ I145Y	$k_{ox} = 2,8$	g	Leu9, Cys78, Tyr145
$\beta 1(1-194)$ L9W-I145Y	$k_{ox} \sim 10$	g	Trp9, Cys78, Tyr145
$\beta 1(1-385)$	Estable ^e	No se encuentra complejo	Leu9, Cys78, Ile145
$\beta 1(1-385)$ I145Y	$k_{ox} = 0,72$	$k_{dis} = 2,69$	Leu9, Cys78, Tyr145

$\beta 1(1-385)$ I145H			Leu9, Cys78, His145
$\beta 1(1-385)$ C78Y			Leu9, Tyr78, Ile145
Otras H-NOX predichas que se unen a O ₂ como construcción natural			
<i>Dd</i> H-NOX(728-899)	$k_{ox} = 0,98$	$k_{dis} = 5,80$	Phe9, Phe75, Tyr139
<i>Dd</i> Y139L			Phe9, Phe75, Leu139
<i>Cb</i> H-NOX(1-175)	Construcción no estable ^h	g	Trp9, Phe78, Tyr140
<i>Cb</i> H-NOX(1-186)	Ligeramente más estable ⁱ	g	Trp9, Phe78, Tyr140
<i>Ca</i> H-NOX(1-197)	Construcción no estable ^h	g	Trp9, Phe78, Tyr140
<i>Ca</i> H-NOX(1-183)	Ligeramente más estable ⁱ	g	Trp9, Phe78, Tyr140
<i>Ce</i> GCY-35(1-252)	Estable	Se une a O ₂ ^e	Phe9, Thr78, Tyr144
^a La construcción es estable a la oxidación (evaluada por la velocidad de auto-oxidación, k_{ox} [h ⁻¹] a 37 °C) y/o pérdida de hemo. ^b La actividad de unión de O ₂ se evaluó por la velocidad de disociación del O ₂ del hemo a 20 °C (s ⁻¹). ^c Después de 24 horas a 37 °C, todavía no hay indicación de auto-oxidación. ^d Solo una pequeña porción de la proteína forma un complejo con O ₂ , la velocidad informada representa la cinética para esta población. ^e La proteína se une a O ₂ , pero la k_{dis} no se determinó. ^f Aunque relativamente estable, esta proteína precipitó a medida que se oxidó, dificultando medir la k_{ox} . ^g No aplicable debido a la inestabilidad o rápida oxidación. ^h "Construcción no estable" significa que la proteína se oxida inmediatamente en las condiciones probadas. ⁱ "Ligeramente más estable" significa que la proteína se oxida durante un periodo de minutos a horas, pero no sigue siendo estable más allá de 24 horas en las condiciones probadas.			

La Tabla 5 ilustra la alteración de la velocidad de asociación del O₂ (k_{as}), velocidad de disociación del O₂ (k_{dis}), constante de disociación del O₂ (K_D) y velocidad de auto-oxidación (k_{ox}) en proteínas H-NOX por la introducción de una o más mutaciones. En algunas realizaciones, cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 5 se combinan con otra mutación (tal como otra mutación en la Tabla 5 o cualquier otra mutación descrita en el presente documento) para alterar adicionalmente la velocidad de asociación del O₂, velocidad de disociación del O₂, constante de disociación del O₂, velocidad de auto-oxidación, o combinaciones de dos o más de las anteriores.

Tabla 5. Constantes cinéticas de unión de O₂ para proteínas hemo de Fe^{II} ligado a histidilo

Proteína	K_D^a	k_{as}^b	k_{dis}^c	k_{ox}^d	Ref.
<i>Tt</i> H-NOX	89,7 ± 6,2	13,6 ± 1,0	1,22 ± 0,09	e	i
<i>Tt</i> P115A	21,2 ± 2,1	10,4 ± 1,1	0,22 ± 0,01	e	j
<i>Tt</i> I5A	~80		0,82 ± 0,03	0,7	j
<i>Tt</i> I5L	~1000		9,50 ± 0,64	0,6	j
<i>Tt</i> I5L-P115A	~30		0,28 ± 0,01	0,6	j
<i>Tt</i> W9F	305 ± 31	6,02 ± 0,62	1,84 ± 0,17	e	i
<i>Tt</i> Y140F	f	15,7 ± 1,4	15,7 ± 9,8	0,05	j
<i>Tt</i> Y140L	~2000	Seminal	20,1 ± 2,0	0,19	i
<i>Tt</i> Y140H	~500		5,03 ± 0,69	0,87	j
<i>Tt</i> W9F-Y140H	~2500		23,4 ± 3,7	0,11	j
<i>Tt</i> W9F-Y140L	No se observa complejo con O ₂			0,12	i
<i>Tt</i> F78Y-Y140F	~150		1,48 ± 0,33	e	j
<i>Tt</i> F78Y-Y140L	~80		0,83 ± 0,17	e	i
<i>Tt</i> W9F-N74A	Milimolar	muy lenta			j
<i>Dd</i> H-NOX	Milimolar	muy lenta	7,13 ± 0,45	0,14	j
<i>Dd</i> Y139L	No se observa complejo con O ₂				j
$\beta 1(1-385)$ I145Y	70.000,00	0,00004	2,69 ± 0,61	0,72	i
L2 F 142Y	9200 ± 3000	0,40 ± 0,14	3,68 ± 0,71		i
<i>Hs</i> Hb beta	267	60	16		n
<i>Hs</i> Hb alfa	560	50	28		k
<i>Sw</i> Mb	880	17	15	0,006	k
<i>Bj</i> FixL	140.000	0,14	20	2,7	l

HemAT-B	720	32	23	0,06	M
^a constante de disociación a 20 °C (nM); ^b velocidad de asociación del O ₂ al hemo a 20 °C (μLM ⁻¹ s ⁻¹); ^c velocidad de disociación del O ₂ del hemo a 20 °C (s ⁻¹); ^d velocidad de auto-oxidación del hemo (h ⁻¹) a 37 °C; ^e después de 24 horas a 37 °C, todavía no hay indicación de auto-oxidación; ^f solo una pequeña porción de la proteína forma un complejo con O ₂ , aunque la cinética para esta población pudo medirse; ^g Boon, E.M. <i>et al.</i> (junio de 2005). "Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase", <i>Nature Chemical Biology</i> 1(1):53-59, ^h datos sin publicar; ⁱ Springer, B. A. <i>et al.</i> (1994) "Family Physicians Key Partners in Preventing Suicide Among Youth", <i>Chem. Rev.</i> 94:699-714; ^j Gilles-Gonzalez <i>et al.</i> (1994) "Heme-Based Sensors, Exemplified for the Kinase FixL, are a New Class of Heme Protein with Distinctive Ligand Binding and Autoxidation", <i>Biochemistry</i> 33:8067-8073. ^k Aono, S. <i>et al.</i> (2002) "Resonance Raman and Ligand Binding Studies of the Oxygen-Sensing Signal Transducer Protein HemAT from <i>Bacillus Subtilis</i> ", <i>J. Biol. Chem.</i> 277:13528-13538. ^l Antonini, E. <i>et al.</i> (1971). "Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions with Ligands", North-Holland Publ., Ámsterdam.					

La Tabla 6 ilustra que la velocidad de asociación del O₂, velocidad de disociación del O₂, velocidad de auto-oxidación del O₂, reactividad del NO y estabilidad de complejos Fe^{II}-O₂ en proteínas H-NOX puede alterarse por la introducción de una o más mutaciones. En algunas realizaciones, cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 6 se combinan con otra mutación (tal como otra mutación en la Tabla 6 o cualquier otra mutación descrita en el presente documento) para alterar adicionalmente la velocidad de asociación del O₂, velocidad de disociación del O₂, velocidad de auto-oxidación del O₂, reactividad del NO o estabilidad de complejos Fe^{II}-O₂ en una proteína H-NOX. Como será apreciado por el experto, la introducción de una o más mutaciones adicionales, tales como aquellas descritas en el presente documento, puede usarse para alterar adicionalmente estos valores.

Tabla 6. Velocidad de asociación del O₂, velocidad de disociación del O₂, velocidad de auto-oxidación del O₂, reactividad del NO y estabilidad de complejos Fe^{II}-O₂ en proteínas H-NOX.

Proteína	k _{as} ^a	k _{dis} ^b	k _{ox} ^c	Reactividad del NO ^d	Estabilidad del complejo Fe ^{II} -O ₂
<i>Hs Hb</i>	23	11	0,006	<0,001 s (~ 7.000 s ⁻¹) ^c	se oxida durante la noche en aire a TA, estable a 4 °C en aire, estable anaeróbica
<i>Tt</i> H-NOX	13,6	1,22	Muy lenta	0,54 ± 0,07 s ⁻¹	siempre estable
<i>Tt</i> Y140H	~10	5,03	0,87	1,7 ± 0,4 s ⁻¹	se oxida durante la noche en aire a TA, estable a 4 °C en aire, estable anaeróbica
β1(1-385) I145Y	~105	2,69	0,72	lenta a Fe ^{III} -NO	se oxida durante la noche en aire a TA, estable a 4 °C en aire, estable anaeróbica

^avelocidad de asociación del O₂ al hemo a 20 °C (μM⁻¹s⁻¹); ^bvelocidad de disociación del O₂ del hemo a 20 °C (s⁻¹); ^cvelocidad de auto-oxidación del hemo (h⁻¹) a 37 °C; ^dPara la determinación de reactividades del NO: proteínas purificadas (*Tt* WT (sigla del inglés *wild-type*: natural) HNOX, *Tt* Y140H HNOX, hemoglobina de *Homo sapiens* (*Hs Hb*)) se prepararon a 2 μM en tampón A y se preparó óxido nítrico (NO) a 200 μM en tampón A (tampón A: Hepes 50 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM) a 20°C. Usando espectroscopia de flujo interrumpido, la proteína se mezcló rápidamente con NO en una relación 1:1 con un tiempo de integración de 0,00125 segundos. Las longitudes de onda del cambio máximo se ajustaron a una exponencial simple, midiendo esencialmente la etapa limitante de la velocidad de la oxidación por NO. Los productos finales de la reacción fueron NO férrico para las proteínas H-NOX y acuo férrico para *Hs Hb*. ^ePara *Hs Hb*, la reacción de la proteína con NO fue tan rápida que la reacción se completó en el plazo del tiempo muerto del experimento (0,001 segundos). La reactividad del NO por la hemoglobina es aproximadamente 7.000 s⁻¹ a 20 °C basado en Eich, R. F. *et al.* (1996) "Mechanism of NO-Induced Oxidation of Myoglobin and Hemoglobin", *Biochemistry* 35:6976-6983.

La Tabla 7 demuestra que la constante de disociación para la unión de O₂ puede cambiarse significativamente mutando uno o más restos en proteínas H-NOX. Los valores de K_D cinética para estas proteínas H-NOX a modo de ejemplo oscilan de 21,20 nM a 1000000,00 nM a 20 °C. Si se desea, la constante de disociación para la unión de O₂ puede alterarse adicionalmente combinando cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 7 o introduciendo una o más mutaciones adicionales en una proteína H-NOX, como se describe en el presente documento.

Tabla 7. Proteínas H-NOX naturales y mutantes y proteínas de referencia dispuestas por el valor de la constante de disociación para la unión de O₂

Proteína	K _D cinética (nM)	±	K _D calculada (nM)
<i>Tt</i> P115A	21,2	2,1	

<i>Tt</i> N74H			27
<i>Tt</i> I5L-P115A			30
<i>Tt</i> N74A			32
<i>Tt</i> I5A			80
<i>Tt</i> F78Y-Y140L			80
<i>Tt</i> H-NOX His6			89
<i>Tt</i> H-NOX	89,7	6,2	
<i>Tt</i> wt (sigla del inglés <i>wild-type</i> : natural)			90
<i>Tt</i> F78Y-Y140F			150
<i>Tt</i> W9Y			218
<i>Tt</i> R135Q His6			252
<i>Hs</i> Hb beta			267
<i>Tt</i> W9F	305	31	
<i>Tt</i> W9H			456
<i>Tt</i> Y140H			500
<i>Hs</i> Hb alfa			560
<i>Tt</i> W9N			573
<i>Tt</i> I75F-His6			713-773
HemAT-B			720
Sw Mb			880
<i>Tt</i> I5L			1000
<i>Tt</i> L144F-His6			1092-1185
<i>Tt</i> Y140L			2000
<i>Tt</i> W9F-Y140H			2500
L2 F142Y	9200	3000	
<i>Bj</i> FixL			140000
<i>Tt</i> W9F-N74A			1000000
<i>Dd</i> H-NOX			1000000
β 1(1-385) I145Y			1000000

La Tabla 8 demuestra que las velocidades de disociación para la unión de O₂ pueden cambiarse significativamente mutando uno o más restos en proteínas H-NOX. Las velocidades de disociación para estas proteínas H-NOX a modo de ejemplo oscilan de 0,21 s⁻¹ a 23,4 s⁻¹ a 20 °C. Si se desea, la velocidad de disociación para la unión de O₂ puede alterarse adicionalmente combinando cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 8 o introduciendo una o más mutaciones adicionales en una proteína H-NOX, como se describe en el presente documento.

Tabla 8. Proteínas H-NOX naturales y mutantes y proteínas de referencia dispuestas por el valor de la velocidad de disociación para la unión de O₂

Proteína	k _{dis} (s ⁻¹)	±
<i>Tt</i> N74A	0,21	0,004
<i>Tt</i> P115A	0,22	0,01
<i>Tt</i> I5L-P115A	0,28	0,03
<i>Tt</i> N74E	0,38	0,01
<i>Tt</i> N74H	0,44	0,01
<i>Tt</i> I5A	0,82	0,03
<i>Tt</i> F78Y-Y140L	0,83	0,17
<i>Tt</i> H-NOX His6	1,2	0,02

<i>Tt</i> H-NOX	1,22	0,09
<i>Tt</i> F78Y-Y140F	1,48	0,33
<i>L1</i> F142Y	1,73	
<i>Tt</i> W9F	1,84	0,17
$\beta 1(1-385)$ I145Y	2,69	0,61
<i>Tt</i> W9Y	3,07	0,1
<i>Tt</i> R135Q His6	3,56	0,08
<i>L2</i> F 142Y	3,68	0,71
<i>Tt</i> Y140H	5,03	0,69
<i>Tt</i> W9H	6,42	0,11
<i>Dd</i> H-NOX	7,13	0,45
<i>Tt</i> W9N	8,09	0,14
<i>Tt</i> I5L	9,5	0,64
<i>Tt</i> I75F-His6	10,48	0,12
Sw Mb	15	
<i>Tt</i> Y140F	15,7	9,8
Hs Hb beta	16	
<i>Tt</i> L144F-His6	16,06	0,21
<i>Bj</i> FixL	20	
<i>Tt</i> Y140L	20,1	2
HemAT-B	23	
<i>Tt</i> W9F-Y140H	23,4	3,7
Hs Hb alfa	28	

La Tabla 9 demuestra que las velocidades de asociación para la unión de O₂ pueden cambiarse significativamente mutando uno o más restos en proteínas H-NOX. Las velocidades de asociación para estas proteínas H-NOX a modo de ejemplo oscilan de 60 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ a 0,14 $\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ a 20 °C. Si se desea, la velocidad de asociación para la unión de O₂ puede alterarse adicionalmente combinando cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 9 o introduciendo una o más mutaciones adicionales en una proteína H-NOX, como se describe en el presente documento.

Tabla 9. Proteínas H-NOX naturales y mutantes y proteínas de referencia dispuestas por el valor de la velocidad de asociación para la unión de O₂

Proteína	$k_{\text{as}} (\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	\pm
Hs Hb beta	60	
Hs Hb alfa	50	
HemAT-B	32	
Sw Mb	17	
<i>Tt</i> Y140F	15,7	1,4
<i>Tt</i> H-NOX	13,6	1
<i>Tt</i> P115A	10,4	1,1
<i>Tt</i> W9F	6,02	0,62
<i>L2</i> F142Y	0,4	0,14
<i>Bj</i> FixL	0,14	
<i>Tt</i> W9F-N74A	muy lenta ^a	
<i>Dd</i> H-NOX	muy lenta ^a	
$\beta 1(1-385)$ I145Y	muy lenta ^a	

^aPor "muy lenta" se indica más lenta que la hemoglobina, tal como aproximadamente uno a dos órdenes de magnitud más lenta que la hemoglobina.

La Tabla 10 ilustra el efecto de mutaciones de H-NOX a modo de ejemplo en la unión de O₂ y NO. Cada número enumerado en la Tabla 10 para las formas no ligadas a Fe es para un único pico (que está enumerado entre las columnas β y α). Si se une O₂ o NO, este único pico se fracciona en dos picos β y α (que están enumerados bajo las columnas β y α , respectivamente). Si se desea, la unión de O₂ o NO puede alterarse adicionalmente combinando cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 10 o introduciendo una o más mutaciones adicionales en una proteína H-NOX, como se describe en el presente documento.

Tabla 10: Posiciones de picos de UV-visible^a para algunos complejos de proteína hemo de Fe^{II} ligado a histidilo

Proteína	Soret	β	α
Complejo no ligado de Fe ^{II}			
sGC	431		555
β 1(1-385)I145Y	429		549
Tt H-NOX	431		565
Tt W9F-Y140L	430		560
Vc H-NOX	429		568
Np H-NOX	430		555
L2 H-NOX	428		557
L2 F142Y	428		557
Tt I75F-His6	431		569
Tt L144F-His6	433		564
Hb	430		555
Complejo de Fe ^{II} -NO			
sGC	398	537	572
β 1(1-385)I145Y	399/416	542	574
Tt H-NOX	420	547	575
Tt W9F-Y140L	423	540	573
Vc H-NOX	398	540	573
Np H-NOX	416/400	543	576
L2 H-NOX	399/416	544	575
L2 F142Y	417	544	578
Tt 175F-His6	418	545	574
Tt L144F-His6	416	544	574
Hb	418	545	575
Complejo de Fe ^{II} -O ₂			
sGC	No se observa complejo		
β 1(1-385)I145Y	416	541	575
Tt H-NOX	416	556	591
Tt W9F-Y 140L	No se observa complejo		
Vc H-NOX	No se observa complejo		
Np H-NOX	No se observa complejo		
L2 H-NOX	No se observa complejo		
L2 F142Y	417	542	577

<i>Tt</i> I75F-His6	416	552	589
<i>Tt</i> L144F-His6	416	544	574
Hb	415	541	577
^a nm (a 20°C)			

La Tabla 11 contiene posiciones de picos de UV-visible para algunos complejos de Fe (II), Fe (III), Fe(II)-NO y Fe(II)-O₂. Si una hemoglobina o proteína H-NOX es anaerobia, tiene un pico de Soret a ~431 nm, y está en un estado no ligado. Si la proteína H-NOX no se une a O₂, entonces el pico de Soret no cambiará cuando se añada O₂. Si la proteína H-NOX se une a O₂, entonces su pico de Soret se desplazará a entre 414 nm y 418 nm cuando se añada O₂, que es el mismo desplazamiento que se produce en hemoglobina, indicativo de O₂ unido al hemo. Los picos de Soret para H-NOX oxidada (Fe(III)) o H-NOX unida a NO en un estado hexacoordinado pueden ser relevantes para el estado de la proteína H-NOX después del almacenamiento o uso. Si la proteína H-NOX no se une a NO, entonces el pico de Soret no cambiará cuando se añada NO. Si la proteína H-NOX se une a NO y forma un complejo de nitrosilo ferroso hexacoordinado, entonces su pico de Soret se desplazará a entre 420 nm y 424 nm cuando se añada NO. Si la proteína H-NOX se une a NO y forma un complejo de nitrosilo ferroso pentacoordinado, el pico de Soret se desplazará a ~399 nm. Si se desea, la unión de O₂ o NO puede alterarse adicionalmente combinando cualquiera de las mutaciones individuales o dobles enumeradas en la Tabla 11 o introduciendo una o más mutaciones adicionales en una proteína H-NOX, como se describe en el presente documento.

Tabla 11. Posiciones de picos de UV-visible para algunos complejos de Fe (II), Fe (III), Fe(II)-NO y Fe(II)-O₂.

Complejo	Proteína	Soret	β	α
Fe (II)	<i>Tt</i> wt	430	563	
	<i>Tt</i> W9Y	430	569	
	<i>Tt</i> N74A	433	558	
	<i>Tt</i> N74H	431	561	
	<i>Tt</i> N74A-Y140H	430	567	
	<i>Tt</i> W9H	431	563	
	<i>Tt</i> N74E	433	559	
	<i>Tt</i> W9N	431	569	
	<i>Tt</i> wt His ₆	430	565	
Complejo	Proteína	Soret	β ^a	α
Fe (III)	<i>Tt</i> wt	413	550	585
	<i>Tt</i> W9Y	409	N.A.	
	<i>Tt</i> N74A	416	554	586
	<i>Tt</i> N74H	408	N.A.	
	<i>Tt</i> N74A-Y140H	407	N.A.	
	<i>Tt</i> W9H	407	N.A.	
	<i>Tt</i> N74E	408	N.A.	
	<i>Tt</i> W9N	408	N.A.	
	<i>Tt</i> wt His ₆	413	550	586
^a "N.A." indica bandas α y β no asignables debido a baja señal a longitudes de onda más largas.				
Complejo	Proteína	Soret	β	α
Fe(II)-NO	<i>Tt</i> wt	420	550	578
	<i>Tt</i> W9Y	420	552	576
	<i>Tt</i> N74A	421	572	
	<i>Tt</i> N74H	424	562	
	<i>Tt</i> N74A-Y140H	421	549	576
	<i>Tt</i> W9H	420	548	575
	<i>Tt</i> N74E	422	544	571

	<i>Tt</i> W9N	421	541	576
	<i>Tt</i> wt His ₆	420	547	576
Fe(II)-O ₂	<i>Tt</i> wt	416	556	591
	<i>Tt</i> W9Y	416	555	590
	<i>Tt</i> N74A	418	553	589
	<i>Tt</i> N74H	418	553	589
	<i>Tt</i> N74A-Y140H	414	555	584
	<i>Tt</i> W9H	418	556	589
	<i>Tt</i> N74E	417	555	587
	<i>Tt</i> W9N	416	588	553
	<i>Tt</i> wt His ₆	416	556	591

La Tabla 12 contiene velocidades de auto-oxidación para proteínas H-NOX de *T. tengcongensis* a modo de ejemplo. Si se desea, la velocidad de auto-oxidación puede alterarse adicionalmente combinando cualquiera de las mutaciones enumeradas en la Tabla 12 o introduciendo una o más mutaciones individuales en una proteína H-NOX, como se describe en el presente documento. La media de valores de 2 nm y 3 nm en la Tabla 12 se refieren a un desplazamiento en el pico de Soret de UV-Vis de 2 a 3 nm durante el periodo de tiempo de la observación; este cambio extremadamente pequeño puede ser debido a auto-oxidación.

Tabla 12. Velocidades de auto-oxidación para proteínas H-NOX de *T. tengcongensis* (*Tt*)

Proteína	Velocidad de auto-oxidación (25 °C, h ⁻¹) ^a
<i>Tt</i> wt	Estable
<i>Tt</i> W9Y	Estable
<i>Tt</i> N74A	Estable
<i>Tt</i> N74H	estable a 4 °C, muy lenta a TA (2 nm)
<i>Tt</i> W9H	Estable
<i>Tt</i> N74E	muy lenta a 4 °C (2 nm), lenta a TA
<i>Tt</i> W9N	estable a 4 °C, muy lenta a TA (3 nm)
<i>Tt</i> wt His ₆	Estable
<i>Tt</i> I75F-His ₆	Estable
<i>Tt</i> L144F-His ₆	Estable
^a “Estable” indica falta de oxidación del hemo después de al menos 24 horas. “TA” indica temperatura ambiente.	

Ácidos nucleicos de H-NOX

Se describen ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las proteínas H-NOX mutantes descritas en el presente documento. Como se usa en el presente documento, un “ácido nucleico” se refiere a dos o más desoxirribonucleótidos y/o ribonucleótidos en forma tanto mono como bicatenaria y, a menos que se limite de otro modo, engloba análogos conocidos de nucleótidos que se producen naturalmente que se hibridan con ácidos nucleicos de un modo similar a nucleótidos que se producen en la naturaleza. En algunas realizaciones, el ácido nucleico es un ácido nucleico recombinante. “Ácido nucleico recombinante” significa un ácido nucleico de interés que está libre de uno o más ácidos nucleicos (por ejemplo, genes) que, en el genoma que se produce en la naturaleza del organismo del que se deriva el ácido nucleico de interés, flanquean el ácido nucleico de interés. En algunas realizaciones, un ácido nucleico de H-NOX puede estar ligado operativamente a otro ácido nucleico que codifica toda o una parte de otra proteína de forma que el ácido nucleico recombinante codifique una proteína de fusión que incluye una proteína H-NOX (por ejemplo, un dominio de H-NOX con o sin otro dominio de una proteína H-NOX) y toda o parte de otra proteína, tal como albúmina de suero humano. Por tanto, el término incluye, por ejemplo, un ADN recombinante que se incorpora en un vector, en un plásmido o virus autónomamente replicante, o en el ADN

genómico de un procariota o eucariota, o que existe como una molécula separada (por ejemplo, un ADNc, un fragmento de ADN genómico o un fragmento de ADNc producido por PCR o digestión con endonucleasa de restricción) independiente de otras secuencias.

En el presente documento también se describen vectores con uno o más ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las proteínas H-NOX mutantes que se describen en el presente documento. Como se usa en el presente documento, un "vector" significa una construcción que puede administrar, y opcionalmente expresar, uno o más ácidos nucleicos de interés en una célula huésped. Ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, vectores víricos, vectores de expresión de ADN o ARN, cósmidos y vectores de fago. En algunas realizaciones, el vector contiene un ácido nucleico bajo el control de una secuencia de control de la expresión. Una "secuencia de control de la expresión" significa una secuencia de ácidos nucleicos que dirige la transcripción de un ácido nucleico de interés. Una secuencia de control de la expresión puede ser un promotor, tal como un promotor constitutivo o inducible, o un potenciador. La secuencia de control de la expresión está ligada operativamente al segmento de ácido nucleico a transcribir.

En realizaciones particulares, el ácido nucleico incluye un segmento de o la secuencia de ácidos nucleicos entera de cualquiera de los ácidos nucleicos mostrados en FIGS. 2-4D o 8A-8DD. En algunas realizaciones, el ácido nucleico incluye al menos aproximadamente 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 o más nucleótidos contiguos de un ácido nucleico de H-NOX y contiene una o más mutaciones (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mutaciones) en comparación con el ácido nucleico de H-NOX del que se derivó. En diversas realizaciones, un ácido nucleico de H-NOX mutante contiene menos de aproximadamente 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 mutaciones en comparación con el ácido nucleico de H-NOX del que se derivó. También pueden utilizarse variantes degeneradas de cualquier ácido nucleico que codifique una proteína H-NOX mutante.

En el presente documento también se describen una célula o población de células que contienen al menos un ácido nucleico que codifica una proteína H-NOX mutante descrita en el presente documento. Células a modo de ejemplo incluyen células de insecto, planta, levadura, bacterianas y de mamífero. Estas células son útiles para la producción de proteínas H-NOX mutantes usando métodos convencionales, tales como aquellos descritos en el presente documento.

Formulaciones de proteínas H-NOX

Cualquier proteína H-NOX natural o mutante descrita en el presente documento puede usarse para la formulación de composiciones farmacéuticas o no farmacéuticas. Como se ha tratado adicionalmente más adelante, estas formulaciones son útiles en varias aplicaciones terapéuticas e industriales.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica incluye una o más proteínas H-NOX naturales o mutantes (tal como cualquiera de las proteínas naturales o mutantes H-NOX descritas en el presente documento) y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En diversas realizaciones, la proteína H-NOX es una proteína aislada o purificada. Por "vehículo farmacéuticamente aceptable" se indica cualquier material que, cuando se combina con un principio activo, permite que el componente retenga la actividad biológica y no provoque una respuesta inmunitaria inaceptable (por ejemplo, una alergia grave o choque anafiláctico) basándose en el conocimiento de un médico experto. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los vehículos farmacéuticos convencionales tales como soluciones salinas tamponadas con fosfato, agua, emulsiones tales como emulsión de aceite/agua y diversos tipos de agentes humectantes. Diluyentes a modo de ejemplo para administración de aerosol o parenteral son solución salina tamponada con fosfato o solución salina normal (0,9 %). Las composiciones que comprenden tales vehículos se formulan por métodos convencionales muy conocidos (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; y Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20ª ed. Mack Publishing, 2000, particularmente con respecto a formulaciones).

Aunque puede emplearse cualquier vehículo adecuado conocido para aquellos expertos en la materia en las composiciones farmacéuticas de la presente invención, el tipo de vehículo variará dependiendo del modo de administración. Las composiciones pueden formularse para cualquier modo apropiado de administración que incluye, por ejemplo, administración intravenosa, intra-arterial, intravesicular, inhalación, intraperitoneal, intrapulmonar, intramuscular, subcutánea, intra-traqueal, transmucosa, intraocular, intratecal o transdérmica. Para administración parenteral, tal como inyección subcutánea, el vehículo puede incluir, por ejemplo, agua, solución salina, alcohol, una grasa, una cera o un tampón. Para administración por vía oral puede emplearse cualquiera de los vehículos anteriores o un vehículo sólido tal como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa o carbonato de magnesio. También pueden usarse microesferas biodegradables (por ejemplo, polilactato, poliglicolato) como vehículos.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas o no farmacéuticas incluyen un tampón (por ejemplo, solución salina tamponada neutra, solución salina tamponada con fosfato, etc.), un hidrato de carbono (por ejemplo, glucosa, manosa, sacarosa, dextrano, etc.), un antioxidante, un agente quelante (por ejemplo, EDTA, glutatión, etc.), un conservante, otro compuesto útil para unir y/o transportar oxígeno, un principio inactivo (por ejemplo, un estabilizador, carga, etc.), o combinaciones de dos o más de los anteriores. En algunas realizaciones, la composición se formula como un liofilizado. Las proteínas H-NOX también pueden encapsularse dentro de liposomas o nanopartículas usando tecnología muy conocida. Otras formulaciones a modo de ejemplo que pueden usarse para proteínas H-NOX se describen, por ejemplo, por las patentes de EE.UU. n.º 6.974.795 y 6.432.918, particularmente con respecto a formulaciones de proteínas.

Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse como parte de una formulación de liberación sostenida (por ejemplo, una formulación tal como una cápsula o esponja que produce una lenta liberación del compuesto tras la administración). Tales formulaciones pueden prepararse generalmente usando tecnología muy conocida y administrarse, por ejemplo, por implantación oral, rectal o subcutánea, o por implantación en el sitio diana deseado. Las formulaciones de liberación sostenida pueden contener una proteína H-NOX dispersada en una matriz de vehículo y/o contenida dentro de un depósito rodeado por una membrana controladora de la velocidad. Los vehículos para su uso dentro de tales formulaciones son biocompatibles, y también pueden ser biodegradables. En algunas realizaciones, la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación de proteína H-NOX. La cantidad de proteína H-NOX contenida dentro de una formulación de liberación sostenida depende del sitio de implantación, la velocidad y duración esperada de la liberación, y la naturaleza de la afección que va a tratarse o prevenirse.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica contiene una cantidad eficaz de una proteína H-NOX natural o mutante. El término "cantidad eficaz" se refiere a tal cantidad de una o más proteínas descritas en el presente documento que en combinación con sus parámetros de eficacia y toxicidad deben ser eficaces en una forma terapéutica dada basándose en el conocimiento del especialista practicante. Como se entiende en la materia, una cantidad eficaz puede estar en una o más dosis. Como se entiende en el contexto clínico, una dosificación eficaz de una composición farmacéutica puede o puede no lograrse conjuntamente con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por tanto, una cantidad eficaz puede considerarse en el contexto de administrar uno o más agentes terapéuticos, y un único agente puede considerarse que se administra en una cantidad eficaz si, conjuntamente con uno o varios de otros agentes, puede ser o se logra un resultado deseable o beneficioso.

Una dosis a modo de ejemplo de hemoglobina como sucedáneo de la sangre es de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 5 gramos o más de hemoglobina extracelular por kilogramo de peso corporal del paciente. Por tanto, en algunas realizaciones, una cantidad eficaz de una proteína H-NOX para administración a un ser humano está entre algunos gramos y más de aproximadamente 350 gramos. Otras dosis a modo de ejemplo de una proteína H-NOX incluyen aproximadamente cualquiera de 4,4, 5, 10 o 13 G/DL (en la que G/DL es la concentración de la solución de proteína H-NOX antes de infusión en la infusión) a una velocidad de infusión apropiada tal como aproximadamente 0,5 ml/min (véase, por ejemplo, Winslow, R. Capítulo 12 en Blood Substitutes). Se apreciará que el contenido unitario de principios activos contenidos en una dosis individual de cada forma de dosificación no necesita constituir por sí misma una cantidad eficaz ya que la cantidad eficaz necesaria podría alcanzarse por el efecto combinado de una pluralidad de administraciones. La selección de la cantidad de una proteína H-NOX para incluir en una composición farmacéutica depende de la forma de dosificación utilizada, la afección que está tratándose y el fin particular a lograr según la determinación del experto en la materia en el campo.

Composiciones a modo de ejemplo incluyen proteínas H-NOX recombinantes genéticamente manipuladas que pueden aislarse o purificarse, que comprenden una o más mutaciones que confieren en conjunto unión de ligando de O₂ o NO alterada con respecto a la proteína H-NOX natural correspondiente, y operativas como un transportador de gas en sangre de mamífero fisiológicamente compatible. Por ejemplo, proteínas H-NOX mutantes como se describen en el presente documento.

En el presente documento también se describen sucedáneos de la sangre que comprenden o consisten esencialmente en una o más proteínas H-NOX naturales o mutantes. En la técnica se conocen tampones adecuados y otros componentes para formular sucedáneos de la sangre.

Para reducir o prevenir una respuesta inmunitaria en sujetos humanos a los que se administra una composición farmacéutica pueden usarse proteínas H-NOX humanas (tanto proteínas humanas naturales como proteínas humanas en las que se han introducido una o más mutaciones) u otras proteínas H-NOX no antigénicas (por ejemplo, proteínas H-NOX de mamífero). Para reducir o eliminar la inmunogenicidad de proteínas H-NOX derivadas de fuentes distintas de seres humanos, los aminoácidos en una proteína H-NOX pueden mutarse a los aminoácidos correspondientes en una H-NOX humana. Por ejemplo, uno o más aminoácidos sobre la superficie de la estructura terciaria de una proteína H-NOX no humana pueden mutarse al aminoácido correspondiente en una proteína H-NOX humana.

Aplicaciones terapéuticas de proteínas H-NOX

Cualquiera de las proteínas H-NOX naturales o mutantes (por ejemplo, proteínas H-NOX aisladas o purificadas) o composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede usarse en aplicaciones terapéuticas.

- 5 Pueden seleccionarse proteínas H-NOX particulares para tales aplicaciones basándose en la velocidad de asociación del O₂ deseada, velocidad de disociación del O₂, constante de disociación para la unión de O₂, estabilidad del NO, reactividad del NO, velocidad de auto-oxidación, tiempo de retención en plasma, o cualquier combinación de dos o más de los anteriores para la indicación particular que está tratándose. Las proteínas H-NOX pueden usarse para tratar enfermedad cardiovascular, enfermedad neurológica, hipoxia tumoral, pérdida de sangre
- 10 o heridas. Por ejemplo, una proteína H-NOX de unión de O₂ puede usarse en la mayoría de las situaciones en las que actualmente se utilizan glóbulos rojos o expansores del plasma. Específicamente, la proteína H-NOX puede usarse como sucedáneos de glóbulos rojos para el tratamiento de traumatismo (por ejemplo, campo de batalla, alivio de desastres o accidentes), hemorragias, choque hemorrágico, cirugía (por ejemplo, cirugía de aneurisma abdominal, cirugía ortopédica tal como cirugía de atroplastia de cadera, o cualquier otra cirugía que produce alta pérdida de sangre), hemodilución, usos de extensión de sangre (por ejemplo, auto-donación suplementante), y cualquier otra situación en la que se pierde volumen de sangre o se reduce la capacidad de llevar O₂. Ejemplos de aplicaciones de reparación de heridas incluyen cicatrización después de radiación (por ejemplo, efecto de oxígeno hiperbárico), reparación posquirúrgica, reparación de úlceras diabéticas y heridas por quemaduras.
- 20 También puede usarse una H-NOX de unión de oxígeno para aumentar temporalmente la administración de O₂ durante o después de la pre-donación de sangre autóloga antes de la devolución de la sangre autóloga al individuo (tal como una sustitución de sangre que se extrae durante procedimientos quirúrgicos en los que la sangre del individuo se extrae y se guarda para reinfusión al final de la cirugía o durante la recuperación). En algunas realizaciones, las proteínas H-NOX también actúan de simples expansores del volumen que proporcionan presión oncótica debido a la presencia de la gran molécula de proteína H-NOX.
- 25

- Debido a que la distribución en la vasculatura de proteínas H-NOX extracelulares no está limitada por el tamaño de los glóbulos rojos, las proteínas H-NOX de la presente invención pueden usarse para administrar O₂ a áreas en las que no pueden penetrar los glóbulos rojos. Estas áreas pueden incluir cualquier área de tejido que se localice aguas
- 30 abajo de obstrucciones al flujo de glóbulos rojos tales como áreas aguas abajo de uno o más trombos, oclusiones de células falciformes, oclusiones arteriales, oclusiones vasculares periféricas, globos de angioplastia, instrumentos quirúrgicos, tejidos que padecen privación de oxígeno o son hipóxicos, y similares. Adicionalmente, todos los tipos de isquemia de tejido pueden tratarse usando proteínas H-NOX. Tales isquemias de tejido incluyen, por ejemplo, isquemia perioperativa, accidente cerebrovascular, accidente cerebrovascular emergente, ataques isquémicos
- 35 transitorios, aturdimiento miocárdico e hibernación, angina aguda o inestable, angina emergente e infarto de miocardio (por ejemplo, infarto de miocardio por elevación del segmento ST). Otras indicaciones cardiovasculares a modo de ejemplo que pueden tratarse usando proteínas H-NOX incluyen cardioplejía y anemia de células falciformes. Indicaciones diana a modo de ejemplo incluyen afecciones de deficiencia de hemoglobina funcional tales como en las que se indica un sucedáneo de la sangre o transportador de O₂, que incluyen pérdida de sangre, hipoxia, etc.
- 40

- Las proteínas H-NOX también pueden usarse como complemento con radiación o quimioterapia para el tratamiento de cáncer. En algunas realizaciones, una proteína H-NOX se usa como complemento de radioterapia en tumores sólidos (por ejemplo, individuos con malos pronósticos pre-metastásicos) o como complemento de terapia PDT en
- 45 tumores superficiales (por ejemplo, cáncer de colon, pulmón o de piel, o cáncer en otra superficie o localización accesible). Las proteínas H-NOX pueden usarse para tratar anemia, proporcionándose capacidad portadora de oxígeno adicional en un paciente que padece anemia. Indicaciones neurológicas a modo de ejemplo incluyen accidente cerebrovascular isquémico, lesión cerebral traumática y lesión de médula espinal. Los métodos y composiciones son aplicables tanto a situaciones agudas (que proporcionan el oxígeno rápido a tejidos o un sitio específico, por ejemplo, infarto agudo de miocardio, oxigenación de tejidos local o sistémica aguda, o transfusión de sangre) y crónicas (por ejemplo, recuperación pos-aguda de infarto cardíaco).
- 50

- En diversas realizaciones, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para administrar O₂ a un individuo (por ejemplo, un mamífero, tal como un primate (por ejemplo, un ser humano, un simio inferior, un gorila, un simio superior, un lémur, etc.), un bovino, un equino, un porcino, un canino o un felino) administrando a un individuo en
- 55 necesidad del mismo una proteína H-NOX natural o mutante en una cantidad suficiente para administrar O₂ al individuo. En algunas realizaciones, la invención proporciona composiciones para llevar o administrar gas en sangre a un individuo tal como un mamífero, que comprende la etapa de administrar (por ejemplo, transfundir, etc.) a la sangre del individuo (por ejemplo, un mamífero) una o más de composiciones de H-NOX. Los métodos para
- 60 administrar transportadores de O₂ a sangre o tejidos (por ejemplo, sangre o tejidos de mamífero) se conocen en la técnica. En diversas realizaciones, la proteína H-NOX es una apoproteína que puede unirse a hemo o es una holoproteína con hemo unido. La proteína H-NOX puede o puede no tener hemo unido antes de la administración de la proteína H-NOX al individuo. En algunas realizaciones, el O₂ está unido a la proteína H-NOX antes de que se administre al individuo. En otras realizaciones, el O₂ no está unido a la proteína H-NOX antes de la administración de la proteína al individuo y la proteína H-NOX transporta O₂ de una localización en el individuo a otra localización en el individuo.
- 65

Los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar cualquier individuo. Para su uso en el presente documento, a menos que se indique claramente de otro modo, "un individuo" como se usa en el presente documento se refiere a un mamífero que incluye, pero no se limita a, un primate (por ejemplo, un ser humano, simio inferior, gorila, simio superior, lémur, etc.), un bovino, un equino, un porcino, un canino y un felino. Por tanto, las composiciones se usan tanto en el contexto de medicina humana con de veterinaria, que incluye uso en animales agrícolas y mascotas domésticas. El individuo puede haber sido diagnosticado con, ser sospechoso de tener o estar en riesgo de desarrollar una indicación, tal como una enfermedad cardiovascular, una enfermedad neurológica, hipoxia (por ejemplo, hipoxia tumoral), una pérdida de sangre o una herida. El individuo puede presentar uno o más síntomas asociados a la indicación. El individuo puede estar genéticamente o de otro modo predispuesto a desarrollar una afección tal.

Como se usa en el presente documento, "en necesidad del mismo" incluye individuos que tienen una afección o enfermedad (tal como una enfermedad cardiovascular, una enfermedad neurológica, hipoxia tal como hipoxia tumoral, una pérdida de sangre o una herida) o están "en riesgo" de la afección o enfermedad. Como se usa en el presente documento, un individuo "en riesgo" es un individuo que está en riesgo de desarrollo de una afección, tal como una enfermedad cardiovascular, una enfermedad neurológica, hipoxia (por ejemplo, hipoxia tumoral), una pérdida de sangre o una herida. Un individuo "en riesgo" puede o puede no tener una enfermedad o afección detectable, y puede o puede no tener enfermedad detectable mostrada antes de los métodos de tratamiento descritos en el presente documento. "En riesgo" indica que un individuo tiene uno o más de los llamados factores de riesgo, que son parámetros medibles que establecen una correlación con el desarrollo de una enfermedad o afección y se conocen en la técnica. Un individuo que tiene uno o más de estos factores de riesgo tiene una mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad o afección que un individuo sin este (estos) factor(es) de riesgo. Estos factores de riesgo incluyen, pero no se limitan a, edad, sexo, raza, dieta, historia de enfermedad previa, presencia de enfermedad precursora, consideraciones genéticas (es decir, hereditarias) y exposición medioambiental. La cirugía, presencia en o próxima a zona militar o de guerra, o condiciones que predisponen a un individuo a pérdida de sangre (tal como hemofilia) son factores de riesgo a modo de ejemplo para la pérdida de sangre.

Estos métodos pueden usarse para tratar o retrasar cualquier afección para la que la administración de O₂ es beneficiosa. Por "tratamiento" o "tratar" se indica un enfoque para obtener un resultado beneficioso o deseado, que incluye resultados clínicos. Para los fines de la presente invención, resultados beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de síntomas asociados a una afección (tal como, pero no se limita a, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad neurológica, hipoxia tal como hipoxia tumoral, una pérdida de sangre o una herida), reducción del grado de los síntomas asociados a una afección, o prevención de un empeoramiento de los síntomas asociados a una afección. En algunas realizaciones, el tratamiento con una o más proteínas divulgadas en el presente documento va acompañado por ninguno o menos efectos secundarios que están asociados a las terapias actualmente disponibles.

Como se usa en el presente documento, "retrasar" el desarrollo de una enfermedad o afección significa aplazar, impedir, ralentizar, retardar, estabilizar y/o posponer el desarrollo de la enfermedad o afección, tal como una enfermedad cardiovascular, una enfermedad neurológica, hipoxia (por ejemplo, hipoxia tumoral), una pérdida de sangre o una herida. Este retraso puede ser de duraciones de tiempo variables, dependiendo de la historia de la enfermedad y/o individuo que está tratándose. Como es evidente para un experto en la materia, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, englobar prevención, en el que el individuo no desarrolla la enfermedad o afección. Por ejemplo, el método puede reducir la probabilidad de desarrollo de enfermedad en un periodo de tiempo dado y/o reducir el grado de la enfermedad en un periodo de tiempo dado, cuando se compara con no usar el método. En algunas realizaciones, tales comparaciones se basan en estudios clínicos usando un número estadísticamente significativo de sujetos. El desarrollo de enfermedad puede ser detectable usando técnicas clínicas convencionales. El desarrollo también puede referirse a progresión de la enfermedad que puede ser inicialmente indetectable e incluye manifestación, reaparición y aparición.

Se espera que las proteínas H-NOX naturales y mutantes con una K_D relativamente baja para O₂ (tal como inferior a aproximadamente 80 nM o inferior a aproximadamente 50 nM) sean particularmente útiles para tratar tejidos con baja tensión del oxígeno (tal como tumores, algunas heridas u otras áreas en las que la tensión del oxígeno es muy baja, tal como una p50 inferior a 1 mm de Hg). La alta afinidad de tales proteínas H-NOX por O₂ puede aumentar la duración de tiempo que el O₂ permanece unido a la proteína H-NOX, reduciéndose así la cantidad de O₂ que es liberada antes de que la proteína H-NOX alcance el tejido que va a tratarse.

Aunque no se pretende quedar ligado a teoría alguna particular, la utilidad de un sucedáneo de glóbulos rojos sin células como líquido de reanimación se cree que está influido por la p50 del transportador de O₂. Por ejemplo, un transportador de O₂ basado en hemoglobina PEGilada llamado MP4 parece administrar O₂ más eficazmente a la microvasculatura que algunos transportadores de O₂ basados en hemoglobina de menor afinidad. Se informa que MP4 tiene una p50 de ~ 5 mm de Hg, (quizás K_D 100 a 200 nm), y la p50 de la hemoglobina sin estroma es 14 mm de Hg (K_D ~400 nm). Como MP4 puede administrar oxígeno en tejidos (PO₂ ~ 5 a 10 mm de Hg), es probable que la afinidad de O₂ apropiada por transportadores para administrar O₂ a tejido hipóxicos sea inferior a aproximadamente 5 mm de Hg, y quizás inferior a aproximadamente 2 mm de Hg, que se corresponde aproximadamente con una K_D inferior a aproximadamente 80 nm. Estos valores indican que MP4 ha sido manipulado con una mayor afinidad de O₂

(inferior a p50) que la hemoglobina nativa. Desde una perspectiva del equilibrio, esto sugiere que las proteínas de unión de O₂ de alta afinidad pueden ser más satisfactorias en la administración de O₂ a áreas de baja tensión de O₂, tales como la vasculatura periférica.

- 5 En algunas realizaciones para la administración directa de una proteína H-NOX con O₂ unido a un sitio particular en el cuerpo (tal como un tejido, órgano, herida o tumor), la k_{dis} para O₂ es más importante que el valor de k_D debido a que el O₂ ya está unido a la proteína (haciendo que la k_{as} sea menos importante) y se necesite liberar oxígeno en o próximo a un sitio particular en el cuerpo (a una velocidad influida por la k_{dis}). En algunas realizaciones, la k_{dis} también puede ser importante cuando las proteínas H-NOX están en presencia de glóbulos rojos en la circulación, en la que facilitan la difusión de O₂ de glóbulos rojos, y quizás prolonguen la capacidad de glóbulos rojos diluidos de transportar O₂ a otros puntos en la vasculatura.

- En algunas realizaciones para la administración de una proteína H-NOX que circula en la circulación sanguínea de un individuo, la proteína H-NOX se une a O₂ en los pulmones y libera O₂ en uno o varios de otros sitios en el cuerpo. Para algunas de estas aplicaciones, el valor de k_D es más importante que la k_{dis} ya que la unión de O₂ está en o próxima al equilibrio. En algunas realizaciones para hemodilución extrema, la k_D es más importante que la k_{dis} cuando la proteína H-NOX es el transportador de O₂ primario debido a que la proteína H-NOX se unirá y liberará O₂ continuamente a medida que se desplaza a través de la circulación. Como la hemoglobina tiene una p50 de 14 mm de Hg, los glóbulos rojos (que actúan de capacitores) tienen una p50 de ~30 mm de Hg, y los HBOC se han desarrollado con intervalos entre 5 mm de Hg y 90 mm de Hg, el intervalo de k_D óptimo para proteínas H-NOX puede estar por tanto entre ~2 mm de Hg y ~100 mm de Hg para algunas aplicaciones.

- También puede usarse proteínas H-NOX para la obtención de imágenes. En particular, la obtención de imágenes de luz (por ejemplo, tomografía de coherencia óptica; véase, por ejemplo, Villard, J. W. (2002). "Use of a Blood Substitute to Determine Instantaneous Murine Right Ventricular Thickening with Optical Coherence Tomography", Circulation 105:1843-1849, particularmente con respecto a tomografía de coherencia óptica) es complicada por los eritrocitos. La perfusión con una solución de H-NOX permite imágenes más claras de la circulación y paredes de vasos debido a que la proteína H-NOX es mucho más pequeña que los eritrocitos.

- Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse a un individuo por cualquier medio convencional tal como por administración oral, tópica, intraocular, intratecal, intrapulmonar, intra-traqueal o aerosol; por adsorción de membrana transdérmica o mucosa; o mediante inyección (por ejemplo, inyección subcutánea, intravenosa, intra-arterial, intravesicular o intramuscular). Las proteínas H-NOX también pueden incluirse en soluciones parenterales de gran volumen para su uso como sucedáneos de la sangre. En realizaciones a modo de ejemplo, la proteína H-NOX se administra a la sangre (por ejemplo, administración a un vaso sanguíneo tal como una vena, arteria o capilar), una herida, un tumor, un tejido hipóxico o un órgano hipóxico del individuo.

- En algunas realizaciones se usa una formulación de liberación continua sostenida de la composición. La administración de una proteína H-NOX puede producirse, por ejemplo, durante un periodo de segundos a horas dependiendo del fin de la administración. Por ejemplo, como vehículo de administración a la sangre, un transcurso de tiempo de administración a modo de ejemplo es tan rápido como sea posible. Otros transcurros de tiempo a modo de ejemplo incluyen aproximadamente cualquiera de 10, 20, 30, 40, 60, 90 o 120 minutos. Velocidades de infusión a modo de ejemplo para soluciones de H-NOX como sustitución de sangre son de aproximadamente 30 ml/hora a aproximadamente 13.260 ml/hora, tal como aproximadamente 100 ml/hora a aproximadamente 3.000 ml/hora. Una dosis total a modo de ejemplo de proteína H-NOX es aproximadamente 900 mg/kg administrada durante 20 minutos a 13.260 ml/hora. Una dosis total a modo de ejemplo de proteína H-NOX para un cerdo es aproximadamente 18,9 gramos.

- Frecuencias de dosificación a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 veces (es decir, diariamente) a la semana. En algunas realizaciones, una proteína H-NOX se administra al menos 2, 3, 4 o 6 veces al día. La proteína H-NOX puede administrarse, por ejemplo, durante un periodo de algunos días o semanas. En algunas realizaciones, la proteína H-NOX se administra durante un periodo prolongado, tal como algunos meses o años. La frecuencia de dosificación de la composición puede ajustarse durante el transcurso del tratamiento basándose en la opinión del médico que administra.

- Como se observa anteriormente, la selección de cantidades de dosificación para proteínas H-NOX depende de la forma de dosificación utilizada, la frecuencia y número de administraciones, la afección que está tratándose y el fin particular a lograr según la determinación del experto en la materia en el campo. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de una proteína H-NOX para administración a ser humano está entre algunos gramos a más de 350 gramos.

- En algunas realizaciones, dos o más proteínas H-NOX diferentes se administran simultáneamente, secuencialmente o concurrentemente. En algunas realizaciones, otro compuesto o terapia útil para la administración de O₂ se administra simultáneamente, secuencialmente o concurrentemente con la administración de una o más proteínas H-NOX.

Otras aplicaciones terapéuticas a modo de ejemplo para las que pueden usarse proteínas H-NOX se describen, por ejemplo, por las patentes de EE.UU. n.º 6.974.795 y 6.432.918, particularmente con respecto a aplicaciones terapéuticas para transportadores de O₂.

5 Aplicaciones industriales de las proteínas H-NOX

Las proteínas H-NOX y la composición descritas en el presente documento también pueden utilizarse para varias aplicaciones *in vitro* o industriales (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 6.455.676, en particular con respecto a aplicaciones *in vitro* o industriales). Las proteínas H-NOX particulares pueden seleccionarse para tales aplicaciones a base de la velocidad de asociación del O₂ deseada, la velocidad de disociación del O₂, la constante de disociación para la unión del O₂, la estabilidad del NO, la reactividad del NO, la velocidad de auto-oxidación, la semivida o cualquier combinación de dos o más de las aplicaciones particulares anteriores. En diversas realizaciones de las aplicaciones industriales, la proteína H-NOX es una apoproteína que tiene la capacidad de unirse al hemo o es una holoproteína con el hemo unido.

Las proteínas H-NOX pueden usarse, por ejemplo, como patrones de referencia para instrumentación analítica que precise de tales patrones de referencia. La administración de O₂ mediante las proteínas H-NOX puede utilizarse para la potenciación del crecimiento celular en un cultivo celular manteniendo o disminuyendo los niveles de O₂ *in vitro*. Para estas aplicaciones, las proteínas H-NOX pueden añadirse a un medio de cultivo celular para administrar O₂ al medio (y a las células en el medio). En algunas realizaciones, el O₂ está unido a la proteína H-NOX antes de añadirla al medio de cultivo celular. En otras realizaciones, el O₂ no está unido a la proteína H-NOX antes de su adición al medio de cultivo celular, y la proteína H-NOX transporta O₂ desde un emplazamiento en el medio a otro emplazamiento en el medio.

Como alternativa, las células se pueden modificar de forma genética para codificar una proteína H-NOX para aumentar la cantidad de O₂ obtenido por las células. Por ejemplo, las células que expresan un compuesto de interés (tal como una molécula pequeña o proteína útil en aplicaciones farmacéuticas) se pueden modificar de forma genética para producir también una proteína H-NOX que facilite el crecimiento de las células, en especial en condiciones de bajo O₂ (Sullivan *et al.* (2006). "Targeted Oxygen Delivery within Hepatic Hollow Fiber Bioreactors via Supplementation of Hemoglobin-Based Oxygen Carriers," *Biotechnol. Prog.* 22: 374-87; Frey *et al.* (2001). "Dissection of Central Carbon Metabolism of Hemoglobin-Expressing *Escherichia Coli* by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Flux Distribution Analysis in Microaerobic Bioprocesses," *Applied and Environmental Biology* 67(2): 680-687). Además, las proteínas H-NOX pueden utilizarse para eliminar O₂ de soluciones que necesitan la eliminación de O₂.

Kits con proteínas H-NOX

También se describen en el presente documento artículos de fabricación y kits que incluyen cualquiera de las proteínas H-NOX descritas en el presente documento y un embalaje adecuado. En algunas realizaciones, un kit incluye (i) una proteína H-NOX (tal como una proteína H-NOX natural o mutante descrita en el presente documento o formulaciones de la misma, como se describe en el presente documento) y (ii) instrucciones para el uso del kit para administrar O₂ a un individuo. En diversas realizaciones, el kit presenta (i) una proteína H-NOX (tal como una proteína H-NOX natural o mutante descrita en el presente documento o formulaciones de la misma, como se describe en el presente documento) y (ii) instrucciones para el uso del kit para cualquiera de los usos industriales descritos en el presente documento (por ejemplo, el uso de una proteína H-NOX como un patrón de referencia para instrumentación analítica que precise tal patrón de referencia, la potenciación del crecimiento celular en un cultivo celular manteniendo o aumentando los niveles de O₂ *in vitro*, la adición de O₂ a una solución o la eliminación de O₂ de una solución).

Se conoce en la técnica el embalaje adecuado para las composiciones descritas en el presente documento, e incluyen, por ejemplo, viales (por ejemplo, viales sellados), recipientes, ampollas, botellas, tarros, embalajes flexibles (por ejemplo, Mylar sellado o bolsas de plástico), y similares. Estos artículos de fabricación pueden adicionalmente esterilizarse y/o sellarse. También se proporcionan formas de dosificación unitarias que comprenden las composiciones descritas en el presente documento. Estas formas de dosificación unitarias pueden almacenarse en un embalaje adecuado en dosificaciones unitarias individuales o múltiples, y también pueden adicionalmente esterilizarse y sellarse. Normalmente, las instrucciones suministradas en los kits son instrucciones escritas sobre una etiqueta o prospecto de envase (por ejemplo, un folio de papel incluido en el kit), pero también son aceptables instrucciones leíbles mediante una máquina (por ejemplo, instrucciones portadas en un disco de almacenamiento magnético u óptico). En general, las instrucciones con referencia al uso de las proteínas H-NOX incluyen información como la dosificación, el programa de dosificación y la vía de administración para el tratamiento o uso industrial pretendido. Adicionalmente, el kit puede comprender una descripción de la selección de un individuo adecuado o tratamiento.

Los envases pueden ser dosis unitarias, embalajes a granel (por ejemplo, embalajes de multidosis) o dosis subunitarias. Por ejemplo, también pueden proporcionarse kits que contengan dosificaciones suficientes de las proteínas H-NOX divulgadas en el presente documento para proporcionar tratamiento eficaz para un individuo

durante un período prolongado, tal como aproximadamente cualquiera de una semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses o más. Además, los kits pueden contener dosis unitarias múltiples de las proteínas H-NOX e instrucciones para su uso, embaladas en cantidades suficientes para el almacenamiento y el uso en farmacias, por ejemplo, farmacias de hospitales y farmacias de preparación de compuestos. En algunas realizaciones, el kit incluye una composición seca (por ejemplo, liofilizada) que puede reconstituirse, resuspenderse o rehidratarse para formar una suspensión en general acuosa estable de la proteína H-NOX.

Métodos a modo de ejemplo para la producción de proteínas H-NOX

En el presente documento también se describen métodos para la producción de cualquiera de las proteínas H-NOX mutantes descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, el método implica cultivar una célula que tiene un ácido nucleico que codifica una proteína H-NOX mutante en condiciones adecuadas para la producción de la proteína H-NOX mutante. En diversas realizaciones, la H-NOX mutante también se purifica (tal como purificación de la proteína H-NOX de las células o el medio de cultivo).

Como se observa anteriormente, las secuencias de varias proteínas H-NOX naturales y ácidos nucleicos son conocidas y pueden usarse para generar proteínas H-NOX mutantes y ácidos nucleicos. Técnicas para la mutación, expresión y purificación de proteínas H-NOX recombinantes se han descrito por, por ejemplo, Boon, E.M. *et al.* (2005). "Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase", *Nature Chemical Biology* 1:53-59, y Karow, D. S. *et al.* (10 de agosto de 2004). "Spectroscopic Characterization of The Soluble Guanylate Cyclase-Like Heme Domains From *Vibrio Cholerae* And *Thermoanaerobacter Tengcongensis*", *Biochemistry* 43(31):10203-10211, particularmente con respecto a la mutación, expresión y purificación de proteínas H-NOX recombinantes. Estas técnicas u otras técnicas convencionales pueden usarse para generar cualquier proteína H-NOX mutante.

En particular, las proteínas H-NOX mutantes descritas en el presente documento pueden generarse por varios métodos que se conocen en la técnica. La mutación puede producirse en tanto al nivel de aminoácidos por modificación química de un aminoácido como al nivel de codones por alteración de la secuencia de nucleótidos que codifica un aminoácido dado. La sustitución de un aminoácido en cualquier posición dada en una proteína puede lograrse alterando el codón que codifica ese aminoácido. Esto puede llevarse a cabo por mutagénesis dirigida a sitio usando, por ejemplo: (i) la técnica de Amersham (kit de mutagénesis de Amersham, Amersham, Inc., Cleveland, Ohio) basado en los métodos de Taylor, J.W. *et al.* (20 de diciembre de 1985). "The Use of Phosphorothioate-Modified DNA in Restriction Enzyme Reactions to Prepare Nicked DNA", *Nucleic Acids Res.* 13(24):8749-8764; Taylor, J.W. *et al.* (20 de diciembre de 1985). "The Rapid Generation of Oligonucleotide-Directed Mutations at High Frequency Using Phosphorothioate-Modified DNA", *Nucleic Acids Res.* 13(24):8765-8785; Nakamaye, K. L. *et al.* (22 de diciembre de 1986). "Inhibition of Restriction Endonuclease Nci I Cleavage by Phosphorothioate Groups and its Application to Oligonucleotide-Directed Mutagenesis", *Nucleic Acids Res.* 14(24):9679-9698; y Dente *et al.* (1985). En *DNA Cloning*, Glover, Ed., IRL Press, páginas 791-802, (ii) el kit de Promega (Promega Inc., Madison, Wis.), o (iii) el kit de Biorad (Biorad Inc., Richmond, Calif.), basado en los métodos de Kunkel, T. A. (enero de 1985). "Rapid And Efficient Site-Specific Mutagenesis Without Phenotypic Selection", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82(2):488-492; Kunkel, T. A. (1987). "Rapid And Efficient Site-Specific Mutagenesis Without Phenotypic Selection", *Methods Enzymol.* 154:367-382; Kunkel, patente de EE.UU. n.º 4.873.192, particularmente con respecto a la mutagénesis de proteínas. La mutagénesis también puede llevarse a cabo por otros medios comercialmente disponibles o no comerciales, tales como aquellos que utilizan mutagénesis dirigida a sitio con oligonucleótidos mutantes.

La mutagénesis dirigida a sitio también puede llevarse a cabo usando mutagénesis basada en PCR tal como la descrita en Zhengbin *et al.* (1992), páginas 205-207, en *PCR Methods and Applications*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York; Jones, D. H. *et al.* (febrero de 1990). "A Rapid Method For Site-Specific Mutagenesis And Directional Subcloning by Using the Polymerase Chain Reaction to Generate Recombinant Circles", *Biotechniques* 8(2):178-183; Jones, D. H. *et al.* (enero de 1991). "A Rapid Method For Recombination And-Site-Specific Mutagenesis by Placing Homologous Ends on DNA Using Polymerase Chain Reaction", *Biotechniques* 10(1):62-66, particularmente con respecto a la mutagénesis de proteínas. La mutagénesis dirigida a sitio también puede llevarse a cabo usando mutagénesis en casete con técnicas que son conocidas para aquellos expertos en la materia.

Un ácido nucleico de H-NOX mutante puede incorporarse en un vector, tal como un vector de expresión, usando técnicas convencionales. Por ejemplo, pueden usarse enzimas de restricción para escindir el ácido nucleico de H-NOX mutante y el vector. Luego pueden ligarse los extremos compatibles del ácido nucleico de H-NOX mutante escindido y el vector escindido. El vector resultante puede insertarse en una célula (por ejemplo, una célula de insecto, una célula de planta, una célula de levadura o una célula bacteriana) usando técnicas convencionales (por ejemplo, electroporación) para la expresión de la proteína H-NOX codificada.

En particular, proteínas heterólogas se han expresado en varios sistemas de expresión biológicos tales como células de insecto, células vegetales, células de levadura y células bacterianas. Por tanto, puede utilizarse cualquier sistema de expresión de proteínas biológicas adecuadas para producir grandes cantidades de proteína H-NOX recombinante. En algunas realizaciones la proteína H-NOX (por ejemplo, una proteína H-NOX mutante o natural) es

una proteína aislada. Como se usa en el presente documento, una "proteína aislada" significa una proteína separada de uno o más componentes con los que la proteína está naturalmente asociada en la naturaleza que incluyen, por ejemplo, ácidos nucleicos, lípidos y otras proteínas. Una proteína aislada tampoco se produce en una biblioteca de proteínas, tal como una biblioteca de 2, 5, 10, 20, 50 o más proteínas diferentes. Una proteína aislada puede obtenerse, por ejemplo, por expresión de un ácido nucleico recombinante que codifica la proteína o por síntesis química de la proteína.

Si se desea, las proteínas H-NOX pueden purificarse usando técnicas convencionales. Como se usa en el presente documento, una "proteína purificada" significa una proteína (por ejemplo, una proteína H-NOX mutante o natural) que ha sido separada de uno o más componentes que están presentes cuando la proteína se produce. En algunas realizaciones, la proteína está al menos aproximadamente el 60 %, en peso, libre de otros componentes que están presentes cuando la proteína se produce. En diversas realizaciones, la proteína está al menos aproximadamente el 75 %, 90 % o el 99 % en peso pura. Una proteína purificada puede obtenerse, por ejemplo, por purificación (por ejemplo, extracción) de una fuente natural, un sistema de expresión recombinante o una mezcla de reacción para síntesis química. Métodos de purificación a modo de ejemplo incluyen inmunoprecipitación, cromatografía en columna tal como cromatografía de inmunoafinidad, purificación por inmunoafinidad de perlas magnéticas e inmunopurificación con un anticuerpo unido a placa, además de otras técnicas conocidas para el experto. La pureza puede ensayarse por cualquier método apropiado, por ejemplo, por cromatografía en columna, electroforesis en gel de poliácridamida o análisis de HPLC. En algunas realizaciones, la proteína purificada se incorpora en una composición farmacéutica de la invención o se usa en un método descrito en el presente documento. La composición farmacéutica de la invención puede tener aditivos, transportadores u otros componentes, además de la proteína purificada.

Ejemplos

También describen ejemplos, que pretenden ser puramente a modo de ejemplo de la invención y, por tanto, no deben considerarse que limitan la invención de ningún modo, y detallan aspectos y realizaciones de la invención tratados anteriormente. Los ejemplos no pretenden representar que los experimentos más adelante sean todos o los únicos experimentos realizados. A menos que se indique lo contrario, la temperatura es en grados centígrados y la presión es atmosférica o próxima a atmosférica.

Ejemplo 1: Producción de proteínas H-NOX naturales y mutantes

Se produjeron, expresaron y purificaron proteínas H-NOX naturales y mutantes usando métodos convencionales, esencialmente como se describe por Boon, E.M. *et al.* (2005). "Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase", *Nature Chemical Biology* 1:53-59 y Karow, D. S. *et al.* (10 de agosto de 2004). "Spectroscopic Characterization of The Soluble Guanylate Cyclase-Like Heme Domains From *Vibrio Cholerae* And *Thermoanaerobacter Tengcongensis*", *Biochemistry* 43(31):10203-10211, particularmente con respecto a la mutagénesis, expresión y purificación de proteínas H-NOX. La mutagénesis se realizó usando el protocolo QuickChange® de Stratagene (La Jolla, CA). La expresión de las proteínas en cultivo celular y posterior purificación de las proteínas se realizó como se describe por Karow, D. S. *et al.* (10 de agosto de 2004). "Spectroscopic Characterization of The Soluble Guanylate Cyclase-Like Heme Domains From *Vibrio Cholerae* And *Thermoanaerobacter Tengcongensis*", *Biochemistry* 43(31):10203-10211.

Ejemplo 2: Caracterización de proteínas H-NOX mutantes como vehículos de administración de oxígeno

K_D cinética: Relación de k_{dis} con respecto a k_{as}

El valor de K_D cinética se determinó para proteínas H-NOX naturales y mutantes esencialmente como se describe por Boon, E.M. *et al.* (2005). "Molecular Basis For NO Selectivity in Soluble Guanylate Cyclase", *Nature Chemical Biology* 1:53-59, particularmente con respecto a la medición de las velocidades de asociación del O_2 , velocidades de disociación del O_2 , constantes de disociación para la unión de O_2 , velocidades de auto-oxidación y velocidades de disociación del NO.

k_{as} (velocidad de asociación del O_2)

La asociación de O_2 al hemo se midió usando fotólisis de destello a 20 °C. No fue posible evaporar el complejo de $Fe^{II}-O_2$ como resultado de la muy rápida cinética de recombinación geminada; por tanto, el complejo de $Fe^{II}-CO$ se sometió a fotólisis de destello con luz de láser a 560 nm (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA), produciendo el producto intermedio de Fe^{II} pentacoordinado, a lo que le siguió la unión de O_2 molecular a diversas longitudes de onda. Se prepararon muestras de proteína por reducción anaerobia con ditionito 10 mM, seguido de desalación sobre una columna PD-10 (Millipore, Inc., Billerica, MA). Entonces, las muestras se diluyeron a hemo 20 μM en TEA 50 mM, NaCl 50 mM, tampón a pH 7,5, en una cubeta de cuarzo de atmósfera controlada, con un tamaño de 100 μl a 1 ml y una longitud de trayectoria de 1 cm. El gas CO se circuló sobre el espacio de cabeza de esta cubeta durante 10 minutos para formar el complejo de $Fe^{II}-CO$, formación que se verificó por espectroscopía UV-visible (máximo de Soret 423 nm). Entonces, esta muestra se usó tanto para medir la cinética de re-enlace de CO después de la

fotólisis de destello mientras que estaba bajo 1 atmósfera de gas CO, como se abrió y se agitó en aire durante 30 minutos para oxigenar completamente el tampón antes de que la fotólisis de destello observara eventos de re-enlace de CO. La asociación del O₂ al hemo se monitorizó a múltiples longitudes de onda frente al tiempo. Estas trazas se ajustaron con una exponencial simple usando el software Igor Pro (Wavemetrics, Inc., Oswego, OR; última versión de 2005). Esta velocidad fue independiente de la longitud de onda de observación, pero dependiente de la concentración de O₂. Durante todo el transcurso se usó espectroscopía de UV-visible para confirmar todos los complejos y productos intermedios (Cary 3K, Varian, Inc. Palo Alto, CA). Los datos de absorción transitoria se recogieron usando instrumentos descritos en Dmochowski, I. J. *et al.* (31 de agosto de 2000). "Enantiomeric Discrimination of Ru-Substrates by Cytochrome P450cam", J Inorg Biochem. 81(3):221-228, particularmente con respecto a la instrumentación. El instrumento tiene un tiempo de respuesta de 20 ns, y los datos se digitalizan a 200 megamuestras s⁻¹.

k_{dis} (velocidad de disociación del O₂)

Para medir la *k_{dis}*, los complejos de Fe^{II}-O₂ de proteína (hemo 5 µM), diluidos en TEA 50 mM anaerobio, NaCl 50 mM, tampón a pH 7,5, se mezclaron rápidamente con un volumen igual del mismo tampón (anaerobio) que contenía diversas concentraciones de ditionito y/o gas CO saturante. Los datos se adquirieron en un espectrofotómetro de flujo interrumpido HI-TECH Scientific SF-61 con un baño de temperatura constante Neslab RTE-100 fijado a 20 °C (TGK Scientific LTD., Bradford On Avon, Reino Unido). La disociación del O₂ del hemo se monitorizó como un aumento en la absorbancia a 437 nm, un máximo en el espectro de diferencia de Fe^{II} - Fe^{II}-O₂, o 425 nm, un máximo en el espectro de diferencia de Fe^{II} - Fe^{II}-CO. Las trazas finales se ajustaron a una exponencial simple usando el software que es parte del instrumento. Cada experimento se hizo un mínimo de seis veces, y las velocidades resultantes se promediaron. Las velocidades de disociación medidas son independientes de la concentración de ditionito (se probaron ditionito 100, 50, 25, 10, 5 y 2,5 mM) e independiente de CO saturante como trampa para las especies reducidas, tanto con como sin ditionito 10 mM presente.

K_D cinética

La *K_D* cinética se determina calculando la relación de *k_{dis}* con respecto a *k_{as}* usando las mediciones de *k_{dis}* y *k_{as}* descritas anteriormente.

K_D calculada

Para medir la *K_D* calculada se representaron los valores para la *k_{dis}* y la *K_D* cinética que se obtuvieron como se ha descrito anteriormente. Se definió una relación lineal entre *k_{dis}* y *K_D* cinética por la ecuación (*y=mx+b*). Entonces, los valores de *k_{dis}* se interpolaron a lo largo de la línea para derivar la *K_D* calculada usando Excel: MAC 2004 (Microsoft, Redmond, WA). En ausencia de una *k_{as}* medida, esta interpolación proporciona una forma para relacionar *k_{dis}* con *K_D*.

Velocidad de auto-oxidación

Para medir la velocidad de auto-oxidación, las muestras de proteína se redujeron anaerobiamente, luego se diluyeron a hemo 5 µM en TEA 50 mM aerobio, NaCl 50 mM, tampón a pH 7,5. Estas muestras se incubaron luego en un espectrofotómetro Cary 3E equipado con un baño de temperatura constante Neslab RTE-100 fijado a 37 °C y se barrieron periódicamente (Cary 3E, Varian, Inc., Palo Alto, CA). La velocidad de auto-oxidación se determinó a partir de la diferencia entre el máximo y el mínimo en el espectro de diferencia de Fe^{III} - Fe^{II} representado frente al tiempo y se ajustó con una exponencial simple usando Excel: MAC 2004 (Microsoft, Redmond, WA).

Velocidad de reacción con NO

La reactividad del NO se midió usando proteínas purificadas (*Tt* WT HNOX, *Tt* Y140H HNOX y hemoglobina de *Homo sapiens* (Hs Hb)) preparada a 2 µM en tampón A y NO preparado a 200 µM en tampón A. (Tampón A: Hepes 50 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM). Los datos se adquirieron en un espectrofotómetro de flujo interrumpido HI-TECH Scientific SF-61 equipado con un baño de temperatura constante Neslab RTE-100 fijado a 20 °C (TGK Scientific LTD., Bradford On Avon, Reino Unido). La proteína se mezcló rápidamente con NO en una relación 1:1 con un tiempo de integración de 0,00125 s. Las longitudes de onda del cambio máximo se ajustaron a una exponencial simple usando el software que es parte del espectrómetro, esencialmente midiendo la etapa limitante de la velocidad de la oxidación por NO. Los productos finales de la reacción fueron NO férrico para las proteínas H-NOX y acuo férrico para Hs Hb.

Mediciones de p50

Si se desea, el valor de p50 para las proteínas H-NOX mutantes o naturales puede medirse como se describe por Guarnone, R. *et al.* (septiembre/octubre de 1995). "Performance Characteristics of Hemox-Analyzer For Assessment of The Hemoglobin Dissociation Curve", Haematologica 80(5):426-430, particularmente con respecto a la medición de valores de p50. El valor de p50 valor se determina usando un analizador HemOx. La cámara de medición

empieza al 0 % de oxígeno y se eleva lentamente, incrementalmente, hacia el 100 % de oxígeno. Una sonda de oxígeno en la cámara mide el % de saturación de oxígeno. Una segunda sonda (luz UV-Vis) mide dos longitudes de onda de absorción, ajustadas a los picos alfa y beta de los espectros de UV-Vis de la hemoproteína (por ejemplo, una proteína tal como H-NOX complejada con hemo). Estos picos de absorción aumentan linealmente a medida que la hemoproteína se une oxígeno. Entonces se representa el cambio en porcentaje de sin unir al 100 % unido contra los valores de % de oxígeno para generar una curva. La p50 es el punto en la curva en el que el 50 % de la hemoproteína está unida a oxígeno.

Específicamente, el analizador Hemox (TCS Scientific Corporation, New Hope, PA) determina la curva de disociación de oxihemoproteína (ODC) exponiendo 50 µl de sangre o hemoproteína a una presión parcial creciente de oxígeno y desoxigenándola con gas nitrógeno. Un electrodo de oxígeno Clark detecta el cambio en la tensión del oxígeno, que se registra en el eje x de un registrador x-y. El aumento resultante en la fracción de oxihemoproteína se monitoriza simultáneamente por espectrofotometría de longitud de onda dual a 560 nm y 576 nm y se muestra sobre el eje y. Se toman muestras de sangre de la vena antemedial, se anticoagula con heparina y se mantiene a 4 °C sobre hielo húmedo hasta el ensayo. Cincuenta µl de sangre completa se diluyen en 5 µl de solución Hemox, un tampón proporcionado por el fabricante que mantiene el pH de la solución a un valor de $7,4 \pm 0,01$. El tampón de muestra se extrae en una cubeta que es parte del analizador Hemox y la temperatura de la mezcla se equilibra y se lleva a 37 °C; entonces la muestra se oxigena al 100 % con aire. Después de ajustar el valor de pO_2 , la muestra se desoxigena con nitrógeno; durante el procedimiento de desoxigenación la curva se registra en un papel cuadriculado. El valor de p50 se extrapola en el eje x como el punto al que la saturación de O_2 es el 50 % usando el software que es parte del analizador Hemox. El tiempo requerido para un registro completo es aproximadamente 30 minutos.

Los valores de p50 para cualquiera de las proteínas H-NOX pueden compararse con los de la hemoglobina como indicación de la afinidad relativa de la proteína H-NOX por el O_2 en comparación con la de la hemoglobina. La Tabla 13 enumera previamente valores de p50 informados para hemoglobina.

Tabla 13. Variantes de hemoglobina y sus afinidades de oxígeno informadas

Nombre	Modificación	K_D (nM)	p50 (mm de Hg)	Referencia/fabricante
Hemoglobina (sin estromas)		~400	14	
Hemoglobina (de RBC)			27	
Hemopure (HBOC-201)	Bovina polimerizada		36	Biopure
Oxiglobina (HBOC-301)	Bovina polimerizada		54	Biopure
Hemospan (MP4)	Maleimida-PEG		5	Sangart
Polyheme	Piridoxal		28-30	Northfield Labs
Hemolink	O-rafinosa		40	Hemosol
Hemassist	Diaspirina		32	Baxter

Mediciones de la viscosidad

Si se desea, la viscosidad de las soluciones de H-NOX puede medirse usando un reómetro de cono/plato (modelo DV-III, Brookfield; Middleboro, MA) con el husillo del cono CPE-40 a una velocidad de cizallamiento de 200/s. Soluciones con viscosidades entre 1 y 4 centipoise (cP) administradas en experimentos de administración de oxígeno por hemodilución se informan como seguras (Winslow, R. M. *et al.* (octubre de 2004). "Comparison of PEG-Modified Albumin And Hemoglobin in Extreme Hemodilution in the Rat", *JAppl Physiol.* 97(4):1527-1534, las patentes de EE.UU. n.º 6.974.795 y 6.432.918, particularmente con respecto a la medición de viscosidad). Por consiguiente, en algunas realizaciones, la viscosidad de la solución de proteína H-NOX está entre 1 y 4 cP.

Mediciones de la presión oncótica coloide

Si se desea, la presión oncótica coloide puede medirse usando un osmómetro coloide según las instrucciones del fabricante (modelo 4420, Wescor; Logan, UT). Métodos a modo de ejemplo para medir la presión oncótica coloide se describen en Vandegriff, K. D. *et al.* (noviembre de 1997). "Colloid Osmotic Properties of modified Hemoglobins: Chemically Cross-Linked Versus Polyethylene Glycol Surface-Conjugated", *Biophys. Chem.* 69(1):23-30, en la malla mundial en "anaesthesiamcq.com/FluidBook/fl2_4.php"; las patentes de EE.UU. n.º 6.974.795 y 6.432.918, particularmente con respecto a medir la presión oncótica coloide. Soluciones con la presión oncótica coloide entre 20 y 50 mm de Hg administradas en experimentos de administración de oxígeno por hemodilución se informan como seguras (Winslow, R. M. *et al.* (octubre de 2004). "Comparison of PEG-Modified Albumin And Hemoglobin in Extreme Hemodilution in the Rat", *J Appl Physiol.* 97(4):1527-1534). Por consiguiente, en algunas realizaciones, la presión oncótica coloide de la solución de proteína H-NOX está entre 20 y 50 mm de Hg.

Ejemplo 3: Modelo de cirugía para mutantes de H-NOX de transportadores de O_2 : Comparación de un panel

de mutantes de H-NOX de transportadores de O₂ y H-NOX en hemodilución extrema en la rata.

Para evaluar la capacidad de mutantes de H-NOX para transportar O₂ en un modelo de cirugía puede realizarse una adaptación de un protocolo establecido (Winslow, R. M. *et al.* (octubre de 2004). "Comparison of PEG-Modified Albumin And Hemoglobin in Extreme Hemodilution in the Rat", J Appl Physiol. 97(4):1527-1534, particularmente con respecto a modelos de cirugía) usando transfusión de intercambio continuo en la rata.

Ratas Sprague-Dawley macho aclimatadas se anestesian por inyección intramuscular de una mezcla para roedor que contiene una mezcla de ketamina (40 mg/kg), acepromazina (0,75 mg/kg) y xilazina (3 mg/kg). Catéteres hechos de tubo de polietileno (PE-50 y PE-10 de Clay Adams) se implantan en ambas arterias femorales y una vena femoral. Los catéteres se externalizan en la base de la cola y se cubren por una vaina para la cola para protección y futuro acceso. Después del cierre de las heridas quirúrgicas, los animales se devuelven a sus jaulas y se deja que se despierten y se recuperen durante 24 h antes del inicio del experimento. A los animales se les da libre acceso a alimento y agua durante la recuperación. Para las medidas hemodinámicas, el catéter de la arteria femoral se conecta mediante una llave de paso y una aguja de calibre 23 a un transductor de presión, y la tensión arterial se muestrea continuamente a 100 Hz.

El pH arterial, PCO₂ y PO₂ se miden en un analizador de gas en sangre modelo 248 de Bayer usando muestras de sangre heparinizadas de 100 µl. Se mide ácido láctico en sangre de la arteria femoral usando un analizador de lactato de YSI (Yellow Springs Institute, Yellow Springs, OH). El CO₂ total, bicarbonato convencional (HCO) y exceso de base (EB) se calculan a partir de PCO₂, pH y la concentración de Hb.

Animales completamente conscientes (n = 5 para cada grupo de tratamiento) se colocan en jaulas de Plexiglas. Las cánulas arteriales y venosas se lavan con 200 y 100 µl, respectivamente, de solución salina heparinizada (100 U/ml). Los catéteres arteriales y venosos se conectan a una bomba de infusión (Labconco modelo 4262000, Kansas City, MO), y la transfusión por intercambio se lleva a cabo a una velocidad de 0,5 ml/min durante 100 minutos. Por tanto, el volumen total de solución intercambiada es 50 ml o 2,5 volúmenes de sangre. La bomba peristáltica se opera de forma que la sangre se extraiga a exactamente la misma velocidad a la que se infunde el material de prueba. Las soluciones de prueba se calientan a 37 °C en un baño de agua antes de la infusión y se mantienen calientes durante la infusión por una almohadilla calentadora. Al final del periodo de intercambio de 100 minutos, los animales que sobreviven se monitorizan durante 70 minutos adicionales antes de la eutanasia. Se toman muestras de sangre (0,3 ml) cada 10 minutos para análisis hematológicos y de gas en sangre.

Los grupos de tratamiento incluyen animales a los que se administran una o más proteínas H-NOX que han sido previamente probadas para constantes de disociación del NO u O₂, reactividad del NO, estabilidad, fisiocompatibilidad, o combinaciones de dos o más de las anteriores. Los grupos tratados con H-NOX de glóbulos rojos y penta-almidón proporcionan controles positivos y negativos, respectivamente.

Los criterios de valoración objetivos incluyen supervivencia y la aparición de metabolismo anaerobio, señalizado por el desequilibrio ácido-base y la acumulación de ácido láctico. Las proteínas H-NOX que aumentan la velocidad de supervivencia (tal como produciendo un aumento estadísticamente significativo en la velocidad de supervivencia) en comparación con las del grupo de control son útiles para oxigenar tejidos en hemodilución extrema. Se espera que tales proteínas H-NOX también sean útiles para tratar otras indicaciones para las que es beneficiosa la administración de O₂.

Ejemplo 4: Modelo de traumatismo para mutantes de H-NOX de transportadores de O₂: Comparación de los efectos de mutantes de H-NOX de transportadores de O₂ y soluciones de hemoglobina recombinantes sobre la tensión arterial, circulación sanguínea intestinal y oxigenación del intestino en un modelo de rata de choque hemorrágico.

Para evaluar la capacidad de proteínas H-NOX para transportar O₂ en un modelo de traumatismo puede realizarse una adaptación de un protocolo establecido (Raat, N. J. *et al.* (enero de 2005). "Effects of Recombinant-Hemoglobin Solutions rHb2.0 and rHb1.1 on Blood Pressure, Intestinal Blood Flow, And Gut Oxygenation in a Rat Model of Hemorrhagic Shock", J Lab Clin Med. 145(1):21-32, particularmente con respecto a modelos animales de traumatismo) en un modelo de rata de presión fijada (40 mm de Hg) de choque hemorrágico y reanimación.

Se anestesian ratas Wistar con una inyección intraperitoneal de una mezcla de 90 mg/kg de ketamina, 0,5 mg/kg de medetomidina y 0,005 mg/kg de sulfato de atropina. La temperatura corporal de cada rata se mantiene entre 36,5 °C y 37,5 °C usando una almohadilla calefactora termocontrolada por una sonda de temperatura dispuesta en el recto de la rata. Además, la pérdida de calor se compensa usando una lámpara de calentamiento cerámica posicionada 40 a 50 cm por encima de la rata. Para la ventilación mecánica se realiza una traqueotomía y una longitud de 3,5 cm de tubo de poli(cloruro de vinilo) 6F se dispone 0,5 cm en la tráquea y se asegura con una sutura. Se usa un ventilador para bebés modificado para ventilar al animal. Para minimizar la pérdida de líquido ventilatorio, un filtro de humedad se coloca antes del tubo de ventilación. Se usa un puerto lateral de este filtro para monitorizar el CO₂ al final de la respiración usando un capnógrafo. Los parámetros de ventilación tales como la fase inspiratoria (0,25 - 0,35) y la velocidad de respiración (50-75 respiraciones/min) se ajustan para mantener los valores de la PCO₂

arterial entre 35 y 45 mm de Hg durante la cirugía como se comprueba tomando una muestra de sangre de referencia. No se hacen más ajustes hasta el final del experimento.

Se canulan vasos usando catéter de vena de polietileno de 0,5 x 0,9 mm. Los catéteres se llenan de 0,9 % de solución de NaCl con 25 UI de heparina. El catéter de la arteria carótida derecha se acorta a 20 cm y se ajusta a un transductor de presión para la monitorización continua de la tensión arterial media (MAP) y la frecuencia cardíaca. La MAP se calcula usando esta fórmula:

$$(\text{tensión arterial sistólica} - \text{tensión arterial diastólica})/3 + \text{tensión arterial diastólica}.$$

Además, la vena yugular se canula para el soporte de líquido con 15 ml/kg/h de lactato de Ringer y 5 ml/kg/h de anestesia de mantenimiento (ketamina 50 mg/kg/h en lactato de Ringer). La arteria femoral se canula para la extracción de sangre y el muestreo de gas en sangre arterial. La vena femoral se canula para la infusión de los líquidos de reanimación y el muestreo de gas en sangre venosa.

Se realiza una laparotomía en la línea media en cada rata: el abdomen se cubre con envoltura de Saran para prevenir la evaporación de fluidos corporales. Se perfora un pequeño orificio en la envoltura de Saran para permitir el acceso de la fibra óptica para mediciones de PO₂ microcirculatoria. También se canula una vena ileocecal con un catéter de polietileno de 0,8 mm para el muestreo de sangre venosa mesentérica.

La PO₂ microvascular intestinal se mide usando la técnica previamente descrita de extinción dependiente del oxígeno de fosforescencia de paladio-porfirina. Después de 2,5 a 3 horas de cirugía, meso-tetra(4-carboxifenil)porfina de paladio (II) acoplada a solución de HSA (50 mg en 10 ml de 4 % de solución de albúmina, 4 mmol/l de solución de paladio-porfirina, pH ajustado a 7,4 con HCl) se infunde a una dosis de 12 mg/ kg de peso corporal a una velocidad de 9,6 ml/kg/h durante 15 minutos.

La excitación del paladio-porfirina con un pulso de luz produce emisión de fosforescencia con un decaimiento en el tiempo que se relaciona cuantitativamente con la concentración de oxígeno (Vanderkooi, J. M. *et al.* (25 de abril de 1987). "An Optical Method for Measurement of Dioxygen Concentration Based Upon Quenching of Phosphorescence", J. Biol. Chem. 262(12):5476-5482). Se hacen mediciones de PO₂ microvascular con una fibra óptica posicionada por encima de la parte proximal del ileon. La lámpara de destello se registra antes de infundir el paladio-porfirina y se usa un algoritmo de desconvolución para calcular las concentraciones de oxígeno. Después de la infusión de la solución de paladio-porfirina y 45 minutos de estabilización se toman muestras de sangre de referencia (0,2 ml/muestra) de la arteria femoral, vena femoral y vena mesentérica para la determinación del gas en sangre. Las muestras de sangre se analizan en un analizador de gas en sangre y un hemoxímetro.

Se induce choque hemorrágico extrayendo sangre de la arteria femoral en jeringuillas de 3 ml con heparina (25 UI/ml de sangre) a una velocidad de aproximadamente 1 ml/min durante varios minutos hasta que la MAP es aproximadamente 40 mm de Hg. La MAP se mantiene a este nivel usando más extracciones de sangre o infusiones de sangre durante 45 minutos. Justo antes de la reanimación se extraen muestras de sangre (0,2 ml/muestra) de la arteria femoral, vena femoral y vena mesentérica para la determinación de gas en sangre, y se reinfunde una cantidad similar de sangre de rata (recogida durante el choque hemorrágico). Después de este periodo de choque, los animales se asignan aleatoriamente a 1 de 8 grupos de reanimación diferentes. La reanimación se lleva a cabo con proteínas H-NOX naturales o mutantes o con otro transportador de O₂, tal como solución de hemoglobina recombinante rHb1.1 (Baxter), rHb2.0 (Baxter), hemoglobina sin suero (solución patrón), MP4 (Sangart), Hemopure (Biopure) o Polyheme (Northfield Labs) (Raaij, N. J. *et al.* (enero de 2005). J Lab Clin Med. 145(1):21-32; concentración de reserva 100 mg/ml), todas a una dosis de 20 ml/kg (2 g/kg) infundida a una velocidad de 60 ml/kg/h. Se usa HSA (13,4 % de solución de albúmina) infundida a la misma dosificación (20 ml/kg) y velocidad como control para el efecto del volumen sobre la presión y flujo durante la reanimación. Cuando se completa la reanimación se toman muestras de sangre de 0,2 ml de la arteria femoral, vena femoral y vena mesentérica después de 30, 60, 90 y 120 minutos, y cada vez se devuelve una cantidad similar de sangre de rata.

H-NOX que producen la misma vasoconstricción sistémica o menos (tal como sustancialmente o significativamente menos), el mismo aumento de MAP o menos, o el mismo aumento en la resistencia vascular mesentérica (MVR) o menos después de la reanimación en comparación con la que se produce por otro transportador de O₂ (tal como rHb1.1, rHb2.0, hemoglobina sin suero, MP4, Hemospan, o Polyheme) o por HAS oncóticamente igual son útiles para tratar choque hemorrágico. Se espera que tales proteínas H-NOX también sean útiles para tratar otras indicaciones para las que es beneficiosa la administración de O₂.

A menos que se defina de otro modo, los significados de todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento son aquellos comúnmente entendidos por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Un experto en la materia también apreciará que cualquier método y material similar o equivalente a aquellos descritos en el presente documento también puede usarse para poner en práctica o probar la invención.

Para su uso en el presente documento, a menos que se indique claramente de otro modo, el uso de los términos

“un”, “una” y similares se refiere a uno o más.

Referencia a “aproximadamente” un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) realizaciones que se refieren al valor o parámetro por sí mismo. Por ejemplo, descripción con referencia a “aproximadamente X”
5 incluye descripción de “X”.

Se entiende que el aspecto y realizaciones de la invención descritos en el presente documento incluyen “que comprende”, “que consiste” y “que consiste esencialmente en” aspectos y realizaciones.

10 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> The Regents of the University of California Cary, Stephen P.L. Boon, Elizabeth M. Weinert, Emily Winger, Jonathan A. Marletta, Michael A.

15 <120> COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA LA ADMINISTRACIÓN DE OXÍGENO

<130> 627042000140

20 <140> PCT/US2007/012184
<141> 21-05-2007

<150> US 60/921.505
<151> 22-05-2006

25 <160> 162

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

30 <210> 1
<211> 190
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Majority

<220>
<221> VARIANTE
<222> 33
40 <223> Xaa = Cualquier aminoácido

<400> 1

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

<210> 2
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Caenorhabditis elegans*

<400> 2

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

<210> 3
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Caenorhabditis elegans*

<400> 3

```

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

```

5 <210> 4
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Caenorhabditis elegans*

10 <400> 4

```

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

```

<210> 5

ES 2 611 157 T3

<211> 190
 <212> PRT
 <213> *Drosophila melanogaster*

5 <400> 5

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

<210> 6
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Drosophila melanogaster*

10

<400> 6

15

```

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

```

<210> 7
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Manduca sexta*

<400> 7

```

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

```

<210> 8
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 8

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

5 <210> 9
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Clostridium acetobutylicum*

10 <400> 9

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

15 <210> 10
 <211> 189

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Majority

<400> 10

```

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

```

10 <210> 11
<211> 186
<212> PRT
<213> *Drosophila melanogaster*

15 <400> 11


```

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

```

<210> 12
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 12

```

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

```

<210> 13
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 13

```

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

```

5

<210> 14
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 14

```

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

```

15

<210> 15
 <211> 188

<212> PRT
<213> *Manduca sexta*

<400> 15

5

```

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

```

<210> 16
<211> 189
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

10

<400> 16

```

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

```

15

ES 2 611 157 T3

<210> 17
 <211> 183
 <212> PRT
 <213> *Nostoc punctiforme*

5

<400> 17

```

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

```

10 <210> 18
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> *Takifugu rubripes*

15 <400> 18

Met Tyr Gly Phe Val Asn His Ala Leu Glu Leu Leu Val Leu Arg Asn

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

<210> 19
 <211> 185
 <212> PRT
 <213> *Anopheles gambiae*

<400> 19

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

<210> 20
 <211> 188
 <212> PRT

<213> *Apis mellifera*

<400> 20

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

5

<210> 21

<211> 189

<212> PRT

10 <213> *Bos taurus*

<400> 21

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

<210> 22
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Chlamydomonas reinhardtii*

5

<400> 22

```

Met Leu Gly Trp Tyr Asp Arg Ala Ile Glu Ser Phe Leu Lys Gln Leu
 1           5           10           15
Gly Ala Asp Ala Trp Arg Gly Thr Leu His Ser Ala Val Gly Gln Asp

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

10

<210> 23
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> *Oryzias curvinotus*

15

<400> 23

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

<210> 24
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> *Oryzias latipes*

<400> 24

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

<210> 25
 <211> 189
 <212> PRT

<213> *Strongylocentrotus purpuratus*

<400> 25

```

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

```

5

<210> 26
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> *Sus scrofa*

10

<400> 26

```

Met Tyr Gly Phe Val Asn His Ala Leu Glu Leu Leu Val Ile Arg Asn
 1           5           10           15
Tyr Gly Pro Glu Val Trp Glu Asp Ile Lys Lys Glu Ala Gln Leu Asp
           20           25           30
Glu Glu Gly Gln Phe Leu Val Arg Ile Ile Tyr Asp Asp Ser Lys Thr

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

```

<210> 27
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Majority

<400> 27

10

```

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

<210> 28
 <211> 172
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 28

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

<210> 29
 <211> 172
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*
 <400> 29

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

<210> 30
 <211> 170
 <212> PRT
 <213> *Drosophila melanogaster*
 <400> 30

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

<210> 31
 <211> 170
 <212> PRT
 <213> *Drosophila melanogaster*
 <400> 31

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

<210> 32
 <211> 173
 <212> PRT
 <213> *Caenorhabditis elegans*
 <400> 32

```

Met Phe Gly Trp Ile His Glu Ser Phe Arg Gln Leu Val Thr Arg Lys
 1      5      10      15
Tyr Gly Lys Asp Ile Trp Glu Lys Ile Val His Met Ser Lys Phe Glu
      20      25      30
Leu Gly Thr Glu Ser Glu Ile Ala His Tyr Tyr Asn Asp Asp Glu Thr
      35      40      45
Leu Arg Leu Val Asn Ser Met Ala Asn Val Ile Gly Ile Pro Ile Glu
      50      55      60
Glu Ile Trp Glu Ala Tyr Gly Gly Phe Leu Ile Gln Phe Thr Met Glu
      65      70      75      80
Thr Gly Trp Asp Glu Leu Leu Arg Ala Met Ala Pro Asp Leu Glu Gly
      85      90      95
Phe Leu Asp Ser Leu Asp Ser Leu His Tyr Phe Ile Asp His Val Val

```

```

      100      105      110
Tyr Lys Thr Lys Leu Arg Gly Pro Ser Phe Arg Cys Asp Val Gln Ala
      115      120      125
Asp Gly Thr Leu Leu Leu His Tyr Tyr Ser Lys Arg Ser Gly Leu Tyr
      130      135      140
Pro Ile Val Lys Gly Val Val Arg Glu Val Ala Arg Arg Ile Tyr Asp
      145      150      155      160
Thr Glu Val Val Met Lys Val Gln Glu Arg Lys Gln Glu
      165      170

```

<210> 33
 <211> 169
 <212> PRT
 <213> *Nostoc punctiforme*

<400> 33

```

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

```

<210> 34
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> *Caulobacter crescentus*

<400> 34

```

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

Thr Glu Gly Ala Ala Arg Gln Phe His Glu Val Ile Thr Phe Glu His
145      150      155      160
Ala Ala Cys Val Glu Lys
165

```

<210> 35
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> *Shewanella oneidensis*

<400> 35

```

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

```

<210> 36
 <211> 169
 <212> PRT
 <213> *Legionella pneumophila*

<400> 36

```

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

```

<210> 37
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> *Clostridium acetobutylicum*

<400> 37

```

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

```

<210> 38
 <211> 163
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 38

```

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

```

<210> 39
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 39

```

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

```

<210> 40
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Clostridium acetobutylicum*

<400> 40


```

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

```

<210> 41
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Clostridium tetani*
 <400> 41

```

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

```

<210> 42
 <211> 172
 <212> PRT
 <213> *Desulfovibrio desulfuricans*

<400> 42

```

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

```

5 <210> 43
 <211> 185
 <212> PRT
 <213> *Vibrio vulnificus*

10 <400> 43

```

Met Lys Gly Ile Ile Phe Thr Glu Phe Leu Glu Leu Val Glu Glu Lys
 1           5           10           15

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

```

15 <210> 44
 <211> 186

<212> PRT

<213> *Caulobacter crescentus*

<400> 44

5

```

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

```

<210> 45

<211> 180

<212> PRT

<213> *Microbulbifer degradans*

<400> 45

10

```

Met Lys Gly Ala Val Leu Ile Ala Leu Asn Asp Met Val Glu Glu Val
 1           5           10           15
Phe Ser Met Ala Val Trp Asp Gln Val Leu Ala Lys Val Lys Pro Asp

```

15

[illegible]

<210> 46
<211> 181
<212> PRT
<213> *Vibrio cholerae*

<400> 46

[illegible]

<210> 47
<211> 181
<212> PRT
<213> *Shewanella oneidensis*

<400> 47

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

<210> 48
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 48

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

<210> 49
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 49

```

Met Tyr Gly Phe Ile Asn Thr Cys Leu Gln Ser Leu Val Thr Glu Lys
 1          5          10          15
Phe Gly Glu Glu Thr Trp Glu Lys Leu Lys Ala Pro Ala Glu Val Gln
          20          25          30
Asp Val Phe Met Thr Tyr Thr Val Tyr Asp Asp Ile Ile Thr Ile Lys

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

```

5 <210> 50
 <211> 183
 <212> PRT
 <213> *Nostoc punctiforme*

10 <400> 50

```

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

```

<210> 51

<211> 187
<212> PRT
<213> *Nostoc* sp.

5 <400> 51

```

Met Tyr Gly Leu Val Asn Lys Ala Ile Gln Asp Met Ile Ser Lys His
 1           5           10           15
His Gly Glu Asp Thr Trp Glu Ala Ile Lys Gln Lys Ala Gly Leu Glu
          20           25           30
Asp Ile Asp Phe Phe Val Gly Met Glu Ala Tyr Ser Asp Asp Val Thr
          35           40           45

```

```

Tyr His Leu Val Gly Ala Ala Ser Glu Val Leu Gly Lys Pro Ala Glu
 50           55           60
Glu Leu Leu Ile Ala Phe Gly Glu Tyr Trp Val Thr Tyr Thr Ser Glu
65           70           75           80
Glu Gly Tyr Gly Glu Leu Leu Ala Ser Ala Gly Asp Ser Leu Pro Glu
          85           90           95
Phe Met Glu Asn Leu Asp Asn Leu His Ala Arg Val Gly Leu Ser Phe
          100          105          110
Pro Gln Leu Arg Pro Pro Ala Phe Glu Cys Gln His Thr Ser Ser Lys
          115          120          125
Ser Met Glu Leu His Tyr Gln Ser Thr Arg Cys Gly Leu Ala Pro Met
          130          135          140
Val Leu Gly Leu Leu His Gly Leu Gly Lys Arg Phe Gln Thr Lys Val
145          150          155          160
Glu Val Thr Gln Thr Ala Phe Arg Glu Thr Gly Glu Asp His Asp Ile
          165          170          175
Phe Ser Ile Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Leu Tyr
          180          185

```

<210> 52
<211> 73
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Majority

15

<400> 52

```

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

```

20

<210> 53
<211> 555
<212> ADN
<213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

25

<400> 53

```

atgaagggga caatcgtcgg gacatggata aagaccctga gggaccttta cgggaatgat 60
gtggttgatg aatcttttaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggg 180
aaaaatgtca acgaaatatg gagagaggta ggaaggcaga acataaaaac tttcagcgaa 240
tggtttccct cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
gtacacctac agcttaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aaagaaagat gtacgattac 420
tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtggagag 480
gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggctaaaag tcaggataaa atttaaaaac 540
cccgtttttg agtga 555

```

<210> 54
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

 <400> 54

```

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

```

<210> 55
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

 <400> 55

```

atgaagggga caatcgtcgg gacatggata aagaccctga gggaccttta cgggaatgat 60
gtggttgatg aatcttttaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggg 180
aaaaatgtca acgaaatatg gagagaggta ggaaggcaga acataaaaac tttcagcgaa 240
tggtttccct cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
gtacacctac agcttaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aaagaaagat gtacgatttc 420
tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtggagag 480
gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggctaaaag tcaggataaa atttaaaaac 540
cccgtttttg agtga 555

```


<210> 56
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

5

<400> 56

```

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

          130          135          140
Ile Glu Gly Ser Ser Lys Phe Phe Lys Glu Glu Ile Ser Val Glu Glu
          145          150          155          160
Val Glu Arg Gly Glu Lys Asp Gly Phe Ser Arg Leu Lys Val Arg Ile
          165          170          175
Lys Phe Lys Asn Pro Val Phe Glu
          180
    
```

<210> 57
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

10

<400> 57

15

```

atgaagggga caatcgtcgg gacatggata aagaccctga gggaccttta cgggaatgat 60
gtgggttgatg aatctttaaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggt 180
aaaaatgtca acgaaatatg gagagaggta ggaaggcaga acataaaaac tttcagcgaa 240
tggtttccct cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
gtacacctac agcttaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aaagaaagat gtacgatctt 420
tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtggaagag 480
gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggcataaag tcaggataaa atttaaaaac 540
cccgtttttg agtga                                     555
    
```

<210> 58
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

20

<400> 58

25

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

<210> 59
 <211> 555
 5 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 59

atgaagggga caatcgctcgg gacatggata aagaccctga gggaccttta cggaatgat 60

gtggttgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtgagtga	aaaaactgg	180
aaaaatgtca	acgaaatgat	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgatcac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggtttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

10 <210> 60
 <211> 184
 <212> PRT
 15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 60

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

<210> 61
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 61

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaaatgat	60
gtgggttgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atcttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctatcttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgatgcc	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 62
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 62

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

<210> 63
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 63

```

atgaagggga caatcgtcgg gacatttata aagaccctga gggaccttta cgggaatgat 60
gtggttgatg aatctttaaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggt 180
aaaaatgtca acgaaatatg gagagaggta ggaaggcaga acataaaaac tttcagcgaa 240
tggtttccct cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
gtacacctac agcttaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aaagaaagat gtacgattac 420
tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtggaagag 480
gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggctaaaag tcaggataaa atttaaaaac 540
cccgtttttg agtga                                     555
    
```

<210> 64
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 64

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

Met	Glu	Tyr	Val	Ser	Lys	Arg	Lys	Met	Tyr	Asp	Tyr	Phe	Leu	Gly	Leu
	130					135					140				
Ile	Glu	Gly	Ser	Ser	Lys	Phe	Phe	Lys	Glu	Glu	Ile	Ser	Val	Glu	Glu
145					150					155					160
Val	Glu	Arg	Gly	Glu	Lys	Asp	Gly	Phe	Ser	Arg	Leu	Lys	Val	Arg	Ile
			165					170						175	
Lys	Phe	Lys	Asn	Pro	Val	Phe	Glu								
			180												

<210> 65
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 65

atgaagggga	caatcgtcgg	gacattttata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaaatgat	60
gtggttgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatgat	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttcctt	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgatttt	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 66
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 66

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

<210> 67
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 67

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatttata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggttgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatgat	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttcctt	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgatcac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 68
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 68

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

<210> 69
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 69

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatttata	aagacocctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtggttgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtagtgta	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcagg	caataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttcctt	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 70
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 70

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

<210> 71
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 71

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatacata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggttaggaga	atttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 72
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 72

Met Lys Gly Thr Ile Val Gly Thr Tyr Ile Lys Thr Leu Arg Asp Leu
 1 5 10 15
 Tyr Gly Asn Asp Val Val Asp Glu Ser Leu Lys Ser Val Gly Trp Glu
 20 25 30
 Pro Asp Arg Val Ile Thr Pro Leu Glu Asp Ile Asp Asp Asp Glu Val
 35 40 45
 Arg Arg Ile Phe Ala Lys Val Ser Glu Lys Thr Gly Lys Asn Val Asn
 50 55 60
 Glu Ile Trp Arg Glu Val Gly Arg Gln Asn Ile Lys Thr Phe Ser Glu
 65 70 75 80
 Trp Phe Pro Ser Tyr Phe Ala Gly Arg Arg Leu Val Asn Phe Leu Met
 85 90 95
 Met Met Asp Glu Val His Leu Gln Leu Thr Lys Met Ile Lys Gly Ala
 100 105 110
 Thr Pro Pro Arg Leu Ile Ala Lys Pro Val Ala Lys Asp Ala Ile Glu

115 120 125
 Met Glu Tyr Val Ser Lys Arg Lys Met Tyr Asp Tyr Phe Leu Gly Leu
 130 135 140
 Ile Glu Gly Ser Ser Lys Phe Phe Lys Glu Glu Ile Ser Val Glu Glu
 145 150 155 160
 Val Glu Arg Gly Glu Lys Asp Gly Phe Ser Arg Leu Lys Val Arg Ile
 165 170 175
 Lys Phe Lys Asn Pro Val Phe Glu
 180

<210> 73
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 73

atgaagggga caatcgtcgg gacaaatata aagaccotga gggaccttta cggaatgat 60
 gtggttgatg aatctttaaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
 gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggt 180
 aaaaatgtca acgaaatatg gagagaggta ggaaggcaga acataaaaac tttcagcgaa 240
 tggtttcctt cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
 gtacacctac agcttaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
 cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aaagaaagat gtacgattac 420
 tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtggagag 480
 gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggctaaaag tcaggataaa atttaaaaac 540
 cccgtttttg agtga 555

<210> 74
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 74

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

<210> 75
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 75

atgaagggga	caatcgtcgg	gacacacata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtagtgat	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatgat	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 76
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 76

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

<210> 77
 <211> 555
 5 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 77

atgaagggga	cagcagtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atctttgcta	aggtgagtga	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctatctttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggtttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttataaac	540
cccggttttg	agtga					555

<210> 78
 <211> 184
 <212> PRT
 15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 78

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

<210> 79

<211> 555

5 <212> ADN

<213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 79

atgaagggga	cacttgctcg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtagggaga	atctttgcta	aggtgagtga	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctatcttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctggttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggtttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

10

<210> 80

<211> 184

<212> PRT

15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 80

Met	Lys	Gly	Thr	Leu	Val	Gly	Thr	Trp	Ile	Lys	Thr	Leu	Arg	Asp	Leu
1				5					10					15	
Tyr	Gly	Asn	Asp	Val	Val	Asp	Glu	Ser	Leu	Lys	Ser	Val	Gly	Trp	Glu
			20					25					30		
Pro	Asp	Arg	Val	Ile	Thr	Pro	Leu	Glu	Asp	Ile	Asp	Asp	Glu	Val	
		35					40				45				
Arg	Arg	Ile	Phe	Ala	Lys	Val	Ser	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Asn	Val	Asn
	50					55					60				
Glu	Ile	Trp	Arg	Glu	Val	Gly	Arg	Gln	Asn	Ile	Lys	Thr	Phe	Ser	Glu
65					70					75					80
Trp	Phe	Pro	Ser	Tyr	Phe	Ala	Gly	Arg	Arg	Leu	Val	Asn	Phe	Leu	Met
				85					90					95	
Met	Met	Asp	Glu	Val	His	Leu	Gln	Leu	Thr	Lys	Met	Ile	Lys	Gly	Ala
			100					105					110		

Thr	Pro	Pro	Arg	Leu	Ile	Ala	Lys	Pro	Val	Ala	Lys	Asp	Ala	Ile	Glu
		115					120					125			
Met	Glu	Tyr	Val	Ser	Lys	Arg	Lys	Met	Tyr	Asp	Tyr	Phe	Leu	Gly	Leu
	130					135					140				
Ile	Glu	Gly	Ser	Ser	Lys	Phe	Phe	Lys	Glu	Glu	Ile	Ser	Val	Glu	Glu
145					150					155					160
Val	Glu	Arg	Gly	Glu	Lys	Asp	Gly	Phe	Ser	Arg	Leu	Lys	Val	Arg	Ile
				165					170					175	
Lys	Phe	Lys	Asn	Pro	Val	Phe	Glu								
			180												

<210> 81
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 81

atgaagggga	cacttgctcg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggttaggaga	atcttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggtg	ggaaggcaga	acataaaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctgcaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 82
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 82

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

<210> 83
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 83

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cggaatgat	60
gtggttgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atgttgcta	aggtagtgta	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatgat	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctgccaggct	tattgcaaag	360
cctgtttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggtttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaaac	540
cccgtttttg	agtga					555

<210> 84
 <211> 184
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 84

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

<210> 85
 <211> 567
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 85

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcagg	aaataaaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggtttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtataagaa	aaattga				567

<210> 86
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 86

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

<210> 87

<211> 567

5 <212> ADN

<213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 87

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcagg	ccataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctggtgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgatcac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtataagaa	aaattga				567

10

<210> 88

<211> 188

<212> PRT

15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 88

Met Lys Gly Thr Ile Val Gly Thr Trp Ile Lys Thr Leu Arg Asp Leu
 1 5 10 15
 Tyr Gly Asn Asp Val Val Asp Glu Ser Leu Lys Ser Val Gly Trp Glu
 20 25 30
 Pro Asp Arg Val Ile Thr Pro Leu Glu Asp Ile Asp Asp Asp Glu Val
 35 40 45
 Arg Arg Ile Phe Ala Lys Val Ser Glu Lys Thr Gly Lys Asn Val Asn
 50 55 60
 Glu Ile Trp Arg Glu Val Gly Arg Gln Ala Ile Lys Thr Phe Ser Glu
 65 70 75 80
 Trp Phe Pro Ser Tyr Phe Ala Gly Arg Arg Leu Val Asn Phe Leu Met
 85 90 95
 Met Met Asp Glu Val His Leu Gln Leu Thr Lys Met Ile Lys Gly Ala

100 105 110
 Thr Pro Pro Arg Leu Ile Ala Lys Pro Val Ala Lys Asp Ala Ile Glu
 115 120 125
 Met Glu Tyr Val Ser Lys Arg Lys Met Tyr Asp His Phe Leu Gly Leu
 130 135 140
 Ile Glu Gly Ser Ser Lys Phe Phe Lys Glu Glu Ile Ser Val Glu Glu
 145 150 155 160
 Val Glu Arg Gly Glu Lys Asp Gly Phe Ser Arg Leu Lys Val Arg Ile
 165 170 175
 Lys Phe Lys Asn Pro Val Phe Glu Tyr Lys Lys Asn
 180 185

<210> 89
 <211> 591
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 89

atgaagggga caatcgtcgg gacatggata aagaccctga gggaccttta cgggaatgat 60
 gtggttgatg aatcttttaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
 gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggg 180
 aaaaatgtca acgaaatag gagagaggta ggaaggcaga acataaaaac tttcagcgaa 240
 tggtttccct cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
 gtacacctac agcttaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
 cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aacagaagat gtacgattac 420
 tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtgggaagag 480
 gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggctaaaag tcaggataaa atttaaaaac 540
 cccgtttttg agtataagaa aaatctcgag caccaccacc accaccactg a 591

<210> 90
 <211> 196
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 90

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

<210> 91

<211> 567

5 <212> ADN

<213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 91

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtggttgatg	aatcctttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtagggaga	atcttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcagg	ccataaaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctatcttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacotac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaaac	540
cccgtttttg	agtataagaa	aaattga				567

10

<210> 92

<211> 188

<212> PRT

15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 92

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

<210> 93
 <211> 591
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 93

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaaatgat	60
gtgggttgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atgttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcagg	ccataaaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggaaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaaac	540
cccgtttttg	agtataagaa	aatctctgag	caccaccacc	accaccactg	a	591

<210> 94
 <211> 196
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 94

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

<210> 95
 <211> 567
 5 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 95

atgaagggga	caatcgtcgg	gacaaatata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtgggtgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggttaggaga	atcttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttcctt	cctatctttg	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtataagaa	aaattga				567

<210> 96
 <211> 188
 <212> PRT
 15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 96

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

<210> 97
 <211> 567
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 97

atgaagggga	caatcgtcgg	gacacatata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaaatgat	60
gtgggtgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atctttgcta	aggtgagtga	aaaaactggg	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctatcttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agtataagaa	aaattga				567

<210> 98
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 98

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

<210> 99
 <211> 567
 5 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 99

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cgggaatgat	60
gtggttgatg	aatcttttaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atttttgcta	aggtgagtga	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatgat	gagagaggta	ggaaggcagc	atataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttccct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccaa	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttagggc	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtgggaagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttataaac	540
cccgtttttg	agtataagaa	aaattga				567

<210> 100
 <211> 188
 15 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*
 <400> 100

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

<210> 101
 <211> 573
 5 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 101

```

atgaagggga caatcgtcgg gacatggata aagaccctga gggaccttta cgggaatgat 60
gtggttgatg aatcttttaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggg 180
aaaaatgtca acgaaatatg gagagaggta ggaaggcaga acttcaaaac tttcagcgaa 240
tggtttccct cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
gtacacctac agettaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aaagaaagat gtacgattac 420
tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtggaaagag 480
    
```

```

gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggcataaaag tcaggataaa atttaaaaac 540
cccgtttttg agcaccacca ccaccaccac tga 573
    
```

<210> 102
 <211> 190
 <212> PRT
 15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 102

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

<210> 103
 <211> 573
 <212> ADN
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 103

atgaagggga	caatcgtcgg	gacatggata	aagaccctga	gggaccttta	cggaatgat	60
gtggttgatg	aatctttaaa	aagtgtgggt	tgggaaccag	atagggtaat	tacacctctg	120
gaggatattg	atgacgatga	ggtaggaga	atcttttgct	aggtagatga	aaaaactggt	180
aaaaatgtca	acgaaatatg	gagagaggta	ggaaggcaga	acataaaaac	tttcagcgaa	240
tggtttcct	cctattttgc	agggagaagg	ctagtgaatt	ttttaatgat	gatggatgag	300
gtacacctac	agcttaccac	gatgataaaa	ggagccactc	ctccaaggct	tattgcaaag	360
cctgttgcaa	aagatgccat	tgaaatggag	tacgtttcta	aaagaaagat	gtacgattac	420
tttttaggg	ttatagaggg	tagttctaaa	tttttcaagg	aagaaatttc	agtggagag	480
gtcgaaagag	gcgaaaaaga	tggcttttca	aggctaaaag	tcaggataaa	atttaaaaac	540
cccgtttttg	agcaccacca	ccaccaccac	tga			573

<210> 104
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 104

Met	Lys	Gly	Thr	Ile	Val	Gly	Thr	Trp	Ile	Lys	Thr	Leu	Arg	Asp	Leu
1				5					10					15	
Tyr	Gly	Asn	Asp	Val	Val	Asp	Glu	Ser	Leu	Lys	Ser	Val	Gly	Trp	Glu
		20						25					30		
Pro	Asp	Arg	Val	Ile	Thr	Pro	Leu	Glu	Asp	Ile	Asp	Asp	Asp	Glu	Val
		35					40					45			
Arg	Arg	Ile	Phe	Ala	Lys	Val	Ser	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Asn	Val	Asn

50		55		60
Glu Ile Trp Arg Glu Val Gly Arg Gln Asn Ile Lys Thr Phe Ser Glu				
65		70		75
Trp Phe Pro Ser Tyr Phe Ala Gly Arg Arg Leu Val Asn Phe Leu Met				80
	85		90	95
Met Met Asp Glu Val His Leu Gln Leu Thr Lys Met Ile Lys Gly Ala				
	100		105	110
Thr Pro Pro Arg Leu Ile Ala Lys Pro Val Ala Lys Asp Ala Ile Glu				
	115		120	125
Met Glu Tyr Val Ser Lys Arg Lys Met Tyr Asp Tyr Phe Leu Gly Phe				
	130		135	140
Ile Glu Gly Ser Ser Lys Phe Phe Lys Glu Glu Ile Ser Val Glu Glu				
	145		150	155
Val Glu Arg Gly Glu Lys Asp Gly Phe Ser Arg Leu Lys Val Arg Ile				160
	165		170	175
Lys Phe Lys Asn Pro Val Phe Glu His His His His His His				
	180		185	190

<210> 105

<211> 591

5 <212> ADN

<213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 105

```

atgaagggga caatcgtcgg gacatggata aagaccctga gggaccttta cgggaatgat 60
gtggttgatg aatctttaaa aagtgtgggt tgggaaccag atagggtaat tacacctctg 120
gaggatattg atgacgatga ggtaggaga atttttgcta aggtgagtga aaaaactggt 180
aaaaatgtca acgaaatatg gagagaggta ggaaggcaga acataaaaac tttcagcgaa 240
tggtttccct cctattttgc agggagaagg ctagtgaatt ttttaatgat gatggatgag 300
gtacacctac agcttaccaa gatgataaaa ggagccactc ctccaaggct tattgcaaag 360
cctgttgcaa aagatgccat tgaaatggag tacgtttcta aaagaaagat gtacgattac 420
tttttagggc ttatagaggg tagttctaaa tttttcaagg aagaaatttc agtggagag 480
gtcgaaagag gcgaaaaaga tggcttttca aggctaaaag tcaggataaa atttaaaaac 540
cccgtttttg agtataagaa aaatctcgag caccaccacc accaccactg a 591

```

10

<210> 106

<211> 196

<212> PRT

15 <213> *Thermoanaerobacter tengcongensis*

<400> 106

[illegible]

<210> 107
<211> 564
<212> ADN
<213> *Legionella pneumophila*
<400> 107

atgatgtcta	tgaaggaat	catattcaac	gaatttctca	attttgtaga	aaaaagtga	60
tctacaccc	tgtagatca	aattattatg	gatagtcatt	tgaagtcca	tggtgcctac	120
acgtctatcg	gtacatactc	tcccaaagaa	ttatttcaat	tggttaaagc	gcttgctatg	180
aaaaatggca	aaccaacatc	agtgatttta	caagaatatg	gtgagtattt	gtttgaggtt	240
tttgcaaaaa	aatatcctca	atttttcagg	gaaaaaaagt	cggtgtttca	atttttggaa	300
gcgcttgaaa	cacatattca	tttogaagtg	aaaaaattgt	atgactatac	tgaactaccc	360
cattttgaat	gccaatatca	cagtcaaaat	caaatggaaa	tgatttacac	ttcttcgcgt	420
cctttggccg	attttgcgga	aggtttaata	aaaggttgta	ttaaatatca	taaagaaaac	480
atgactattg	ttcgtgaaaa	tctgcctgca	aaaacaggct	ttaaggtaag	atttgtatta	540
acaaaaggcg	atcctgatga	gtga				564

<210> 108
<211> 187
<212> PRT
<213> *Legionella pneumophila*
<400> 108

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

<210> 109
 <211> 564
 <212> ADN
 <213> *Legionella pneumophila*
 <400> 109

```

atgatgtcta tgaaaggaat catattcaac gaattttotca atttttaga aaaaagtga 60
tcctacaccc tggtagatca aattattatg gatagtcatt tgaagtccca tgggtgcctac 120
acgtotatcg gtacatactc tcccaaagaa ttattttcaat tggttaaagc gottgctatg 180
aaaaatggca aaccaacatc agtgatttta caagaatatg gtgagtattt gtttgagggt 240
tttgcaaaaa aatattcctca atttttcagg gaaaaaaagt cgggtgtttca atttttggaa 300

gcgcttgaaa cacatattca tttcgaagtg aaaaaattgt atgactatac tgaactaccc 360
cattttgaat gccaatatca cagtcaaaat caaatggaaa tgatttacac ttcttgcgt 420
cctttggcgg attatgcgga aggtttaata aaagggttgta ttaaatatca taaagaaaac 480
atgactattg ttcgtgaaaa tctgcctgca aaaacaggct ttaaggtaag atttgtatta 540
acaaaaggcg atcctgatga gtga 564
  
```

<210> 110
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> *Legionella pneumophila*
 <400> 110

```

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

```

<210> 111
 <211> 564
 <212> ADN
 <213> *Legionella pneumophila*
 <400> 111

```

atgatgtcta tgaaaggaat catatggaac gaattttotca attttgtaga aaaaagtgaa 60
tcctacaccc tggtagatca aattattatg gatagtcatt tgaagtccca tgggtgcctac 120
acgtctatcg gtacatactc tcccaaagaa ttatttcaat tgggttaaagc gcttgctatg 180
aaaaatggca aaccaacatc agtgatttta caagaatatg gtgagtattt gtttgagggt 240
tttgcaaaaa aatatcctca atttttcagg gaaaaaaagt cgggtgtttca atttttggaa 300
gcgcttgaaa cacatattca tttcgaagtg aaaaaattgt atgactatac tgaactaccc 360
cattttgaat gccaatatca cagtcaaat caaatggaaa tgatttacac ttcttcgcgt 420
cctttggcgg attatgcgga aggtttaata aaagggttgta ttaaatatca taaagaaaac 480
atgactattg ttcgtgaaaa tctgcctgca aaaacaggct ttaaggtaag atttgtatta 540
acaaaaggcg atcctgatga gtga 564

```

<210> 112
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> *Legionella pneumophila*
 <400> 112

```

Met Met Ser Met Lys Gly Ile Ile Trp Asn Glu Phe Leu Asn Phe Val
 1      5      10      15
Glu Lys Ser Glu Ser Tyr Thr Leu Val Asp Gln Ile Ile Met Asp Ser
      20      25      30

```

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

<210> 113
 <211> 543
 <212> ADN
 <213> *Legionella pneumophila*

<400> 113

atgaaaggta	tcgttttttac	ctccttaa	gacatgatta	tagaacaatt	tggcatagaa	60
acctgggacc	aactogtata	ctcactagac	cttccaagt	gtggaagta	tacagcaggc	120
ggcacttact	cggtatacaga	atttcagcaa	ttgattaagg	ccattgcgaa	gaggaccaat	180
cagcacgctt	ctgttttttt	agaggccttt	ggtgaatata	tgtttcctat	cttatcgagt	240
aagtgcgcaa	ttttttttaa	aaaggacatg	acattaaaag	aattttttaa	aagcattgat	300
ggaacaattc	atgtggaagt	agaaaagtta	taccagatg	aaacattacc	taccattagc	360
tatgaagagc	ctgctgcaaa	ccaattggtt	atggtgtatc	gatcgcatag	aagactctgt	420
cattttgcaa	tggggctcat	ccaggagca	gcgcaacatt	ttaaaaagaa	aattaccatt	480
aagcagactc	actgcatgtt	aaaaaaagat	gatcattgtc	gtttggagat	tacctttgag	540
tga						543

<210> 114
 <211> 180
 <212> PRT
 <213> *Legionella pneumophila*

<400> 114

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

Lys	Gln	Thr	His	Cys	Met	Leu	Lys	Lys	Asp	Asp	His	Cys	Arg	Leu	Glu
				165					170					175	
Ile	Thr	Phe	Glu												
			180												

<210> 115
 <211> 543
 5 <212> ADN
 <213> *Legionella pneumophila*
 <400> 115

atgaaaggta	tcgttttttac	ctccttaaat	gacatgatta	tagaacaatt	tggcatagaa	60
acctgggacc	aactcgtatc	ctcactagac	cttccaagtg	gtggaagtta	tacagcaggc	120
ggcacttact	cggatacaga	atttcagcaa	ttgattaagg	ccattgcgaa	gaggaccaat	180
cagcacgctt	ctgtttttttt	agaggccttt	ggtgaatata	tgtttcctat	cttatcgagt	240
aagtgcgcaa	ttttttttaa	aaaggacatg	acattaaaag	aattttttaa	aagcattgat	300
ggaacaattc	atgtggaagt	agaaaaagta	taccagatg	aaacattacc	taccattagc	360
tatgaagagc	ctgotgcaaa	ccaattgggt	atgggtgtatc	gatcgcatag	aagactctgt	420
cattacgcaa	tggggctcat	ccaggagca	gcgcaacatt	ttaaaaagaa	aattaccatt	480
aagcagactc	actgcatggt	aaaaaaagat	gatcattgtc	gtttggagat	tacctttgag	540
tga						543

<210> 116
 <211> 180
 15 <212> PRT
 <213> *Legionella pneumophila*
 <400> 116

```

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

```

<210> 117
 <211> 525
 <212> ADN
 <213> *Desulfovibrio desulfuricans*

<400> 117

```

atgaagatgc gcggtatttt gccgaaaata tttatgaatt ttataaaaga gatctatggg 60
gatgacgtgt ttgtcatgt ttctaaaacc atgggcgagc ctgtcttcat gccgggaaat 120
tcctaccctg atcaggtgtt gcgccagatg gctgaaatag tatgccagcg caccggcgaa 180
cagcccaagt tgttttttga aaaagcaggg cgtgcaagcc tgcaggcttt taacagaatg 240

```

```

tacaggcagt actttaaggg ggaaaccctt aaagagtttc tgctggccat gaatgatatc 300
cacaggcacc tgacaaagga caatcccggc gtacgcccgc ctaaatttga gtatgaogat 360
cagggcgata cgcttggtat gacatataag tcgcagaggg attacggaga atactttgtg 420
ggcatcatca aggcagctgc ggagttttaa aaggaaaaag tgcgtatcag ctcggagcat 480
gccggttaagg ggcgaacaac ggcaagggtt acatttatta aatga 525

```

<210> 118
 <211> 174
 <212> PRT
 <213> *Desulfovibrio desulfuricans*

<400> 118

```

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

```

<210> 119
 <211> 525
 <212> ADN
 <213> *Desulfovibrio desulfuricans*

<400> 119

```

atgaagatgc gcggtatttt gccgaaaata tttatgaatt ttataaaaga gatctatggg 60
gatgacgtgt ttgctcatgt ttctaaaacc atgggcgagc ctgtcttcat gccgggaaat 120
tcctaccctg atcaggtggt gcgccagatg gctgaaatag tatgccagcg cacgggcgaa 180
cagcccaagt tgttttttga aaaagcaggg cgtgcaagcc tgcaggcttt taacagaatg 240
tacaggcagt actttaaaagg ggaaccctt aaagagtttc tgctggccat gaatgatatc 300
cacaggcacc tgacaaaagga caatcccggc gtacgcccgc cttaaatttga gtatgacgat 360
cagggcgata cgcttggttat gacatataag tcgcagagggg attacggaga actttttgtg 420
ggcatcatca aggcagctgc ggagtttaaa aaggaaaaag tgcgtatcag ctcggagcat 480
gccggttaagg ggcgaacaac ggcaagggtt acatttatta aatga 525

```

<210> 120
 <211> 174
 <212> PRT
 <213> *Desulfovibrio desulfuricans*

<400> 120

```

Met Lys Met Arg Gly Ile Leu Pro Lys Ile Phe Met Asn Phe Ile Lys
 1      5      10      15
Glu Ile Tyr Gly Asp Asp Val Phe Ala His Val Ser Lys Thr Met Gly
      20      25      30
Glu Pro Val Phe Met Pro Gly Asn Ser Tyr Pro Asp Gln Val Leu Arg
      35      40      45
Gln Met Ala Glu Ile Val Cys Gln Arg Thr Gly Glu Gln Pro Lys Leu

```


50		55		60	
Phe Phe Glu Lys Ala Gly Arg Ala Ser Leu Gln Ala Phe Asn Arg Met					
65		70		75	80
Tyr Arg Gln Tyr Phe Lys Gly Glu Thr Leu Lys Glu Phe Leu Leu Ala					
	85		90		95
Met Asn Asp Ile His Arg His Leu Thr Lys Asp Asn Pro Gly Val Arg					
	100		105		110
Pro Pro Lys Phe Glu Tyr Asp Asp Gln Gly Asp Thr Leu Val Met Thr					
	115		120		125
Tyr Lys Ser Gln Arg Asp Tyr Gly Glu Leu Phe Val Gly Ile Ile Lys					
	130		135		140
Ala Ala Ala Glu Phe Lys Lys Glu Lys Val Arg Ile Ser Ser Glu His					
145		150		155	160
Ala Gly Lys Gly Arg Thr Thr Ala Arg Val Thr Phe Ile Lys					
	165		170		

<210> 121
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 121

atgtacggat	ttgtgaatca	cgccctggag	ttgctggtga	tccgcaatta	cgcccccgag	60
gtgtgggaag	acatcaaaaa	agaggcacag	ttagatgaag	aaggacagtt	tcttgtcaga	120
ataatatatg	atgactccaa	aacttatgat	ttggttgctg	ctgcaagcaa	agtcctcaat	180
ctcaatgctg	gagaaatcct	ccaaatgttt	gggaagatgt	ttttcgtctt	ttgccaagaa	240
tctgggttatg	atacaatctt	gcgtgtcctg	ggctctaattg	tcagagaatt	tctacagaac	300
cttgatgctc	tgcacgacca	ccttgctacc	atctaccag	gaatgcgtgc	accttctctt	360
aggtgcactg	atgcagaaaa	gggcaaagga	ctcattttgc	actactactc	agagagagaa	420
ggacttcagg	atattgtcat	tggaatcatc	aaaacagtgg	cacaacaaat	ccatggcact	480
gaaatagaca	tgaaggttat	tcagcaaaga	aatgaagaat	gtgatcatac	tcaattttta	540
attgaagaaa	aagagtcaaa	agaagaggat	ttttatgaag	atcttgacag	atttgaagaa	600
aatggtaccc	aggaatcacg	catcagccca	tatacattct	gcaaagcttt	tctttttcat	660
ataatatattg	accgggacct	agtggtcact	cagtgtggca	atgctatata	cagagttctc	720
ccccagctcc	agcctgggaa	ttgcagcctt	ctgtctgtct	tctcgtctgt	tcgtcctcat	780
attgatatta	gtttccatgg	gatcctttct	cacatcaata	ctgtttttgt	attgagaagc	840
aaggaaggat	tggttgatgt	ggagaaatta	gaatgtgagg	atgaactgac	tgggactgag	900
atcagctgct	tacgtctcaa	gggtcaaattg	atctacttac	ctgaagcaga	tagcatactt	960
tttctatgtt	caccaagtgt	catgaacctg	gacgatttga	caaggagagg	gctgtatcta	1020
agtgacatcc	ctctgcatga	tgccacgcgc	gatcttggtc	ttttgggaga	acaatttaga	1080
gaggaataca	aactcaccca	agaactggaa	atcctcactg	acaggctaca	gctcacgtta	1140
agagccctgg	aagattga					1158

<210> 122
 <211> 385
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 122

Met Tyr Gly Phe Val Asn His Ala Leu Glu Leu Leu Val Ile Arg Asn
 1 5 10 15
 Tyr Gly Pro Glu Val Trp Glu Asp Ile Lys Lys Glu Ala Gln Leu Asp
 20 25 30
 Glu Glu Gly Gln Phe Leu Val Arg Ile Ile Tyr Asp Asp Ser Lys Thr
 35 40 45
 Tyr Asp Leu Val Ala Ala Ala Ser Lys Val Leu Asn Leu Asn Ala Gly
 50 55 60
 Glu Ile Leu Gln Met Phe Gly Lys Met Phe Phe Val Phe Cys Gln Glu
 65 70 75 80
 Ser Gly Tyr Asp Thr Ile Leu Arg Val Leu Gly Ser Asn Val Arg Glu
 85 90 95
 Phe Leu Gln Asn Leu Asp Ala Leu His Asp His Leu Ala Thr Ile Tyr
 100 105 110
 Pro Gly Met Arg Ala Pro Ser Phe Arg Cys Thr Asp Ala Glu Lys Gly

115 120 125
 Lys Gly Leu Ile Leu His Tyr Tyr Ser Glu Arg Glu Gly Leu Gln Asp
 130 135 140
 Ile Val Ile Gly Ile Ile Lys Thr Val Ala Gln Gln Ile His Gly Thr
 145 150 155 160
 Glu Ile Asp Met Lys Val Ile Gln Gln Arg Asn Glu Glu Cys Asp His
 165 170 175
 Thr Gln Phe Leu Ile Glu Glu Lys Glu Ser Lys Glu Glu Asp Phe Tyr
 180 185 190
 Glu Asp Leu Asp Arg Phe Glu Glu Asn Gly Thr Gln Glu Ser Arg Ile
 195 200 205
 Ser Pro Tyr Thr Phe Cys Lys Ala Phe Pro Phe His Ile Ile Phe Asp
 210 215 220
 Arg Asp Leu Val Val Thr Gln Cys Gly Asn Ala Ile Tyr Arg Val Leu
 225 230 235 240
 Pro Gln Leu Gln Pro Gly Asn Cys Ser Leu Leu Ser Val Phe Ser Leu
 245 250 255
 Val Arg Pro His Ile Asp Ile Ser Phe His Gly Ile Leu Ser His Ile
 260 265 270
 Asn Thr Val Phe Val Leu Arg Ser Lys Glu Gly Leu Leu Asp Val Glu
 275 280 285
 Lys Leu Glu Cys Glu Asp Glu Leu Thr Gly Thr Glu Ile Ser Cys Leu
 290 295 300
 Arg Leu Lys Gly Gln Met Ile Tyr Leu Pro Glu Ala Asp Ser Ile Leu
 305 310 315 320
 Phe Leu Cys Ser Pro Ser Val Met Asn Leu Asp Asp Leu Thr Arg Arg
 325 330 335
 Gly Leu Tyr Leu Ser Asp Ile Pro Leu His Asp Ala Thr Arg Asp Leu
 340 345 350
 Val Leu Leu Gly Glu Gln Phe Arg Glu Glu Tyr Lys Leu Thr Gln Glu
 355 360 365
 Leu Glu Ile Leu Thr Asp Arg Leu Gln Leu Thr Leu Arg Ala Leu Glu
 370 375 380
 Asp
 385

<210> 123
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 123

```

atgtacggat ttgtgaatca cgcctggag ttgctggga tccgcaatta cggcccgag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120
ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtcctcaat 180
ctcaatgctg gagaaatcct ccaaatgttt gggaagatgt ttttcgtctt ttgccaagaa 240
tctgggttatg atacaatctt gcgtgtcctg ggctctaata tcagagaatt tctacagaac 300
cttgatgctc tgcacgacca ccttgotacc atctaccag gaatgcgtgc accttccttt 360
aggtgcactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcatcttgc actactactc agagagagaa 420
ggacttcagg attatgtcat tggaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
gaaatagaca tgaaggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatac tcaattttta 540
attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag atcttgacag atttgaagaa 600
aatggtaccc aggaatcacg catcagccca tatacattct gcaaagcttt tccttttcat 660
ataatatattg accgggacct agtggtcact cagtgtggca atgctatata cagagttctc 720
ccccagctcc agcctgggaa ttgcagcctt ctgtctgtct tctcgctggt tcgtcctcat 780
attgatatta gtttccatgg gatcctttct cacatcaata ctgtttttgt attgagaagc 840
aaggaaggat tggttgatgt ggagaaatta gaatgtgagg atgaactgac tgggactgag 900
atcagctgct tacgtctcaa ggggtcaaatg atctacttac ctgaagcaga tagcatactt 960
tttctatgtt caccaagtgt catgaacctg gacgatttga caaggagagg gctgtatcta 1020
agtgacatcc ctctgcatga tgccacgcgc gatcttgctc ttttgggaga acaattttaga 1080
gaggaataca aactcaccca agaactggaa atcctcactg acaggctaca gctcacgtta 1140
agagccctgg aagattga                                     1158

```

<210> 124

<211> 385

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 124

```

Met Tyr Gly Phe Val Asn His Ala Leu Glu Leu Leu Val Ile Arg Asn
 1          5          10          15
Tyr Gly Pro Glu Val Trp Glu Asp Ile Lys Lys Glu Ala Gln Leu Asp
          20          25          30
Glu Glu Gly Gln Phe Leu Val Arg Ile Ile Tyr Asp Asp Ser Lys Thr
          35          40          45
Tyr Asp Leu Val Ala Ala Ala Ser Lys Val Leu Asn Leu Asn Ala Gly
 50          55          60
Glu Ile Leu Gln Met Phe Gly Lys Met Phe Phe Val Phe Cys Gln Glu
65          70          75          80
Ser Gly Tyr Asp Thr Ile Leu Arg Val Leu Gly Ser Asn Val Arg Glu
          85          90          95
Phe Leu Gln Asn Leu Asp Ala Leu His Asp His Leu Ala Thr Ile Tyr
          100          105          110
Pro Gly Met Arg Ala Pro Ser Phe Arg Cys Thr Asp Ala Glu Lys Gly
          115          120          125
Lys Gly Leu Ile Leu His Tyr Tyr Ser Glu Arg Glu Gly Leu Gln Asp
          130          135          140
Tyr Val Ile Gly Ile Ile Lys Thr Val Ala Gln Gln Ile His Gly Thr
145          150          155          160
Glu Ile Asp Met Lys Val Ile Gln Gln Arg Asn Glu Glu Cys Asp His
          165          170          175
Thr Gln Phe Leu Ile Glu Glu Lys Glu Ser Lys Glu Glu Asp Phe Tyr
          180          185          190
Glu Asp Leu Asp Arg Phe Glu Glu Asn Gly Thr Gln Glu Ser Arg Ile
          195          200          205
Ser Pro Tyr Thr Phe Cys Lys Ala Phe Pro Phe His Ile Ile Phe Asp
          210          215          220
Arg Asp Leu Val Val Thr Gln Cys Gly Asn Ala Ile Tyr Arg Val Leu
225          230          235          240
Pro Gln Leu Gln Pro Gly Asn Cys Ser Leu Leu Ser Val Phe Ser Leu
          245          250          255
Val Arg Pro His Ile Asp Ile Ser Phe His Gly Ile Leu Ser His Ile
          260          265          270
Asn Thr Val Phe Val Leu Arg Ser Lys Glu Gly Leu Leu Asp Val Glu
          275          280          285
Lys Leu Glu Cys Glu Asp Glu Leu Thr Gly Thr Glu Ile Ser Cys Leu
          290          295          300
Arg Leu Lys Gly Gln Met Ile Tyr Leu Pro Glu Ala Asp Ser Ile Leu
305          310          315          320
Phe Leu Cys Ser Pro Ser Val Met Asn Leu Asp Asp Leu Thr Arg Arg
          325          330          335
Gly Leu Tyr Leu Ser Asp Ile Pro Leu His Asp Ala Thr Arg Asp Leu
          340          345          350
Val Leu Leu Gly Glu Gln Phe Arg Glu Glu Tyr Lys Leu Thr Gln Glu
          355          360          365
Leu Glu Ile Leu Thr Asp Arg Leu Gln Leu Thr Leu Arg Ala Leu Glu
          370          375          380
Asp
385

```

<210> 125
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 125

```

atgtacggat ttgtgaatca cgccctggag ttgctggtga tccgcaatta cggccccgag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120

```

```

ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtcctcaat 180
ctcaatgctg gagaaatcct ccaaatgttt gggaagatgt ttttctgttt ttgccaagaa 240
tctgggttatg atacaatctt gcgtgtcctg ggctctaatt tcagagaatt tctacagaac 300
cttgatgctc tgcacgacca ccttgctacc atctaccagc gaatgcgtgc accttccttt 360
aggtgcactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcattttgc actactactc agagagagaa 420
ggacttcagg atcatgtcat tggaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
gaaatagaca tgaaggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatac tcaattttta 540
attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag atcttgacag atttgaagaa 600
aatggtaccc aggaatcacg catcagccca tatacattct gcaaagcttt tccttttcat 660
ataatatattg accgggacct agtggtcact cagtgtggca atgctatata cagagttctc 720
ccccagctcc agcctgggaa ttgcagcctt ctgtctgtct tctcgtgggt tcgtcctcat 780
attgatatta gtttccatgg gatcctttct cacatcaata ctgtttttgt attgagaagc 840
aaggaaggat tgttgatgt ggagaaatta gaatgtgagg atgaactgac tgggactgag 900
atcagctgct tacgtctcaa gggcctaatg atctacttac ctgaagcaga tagcatactt 960
tttctatgtt caccaagtgt catgaacctg gacgatttga caaggagagg gctgtatcta 1020
agtgcacatc ctctgcatga tgccacgcgc gatcttgctc ttttgggaga acaattttaga 1080
gaggaataca aactcaccca agaactggaa atcctcactg acaggctaca gctcacgtta 1140
agagccctgg aagattga                                     1158

```

<210> 126

<211> 385

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 126

5

Met	Tyr	Gly	Phe	Val	Asn	His	Ala	Leu	Glu	Leu	Leu	Val	Ile	Arg	Asn
1				5					10					15	
Tyr	Gly	Pro	Glu	Val	Trp	Glu	Asp	Ile	Lys	Lys	Glu	Ala	Gln	Leu	Asp
			20					25					30		
Glu	Glu	Gly	Gln	Phe	Leu	Val	Arg	Ile	Ile	Tyr	Asp	Asp	Ser	Lys	Thr
		35					40					45			
Tyr	Asp	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Ser	Lys	Val	Leu	Asn	Leu	Asn	Ala	Gly
	50					55					60				
Glu	Ile	Leu	Gln	Met	Phe	Gly	Lys	Met	Phe	Phe	Val	Phe	Cys	Gln	Glu
65					70					75				80	
Ser	Gly	Tyr	Asp	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Leu	Gly	Ser	Asn	Val	Arg	Glu
				85					90					95	
Phe	Leu	Gln	Asn	Leu	Asp	Ala	Leu	His	Asp	His	Leu	Ala	Thr	Ile	Tyr
			100					105					110		
Pro	Gly	Met	Arg	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Cys	Thr	Asp	Ala	Glu	Lys	Gly
		115					120					125			
Lys	Gly	Leu	Ile	Leu	His	Tyr	Ser	Glu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gln	Asp	
	130					135				140					
His	Val	Ile	Gly	Ile	Ile	Lys	Thr	Val	Ala	Gln	Gln	Ile	His	Gly	Thr
145					150					155				160	
Glu	Ile	Asp	Met	Lys	Val	Ile	Gln	Gln	Arg	Asn	Glu	Glu	Cys	Asp	His
				165					170					175	
Thr	Gln	Phe	Leu	Ile	Glu	Glu	Lys	Glu	Ser	Lys	Glu	Glu	Asp	Phe	Tyr
			180					185					190		
Glu	Asp	Leu	Asp	Arg	Phe	Glu	Glu	Asn	Gly	Thr	Gln	Glu	Ser	Arg	Ile
		195					200					205			
Ser	Pro	Tyr	Thr	Phe	Cys	Lys	Ala	Phe	Pro	Phe	His	Ile	Ile	Phe	Asp
	210					215					220				
Arg	Asp	Leu	Val	Val	Thr	Gln	Cys	Gly	Asn	Ala	Ile	Tyr	Arg	Val	Leu
225					230					235				240	
Pro	Gln	Leu	Gln	Pro	Gly	Asn	Cys	Ser	Leu	Leu	Ser	Val	Phe	Ser	Leu
				245					250					255	
Val	Arg	Pro	His	Ile	Asp	Ile	Ser	Phe	His	Gly	Ile	Leu	Ser	His	Ile
			260					265					270		
Asn	Thr	Val	Phe	Val	Leu	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	Leu	Leu	Asp	Val	Glu
		275					280					285			
Lys	Leu	Glu	Cys	Glu	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Thr	Glu	Ile	Ser	Cys	Leu
	290					295					300				
Arg	Leu	Lys	Gly	Gln	Met	Ile	Tyr	Leu	Pro	Glu	Ala	Asp	Ser	Ile	Leu
305					310					315					320

Phe	Leu	Cys	Ser	Pro	Ser	Val	Met	Asn	Leu	Asp	Asp	Leu	Thr	Arg	Arg
				325					330					335	
Gly	Leu	Tyr	Leu	Ser	Asp	Ile	Pro	Leu	His	Asp	Ala	Thr	Arg	Asp	Leu
			340					345					350		
Val	Leu	Leu	Gly	Glu	Gln	Phe	Arg	Glu	Glu	Tyr	Lys	Leu	Thr	Gln	Glu
		355					360					365			
Leu	Glu	Ile	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Leu	Arg	Ala	Leu	Glu
	370					375					380				
Asp															
385															

<210> 127
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 127

```

atgtacggat ttgtgaatca cggcctggag ttgctgggtga tccgcaatta cggcccccag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120
ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtcctcaat 180
ctcaatgctg gagaaatcct ccaaagtgtt gggaagatgt ttttcgtctt ttaccaagaa 240
tctgggttatg atacaatctt gcgtgtcctg ggctctaatt tcagagaatt tctacagaac 300
cttgatgctc tgcacgacca ccttgctacc atctaccag gaatgcgtgc accttccttt 360
aggtgcactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcatTTTgc actactactc agagagagaa 420
ggacttcagg atattgtcat tggaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
gaaatagaca tgaaggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatac tcaattttta 540
attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag atcttgacag atttgaagaa 600
aatggtagcc aggaatcacg catcagccca tatacttct gcaaagcttt tccttttcat 660
ataatatTTg acggggacct agtggtcact cagtgtggca atgctatata cagagttctc 720
ccccagctcc agcctgggaa ttgcagcctt ctgtctgtct tctcgtggt tcttcctcat 780
attgatatta gtttccatgg gatcctttct cacatcaata ctgtttttgt attgagaagc 840
aaggaaggat tgttggatgt ggagaaatta gaatgtgagg atgaactgac tgggactgag 900
atcagctgct tacgtctcaa ggttcaaag atctacttac ctgaagcaga tagcatactt 960
tttctatggt caccaagtgt catgaacctg gacgatttga caaggagagg gctgtatcta 1020
agtgaatccc ctctgcatga tgccacgggc gatcttggtc ttttgggaga acaattttaga 1080
gaggaataca aactcaccca agaactggaa atcctcactg acaggctaca gctcacgtta 1140
agagccctgg aagattga                                     1158

```

<210> 128

<211> 385

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 128

```

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

```

10

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

<210> 129
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 129

atgtacggat ttgtgaatca cgccctggag ttgctggtga tccgcaatta cggccccgag 60
 gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120
 ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtccctcaat 180
 ctcaatgctg gagaaatcct ccaaagtgtt gggaagatgt ttttcgtctt ttgccaagaa 240
 tctggttatg atacaatctt gcgtgtcctg ggctctaatt tcagagaatt totacagaac 300
 cttgatgetc tgttcgacca ccttgctacc atctaccagc gaatgcgtgc accttccctt 360
 aggtgcactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcatcttgc actactactc agagagagaa 420
 ggacttcagg atattgtcat tggaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
 gaaatagaca tgaagggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatac tcaattttta 540
 attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag atcttgacag atttgaagaa 600
 aatggtaccc aggaatcacg catcagccca tatacattct gcaaagcttt tcccttttcat 660
 ataatatattg accgggacct agtggtcact cagtgtggca atgctatata cagagttctc 720
 cccagctcc agcctgggaa ttgcagcctt ctgtctgtct tctcgttggt tcttctctat 780
 attgatatta gtttccatgg gatcctttct cacatcaata ctgtttttgt attgagaagc 840
 aaggaaggat tgttgatgt ggagaaatta gaatgtgagg atgaactgac tgggactgag 900
 atcagctgct tacgtctcaa gggtaaaatg atctacttac ctgaagcaga tagcatactt 960
 tttctatgtt caccaagtgt catgaacctg gacgatttga caaggagagg gctgtatcta 1020
 agtgacatcc ctctgcatga tgccacgcgc gatcttgttc ttttgggaga acaatttaga 1080
 gaggaataca aactcaccca agaactggaa atcctcactg acaggctaca gctcacgtta 1140
 agagccctgg aagattga 1158

<210> 130
 <211> 385

<212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 130

5

```

Met Tyr Gly Phe Val Asn His Ala Leu Glu Leu Leu Val Ile Arg Asn
 1      5      10      15
Tyr Gly Pro Glu Val Trp Glu Asp Ile Lys Lys Glu Ala Gln Leu Asp
      20      25      30
Glu Glu Gly Gln Phe Leu Val Arg Ile Ile Tyr Asp Asp Ser Lys Thr
      35      40      45
Tyr Asp Leu Val Ala Ala Ala Ser Lys Val Leu Asn Leu Asn Ala Gly
      50      55      60
Glu Ile Leu Gln Met Phe Gly Lys Met Phe Phe Val Phe Cys Gln Glu
      65      70      75      80
Ser Gly Tyr Asp Thr Ile Leu Arg Val Leu Gly Ser Asn Val Arg Glu
      85      90      95
Phe Leu Gln Asn Leu Asp Ala Leu Phe Asp His Leu Ala Thr Ile Tyr
      100      105      110
Pro Gly Met Arg Ala Pro Ser Phe Arg Cys Thr Asp Ala Glu Lys Gly
      115      120      125
Lys Gly Leu Ile Leu His Tyr Ser Glu Arg Glu Gly Leu Gln Asp
      130      135      140
Ile Val Ile Gly Ile Ile Lys Thr Val Ala Gln Gln Ile His Gly Thr
      145      150      155      160
Glu Ile Asp Met Lys Val Ile Gln Gln Arg Asn Glu Glu Cys Asp His
      165      170      175
Thr Gln Phe Leu Ile Glu Glu Lys Glu Ser Lys Glu Glu Asp Phe Tyr
      180      185      190
Glu Asp Leu Asp Arg Phe Glu Glu Asn Gly Thr Gln Glu Ser Arg Ile
      195      200      205
Ser Pro Tyr Thr Phe Cys Lys Ala Phe Pro Phe His Ile Ile Phe Asp
      210      215      220
Arg Asp Leu Val Val Thr Gln Cys Gly Asn Ala Ile Tyr Arg Val Leu
      225      230      235      240
Pro Gln Leu Gln Pro Gly Asn Cys Ser Leu Leu Ser Val Phe Ser Leu
      245      250      255
Val Arg Pro His Ile Asp Ile Ser Phe His Gly Ile Leu Ser His Ile
      260      265      270
Asn Thr Val Phe Val Leu Arg Ser Lys Glu Gly Leu Leu Asp Val Glu
      275      280      285
Lys Leu Glu Cys Glu Asp Glu Leu Thr Gly Thr Glu Ile Ser Cys Leu
      290      295      300
Arg Leu Lys Gly Gln Met Ile Tyr Leu Pro Glu Ala Asp Ser Ile Leu
      305      310      315      320
Phe Leu Cys Ser Pro Ser Val Met Asn Leu Asp Asp Leu Thr Arg Arg
      325      330      335
Gly Leu Tyr Leu Ser Asp Ile Pro Leu His Asp Ala Thr Arg Asp Leu
      340      345      350
Val Leu Leu Gly Glu Gln Phe Arg Glu Glu Tyr Lys Leu Thr Gln Glu
      355      360      365
Leu Glu Ile Leu Thr Asp Arg Leu Gln Leu Thr Leu Arg Ala Leu Glu
      370      375      380
Asp
      385

```

<210> 131
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 131

10

```

atgtacggat ttgtgaatca cgccttgag ttgctggtga tccgcaatta cggccccgag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120
ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtcctcaat 180
ctcaatgctg gagaaatcct ccaaagtgtt gggaagatgt ttttcgtctt ttgccaagaa 240
tctggttatg atacaatctt gcgtgtcctg ggctctaag tcagagaatt tctacagaac 300
cttgatgctc tgggtgacca ccttgctacc atctaccag gaatgcgtgc accttccttt 360
aggtgcaactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcatcttgc actactactc agagagagaa 420

```

```

ggacttcagg atattgtcat tggaaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
gaaatagaca tgaaggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatatc tcaattttta 540
attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag atcttgacag atttgaagaa 600
aatggtaccc aggaatcacg catcagccca tatacattct gcaaagcttt tccttttcat 660
ataatatattg accgggacct agtggtcact cagtgtggca atgctatata cagagtctct 720
ccccagctcc agcctgggaa ttgcagcctt ctgtctgtct tctcgtggt tcgtcctcat 780
attgatatta gtttccatgg gatcctttct cacatcaata ctgtttttgt attgagaagc 840
aaggaaggat tgttggtatg ggagaaatta gaatgtgagg atgaactgac tgggactgag 900
atcagctgct tacgtctcaa gggtaaagt atctacttac ctgaagcaga tagcatactt 960
tttctatgtt caccaagtgt catgaacctg gacgatttga caaggagagg gctgtatcta 1020
agtgacatcc ctctgcatga tgccacgcgc gatctgttct ttttgggaga acaatttaga 1080
gaggaatata aactcaccca agaactggaa atcctcactg acaggctaca gctcacgtta 1140
agagccctgg aagattga                                     1158

```

<210> 132

<211> 385

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 132

[illegible]

<210> 133
<211> 585
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 133

```

atgtacggat ttgtgaatca cgccttgag ttgctggtga tccgcaatta cggccccgag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120
ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtcctcaat 180
ctcaatgctg gagaaatcct ccaaagtgtt gggaagatgt ttttcgtctt ttgccaagaa 240
tctgggttatg atacaatcct gcgtgtcctg ggctctaatt tcagagaatt tctacagaac 300
cttgatgctc tgcacgacca ccttgctacc atctaccag gaatgcgtgc accttccttt 360
aggtgcactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcatcttgc actactactc agagagagaa 420
ggacttcagg atattgtcat tggaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
gaaatagaca tgaagggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatat tcaattttta 540
attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag attga 585

```

<210> 134
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 134

```

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

```

<210> 135
 <211> 585
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 135

```

atgtacggat ttgtgaatca cgccttgag ttgctggtga tccgcaatta cggccccgag 60

```

```

gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120
ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtcctcaat 180
ctcaatgctg gagaaatcct ccaaagtgtt gggaagatgt ttttcgtctt ttgccaagaa 240
tctggttatg atacaatctt gcgtgtcctg ggctctaatt tcagagaatt tctacagaac 300
cttgatgctc tgcacgacca ccttgctacc atctaccag gaatgcgtgc accttccttt 360
aggtgcactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcattttgc actactactc agagagagaa 420
ggacttcagg attatgtcat tggaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
gaaatagaca tgaagggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatat tcaattttta 540
attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag attga 585

```

<210> 136
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 136

```

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

```

<210> 137
 <211> 585
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 137

```

atgtacggat ttgtgaatca cgcctgggag ttgctggtga tccgcaatta cggccccgag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcacag ttagatgaag aaggacagtt tcttgtcaga 120
ataatatatg atgactccaa aacttatgat ttggttgctg ctgcaagcaa agtcctcaat 180
ctcaatgctg gagaaatcct ccaaagtgtt gggaagatgt ttttcgtctt ttgccaagaa 240
tctggttatg atacaatctt gcgtgtcctg ggctctaatt tcagagaatt tctacagaac 300
cttgatgctc tgcacgacca ccttgctacc atctaccag gaatgcgtgc accttccttt 360
aggtgcactg atgcagaaaa gggcaaagga ctcattttgc actactactc agagagagaa 420
ggacttcagg attatgtcat tggaatcatc aaaacagtgg cacaacaaat ccatggcact 480
gaaatagaca tgaagggttat tcagcaaaga aatgaagaat gtgatcatat tcaattttta 540
attgaagaaa aagagtcaaa agaagaggat ttttatgaag attga 585

```

<210> 138
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 138

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

10

<210> 139
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Rattus norvegicus*

15

<400> 139

atgtacgggtt	ttgtgaacca	tgccctggag	ctgctgggtga	tccgcaatta	cgggtcccag	60
gtgtgggaag	acatcaaaaa	agaggcgcag	ctggatgaag	aaggccagtt	tcttgtgaga	120
ataatctacg	atgattccaa	aacctatgac	ttgggtggctg	ctgcgagcaa	agtcctcaac	180
ctcaatgctg	gtgaaatcct	gcagatgttt	gggaagatgt	ttttcgtctt	ctgtcaagag	240
tctggctatg	ataccatctt	gcgtgtcctg	ggatctaattg	tcagggagtt	tttgcaaac	300
ctcgacgccc	tgacagacca	cctcgccacc	atctaaccag	ggatgcgcgc	accttccttc	360
cgggtgcaccg	atgcagaaaa	aggcaaagg	ctcattctgc	actactactc	ggaaagagag	420
gggcttcagg	acattgtgat	cgggattatc	aagactgtag	ctcaacagat	ccatggcact	480
gagatagaca	tgaaggttat	tcagcaaaga	agtgaagaat	gtgatcatac	ccaattttta	540
attgaagaaa	agaatcaaaa	agaagaggat	ttttatgaag	atctggacag	gtttgaagag	600
aacggtaccc	aggactcccg	tatcagcccg	tacaccttct	gcaaagcgtt	tccttttcac	660
atcatatttg	accgggacct	agtagtcacg	cagtgtggaa	atgctatcta	cagagtgtct	720
ccccagctcc	agcctgggaa	gtgcagcctt	ctgtctgtct	tctctctggt	ccgccctcat	780
attgacatca	gtttccacgg	gattctttca	cacatcaata	ccgtctttgt	actgagaagc	840
aaggaagggt	tgctggatgt	tgagaaactt	gaatgtgagg	atgaactgac	tggggcagag	900
attagctgcc	tccgtctcaa	aggccaaatg	atctattttac	cgggaagcaga	tagcatcctc	960
ttcctctggt	caccaagtgt	gatgaacttg	gatgacctaa	caagaagagg	cctgtacctg	1020
agtgacatcc	ctctccatga	tgctacacga	gacctggtcc	ttttgggaga	acagttccgg	1080
gaggagtaca	aactgacaca	agagctggaa	atcctcacag	acaggctgca	gtcacactg	1140
agggctttgg	aggattga					1158

<210> 140
 <211> 385
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

5

<400> 140

Met	Tyr	Gly	Phe	Val	Asn	His	Ala	Leu	Glu	Leu	Leu	Val	Ile	Arg	Asn
1				5					10					15	
Tyr	Gly	Pro	Glu	Val	Trp	Glu	Asp	Ile	Lys	Lys	Glu	Ala	Gln	Leu	Asp
			20					25					30		
Glu	Glu	Gly	Gln	Phe	Leu	Val	Arg	Ile	Ile	Tyr	Asp	Asp	Ser	Lys	Thr
		35					40					45			
Tyr	Asp	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Ser	Lys	Val	Leu	Asn	Leu	Asn	Ala	Gly
	50					55					60				
Glu	Ile	Leu	Gln	Met	Phe	Gly	Lys	Met	Phe	Phe	Val	Phe	Cys	Gln	Glu
65					70				75						80
Ser	Gly	Tyr	Asp	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Leu	Gly	Ser	Asn	Val	Arg	Glu
				85				90						95	
Phe	Leu	Gln	Asn	Leu	Asp	Ala	Leu	His	Asp	His	Leu	Ala	Thr	Ile	Tyr
			100					105					110		
Pro	Gly	Met	Arg	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Cys	Thr	Asp	Ala	Glu	Lys	Gly
		115					120					125			
Lys	Gly	Leu	Ile	Leu	His	Tyr	Tyr	Ser	Glu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gln	Asp
	130					135					140				
Ile	Val	Ile	Gly	Ile	Ile	Lys	Thr	Val	Ala	Gln	Gln	Ile	His	Gly	Thr
145					150					155					160
Glu	Ile	Asp	Met	Lys	Val	Ile	Gln	Gln	Arg	Ser	Glu	Glu	Cys	Asp	His
				165					170					175	
Thr	Gln	Phe	Leu	Ile	Glu	Glu	Lys	Glu	Ser	Lys	Glu	Glu	Asp	Phe	Tyr
			180					185					190		
Glu	Asp	Leu	Asp	Arg	Phe	Glu	Glu	Asn	Gly	Thr	Gln	Asp	Ser	Arg	Ile
		195						200				205			
Ser	Pro	Tyr	Thr	Phe	Cys	Lys	Ala	Phe	Pro	Phe	His	Ile	Ile	Phe	Asp
	210					215					220				
Arg	Asp	Leu	Val	Val	Thr	Gln	Cys	Gly	Asn	Ala	Ile	Tyr	Arg	Val	Leu
225					230					235					240
Pro	Gln	Leu	Gln	Pro	Gly	Lys	Cys	Ser	Leu	Leu	Ser	Val	Phe	Ser	Leu
				245					250					255	
Val	Arg	Pro	His	Ile	Asp	Ile	Ser	Phe	His	Gly	Ile	Leu	Ser	His	Ile
			260					265					270		
Asn	Thr	Val	Phe	Val	Leu	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	Leu	Leu	Asp	Val	Glu
		275					280					285			
Lys	Leu	Glu	Cys	Glu	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Ala	Glu	Ile	Ser	Cys	Leu
	290					295					300				
Arg	Leu	Lys	Gly	Gln	Met	Ile	Tyr	Leu	Pro	Glu	Ala	Asp	Ser	Ile	Leu
305					310					315					320
Phe	Leu	Cys	Ser	Pro	Ser	Val	Met	Asn	Leu	Asp	Asp	Leu	Thr	Arg	Arg
				325				330						335	
Gly	Leu	Tyr	Leu	Ser	Asp	Ile	Pro	Leu	His	Asp	Ala	Thr	Arg	Asp	Leu
			340					345					350		
Val	Leu	Leu	Gly	Glu	Gln	Phe	Arg	Glu	Glu	Tyr	Lys	Leu	Thr	Gln	Glu
		355					360					365			
Leu	Glu	Ile	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Leu	Arg	Ala	Leu	Glu
	370					375					380				
Asp															
385															

10

<210> 141
 <211> 1158
 <212> ADN

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 141

```

atgtacgggtt ttgtgaacca tgccctggag ctgctgggtga tccgcaatta cgggtcccag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcgag ctggatgaag aaggccagtt tcttgtgaga 120
ataatctacg atgattocaa aacctatgac ttggtggctg ctgcgagcaa agtcctcaac 180
ctcaatgctg gtgaaatcct gcagatgttt ggaagatgt ttttcgtctt ctgtcaagag 240
tctggctatg ataccatctt gcgtgtcctg ggatctaag tcagggagtt tttgcagaac 300
ctcgacgccc tgcacgacca cctcgccacc atctaccag ggatgcgcgc accttccttc 360
cgggtgcaccg atgcagaaaa aggcaaaggg ctctattctgc actactactc ggaaagagag 420
gggcttcagg actacgtgat cgggattatc aagactgtag ctcaacagat ccatggcact 480
gagatagaca tgaaggttat tcagcaaaga agtgaagaat gtgatcatat ccaattttta 540

```

```

attgaagaaa aagaatcaaa agaagaggat ttttatgaag atctggacag gtttgaagag 600
aacggtaccc aggactcccg taccagcccg tacaccttct gcaaagcgtt tctttttcac 660
atcatatctg accgggacct agtagtcacg cagtgtggaa atgctatcta cagagtgtct 720
ccccagctcc agcctgggaa gtgcagcctt ctgtctgtct tctctctggt ccgcccctcat 780
attgacatca gtttccacgg gattctttca cacatcaata ccgtctttgt actgagaagc 840
aaggaagggt tgctggatgt tgagaaactt gaatgtgagg atgaactgac tggggcagag 900
attagctgcc tccgtctcaa aggccaaatg atctatttac cggaagcaga tagcatcctc 960
ttctctgtt caccaagtgt gatgaacttg gatgacctaa caagaagagg cctgtacctg 1020
agtacatcc ctctccatga tgctacacga gacctggctc ttttgggaga acagttccgg 1080
gaggagtaca aactgacaca agagctggaa atcctcacag acaggctgca gctcacactg 1140
agggctttgg aggattga                                     1158

```

5

<210> 142

<211> 385

<212> PRT

10 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 142

Met 1	Tyr	Gly	Phe	Val 5	Asn	His	Ala	Leu	Glu 10	Leu	Leu	Val	Ile	Arg 15	Asn	
Tyr	Gly	Pro	Glu	Val 20	Trp	Glu	Asp	Ile	Lys 25	Lys	Glu	Ala	Gln 30	Leu	Asp	
Glu	Glu	Gly	Gln	Phe 35	Leu	Val	Arg 40	Ile	Ile	Tyr	Asp	Asp	Ser	Lys	Thr	
Tyr	Asp 50	Leu	Val	Ala	Ala	Ala 55	Ser	Lys	Val	Leu	Asn 60	Leu	Asn	Ala	Gly	
Glu 65	Ile	Leu	Gln	Met 70	Phe	Gly	Lys	Met	Phe 75	Phe	Val	Phe	Cys	Gln	Glu 80	
Ser	Gly	Tyr	Asp	Thr 85	Ile	Leu	Arg	Val	Leu 90	Gly	Ser	Asn	Val	Arg	Glu	
Phe	Leu	Gln	Asn 100	Leu	Asp	Ala	Leu	His 105	Asp	His	Leu	Ala	Thr 110	Ile	Tyr	
Pro	Gly	Met 115	Arg	Ala	Pro	Ser	Phe 120	Arg	Cys	Thr	Asp	Ala	Glu	Lys	Gly	
Lys	Gly	Leu	Ile	Leu	His	Tyr 135	Tyr	Ser	Glu	Arg	Glu 140	Gly	Leu	Gln	Asp	
Tyr 145	Val	Ile	Gly	Ile 150	Ile	Lys	Thr	Val	Ala 155	Gln	Gln	Ile	His	Gly	Thr 160	
Glu	Ile	Asp	Met 165	Lys	Val	Ile	Gln	Gln	Arg 170	Ser	Glu	Glu	Cys	Asp	His 175	
Thr	Gln	Phe 180	Leu	Ile	Glu	Glu	Lys	Glu 185	Ser	Lys	Glu	Glu	Asp 190	Phe	Tyr	
Glu	Asp 195	Leu	Asp	Arg	Phe	Glu	Glu 200	Asn	Gly	Thr	Gln	Asp 205	Ser	Arg	Ile	
Ser	Pro 210	Tyr	Thr	Phe	Cys	Lys 215	Ala	Phe	Pro	Phe	His 220	Ile	Ile	Phe	Asp	
Arg 225	Asp	Leu	Val	Val 230	Thr	Gln	Cys	Gly	Asn	Ala	Ile 235	Tyr	Arg	Val	Leu 240	
Pro	Gln	Leu	Gln 245	Pro	Gly	Lys	Cys	Ser	Leu 250	Leu	Ser	Val	Phe	Ser	Leu 255	
Val	Arg	Pro 260	His	Ile	Asp	Ile	Ser	Phe 265	His	Gly	Ile	Leu	Ser 270	His	Ile	
Asn	Thr 275	Val	Phe	Val	Leu	Arg	Ser 280	Lys	Glu	Gly	Leu	Leu 285	Asp	Val	Glu	
Lys	Leu 290	Glu	Cys	Glu	Asp	Glu 295	Leu	Thr	Gly	Ala	Glu 300	Ile	Ser	Cys	Leu	
Arg 305	Leu	Lys	Gly	Gln	Met 310	Ile	Tyr	Leu	Pro	Glu 315	Ala	Asp	Ser	Ile	Leu 320	
Phe	Leu	Cys	Ser 325	Pro	Ser	Val	Met	Asn	Leu 330	Asp	Asp	Leu	Thr	Arg	Arg	
Gly	Leu	Tyr	Leu 340	Ser	Asp	Ile	Pro	Leu 345	His	Asp	Ala	Thr	Arg 350	Asp	Leu	
Val	Leu 355	Leu	Gly	Glu	Gln	Phe	Arg 360	Glu	Glu	Tyr	Lys 365	Leu	Thr	Gln	Glu	
Leu	Glu	Ile	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Leu	Arg	Ala	Leu	Glu	
				370					375					380		
				Asp 385												

<210> 143
<211> 1158
<212> ADN
<213> *Rattus norvegicus*

<400> 143

```

atgtacgggt ttgtgaacca tgccctggag ctgctgggtga tcogcaatta cggccccgag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcgag ctggatgaag aaggccagtt tcttgtgaga 120
ataatctacg atgattccaa aacctatgac ttgggtggctg ctgcgagcaa agtcctcaac 180
ctcaatgctg gtgaaatcct gcagatgttt gggaagatgt ttttctgtct ctgtcaagag 240
tctggctatg ataccatctt gcgtgtcctg ggatctaatag tcagggagtt tttgcagaac 300
ctcgacgccc tgcacgacca cctcgccacc atctaccag ggatgcgcgc accttccttc 360
cgggtgcaccg atgcagaaaa aggcaaaggg ctcattctgc actactactc ggaaagagag 420
gggcttcagg accatgtgat cgggattatc aagactgtag ctcaacagat ccatggcact 480
gagatagaca tgaaggttat tcagcaaaga agtgaagaat gtgatcatac ccaattttta 540
attgaagaaa aagaatcaaa agaagaggat ttttatgaag atctggacag gtttgaagag 600
aacgggtaccc aggactcccg tatcagcccg tacaccttct gcaaagcgtt tctttttcac 660
atcatatttg accgggacct agtagtcacg cagtgtggaa atgctatcta cagagtgtctc 720
ccccagctcc agcctgggaa gtgcagcctt ctgtctgtct tctctctggt ccgccctcat 780
attgacatca gtttccacgg gattctttca cacatcaata ccgtctttgt actgagaagc 840
aaggaagggt tgctggatgt tgagaaactt gaatgtgagg atgaactgac tggggcagag 900
attagctgcc tccgtctcaa aggccaaatg atctatttac cggaagcaga tagcatcctc 960
ttcctctgtt caccaagtgt gatgaacttg gatgacctaa caagaagagg cctgtacctg 1020
agtgacatcc ctctccatga tgctacacga gacctgttcc ttttgggaga acagttcccg 1080
gaggagtaca aactgacaca agagctggaa atcctcacag acaggtgca gctcacactg 1140
agggctttgg aggattga                                     1158

```

<210> 144
 <211> 385
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

 <400> 144

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

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

<210> 145
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 145

atgtacgggt	ttgtgaacca	tgccttggag	ctgctgggtga	tccgcaatta	cggtcccag	60
gtgtgggaag	acatcaaaaa	agaggcgag	ctggatgaag	aaggccagtt	tcttgtgaga	120
ataatctacg	atgattccaa	aacctatgac	ttggtggctg	ctgagagcaa	agtcctcaac	180
ctcaatgctg	gtgaaatcct	gcagatgttt	gggaagatgt	ttttcgtctt	ctatcaagag	240
tctggctatg	ataccatctt	gcgtgtcctg	ggatctaatt	tcagggagtt	tttgcagaac	300
ctcgagccc	tgacagacca	cctcgccacc	atctaccag	ggatgcgcgc	accttccctc	360
cggtgcaccg	atgcagaaaa	aggcaaaagg	ctcattctgc	actactactc	ggaaagagag	420
gggcttcagg	acattgtgat	cgggattatc	aagactgtag	ctcaacagat	ccatggcact	480
gagatagaca	tgaagggttat	tcagcaaaga	agtgaagaat	gtgatcatac	ccaattttta	540
attgaagaaa	aagaatcaaa	agaagaggat	ttttatgaag	atctggacag	gtttgaagag	600
aacgggtaccc	aggactcccg	tatcagcccg	tacaccttct	gcaaagcggt	tcctttttcac	660
atcatatttg	accgggacct	agtagtcacg	cagtgtggaa	atgctatcta	cagagtgtct	720
ccccagctcc	agcctgggaa	gtgcagcctt	ctgtctgtct	tctctctggg	ccgcccctcat	780
attgacatca	gtttccacgg	gattotttca	cacatcaata	ccgtctttgt	actgagaagc	840
aaggaagggt	tgctggatgt	tgagaaactt	gaatgtgagg	atgaactgac	tggggcagag	900
attagctgcc	tccgtctcaa	aggccaaatg	atctattttac	cggaaagcaga	tagcatcctc	960
ttcctctgtt	caccaagtgt	gatgaacttg	gatgacctaa	caagaagagg	cctgtacctg	1020
agtgacatcc	ctctccatga	tgtacacga	gacctggtcc	ttttgggaga	acagttccgg	1080
gaggagtaca	aactgacaca	agagctggaa	atcctcacag	acaggctgca	gctcacactg	1140
agggcttttg	aggattga					1158

<210> 146
 <211> 385
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 146

Met Tyr Gly Phe Val Asn His Ala Leu Glu Leu Leu Val Ile Arg Asn
 1 5 10 15
 Tyr Gly Pro Glu Val Trp Glu Asp Ile Lys Lys Glu Ala Gln Leu Asp
 20 25 30
 Glu Glu Gly Gln Phe Leu Val Arg Ile Ile Tyr Asp Asp Ser Lys Thr
 35 40 45
 Tyr Asp Leu Val Ala Ala Ala Ser Lys Val Leu Asn Leu Asn Ala Gly

50 55 60
 Glu Ile Leu Gln Met Phe Gly Lys Met Phe Phe Val Phe Tyr Gln Glu
 65 70 75 80
 Ser Gly Tyr Asp Thr Ile Leu Arg Val Leu Gly Ser Asn Val Arg Glu
 85 90 95
 Phe Leu Gln Asn Leu Asp Ala Leu His Asp His Leu Ala Thr Ile Tyr
 100 105 110
 Pro Gly Met Arg Ala Pro Ser Phe Arg Cys Thr Asp Ala Glu Lys Gly
 115 120 125
 Lys Gly Leu Ile Leu His Tyr Tyr Ser Glu Arg Glu Gly Leu Gln Asp
 130 135 140
 Ile Val Ile Gly Ile Ile Lys Thr Val Ala Gln Gln Ile His Gly Thr
 145 150 155 160
 Glu Ile Asp Met Lys Val Ile Gln Gln Arg Ser Glu Glu Cys Asp His
 165 170 175
 Thr Gln Phe Leu Ile Glu Glu Lys Glu Ser Lys Glu Glu Asp Phe Tyr
 180 185 190
 Glu Asp Leu Asp Arg Phe Glu Glu Asn Gly Thr Gln Asp Ser Arg Ile
 195 200 205
 Ser Pro Tyr Thr Phe Cys Lys Ala Phe Pro Phe His Ile Ile Phe Asp
 210 215 220
 Arg Asp Leu Val Val Thr Gln Cys Gly Asn Ala Ile Tyr Arg Val Leu
 225 230 235 240
 Pro Gln Leu Gln Pro Gly Lys Cys Ser Leu Leu Ser Val Phe Ser Leu
 245 250 255
 Val Arg Pro His Ile Asp Ile Ser Phe His Gly Ile Leu Ser His Ile
 260 265 270
 Asn Thr Val Phe Val Leu Arg Ser Lys Glu Gly Leu Leu Asp Val Glu
 275 280 285
 Lys Leu Glu Cys Glu Asp Glu Leu Thr Gly Ala Glu Ile Ser Cys Leu
 290 295 300
 Arg Leu Lys Gly Gln Met Ile Tyr Leu Pro Glu Ala Asp Ser Ile Leu
 305 310 315 320
 Phe Leu Cys Ser Pro Ser Val Met Asn Leu Asp Asp Leu Thr Arg Arg
 325 330 335
 Gly Leu Tyr Leu Ser Asp Ile Pro Leu His Asp Ala Thr Arg Asp Leu
 340 345 350
 Val Leu Leu Gly Glu Gln Phe Arg Glu Glu Tyr Lys Leu Thr Gln Glu
 355 360 365
 Leu Glu Ile Leu Thr Asp Arg Leu Gln Leu Thr Leu Arg Ala Leu Glu
 370 375 380
 Asp
 385

<210> 147
 <211> 1158
 <212> ADN
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 147

```

atgtacgggt ttgtgaacca tgccctggag ctgctggtga tccgcaatta cgggtcccag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcgag ctggatgaag aaggccagtt tcttgtgaga 120
ataatctacg atgattccaa aacctatgac ttgggtggctg ctgcgagcaa agtcctcaac 180
ctcaatgctg gtgaaatcct gcagatgttt gggaagatgt ttttcgtctt ctgtcaagag 240
tctggctatg ataccatctt gcgtgtcctg ggatctaatt tcagggagtt tttgcagaac 300
ctcgacgccc tgttcgacca cctcgccacc atctaccag ggatgcgcgc accttcttc 360
cgggtgcaccg atgcagaaaa aggcaaagg ctctattctgc actactactc ggaaagagag 420
gggcttcagg acattgtgat cgggattatc aagactgtag ctcaacagat ccatggcact 480
gagatagaca tgaaggttat tcagcaaga agtgaagaat gtgatcatac ccaattttta 540
attgaagaaa aagaatcaaa agaagaggat ttttatgaag atctggacag gtttgaagag 600
aacggtaccc aggactcccg tatcagcccg tacaccttct gcaaagcggt tccttttcac 660
atcatatttg accgggacct agtagtcacg cagtgtggaa atgctatcta cagagtgtct 720
ccccagctcc agcctgggaa gtgcagcctt ctgtctgtct tctctctggg ccgccctcat 780
attgacatca gtttccacgg gattctttca cacatcaata ccgtctttgt actgagaagc 840

```

```

aaggaagggt tgctggatgt tgagaaactt gaatgtgagg atgaactgac tggggcagag 900
attagctgcc tccgtctcaa aggccaaatg atctatttac cggaagcaga tagcatctct 960
ttctctgtgt caccaagtgt gatgaacttg gatgacctaa caagaagagg cctgtacctg 1020
agtgacatcc ctctccatga tgctacacga gacctgggtc ttttgggaga acagttccgg 1080
gaggagtaca aactgacaca agagctggaa atcctcacag acaggctgca gctcacactg 1140
agggcttttg aggattga                                     1158

```

<210> 148

<211> 385

5 <212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 148

Met	Tyr	Gly	Phe	Val	Asn	His	Ala	Leu	Glu	Leu	Leu	Val	Ile	Arg	Asn
1				5					10					15	
Tyr	Gly	Pro	Glu	Val	Trp	Glu	Asp	Ile	Lys	Lys	Glu	Ala	Gln	Leu	Asp
			20					25					30		
Glu	Glu	Gly	Gln	Phe	Leu	Val	Arg	Ile	Ile	Tyr	Asp	Asp	Ser	Lys	Thr
		35					40					45			
Tyr	Asp	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Ser	Lys	Val	Leu	Asn	Leu	Asn	Ala	Gly
	50					55					60				
Glu	Ile	Leu	Gln	Met	Phe	Gly	Lys	Met	Phe	Phe	Val	Phe	Cys	Gln	Glu
65					70					75					80
Ser	Gly	Tyr	Asp	Thr	Ile	Leu	Arg	Val	Leu	Gly	Ser	Asn	Val	Arg	Glu
				85					90					95	
Phe	Leu	Gln	Asn	Leu	Asp	Ala	Leu	Phe	Asp	His	Leu	Ala	Thr	Ile	Tyr
			100					105						110	
Pro	Gly	Met	Arg	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Cys	Thr	Asp	Ala	Glu	Lys	Gly
		115					120					125			
Lys	Gly	Leu	Ile	Leu	His	Tyr	Tyr	Ser	Glu	Arg	Glu	Gly	Leu	Gln	Asp
	130					135					140				
Ile	Val	Ile	Gly	Ile	Ile	Lys	Thr	Val	Ala	Gln	Gln	Ile	His	Gly	Thr
145					150					155					160
Glu	Ile	Asp	Met	Lys	Val	Ile	Gln	Gln	Arg	Ser	Glu	Glu	Cys	Asp	His
				165					170					175	
Thr	Gln	Phe	Leu	Ile	Glu	Glu	Lys	Glu	Ser	Lys	Glu	Glu	Asp	Phe	Tyr
			180					185						190	
Glu	Asp	Leu	Asp	Arg	Phe	Glu	Glu	Asn	Gly	Thr	Gln	Asp	Ser	Arg	Ile
		195				200						205			
Ser	Pro	Tyr	Thr	Phe	Cys	Lys	Ala	Phe	Pro	Phe	His	Ile	Ile	Phe	Asp
	210					215					220				
Arg	Asp	Leu	Val	Val	Thr	Gln	Cys	Gly	Asn	Ala	Ile	Tyr	Arg	Val	Leu
225					230					235					240
Pro	Gln	Leu	Gln	Pro	Gly	Lys	Cys	Ser	Leu	Leu	Ser	Val	Phe	Ser	Leu
				245					250					255	
Val	Arg	Pro	His	Ile	Asp	Ile	Ser	Phe	His	Gly	Ile	Leu	Ser	His	Ile
			260					265						270	
Asn	Thr	Val	Phe	Val	Leu	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	Leu	Leu	Asp	Val	Glu
		275					280					285			
Lys	Leu	Glu	Cys	Glu	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Ala	Glu	Ile	Ser	Cys	Leu
	290					295					300				
Arg	Leu	Lys	Gly	Gln	Met	Ile	Tyr	Leu	Pro	Glu	Ala	Asp	Ser	Ile	Leu
305					310					315					320
Phe	Leu	Cys	Ser	Pro	Ser	Val	Met	Asn	Leu	Asp	Asp	Leu	Thr	Arg	Arg
				325					330					335	
Gly	Leu	Tyr	Leu	Ser	Asp	Ile	Pro	Leu	His	Asp	Ala	Thr	Arg	Asp	Leu
			340					345						350	
Val	Leu	Leu	Gly	Glu	Gln										

<210> 149
<211> 1158
<212> ADN
<213> *Rattus norvegicus*

<400> 149

```

atgtacgggtt ttgtgaacca tgccctggag ctgctgggtga tccgcaatta cgggtcccag 60
gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcgag ctggatgaag aaggccagtt tcttgtgaga 120
ataatctacg atgattccaa aacctatgac ttggtggctg ctgcgagcaa agtcctcaac 180
ctcaatgctg gtgaaatcct gcagatgttt gggaagatgt ttttcgtctt ctgtcaagag 240
tctggctatg ataccatctt gcgtgtcctg ggatctaata tcagggagtt ttgcagaaac 300
ctcgacgccc tgggggacca cctcgccacc atctaccag ggatgcgcgc accttccttc 360
cgggtgcacc atgcagaaaa aggcaggag ctcatctgc actactactc ggaaagagag 420
gggcttcagg acattgtgat cgggattatc aagactgtag ctcaacagat ccatggcact 480
gagatagaca tgaaggttat tcagcaaaga agtgaagaat gtgatcatac ccaattttta 540
attgaagaaa aagaatcaaa agaagaggat ttttatgaag atctggacag gtttgaagag 600
aacggtagcc aggactcccg tatcagcccg tacaccttct gcaaagcgtt tctttttcac 660
atcatatttg accgggacct agtagtcacg cagtgtggaa atgctatcta cagagtgtct 720
ccccagctcc agcctgggaa gtgcagcctt ctgtctgtct tctctctggt ccgccctcat 780
attgacatca gtttccacgg gattctttca cacatcaata ccgtctttgt actgagaagc 840
aaggaagggt tgctggatgt tgagaaactt gaatgtgagg atgaactgac tggggcagag 900
attagctgcc tccgtctcaa aggcacaaatg atctatttac cggaagcaga tagcatcctc 960
ttcctctgtt caccaagtgt gatgaacttg gatgacctaa caagaagagg cctgtacctg 1020
agtgcacatc ctctccatga tgctacacga gacctgggtc ttttgggaga acagttccgg 1080
gaggagtaca aactgacaca agagctggaa atcctcacag acaggctgca gctcacactg 1140
agggcttttg aggattga                                     1158

```

<210> 150

<211> 385

5 <212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 150

```

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

```

10

Val	Arg	Pro	His	Ile	Asp	Ile	Ser	Phe	His	Gly	Ile	Leu	Ser	His	Ile
			260					265					270		
Asn	Thr	Val	Phe	Val	Leu	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	Leu	Leu	Asp	Val	Glu
		275					280					285			
Lys	Leu	Glu	Cys	Glu	Asp	Glu	Leu	Thr	Gly	Ala	Glu	Ile	Ser	Cys	Leu
	290					295					300				
Arg	Leu	Lys	Gly	Gln	Met	Ile	Tyr	Leu	Pro	Glu	Ala	Asp	Ser	Ile	Leu
305					310					315					320
Phe	Leu	Cys	Ser	Pro	Ser	Val	Met	Asn	Leu	Asp	Asp	Leu	Thr	Arg	Arg
			325					330						335	
Gly	Leu	Tyr	Leu	Ser	Asp	Ile	Pro	Leu	His	Asp	Ala	Thr	Arg	Asp	Leu
			340				345						350		
Val	Leu	Leu	Gly	Glu	Gln	Phe	Arg	Glu	Glu	Tyr	Lys	Leu	Thr	Gln	Glu
		355					360					365			
Leu	Glu	Ile	Leu	Thr	Asp	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Leu	Arg	Ala	Leu	Glu
	370					375					380				
Asp															
385															

<210> 151
 <211> 585
 <212> ADN
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 151

atgtacgggtt	ttgtgaacca	tgccttgag	ctgctggtga	tccgcaatta	cgggtcccgag	60
gtgtgggaag	acatcaaaaa	agaggcgag	ctggatgaag	aaggccagtt	tcttgtgaga	120
ataatctacg	atgattccaa	aacctatgac	ttggtggctg	ctgcgagcaa	agtcctcaac	180
ctcaatgctg	gtgaaatcct	gcagatgttt	gggaagatgt	ttttcgtctt	ctgtcaagag	240
tctggctatg	ataccatctt	gcgtgtcctg	ggatctaata	tcagggagtt	tttgcagaac	300
ctcgacgccc	tgcacgacca	cctcgccacc	atctaccag	ggatgcgcgc	accttccttc	360
cgggtgcaccg	atgcagaaaa	aggcaaagg	ctcattctgc	actactactc	ggaaagagag	420
gggcttcagg	acattgtgat	cgggattatc	aagactgtag	ctcaacagat	ccatggcact	480
gagatagaca	tgaaggttat	tcagcaaaga	agtgaagaat	gtgatcatat	ccaattttta	540
attgaagaaa	aagaatcaaa	agaagaggat	ttttatgaag	attga		585

<210> 152
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 152

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

Thr	Gln	Phe	Leu	Ile	Glu	Glu	Lys	Glu	Ser	Lys	Glu	Glu	Asp	Phe	Tyr
			180					185					190		
Glu	Asp														

<210> 153
 <211> 585
 <212> ADN
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 153

atgtacgggt	ttgtgaacca	tgccctggag	ctgctggtga	tccgcaatta	cggtcccag	60
gtgtgggaag	acatcaaaaa	agaggcgag	ctggatgaag	aaggccagtt	tcttgtgaga	120
ataatctacg	atgattccaa	aacctatgac	ttggtggctg	ctgcgagcaa	agtcctcaac	180
ctcaatgctg	gtgaaatcct	gcagatgttt	gggaagatgt	ttttcgtctt	ctgtcaagag	240
tctggctatg	ataccatctt	gcgtgtcctg	ggatctaattg	tcagggagtt	tttgcaaac	300
ctcgacgccc	tgcacgacca	cctcgccacc	atctaccag	ggatgcgcgc	accttccttc	360
cggtgcaccg	atgcagaaaa	aggcaaagg	ctcattctgc	actactactc	ggaaagagag	420
gggcttcagg	actacgtgat	cgggattatc	aagactgtag	ctcaacagat	ccatggcact	480
gagatagaca	tgaaggttat	tcagcaaaga	agtgaagaat	gtgatcatac	ccaattttta	540
attgaagaaa	aagaatcaaa	agaagaggat	ttttatgaag	attga		585

<210> 154
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 154

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

<210> 155
 <211> 585
 5 <212> ADN
 <213> *Rattus norvegicus*
 <400> 155

atgtacgggtt ttgtgaacca tgcctgggag ctgctggtga tccgcaatta cgggtcccag 60
 gtgtgggaag acatcaaaaa agaggcgcag ctggatgaag aaggccagtt tcttgtgaga 120

ataatctacg atgattccaa aacctatgac ttgggtggctg ctgcgagcaa agtcctcaac 180
 ctcaatgctg gtgaaatcct gcagatgttt gggaagatgt ttttcgtctt ctgtcaagag 240
 tctggctatg ataccatctt gcgtgtcctg ggatctaatt tcaggagatt ttgcagaaac 300
 ctgcacgcc tgcacgacca cctcgccacc atctacccag ggatgcgcgc accttcttc 360
 cgggtgcaccg atgcagaaaa aggcaaagg ctcattctgc actactactc ggaaagagag 420
 gggcttcagg actacgtgat cgggattatc aagactgtag ctcaacagat ccatggcact 480
 gagatagaca tgaagggtat tcagcaaaga agtgaagaat gtgatcatac ccaattttta 540
 attgaagaaa aagaatcaaa agaagaggat ttttatgaag attga 585

10 <210> 156
 <211> 194
 <212> PRT
 15 <213> *Rattus norvegicus*
 <400> 156

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

<210> 157

<211> 2229

<212> ADN

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 157

atgtatggat	tcatcaaac	ctgcctgcag	tctcttgtga	cagagaaatt	tggtgaggag	60
acatgggaga	agctgaaggc	tcctgcagaa	gtgcaagatg	tcttcatgac	ctacaccgtg	120
tatgatgaca	tcatcaccat	taagctcatc	caagaagcct	gcaagggtct	ggatgtgtcc	180
atggaagcca	ttctgaagct	ctttggcgaa	tacttcttta	agttctgtaa	gatgtctggc	240
tatgacagga	tgctgcgga	acttgaggga	aatctcaccg	agtttattga	aaacctagat	300
gcactccaca	gttacctggc	actgtcctat	caggaaatga	acgcaccatc	ctttcgagtg	360
gaggaaggag	ctgacggggc	gatgcttctc	cactactact	cagacagaca	tggtctgtgt	420
cacattgtac	caggtatcat	tgaagctgtg	gccaaaggact	tctttgacac	tgatgtggcc	480
atgagtatcc	tggatatgaa	cgaagaggtg	gaaaggacag	ggaagaaaga	acatgttgtg	540
tttctggtcg	tgacagaaggc	tcacagacag	ataagaggag	caaaggcaag	ccggccacaa	600
ggcagtgagg	acagccaggc	agaccaggag	gctctccagg	gaacactcct	tcggatgaag	660
gagagatatt	taaacaatccc	tgtttgccct	ggggagaaat	ctcactcaac	tgctgtgagg	720
gcatcgggtcc	tttttgga	agggcccctc	aggacacct	tccagcccgt	ctatcctgag	780
agactatggg	tcgaagagga	ggtgttctgt	gatgcttttc	ctttccacat	tgtctttgat	840
gaagcactaa	gggtcaagca	agctggagtg	aatattcaga	agtatgtccc	tggaatctta	900
accagaagt	ttgcactaga	tgagtatttt	tccatcatcc	accctcaagt	tactttcaac	960

```

atctccagca tctgcaagtt cattaacagt cagtttgtct tgaagacaag aaaagaaatg 1020
atgccccaaag caaggaagag ccagccgatg ctcaaaactcc ggggtcagat gatctggatg 1080
gagttctctga ggtgcatgat cttcatgtgt tccccaaacg tccgcagcct gcaagagctg 1140
gaagagagca agatgcatct ttctgatatc gctccgcacg acacgaccag ggatctcatc 1200
ctcctcaacc agcagaggct ggcagagatg gagctgtcct gccaaactgga aaagaagaag 1260
gaggagttgc gtgtcctttc caatcacctg gccatcgaga agaagaagac agagaccttg 1320
ctgtatgcca tgctgcctga acatgtggcc aaccaactca aggagggcag aaaggtggct 1380
gcaggagaat ttgaaacatg tacaatcctt ttcagcgatg ttgtgacatt taccaacatc 1440
tgtgcagcct gtgaacctat ccaaatoctg aacatgctga attcaatgta ctccaagttt 1500
gacagggttaa ccagtgtcca tgatgtctac aaagtagaaa caatagggga tgcttacatg 1560
gtggtgggtg gagtaccagt acccgttgaa agccatgctc aaagagtgcg caattttgct 1620
ctggggatga gaatttctgc aaaagaagtg atgaatcctg tcaactggga acctatccag 1680
atcagagtgg gaatccacac tggaccagtc ttagcaggtg ttgtgggaga caagatgcct 1740
cggtactgct tgtttggtga cactgtaaac acagcctcta ggatggaaag tcacgggctt 1800
cccagcaaag tgcactctgag cccacagcc cacagagccc tgaaaaacaa agggtttgaa 1860
attgtcagga gaggcgagat cgaagtgaag gggaaaggaa agatgaccac atactttctg 1920
atccagaacc tgaatgccac cgaggatgag ataatggggc gaccttcagc ccccgctgat 1980
gggaagggaag tatgtactcc cggaaccac gtcaggaagt cccctgctgt cccgaggaac 2040
acagaccatc agcaacaagt ctacaaagga gaccagcag acgcttctaa tgaagtcaca 2100
cttgctggga gccagtggc agggcgaaac tccacagatg cagtcaataa ccagccatca 2160
ccagatgaga ccaagacaag tgtcgttgct agtggccctg tgctgtctgc tttctgtgtt 2220
gtgctgtga 2229

```

<210> 158

<211> 742

5 <212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 158

Met	Tyr	Gly	Phe	Ile	Asn	Thr	Cys	Leu	Gln	Ser	Leu	Val	Thr	Glu	Lys
1				5					10					15	
Phe	Gly	Glu	Glu	Thr	Trp	Glu	Lys	Leu	Lys	Ala	Pro	Ala	Glu	Val	Gln
			20					25					30		
Asp	Val	Phe	Met	Thr	Tyr	Thr	Val	Tyr	Asp	Asp	Ile	Ile	Thr	Ile	Lys
		35					40					45			
Leu	Ile	Gln	Glu	Ala	Cys	Lys	Val	Leu	Asp	Val	Ser	Met	Glu	Ala	Ile
		50				55					60				
Leu	Lys	Leu	Phe	Gly	Glu	Tyr	Phe	Phe	Lys	Phe	Cys	Lys	Met	Ser	Gly
65					70					75					80
Tyr	Asp	Arg	Met	Leu	Arg	Thr	Leu	Gly	Gly	Asn	Leu	Thr	Glu	Phe	Ile
				85					90					95	
Glu	Asn	Leu	Asp	Ala	Leu	His	Ser	Tyr	Leu	Ala	Leu	Ser	Tyr	Gln	Glu
			100					105					110		
Met	Asn	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Ala	Met
		115					120					125			
Leu	Leu	His	Tyr	Tyr	Ser	Asp	Arg	His	Gly	Leu	Cys	His	Ile	Val	Pro
	130					135					140				
Gly	Ile	Ile	Glu	Ala	Val	Ala	Lys	Asp	Phe	Phe	Asp	Thr	Asp	Val	Ala
145					150					155					160
Met	Ser	Ile	Leu	Asp	Met	Asn	Glu	Glu	Val	Glu	Arg	Thr	Gly	Lys	Lys
				165					170					175	
Glu	His	Val	Val	Phe	Leu	Val	Val	Gln	Lys	Ala	His	Arg	Gln	Ile	Arg
			180					185					190		
Gly	Ala	Lys	Ala	Ser	Arg	Pro	Gln	Gly	Ser	Glu	Asp	Ser	Gln	Ala	Asp
		195					200					205			
Gln	Glu	Ala	Leu	Gln	Gly	Thr	Leu	Leu	Arg	Met	Lys	Glu	Arg	Tyr	Leu
	210					215					220				
Asn	Ile	Pro	Val	Cys	Pro	Gly	Glu	Lys	Ser	His	Ser	Thr	Ala	Val	Arg
225					230					235					240
Ala	Ser	Val	Leu	Phe	Gly	Lys	Gly	Pro	Leu	Arg	Asp	Thr	Phe	Gln	Pro
				245					250					255	
Val	Tyr	Pro	Glu	Arg	Leu	Trp	Val	Glu	Glu	Glu	Val	Phe	Cys	Asp	Ala
			260					265					270		
Phe	Pro	Phe	His	Ile	Val	Phe	Asp	Glu	Ala	Leu	Arg	Val	Lys	Gln	Ala
		275					280					285			

Gly	Val	Asn	Ile	Gln	Lys	Tyr	Val	Pro	Gly	Ile	Leu	Thr	Gln	Lys	Phe
290						295					300				
Ala	Leu	Asp	Glu	Tyr	Phe	Ser	Ile	Ile	His	Pro	Gln	Val	Thr	Phe	Asn
305					310					315					320
Ile	Ser	Ser	Ile	Cys	Lys	Phe	Ile	Asn	Ser	Gln	Phe	Val	Leu	Lys	Thr
				325					330					335	
Arg	Lys	Glu	Met	Met	Pro	Lys	Ala	Arg	Lys	Ser	Gln	Pro	Met	Leu	Lys
			340					345					350		
Leu	Arg	Gly	Gln	Met	Ile	Trp	Met	Glu	Ser	Leu	Arg	Cys	Met	Ile	Phe
		355					360					365			
Met	Cys	Ser	Pro	Asn	Val	Arg	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Glu	Glu	Ser	Lys
	370					375					380				
Met	His	Leu	Ser	Asp	Ile	Ala	Pro	His	Asp	Thr	Thr	Arg	Asp	Leu	Ile
385					390					395					400
Leu	Leu	Asn	Gln	Gln	Arg	Leu	Ala	Glu	Met	Glu	Leu	Ser	Cys	Gln	Leu
			405						410					415	
Glu	Lys	Lys	Lys	Glu	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	His	Leu	Ala	Ile
			420					425					430		
Glu	Lys	Lys	Lys	Thr	Glu	Thr	Leu	Leu	Tyr	Ala	Met	Leu	Pro	Glu	His
			435				440					445			
Val	Ala	Asn	Gln	Leu	Lys	Glu	Gly	Arg	Lys	Val	Ala	Ala	Gly	Glu	Phe
	450					455				460					
Glu	Thr	Cys	Thr	Ile	Leu	Phe	Ser	Asp	Val	Val	Thr	Phe	Thr	Asn	Ile
465					470					475					480
Cys	Ala	Ala	Cys	Glu	Pro	Ile	Gln	Ile	Val	Asn	Met	Leu	Asn	Ser	Met
			485						490					495	
Tyr	Ser	Lys	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Ser	Val	His	Asp	Val	Tyr	Lys	Val
			500					505					510		
Glu	Thr	Ile	Gly	Asp	Ala	Tyr	Met	Val	Val	Gly	Gly	Val	Pro	Val	Pro
	515						520					525			
Val	Glu	Ser	His	Ala	Gln	Arg	Val	Ala	Asn	Phe	Ala	Leu	Gly	Met	Arg
	530					535				540					
Ile	Ser	Ala	Lys	Glu	Val	Met	Asn	Pro	Val	Thr	Gly	Glu	Pro	Ile	Gln
545					550					555					560
Ile	Arg	Val	Gly	Ile	His	Thr	Gly	Pro	Val	Leu	Ala	Gly	Val	Val	Gly
			565						570					575	
Asp	Lys	Met	Pro	Arg	Tyr	Cys	Leu	Phe	Gly	Asp	Thr	Val	Asn	Thr	Ala
			580					585					590		
Ser	Arg	Met	Glu	Ser	His	Gly	Leu	Pro	Ser	Lys	Val	His	Leu	Ser	Pro
	595						600					605			
Thr	Ala	His	Arg	Ala	Leu	Lys	Asn	Lys	Gly	Phe	Glu	Ile	Val	Arg	Arg
	610					615					620				
Gly	Glu	Ile	Glu	Val	Lys	Gly	Lys	Gly	Lys	Met	Thr	Thr	Tyr	Phe	Leu
625					630					635					640
Ile	Gln	Asn	Leu	Asn	Ala	Thr	Glu	Asp	Glu	Ile	Met	Gly	Arg	Pro	Ser
			645						650					655	
Ala	Pro	Ala	Asp	Gly	Lys	Glu	Val	Cys	Thr	Pro	Gly	Asn	Gln	Gln	Val
			660					665					670		
Lys	Ser	Pro	Ala	Val	Pro	Arg	Asn	Thr	Asp	His	Gln	Gln	Gln	Val	Tyr
		675					680					685			
Lys	Gly	Asp	Pro	Ala	Asp	Ala	Ser	Asn	Glu	Val	Thr	Leu	Ala	Gly	Ser
	690					695					700				
Pro	Val	Ala	Gly	Arg	Asn	Ser	Thr	Asp	Ala	Val	Asn	Asn	Gln	Pro	Ser
705					710					715					720
Pro	Asp	Glu	Thr	Lys	Thr	Ser	Val	Val	Ala	Ser	Gly	Pro	Val	Leu	Ser
			725						730					735	
Ala	Phe	Cys	Val	Val	Leu										
			740												

<210> 159
 <211> 651
 <212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 159

```

atgtatggat tcatcaacac ctgcctgcag tctcttgtga cagagaaatt tgggtgaggag 60
acatgggaga agctgaagge tctgcagaa gtgcaagatg tcttcatgac ctacaccgtg 120
tatgatgaca tcatcaccat taagctcatc caagaagcct gcaaggttct ggatgtgtcc 180
atggaagcca ttctgaagct ctttggcgaa tacttcttta agttctgtaa gatgtctggc 240
tatgacagga tgctgcggac acttggagga aatctcaccg agtttattga aaacctagat 300
gcactccaca gttacctggc actgtcctat caggaaatga acgcaccatc ctttcgagtg 360
gaggaaggag ctgacggggc gatgcttctc cactactact cagacagaca tgggtctgtgt 420
cacattgtac caggtatcat tgaagctgtg gccaaaggact tctttgacac tgatgtggcc 480
atgagtatcc tggatatgaa cgaagaggtg gaaaggacag ggaagaaaga acatgttgtg 540
tttctggtcg tgcagaagge tcacagacag ataagaggag caaaggcaag cgggccacaa 600
ggcagtgagg acagccagge agaccaggag gctctccagg gaacactcct t 651

```

<210> 160

<211> 217

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 160

```

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

```

<210> 161

<211> 651

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<400> 161

```

atgtatggat tcatcaacac ctgcctgcag tctcttgtga cagagaaatt tgggtgaggag 60
acatgggaga agctgaagga tcttcagaa gtgcaagatg tcttcatgac ctacaccgtg 120
tatgatgaca tcatcaccat taagctcatc caagaagcct gcaaggttct ggatgtgtcc 180
atggaagcca ttctgaagct ctttggcgaa tacttcttta agttctgtaa gatgtctggc 240
tatgacagga tgctgaggac acttgaggaa aatctcaccg agtttattga aaacctagat 300
gcactccaca gttacctggc actgtcctat caggaaatga acgcaccatc ctttcgagtg 360
gaggaaggag ctgacggggc gatgcttctc cactactact cagacagaca tgggtctgtgt 420
cactatgtac caggtatcat tgaagctgtg gccaggact tctttgacac tgatgtggcc 480
atgagtatcc tggatatgaa cgaagagggtg gaaaggacag ggaagaaaga acatgttgtg 540
tttctggtcg tgcagaagga tcacagacag ataaggaggag caaaggcaag ccggccacaa 600

```

```

ggcagtgagg acagccagga agaccaggag gctctccagg gaacactcct t 651

```

<210> 162
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 162

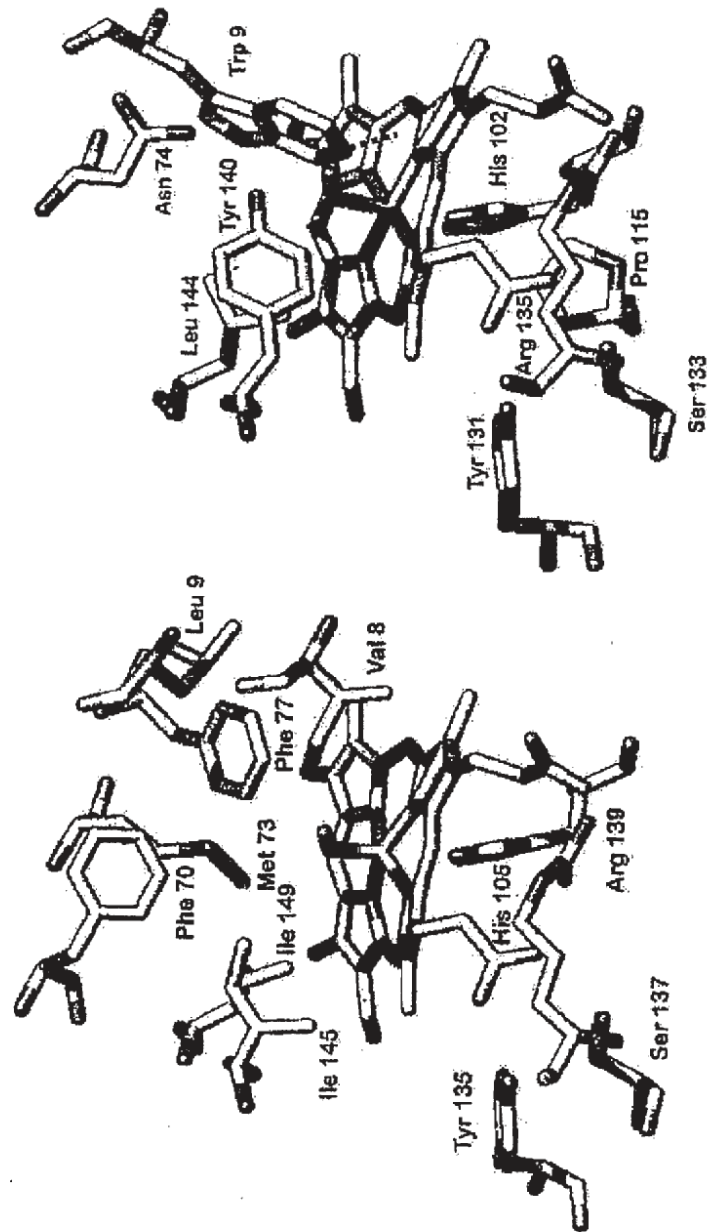
```

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

```


REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica adecuada para la administración de O₂ a seres humanos, que comprende (i) una cantidad farmacéuticamente aceptable de una proteína H-NOX y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde ya sea
 - (a) la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre 1 nM y 1 mM a 20 °C y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a 700 s⁻¹ a 20 °C, o
 - (b) la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina alfa humana y la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina alfa humana
- y en donde la proteína H-NOX comprende al menos una mutación en el bolsillo distal, siendo dicha mutación de un resto en la hélice alfa A, D, E o G
- y en donde la proteína H-NOX no es inmunogénica en seres humanos.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la proteína H-NOX está unida covalentemente a otra molécula o fracción.
3. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 o 2, en donde la proteína H-NOX es una proteína de fusión que comprende un dominio H-NOX y parte o la totalidad de otra proteína.
4. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1-3, en donde el oxígeno está unido a la proteína H-NOX.
5. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la proteína H-NOX se deriva de una proteína bacteriana.
6. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre 1 nM y 1 mM a 20 °C y en donde la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a 700 s⁻¹ a 20 °C.
7. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está dentro de 2 órdenes de magnitud de la de la hemoglobina alfa humana, y en donde la reactividad del NO de la proteína H-NOX es al menos 10 veces menor que la de la hemoglobina alfa humana.
8. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la constante de disociación del O₂ de la proteína H-NOX está entre 50 nM y 50 μM a 20 °C.
9. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la reactividad del NO de la proteína H-NOX es inferior a 1 s⁻¹ a 20 °C.
10. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la k_{dis} para el oxígeno de la proteína H-NOX está entre 0,01 s⁻¹ y 200 s⁻¹ a 20 °C.
11. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el bolsillo distal incluye los restos Thr4, Ile5, Thr8, Trp9, Trp67, Asn74, Ile75, Phe78, Phe82, Tyr140 y Leu 144 de H-NOX de *T. tengcongensis*, de acuerdo con la SEQ ID NO: 8.
12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11, en la que la proteína H-NOX es L144F de *T. tengcongensis*.
13. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde la proteína H-NOX no se selecciona del grupo que consiste en:
 - (a) H-NOX W9F de *T. tengcongensis*;
 - (b) H-NOX W9F/Y140L de *T. tengcongensis*;
 - (c) GCY-35 de *C. elegans*; y
 - (d) H-NOX F78Y/Y140L de *T. tengcongensis*.
14. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición es adecuada para inyección intravenosa.
15. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde- la composición comprende adicionalmente un hidrato de carbono, un antioxidante, un agente quelante y/o un conservante.



Modelo de homología de $\beta 1$ de *Homo sapiens*

H-NOX de *T. tengcongensis*

Fig.1

Fig. 1A

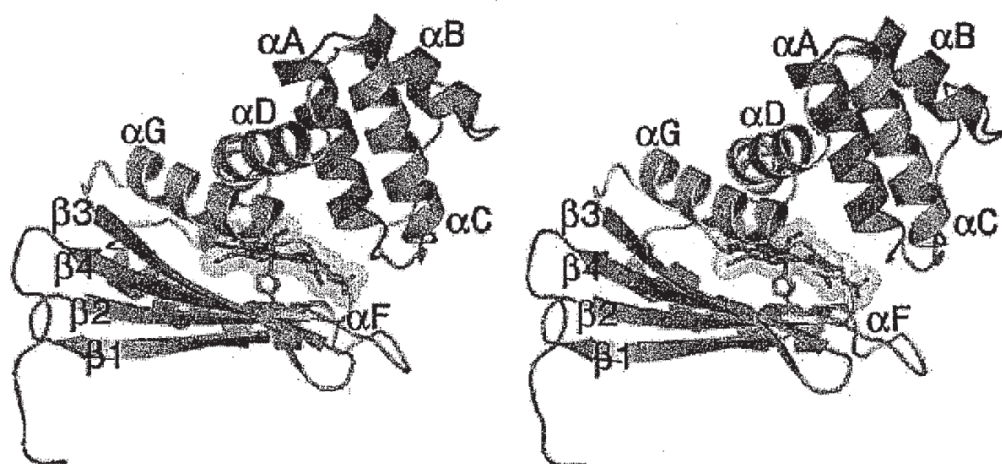
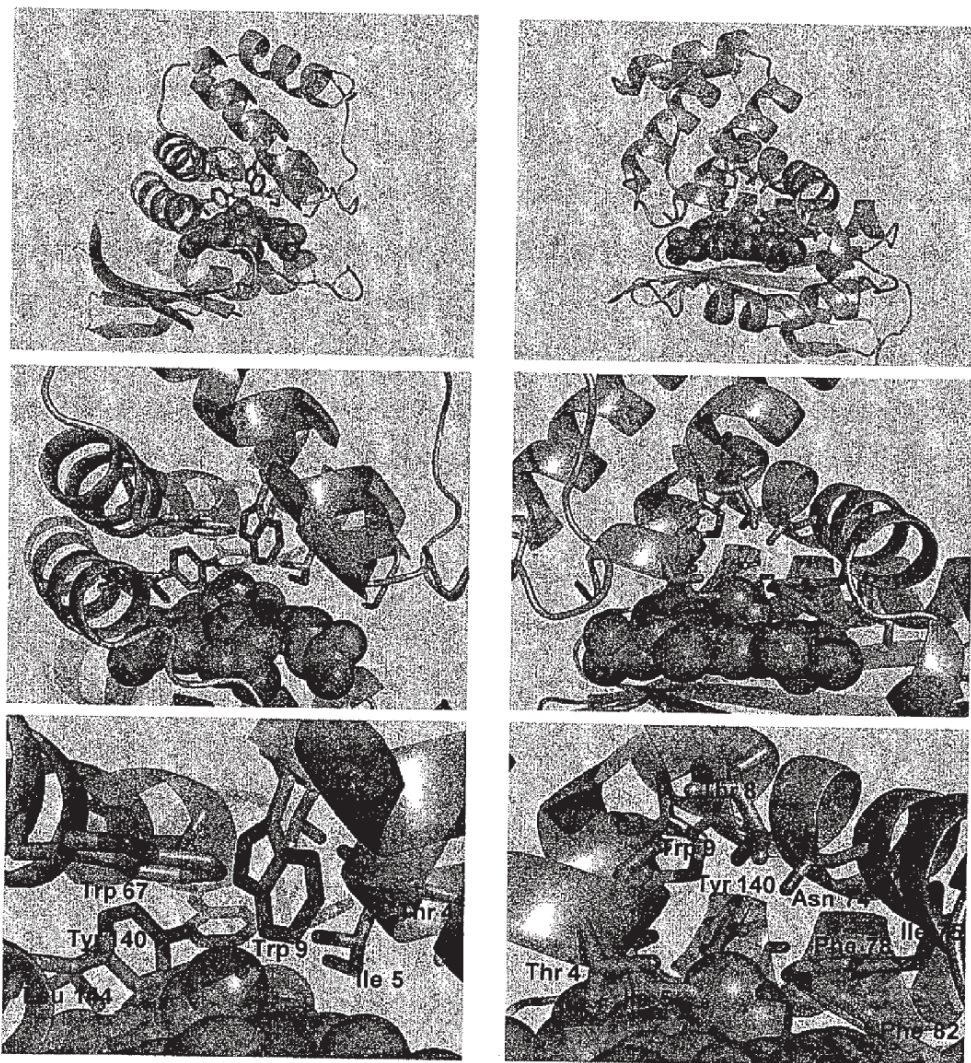


Figura 1B



Figuras 1C-1H

Fig. 2 Ejemplos de H-NOX de unión a oxígeno

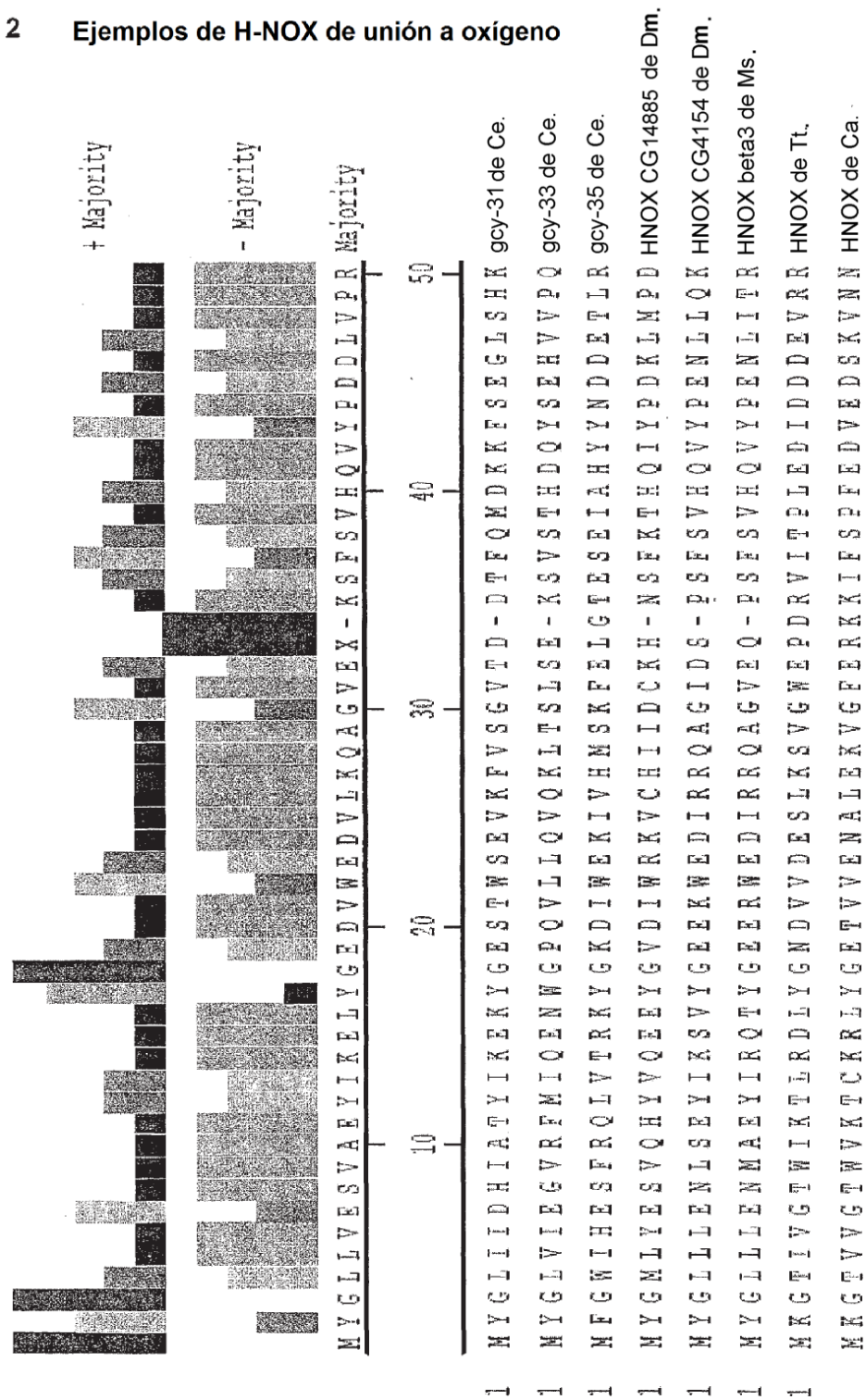


Fig. 2 (continuación)

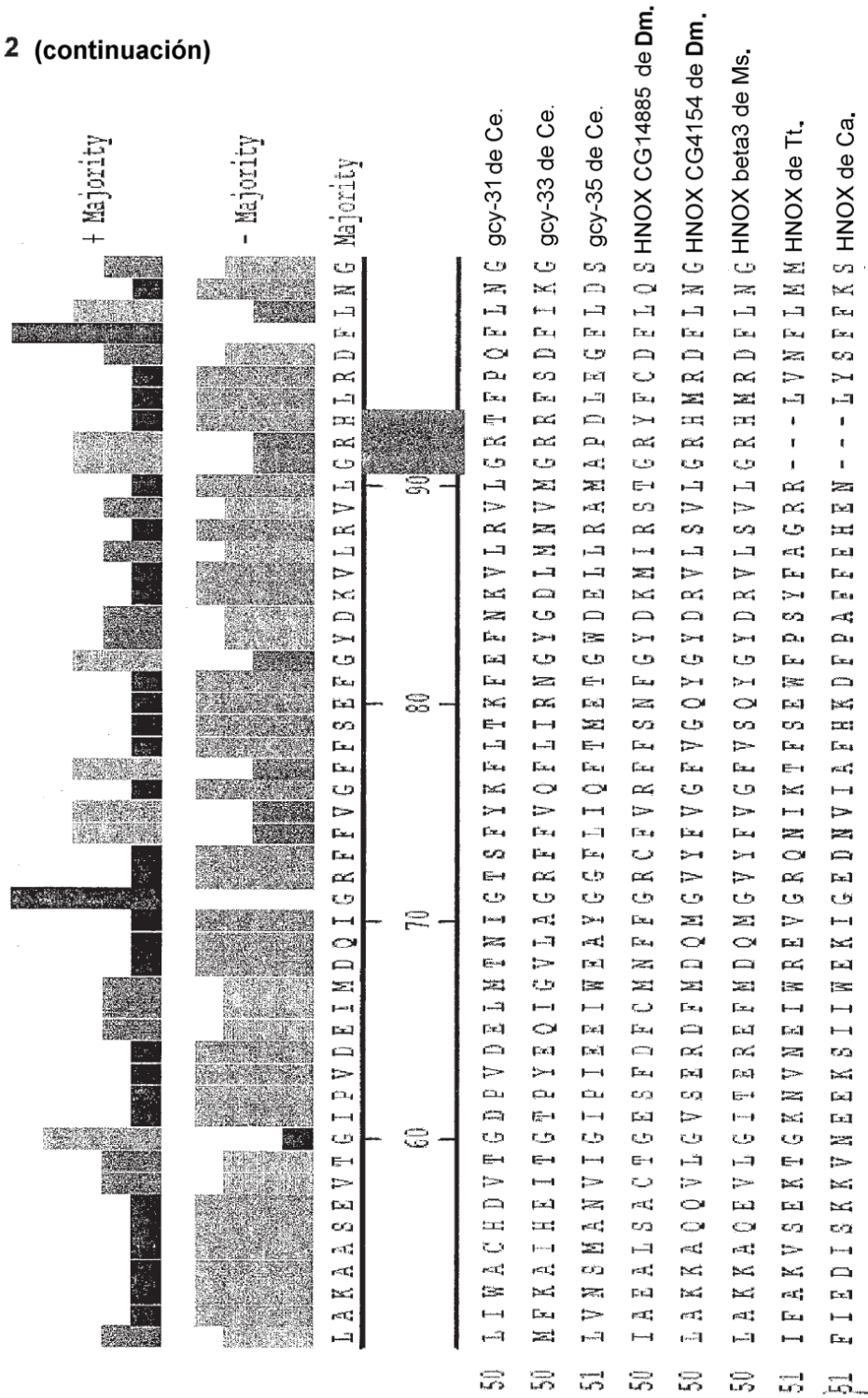


Fig. 2 (continuación)

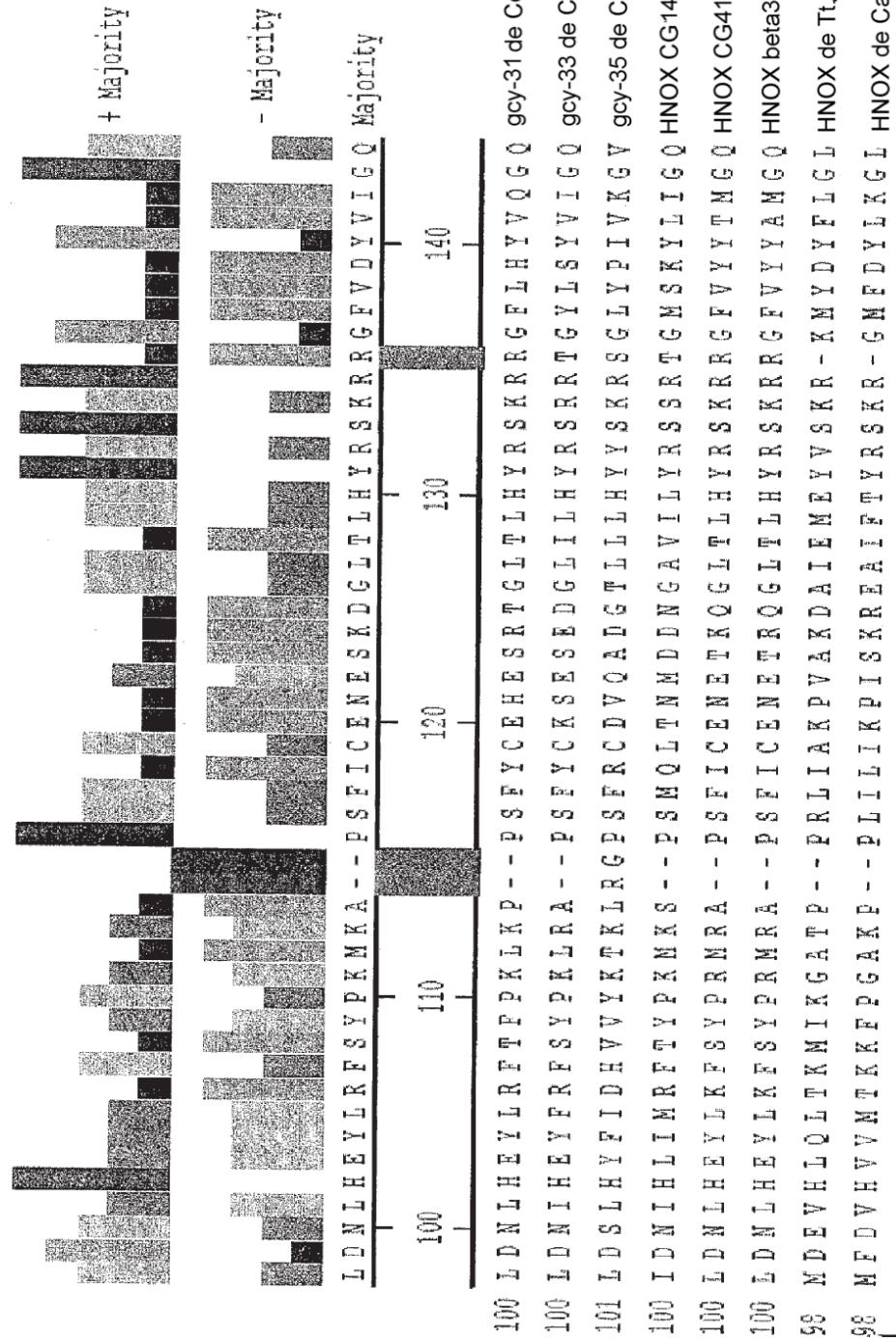


Fig. 2 (continuación)

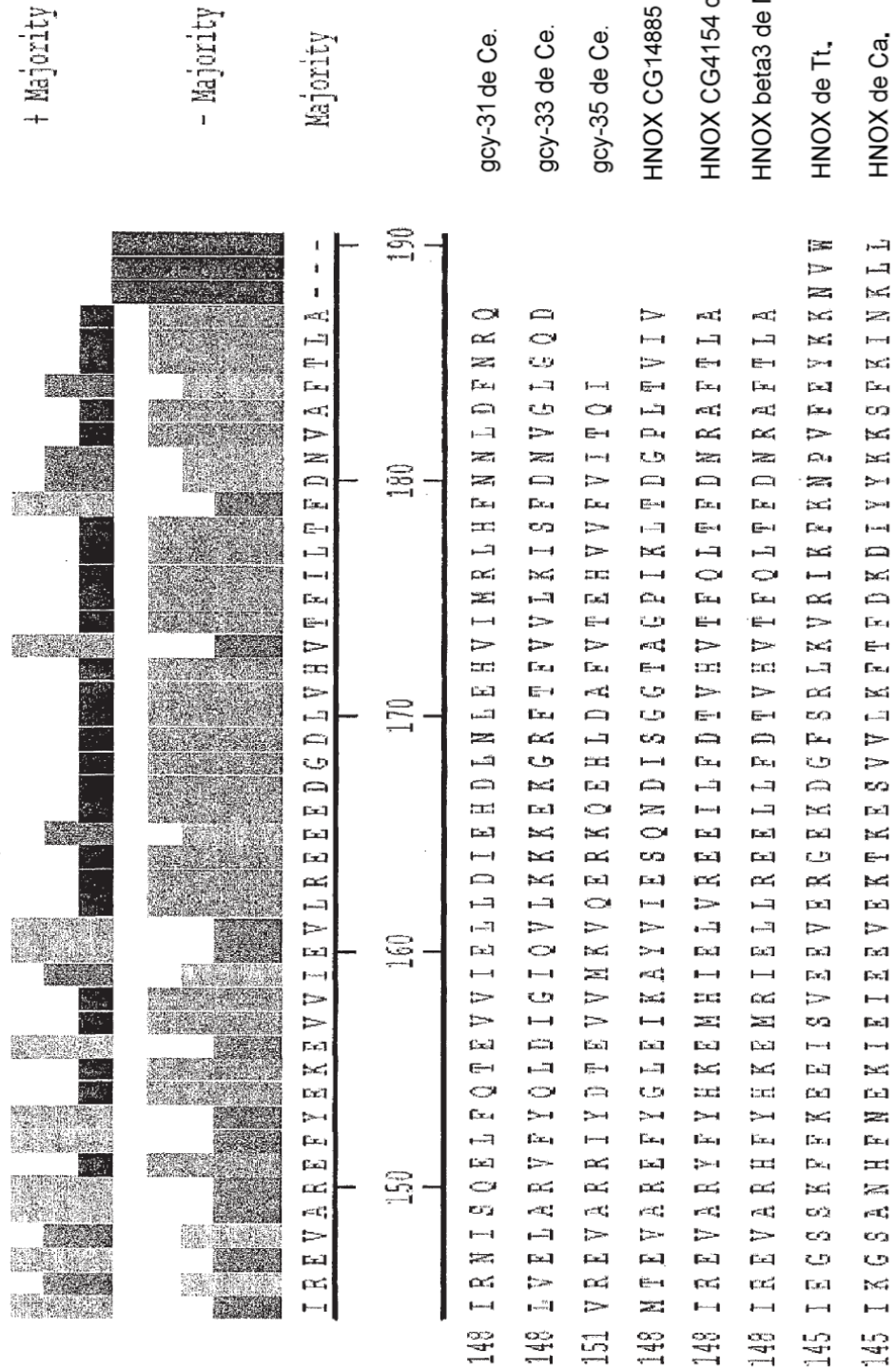


Fig. 3A Ejemplos de H-NOX que no se unen a NO

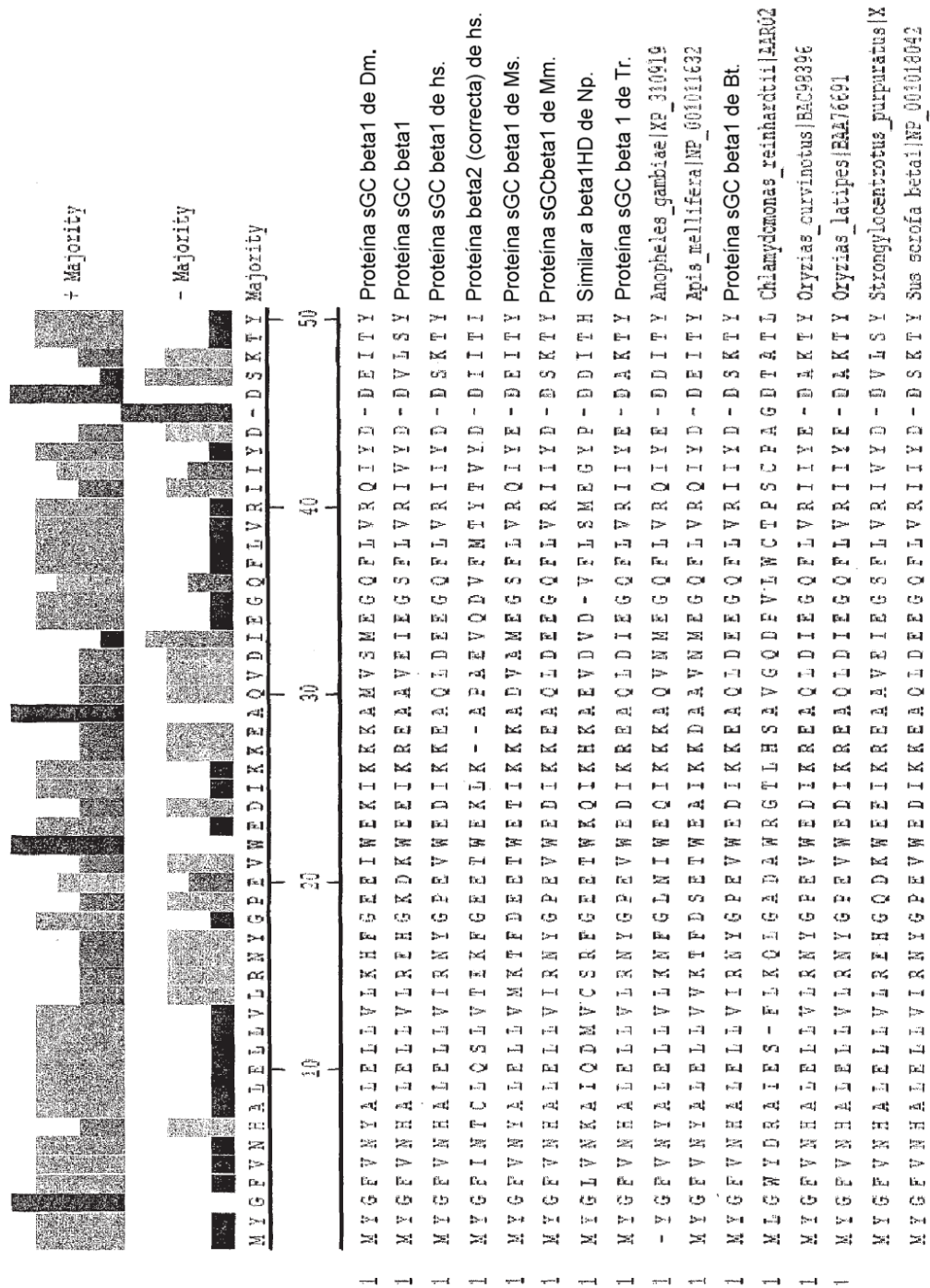


Fig. 3B

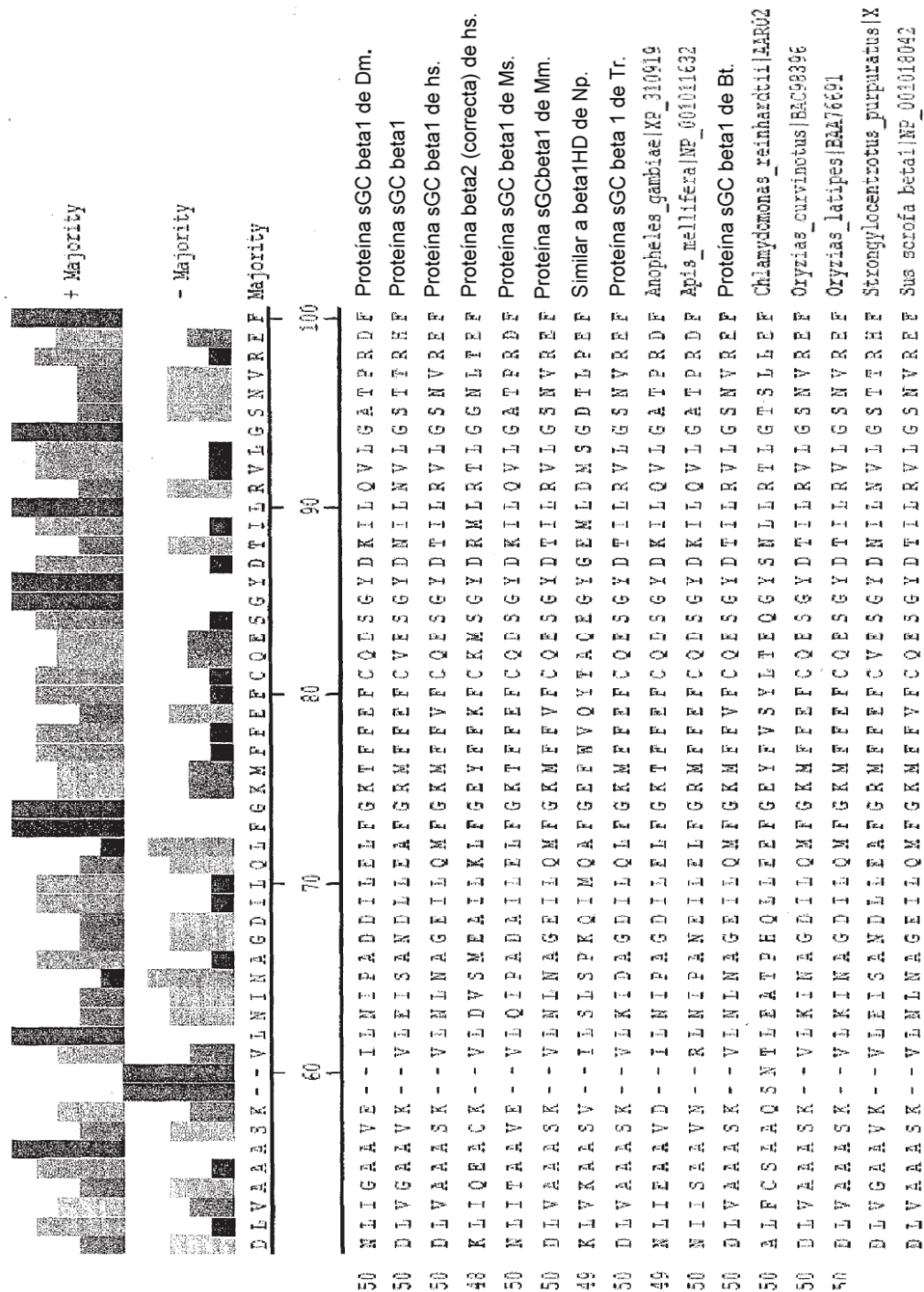


Fig. 3C

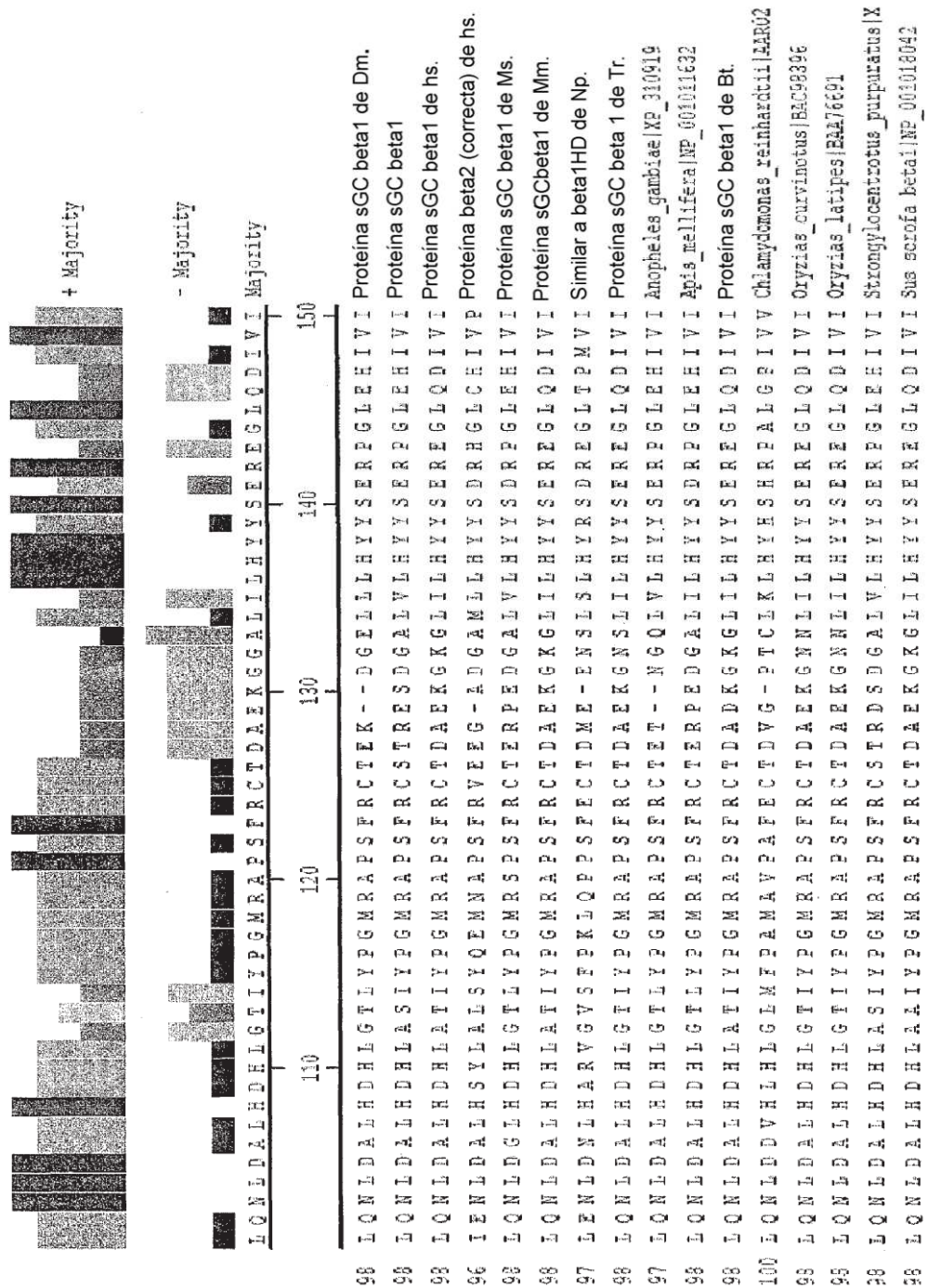


Fig. 3D

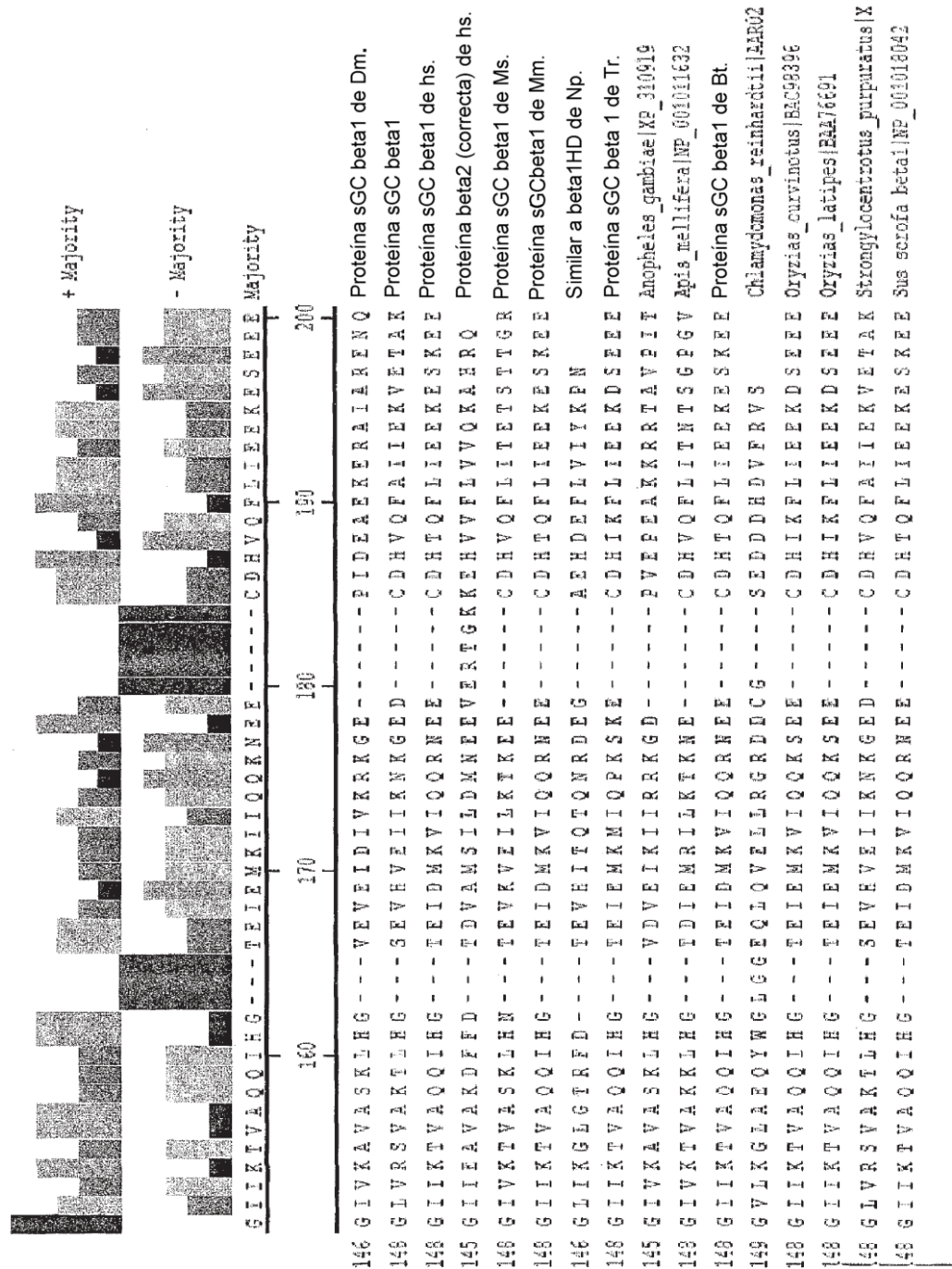


Fig. 4A Ejemplos de H-NOX de unión a oxígeno y NO

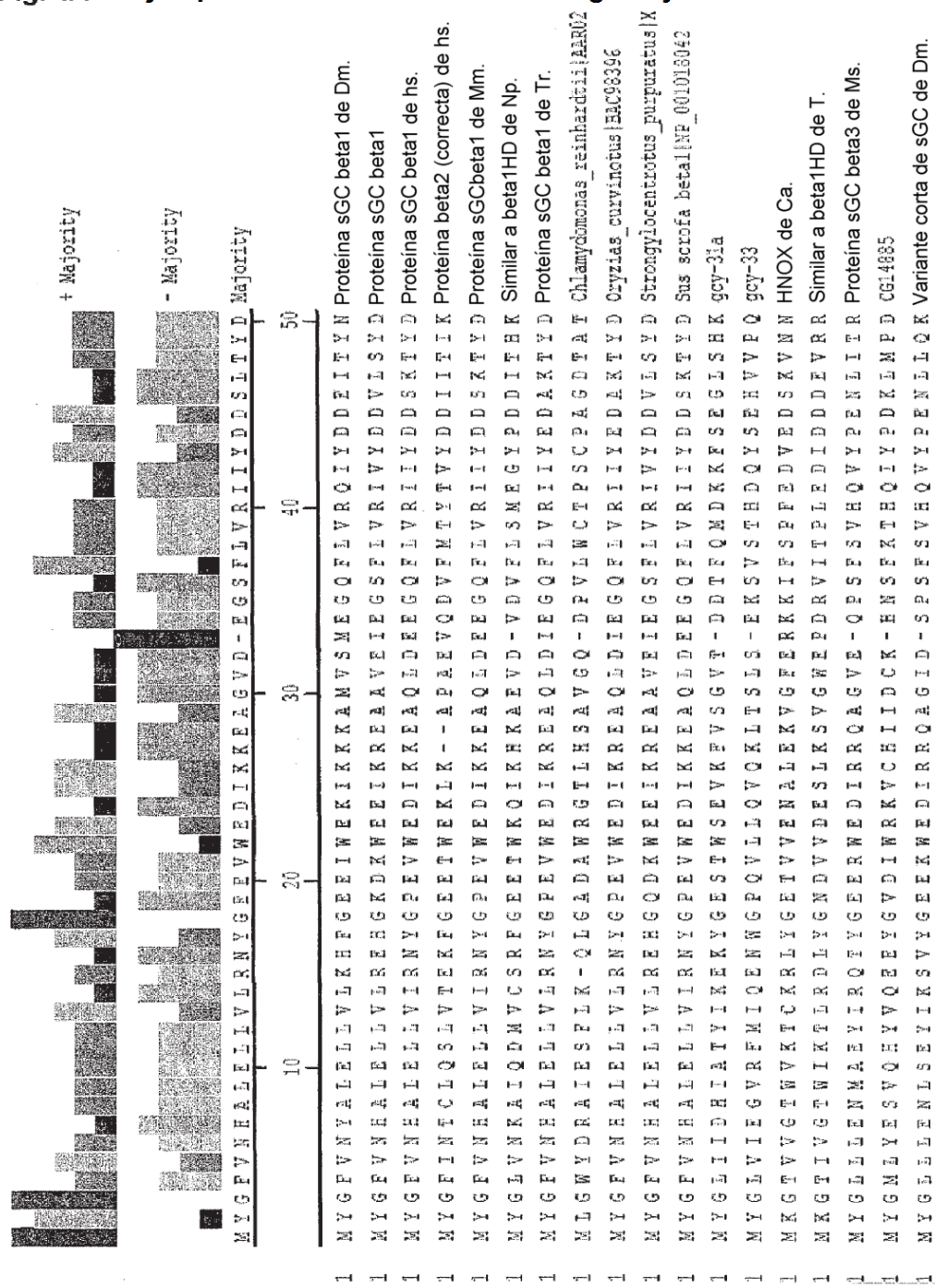


Fig. 4B

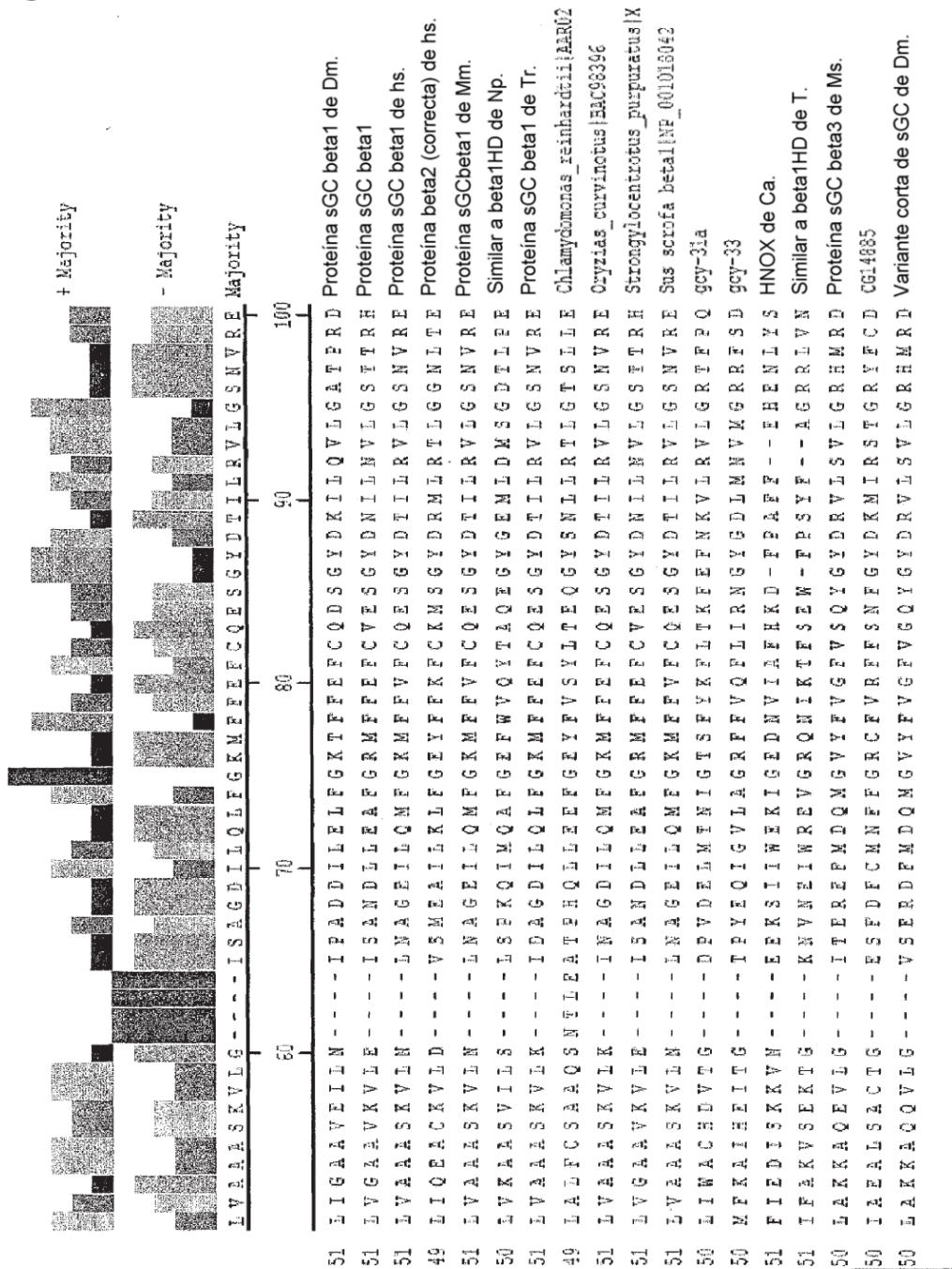


Fig. 4C

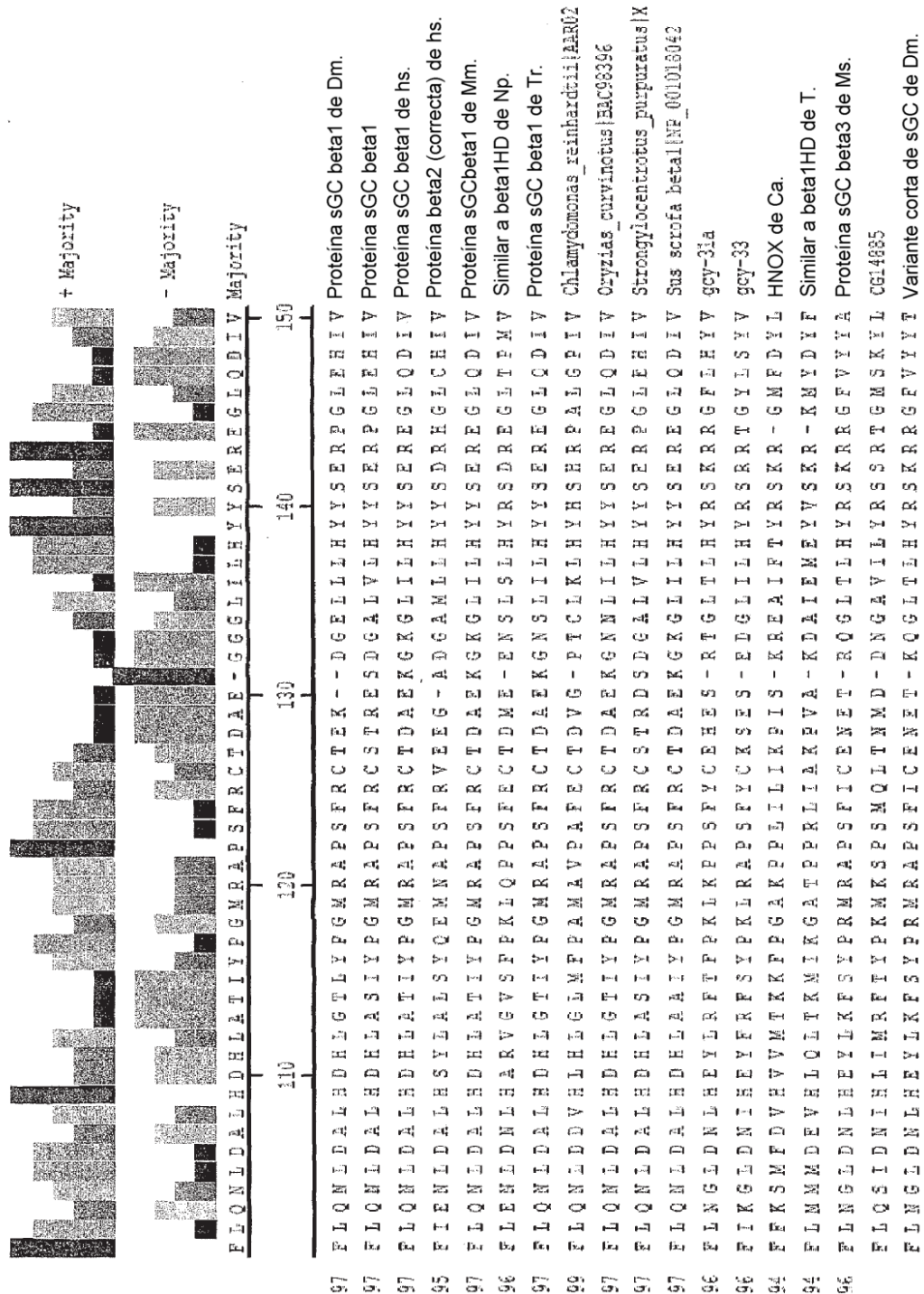


Fig. 4D

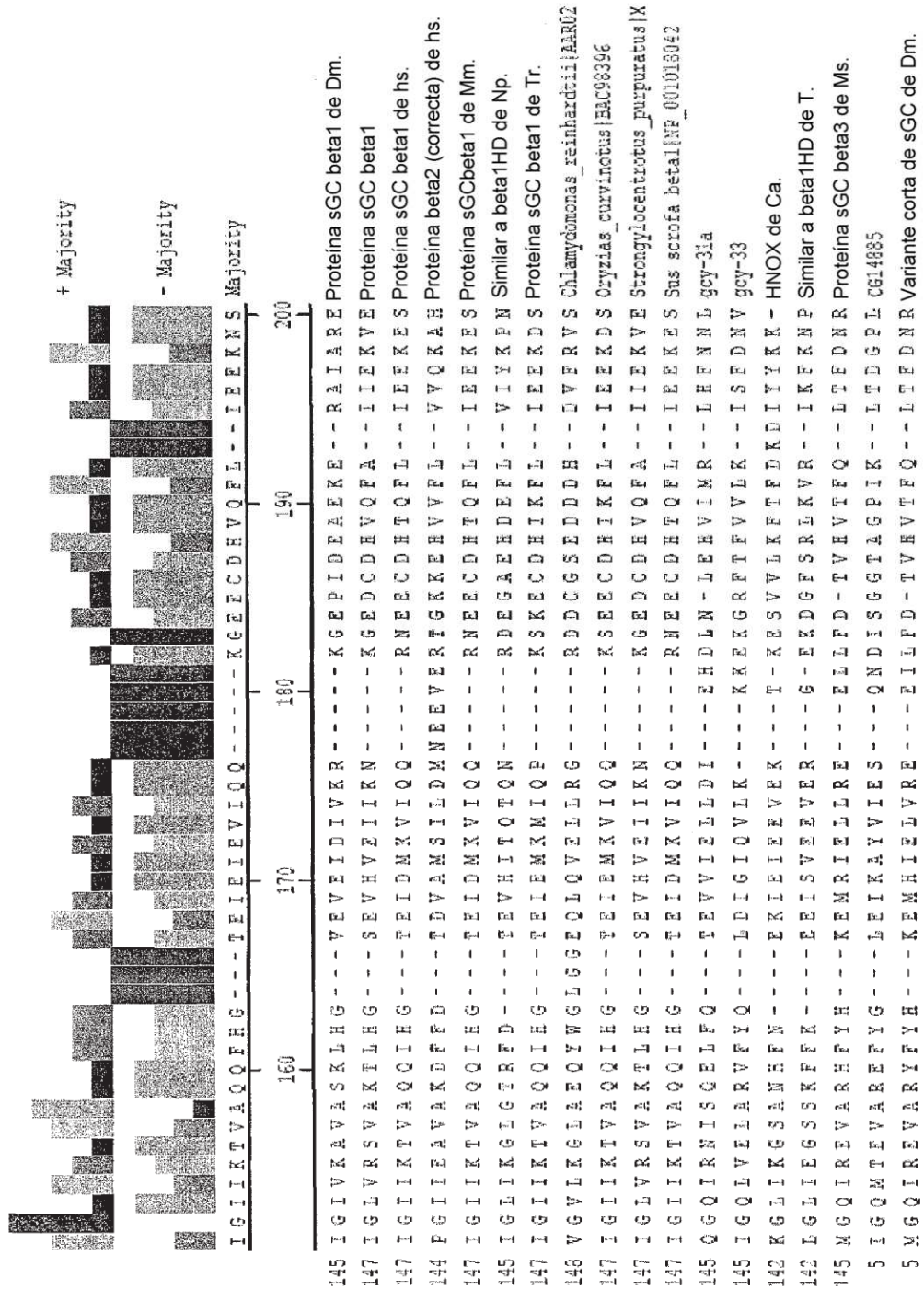
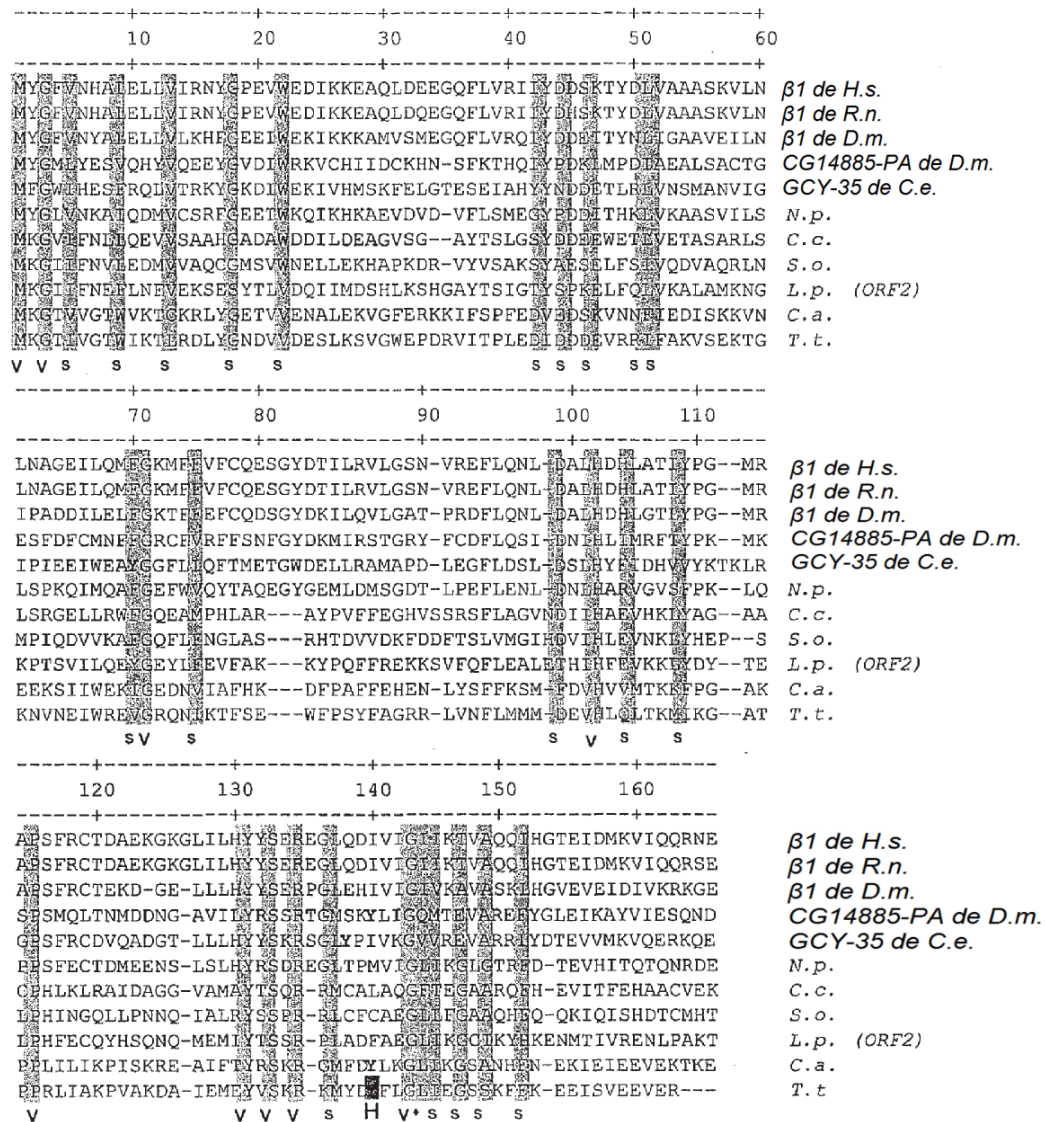


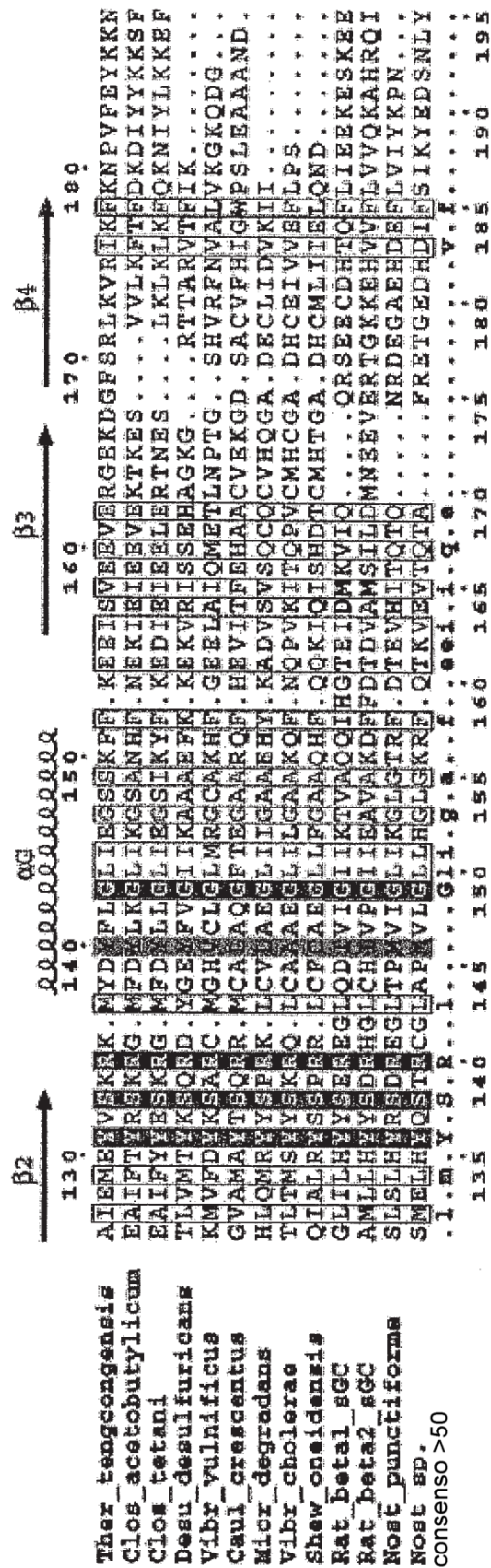
Figura 5A



[illegible]

	B1	
	→	
	120	
	110	
	100	
	90	
	80	
	70	
	60	
	50	
	40	
	30	
	20	
	10	
	0	
	-10	
	-20	
	-30	
	-40	
	-50	
	-60	
	-70	
	-80	
	-90	
	-100	
	-110	
	-120	
	-130	
	-140	
	-150	
	-160	
	-170	
	-180	
	-190	
	-200	
	-210	
	-220	
	-230	
	-240	
	-250	
	-260	
	-270	
	-280	
	-290	
	-300	
	-310	
	-320	
	-330	
	-340	
	-350	
	-360	
	-370	
	-380	
	-390	
	-400	
	-410	
	-420	
	-430	
	-440	
	-450	
	-460	
	-470	
	-480	
	-490	
	-500	
	-510	
	-520	
	-530	
	-540	
	-550	
	-560	
	-570	
	-580	
	-590	
	-600	
	-610	
	-620	
	-630	
	-640	
	-650	
	-660	
	-670	
	-680	
	-690	
	-700	
	-710	
	-720	
	-730	
	-740	
	-750	
	-760	
	-770	
	-780	
	-790	
	-800	
	-810	
	-820	
	-830	
	-840	
	-850	
	-860	
	-870	
	-880	
	-890	
	-900	
	-910	
	-920	
	-930	
	-940	
	-950	
	-960	
	-970	
	-980	
	-990	
	-1000	
	-1010	
	-1020	
	-1030	
	-1040	
	-1050	
	-1060	
	-1070	
	-1080	
	-1090	
	-1100	
	-1110	
	-1120	
	-1130	
	-1140	
	-1150	
	-1160	
	-1170	
	-1180	
	-1190	
	-1200	
	-1210	
	-1220	
	-1230	
	-1240	
	-1250	
	-1260	
	-1270	
	-1280	
	-1290	
	-1300	
	-1310	
	-1320	
	-1330	
	-1340	
	-1350	
	-1360	
	-1370	
	-1380	
	-1390	
	-1400	
	-1410	
	-1420	
	-1430	
	-1440	
	-1450	
	-1460	
	-1470	
	-1480	
	-1490	
	-1500	
	-1510	
	-1520	
	-1530	
	-1540	
	-1550	
	-1560	
	-1570	
	-1580	
	-1590	
	-1600	
	-1610	
	-1620	
	-1630	
	-1640	
	-1650	
	-1660	
	-1670	
	-1680	
	-1690	

Figura 5B
(continuación)



Figuras 6A y 6B

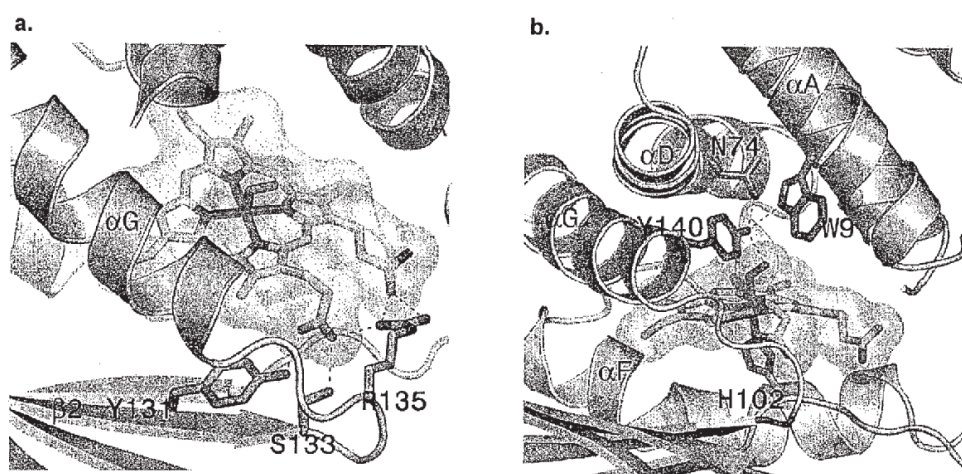


Figura 7

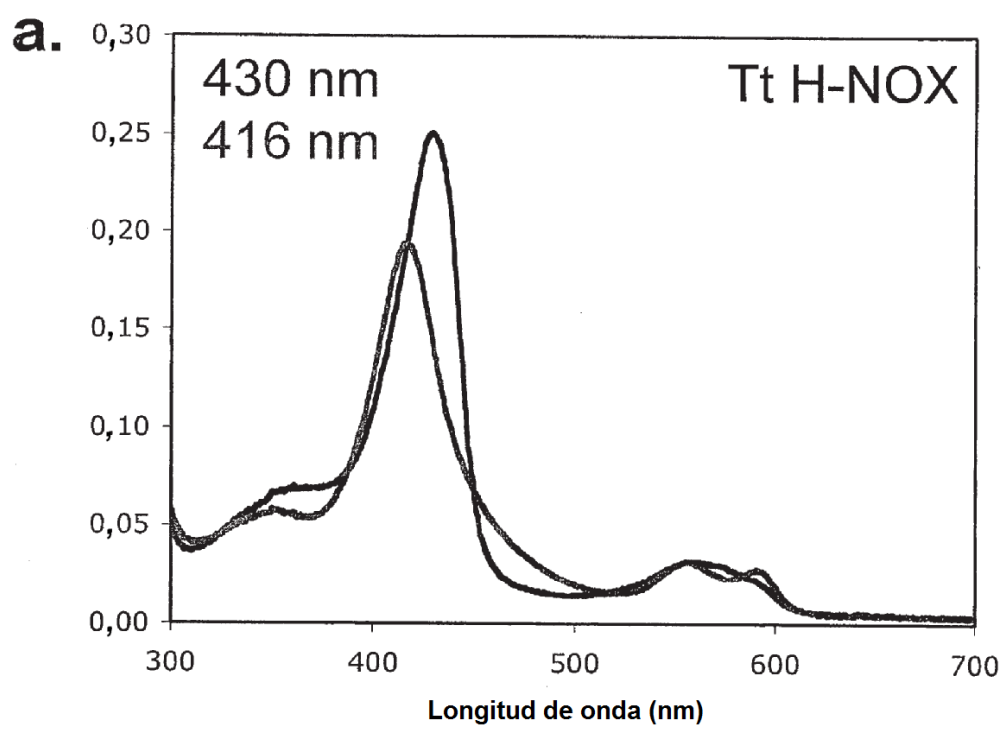


Figura 7 (continuación)

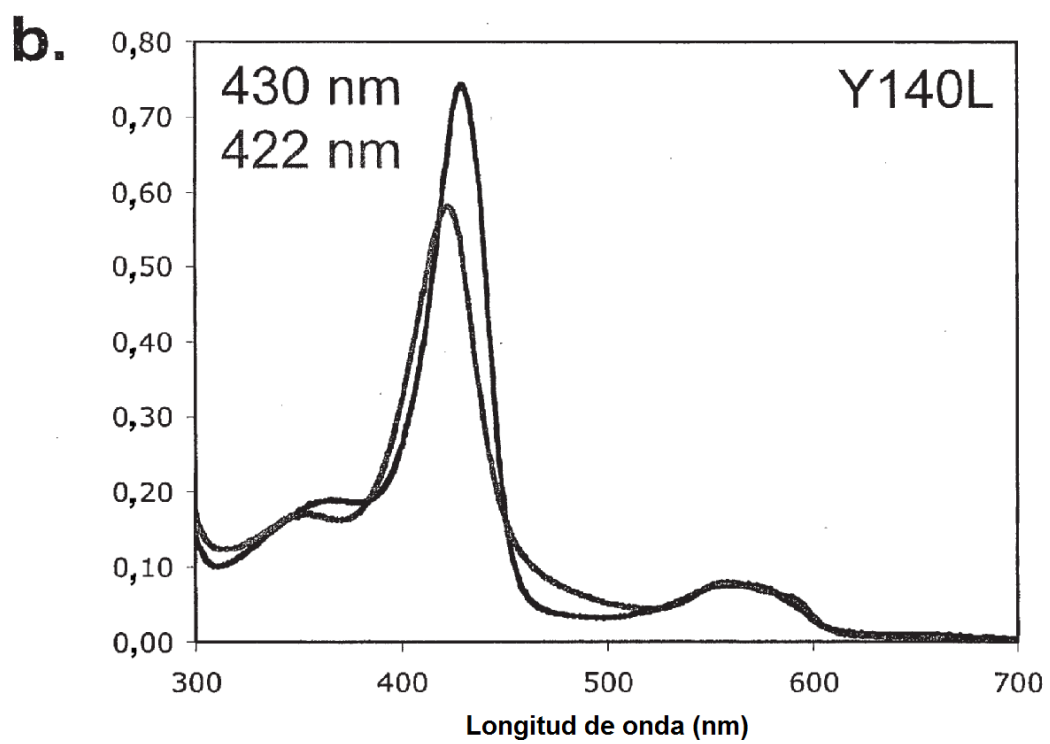


Figura 7 (continuación)

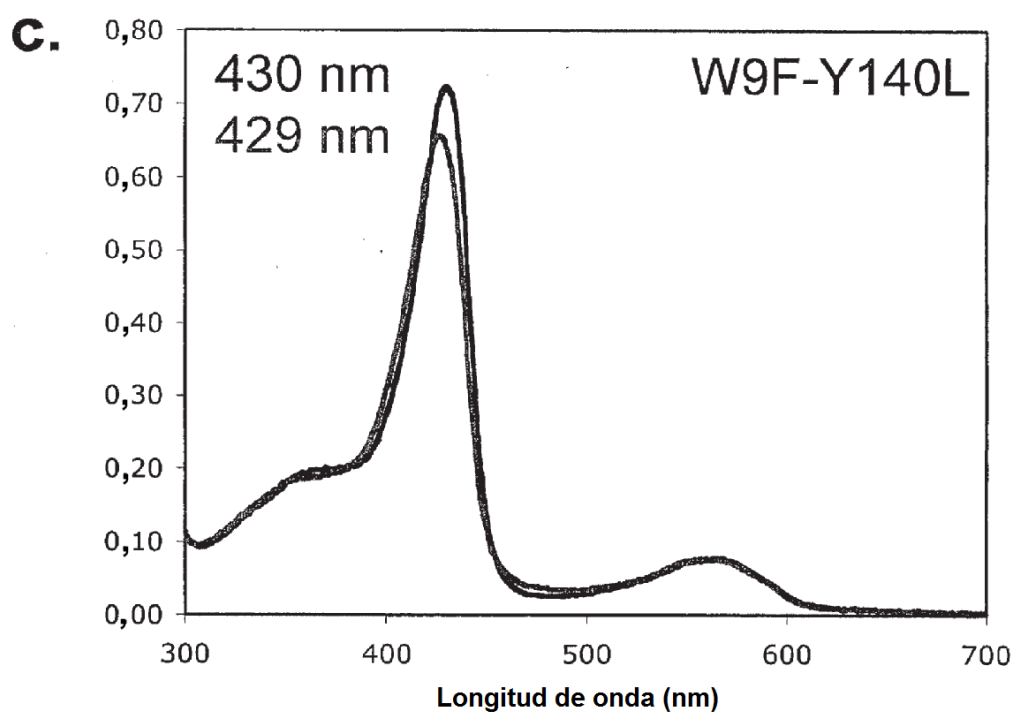


Figura 7 (continuación)

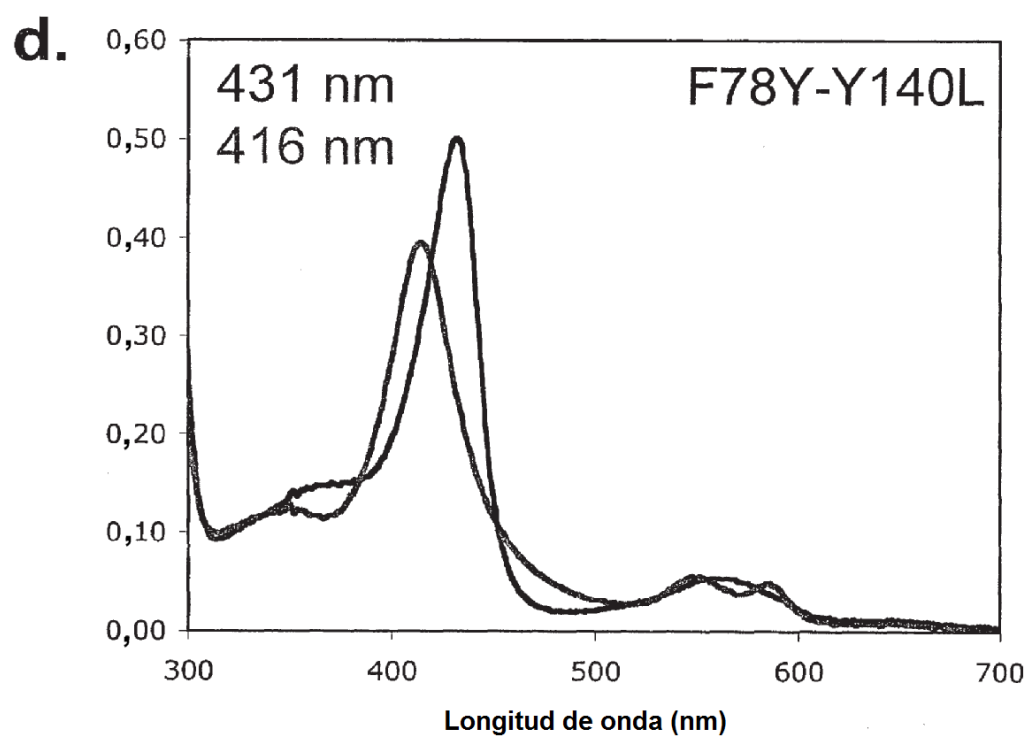


Figura 7 (continuación)

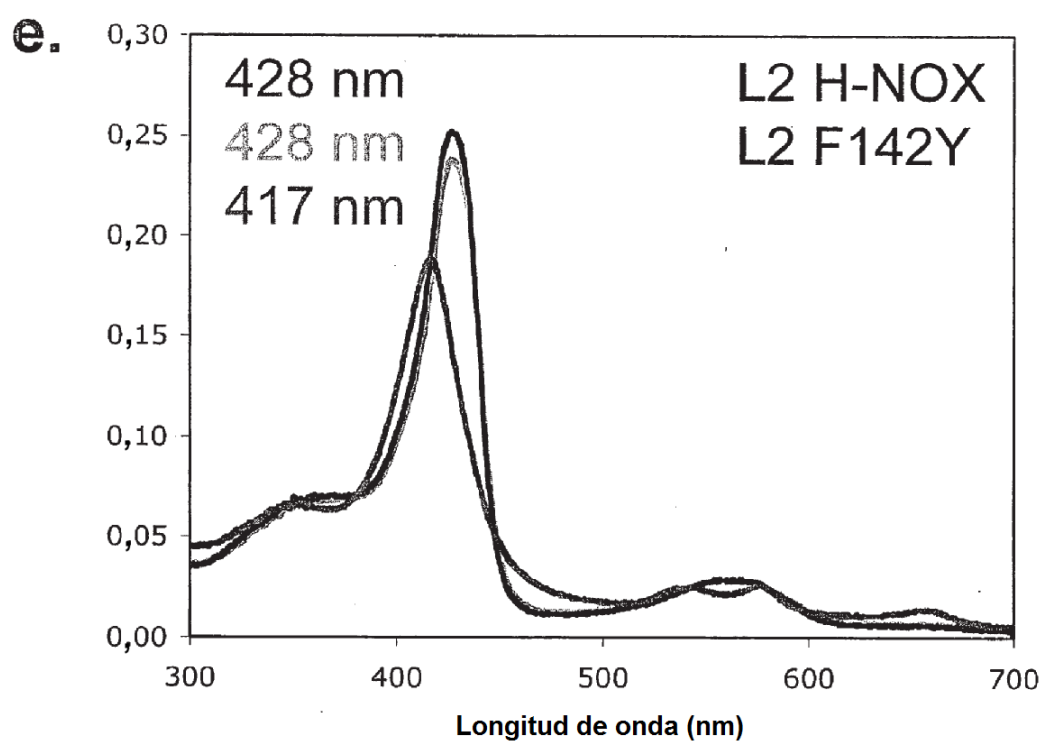
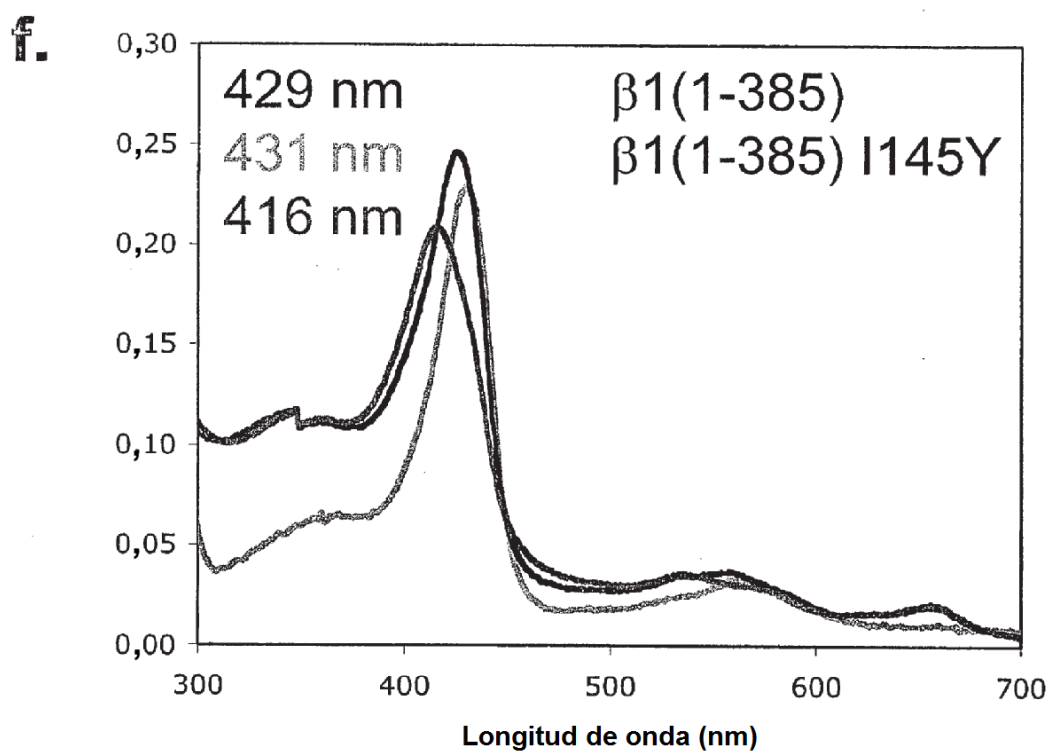


Figura 7 (continuación)



Secuencias de H-NOX mutante y la H-NOX WT parental

NUCLEÓTIDOS seguidos de AMINOÁCIDOS

5 H-NOX de *Thermoanaerobacter tengcongensis*

Tt. WT

(SEQ ID NO:53)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:54)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLKSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGQRNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tt. Y140F

(SEQ ID NO:55)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTTCTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:56)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLKSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGQRNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

FIG. 8A

Tl. Y140L

(SEQ ID NO:57)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATCTTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:58)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTSEWFPSTFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDLFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. Y140H

(SEQ ID NO:59)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATCACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:60)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTSEWFPSTFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDHLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. Y140A

(SEQ ID NO:61)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATGCCTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:62)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTSEWFPSTFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDAFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

FIG. 8B

Tl. W9F

(SEQ ID NO:63)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATTTATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:64)

MKGTIVGTFIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKINVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. W9F/Y140L

(SEQ ID NO:65)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATTTATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTTTTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:66)

MKGTIVGTFIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKINVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDFFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. W9F/Y140H

(SEQ ID NO:67)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATTTATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATCACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:68)

MKGTIVGTFIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKINVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDHFGLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

FIG. 8C

Tl. W9E-N74A

(SEQ ID NO:69)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATTTATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGGCAATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGTAGTGA

(SEQ ID NO:70)

MKGTIVGTFIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQAIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. W9Y

(SEQ ID NO:71)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATACATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGTAGTGA

(SEQ ID NO:72)

MKGTIVGTIYKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. W9N

(SEQ ID NO:73)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACAAATATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGTAGTGA

(SEQ ID NO:74)

MKGTIVGTNIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

FIG. 8D

Tl. W9H

(SEQ ID NO:75)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACACACATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAAATTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:76)

MKGTIVGTHIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. 15A

(SEQ ID NO:77)

ATGAAGGGGACAGCAGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAAATTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:78)

MKGTAVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
IWREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. 15L

(SEQ ID NO:79)

ATGAAGGGGACACTTGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAAATTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:80)

MKGTLVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
IWREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

FIG. 8E

Tl. ISL-P115A

(SEQ ID NO:81)

ATGAAGGGGACACTTGTCTGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTGCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:82)

MKGTLVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKKNVNE
IWREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPARLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. P115A

(SEQ ID NO:83)

ATGAAGGGGACAATCGTCTGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTGCCAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:84)

MKGTLVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPARLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFE

Tl. N74E

(SEQ ID NO:85)

ATGAAGGGGACAATCGTCTGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGGAAATAAAAACTTTAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATTGA

(SEQ ID NO:86)

MKGTLVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEMEY
VSKRKMYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFEYKKN

FIG. 8F

Tl. N74A/Y140H

(SEQ ID NO:87)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGGCCATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATCACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATTGA

(SEQ ID NO:88)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQAIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYDHFLLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFYKKN

Tl. R135Q-His6

(SEQ ID NO:89)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAACAGAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATCTCGAGCACCACCACCACCACCCTGA

(SEQ ID NO:90)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKQKMYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFYKKNLEHHHHHH

FIG. 8G

TL N74A

(SEQ ID NO:91)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGGCCATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTATAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATTGA

(SEQ ID NO:92)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGQRQAIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIFKKNPVFEYKKN

TL N74A-His6

(SEQ ID NO:93)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGGCCATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTATAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTTCAGTGGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATCTCGAGCACCACCACCACCACCCTGA

(SEQ ID NO:94)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGQRQAIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIFKKNPVFEYKKNLEHHHHHHH

FIG. 8H

Tl. W9N

(SEQ ID NO:95)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACAAATATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTCAAGTGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATTGA

(SEQ ID NO:96)

MKGTIVGTNIKTLRDLYGNDVVDESLSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIFKKNPVFEYKKN

Tl. W9H

(SEQ ID NO:97)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACACATATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTTGCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTCAAGTGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATTGA

(SEQ ID NO:98)

MKGTIVGTHIKTLRDLYGNDVVDESLSVGWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSEWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIFKKNPVFEYKKN

FIG. 8I

TL N74H

(SEQ ID NO:99)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGCATATAAAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTCAAGTGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGTAGTATAAGAAA
AATTGA

(SEQ ID NO:100)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKKNVNEI
WREVGQRHKTFSWFPSYFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFNPFVFEYKKN

TL I75F

(SEQ ID NO:101)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACTTCAAACTTTCAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTTTAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTTCAAGGAAGAAATTTCAAGTGAAGAGGTGCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGTAGCACCACCAC
CACCACCACTGA

(SEQ ID NO:102)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKKNVNEI
WREVGQRNFKTFSWFPSYFAGRRLVNFLMMMDDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFNPFVFEHHHHHH

FIG. 8J

Tx. L144F

(SEQ ID NO:103)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGTTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTCACTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGCACCACCAC
CACCACCACTGA

(SEQ ID NO:104)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGFIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFEHHHHHH

Tx. WT-His6

(SEQ ID NO:105)

ATGAAGGGGACAATCGTCGGGACATGGATAAAGACCCTGAGGGACCTTTACGGGAATGATGT
GGTTGATGAATCTTTAAAAAGTGTGGGTGGGAACCAGATAGGGTAATTACACCTCTGGAGG
ATATTGATGACGATGAGGTTAGGAGAATTTTGTCTAAGGTGAGTGAAAAAACTGGTAAAAAT
GTCAACGAAATATGGAGAGAGGTAGGAAGGCAGAACATAAAAACTTTAGCGAATGGTTTCC
CTCCTATTTTGCAGGGAGAAGGCTAGTGAATTTTAAATGATGATGGATGAGGTACACCTACA
GCTTACCAAGATGATAAAAGGAGCCACTCCTCCAAGGCTTATTGCAAAGCCTGTTGCAAAAG
ATGCCATTGAAATGGAGTACGTTTCTAAAAGAAAGATGTACGATTACTTTTAGGGCTTATAG
AGGGTAGTTCTAAATTTTCAAGGAAGAAATTTCACTGGAAGAGGTCGAAAGAGGCGAAAAA
GATGGCTTTTCAAGGCTAAAAGTCAGGATAAAATTTAAAAACCCCGTTTTTGAGTATAAGAAA
AATCTCGAGCACCACCACCACCACCCTGA

(SEQ ID NO:106)

MKGTIVGTWIKTLRDLYGNDVVDESLSVSWEPDRVITPLEDIDDDEVRRIFAKVSEKTGKNVNEI
WREVGRQNIKTFSWFPSYFAGRRLVNFLMMMDEVHLQLTKMIKGATPPRLIAKPVAKDAIEME
YVSKRKMYYDYFLGLIEGSSKFFKEEISVEEVERGEKDGFSRLKVRIKFKNPVFEYKKNLEHHHHHH

FIG. 8K

ORF2 de *Legionella pneumophila*

L2 WT

(SEQ ID NO:107)

ATGATGTCTATGAAAGGAATCATATTCAACGAATTTCTCAATTTGTAGAAAAAAGTGAATCC
TACACCCTGGTAGATCAAAATTATTATGGATAGTCATTTGAAGTCCCATGGTGCCTACACGTCT
ATCGGTACATACTCTCCCAAAGAATTATTCAATTGGTTAAAGCGCTTGCTATGAAAAATGGC
AAACCAACATCAGTGATTTTACAAGAATATGGTGAGTATTTGTTTGAGGTTTTTGCAAAAAAA
TATCCTCAATTTTTCAGGGAAAAAAAGTCGGTGTTTCAATTTTGGGAAGCGCTTGAAACACAT
ATTCATTTTGAAGTGAAAAAATTGTATGACTATACTGAACTACCCCATTTTGAATGCCAATAT
CACAGTCAAAATCAAATGGAAATGATTTACACTTCTTCGCGTCCTTTGGCCGATTTTGCAGAA
GGTTTAATAAAAAGGTTGTATTAATATCATAAAGAAAACATGACTATTGTTTCGTGAAAAATCTG
CCTGCAAAAACAGGCTTTAAGGTAAGATTTGTATTAACAAAAGGCGATCCTGATGAGTGA

(SEQ ID NO:108)

MMSMKGIIFNEFLNFVEKSESYTLVDQIIMDSHLKSHGAYTSIGTYSPELQFLVKALAMKNGKPT
SVILQEYGEYLFVFAKKYPQFFREKKSVFQFLEALETHIHFEVKKLYDYTELPHFECQYHSQNQM
EMIYTSRPLADFAEGLIKGCIKYHKNMTIVRENLPKATGFKVRFVLTGDPDE

L2 F142Y

(SEQ ID NO:109)

ATGATGTCTATGAAAGGAATCATATTCAACGAATTTCTCAATTTGTAGAAAAAAGTGAATCC
TACACCCTGGTAGATCAAAATTATTATGGATAGTCATTTGAAGTCCCATGGTGCCTACACGTCT
ATCGGTACATACTCTCCCAAAGAATTATTCAATTGGTTAAAGCGCTTGCTATGAAAAATGGC
AAACCAACATCAGTGATTTTACAAGAATATGGTGAGTATTTGTTTGAGGTTTTTGCAAAAAAA
TATCCTCAATTTTTCAGGGAAAAAAAGTCGGTGTTTCAATTTTGGGAAGCGCTTGAAACACAT
ATTCATTTTGAAGTGAAAAAATTGTATGACTATACTGAACTACCCCATTTTGAATGCCAATAT
CACAGTCAAAATCAAATGGAAATGATTTACACTTCTTCGCGTCCTTTGGCCGATTATGCGGAA
GGTTTAATAAAAAGGTTGTATTAATATCATAAAGAAAACATGACTATTGTTTCGTGAAAAATCTG
CCTGCAAAAACAGGCTTTAAGGTAAGATTTGTATTAACAAAAGGCGATCCTGATGAGTGA

(SEQ ID NO:110)

MMSMKGIIFNEFLNFVEKSESYTLVDQIIMDSHLKSHGAYTSIGTYSPELQFLVKALAMKNGKPT
SVILQEYGEYLFVFAKKYPQFFREKKSVFQFLEALETHIHFEVKKLYDYTELPHFECQYHSQNQM
EMIYTSRPLADYAEGLIKGCIKYHKNMTIVRENLPKATGFKVRFVLTGDPDE

FIG. 8L

L2 F9W-F142Y

(SEQ ID NO:111)

ATGATGTCTATGAAAGGAATCATATGGAACGAATTTCTCAATTTGTAGAAAAAAGTGAATCC
TACACCCTGGTAGATCAAATTATTATGGATAGTCATTTGAAGTCCCATGGTGCCTACACGTCT
ATCGGTACATACTCTCCCAAAGAATTATTTCAATTGGTTAAAGCGCTTGCTATGAAAAATGGC
AAACCAACATCAGTGATTTTACAAGAATATGGTGAGTATTTGTTTGAGGTTTTGCAAAAAA
TATCCTCAATTTTTCAGGGAAAAAAGTCGGTGTTTCAATTTTGAAGCGCTTGAAACACAT
ATTCATTTTGAAGTAAAAAATTGTATGACTATACTGAACTACCCCATTTTGAATGCCAATAT
CACAGTCAAAATCAAATGGAAATGATTACACTTCTTCGCGTCCTTTGGCCGATTATGCGGAA
GGTTTAATAAAAGGTTGTATTAAATATCATAAAGAAAAACATGACTATTGTTTCGTGAAAAATCTG
CCTGCAAAAAACAGGCTTTAAGGTAAGATTTGTATTAAACAAAAGGCGATCCTGATGAGTGA

(SEQ ID NO:112)

MMSMKGIWNEFLNFVEKSESYTLVDQIIMDSHLKSHGAYTSIGTYSKELFQLVKALAMKNGKP
TSVILQEYGEYLFVFAKKYPQFFREKKSVMFQFLEALETHIHFEVKKLYDYTELPHFECQYHSQNG
MEMIYTSSRPLADYAEGLIKGCIKYHKNMTIVRENLPKATGFKVRFVLTKGDPDE

ORF1 de *Legionella pneumophila*

LI WT

(SEQ ID NO:113)

ATGAAAGGTATCGTTTTTACCTCCTTAAATGACATGATTATAGAACAATTTGGCATAGAAACC
TGGGACCAACTCGTATCCTCACTAGACCTTCCAAGTGGTGGAAGTTATACAGCAGGCGGCACT
TACTCGGATACAGAATTTAGCAATTGATTAAGGCCATTGCGAAGAGGACCAATCAGCACGCT
TCTGTTTTTTTAGAGGCCCTTTGGTGAATACATGTTTCTTATCTTATCGAGTAAGTGCAGCAATTT
TTTAAAAAAGGACATGACATTAAAAAGAATTTTAAAAAAGCATTGATGGAACAATTCATGTGG
AAGTAGAAAAGTTATACCCAGATGAAACATTACCTACCATTAGCTATGAAGAGCCTGCTGCA
AACCAATTGGTTATGGTGTATCGATCGCATAGAAGACTCTGTCAATTTGCAATGGGGCTCATC
CAGGGAGCAGCGCAACATTTTAAAAAGAAAATTACCATTAAAGCAGACTCACTGCATGTTAAA
AAAAGATGATCATTGTCGTTTGGAGATTACCTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:114)

MKGIVFTSLNDMIEQFGIETWDQLVSSLDLPSSGGSYTAGGTYSDFEQQLIKAIKRTNQHASVFL
EAFGEYMFPISSKCAIFLKKDMTLKEFLKSIDGTIHVEVEKLYPDETLPTISYEPAANQLVMVYR
SHRRLCHFAMGLIQGAAQHFKKKITIKQTHCMLKKDDHCRLEITFE

FIG. 8M

L1 F142Y

(SEQ ID NO:115)

ATGAAAGGTATCGTTTTTACCTCCTTAAATGACATGATTATAGAACAATTTGGCATAGAAACC
TGGGACCAACTCGTATCCTCACTAGACCTTCCAAGTGGTGGAAGTTATACAGCAGGCGGCACT
TACTCGGATACAGAATTTTCAGCAATTGATTAAGGCCATTGCGAAGAGGACCAATCAGCACGCT
TCTGTTTTTTTAGAGGCCTTTGGTGAATACATGTTTCCTATCTTATCGAGTAAGTGCAGCAATTTT
TTAAAAAAGGACATGACATTAAGAAGATTTTAAAAAGCATTGATGGAACAATTCATGTGG
AAGTAGAAAAGTTATACCCAGATGAAACATTACCTACCATTAGCTATGAAGAGCCTGCTGCA
AACCAATTGGTTATGGTGTATCGATCGCATAGAAGACTCTGTCATTACGCAATGGGGCTCATC
CAGGGAGCAGCGCAACATTTTAAAAAGAAAATTACCATTAAAGCAGACTCACTGCATGTTAAA
AAAAGATGATCAATTGTCGTTTGGAGATTACCTTTGAGTGA

(SEQ ID NO:116)

MKGIVFTSLNDMIIIEQFGIETWDQLVSSLDLPSSGGSYTAGGTYSDFEQQLIKAIKRTNQHASVFL
EAFGEYMFILSSKCAIFLKKDMLKEFLKSIDGTHIVEVEKLYPDETLPTISYEPAANQLVMVYR
SHRRLCHYAMGLIQGAAQHFKKKITIKQTHCMLKKDDHCRLEITFE

Desulfovibrio desulfuricans

Dd H-NOX(728-899)

(SEQ ID NO:117)

ATGAAGATGCGCGGTATTTTGCCGAAAATATTTATGAATTTTAAAAAGAGATCTATGGGGAT
GACGTGTTTGCTCATGTTTCTAAAACCATGGGCGAGCCTGTCTTCATGCCGGGAAATTCCTACC
CTGATCAGGTGTTGCGCCAGATGGCTGAAATAGTATGCCAGCGCACGGGCGAACAGCCCAAG
TTGTTTTTTGAAAAAGCAGGGCGTGCAAGCCTGCAGGCTTTTAACAGAATGTACAGGCAGTAC
TTTAAAGGGGAAACCCTTAAAGAGTTTCTGCTGGCCATGAATGATATCCACAGGCACCTGACA
AAGGACAATCCCGGCGTACGCCCGCCTAAATTTGAGTATGACGATCAGGGCGATACGCTTGTT
ATGACATATAAGTCGAGAGGGATTACGGAGAATACTTTGTGGGCATCATCAAGGCAGCTGC
GGAGTTTAAAAAGGAAAAAGTGCGTATCAGCTCGGAGCATGCCGGTAAGGGGCGAACAACG
GCAAGGGTTACATTTATTAATGA

(SEQ ID NO:118)

MKMRGILPKIFMNFIEIYGDDVFAHVSKTMGEPVFM PGNSYPDQVLRQMAEIVCQRTGEQPKLF
FEKAGRASLQAFNRMYRQYFKGETLKEFLAMNDIHRHLTKDNPGVRPPKFEYDDQGDTLVMTY
KSQRDYGEYFVGIIKAAAEFKKEKVRISSEHAGKGRRTARVTFIK

FIG. 8N

Dd. Y139L (728-899)

(SEQ ID NO:119)

ATGAAGATGCGCGGTATTTTGGCGAAAAATATTTATGAATTTTATAAAAGAGATCTATGGGGAT
GACGTGTTTGCTCATGTTTCTAAAACCATGGGCGAGCCTGTCTTCATGCCGGGAAATTCCTACC
CTGATCAGGTGTTGCGCCAGATGGCTGAAATAGTATGCCAGCGCACGGGCGAACAGCCCAAG
TTGTTTTTTGAAAAAGCAGGGCGTGCAAGCCTGCAGGCTTTTAACAGAATGTACAGGCAGTAC
TTTAAAGGGGAAACCCTTAAAGAGTTTCTGCTGGCCATGAATGATATCCACAGGCACCTGACA
AAGGACAATCCCGGCGTACGCGCCGCTAAATTTGAGTATGACGATCAGGGCGATACGCTTGTT
ATGACATATAAGTCGAGAGGGATTACGGAGAACTTTTGTGGGCATCATCAAGGCAGCTGC
GGAGTTTAAAAAGGAAAAAGTGCATATCAGCTCGGAGCATGCCGGTAAGGGGCGAACACG
GCAAGGGTTACATTTATTAATGA

(SEQ ID NO:120)

MKMRGILPKIFMNFKEIFYGDDVFAHVSMTMGEVFMPPGNSYPDQVLRQMAEIVCQRTGEQPKLF
FEKAGRASLQAFNRMYRQYFKGETLKEFLAMNDIHRHLTKDNPGRPPKFEYDDQGDTLVMTY
KSQRDYGELFVGIKAAAEFKKEKVRISSEHAGKGRRTARVTFIK

B1 (1-385) de Homo sapiens

Hs. WT (1-385)

(SEQ ID NO:121)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTCAGAAATAAT
ATATGATGACTCCAAACTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTTGCCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCGTGTCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGCAC
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGCACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATATTGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTATGAAGATCTTGACAGATTTGAAGAAAATGGTACCCAGGAATCACGCATCAGCC
CATATACATTCTGCAAAGCTTTTCCTTTTCATATAATATTGACCGGGACCTAGTGGTCACTCA
GTGTGGCAATGCTATATACAGAGTTCTCCCCCAGCTCCAGCCTGGGAATTGCAGCCTTCTGTCT
GTCTTCTCGCTGGTTTCGTCTCATATTGATATTAGTTTCCATGGGATCCTTTCTCACATCAATAC
TGTTTTTTGATTGAGAAGCAAGGAAGGATTGTTGGATGTGGAGAAATTAGAATGTGAGGATG
AACTGACTGGGACTGAGATCAGCTGCTTACGTCTCAAGGGTCAAATGATCTACTTACCTGAAG
CAGATAGCATACTTTTCTATGTTACCAAGTGTGATGAACCTGGACGATTTGACAAGGAGAG
GGCTGTATCTAAGTGACATCCCTCTGCATGATGCCACGCGCATCTTGTCTTTTGGGAGAAC
AATTTAGAGAGGAATACAACTCACCCAAGAACTGGAAATCCTCACTGACAGGCTACAGCTC
ACGTTAAGAGCCCTGGAAGATTGA

(SEQ ID NO:122)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDALHDHLATIYPGMRAPSFRCCTDAEKGGK
LILHYYSEREGLQDIVIGIKTVAQQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRF
EENGTOESRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGNCSLLSVFSLVLRPHIDISFHG
ILSHINTVFVLRSGEGLLDVEKLECEDELGTGEISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRQLTLRALED

FIG. 80

Hs. B1(1-385) I145Y

(SEQ ID NO:123)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTCAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTTTGCCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCGTGTCTCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGCAC
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATTATGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTTGACAGATTTGAAGAAAATGGTACCCAGGAATCACGCATCAGCC
CATATACATTCTGCAAAGCTTTTCCTTTTCATATAATTTGACCGGGACCTAGTGGTCACTCA
GTGTGGCAATGCTATATACAGAGTTCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAATTGCAGCCTTCTGTCT
GTCTTCTCGCTGGTTTCGTCTCATATGATATTAGTTTCCATGGGATCCTTTCTCACATCAATAC
TGTTTTTGTATTGAGAAGCAAGGAAGGATTGTTGGATGTGGAGAAATTAGAATGTGAGGATG
AACTGACTGGGACTGAGATCAGCTGCTTACGTCTCAAGGGTCAAATGATCTACTTACCTGAAG
CAGATAGCATACTTTTTCTATGTTTACCAAGTGTGATGAACCTGGACGATTGACAAGGAGAG
GGCTGTATCTAAGTGACATCCCTCTGCATGATGCCACGCGCATCTTGTCTTTTGGGAGAAC
AATTTAGAGAGGAATACAACTCACCCAAGAACTGGAAATCCTCACTGACAGGCTACAGCTC
ACGTTAAGAGCCCTGGAAGATTGA

(SEQ ID NO:124)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDALHDHLATYPGMRAPSFRCTDAEKGKG
LILHYYSEREGLQDYVIGIHKTVAAQIHHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRF
EENGTTQESRISPYTFCKAFPFHIIIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGNCSLLSVFSLVRPHIDISFHG
ILSHINTVFVLRKSKEGLLDVEKLECEDELGTETISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRLQLTLRALED

FIG. 8P

Hs. β 1(1-385) I145H

(SEQ ID NO:125)

ATGTACGGATTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTGAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTCTGCTTTTGCCAAGAAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCGTGTCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGCAC
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGCACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATCATGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTTAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTATGAAGATCTTGACAGATTTGAAGAAAATGGTACCCAGGAATCACGCATCAGCC
CATATACATTTCTGCAAAGCTTTTCCTTTTCATATAATTTGACCGGGACCTAGTGGTCACTCA
GTGTGGCAATGCTATATACAGAGTTCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAATTGCAGCCTTCTGTCT
GTCTTCTCGCTGGTTCGTCTCATATTGATATTAGTTTCCATGGGATCCTTTCTCACATCAATAC
TGTTTTTGTATTGAGAAGCAAGGAAGGATTGTTGGATGTGGAGAAATTAGAATGTGAGGATG
AACTGACTGGGACTGAGATCAGCTGCTTACGTCTCAAGGGTCAAATGATCTACTTACCTGAAG
CAGATAGCATACTTTTTCTATGTTTACCAAGTGTGATGAACCTGGACGATTTGACAAGGAGAG
GGCTGTATCTAAGTGACATCCCTCTGCATGATGCCACGCGCGATCTTGTCTTTTGGGAGAAC
AATTTAGAGAGGAATACAACTCACCCAAGAACTGGAAATCCTCACTGACAGGCTACAGCTC
ACGTTAAGAGCCCTGGAAGATTGA

(SEQ ID NO:126)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDALHDHLATIYPGMRAPSFRCTDAEKGKG
LILHYYSEREGLQDHVIGIHKTVAAQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRF
EENGQTQESRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGNCSLLSVFSLVRPHIDISFHG
ILSHINTVFVLRSEGLLDVEKLECEDELGTGEISCLRLKGQMIYLPADSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREYKLTQELEILTDRQLTLRALED

FIG. 8Q

Hs. β 1(1-385) C78Y

(SEQ ID NO:127)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTCAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTTTACCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCGTGTCTCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGCAC
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGCACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTITGCACTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATATTGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTTGACAGATTTGAAGAAAATGGTACCCAGGAATCACGCATCAGCC
CATATACATTCTGCAAAGCTTTTCCTTTTCATATAATATTGACCGGGACCTAGTGGTCACTCA
GTGTGGCAATGCTATATACAGAGTTCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAATTGCAGCCTTCTGTCT
GTCTTCTCGCTGGTTCGTCTCATATTGATATTAGTTTCCATGGGATCCTTTCTCACATCAATAC
TGTTTTTGTATTGAGAAGCAAGGAAGGATTGTTGGATGTGGAGAAATTAGAATGTGAGGATG
AACTGACTGGGACTGAGATCAGCTGCTTACGTCTCAAGGGTCAAATGATCTACTTACCTGAAG
CAGATAGCATACTTTTCTATGTTTACCAAGTGTCATGAACCTGGACGATTTGACAAGGAGAG
GGCTGTATCTAAGTGACATCCCTCTGCATGATGCCACGCGCGATCTTGTCTTTTGGGAGAAC
AATTTAGAGAGGAATACAACTCACCCAAGAACTGGAAATCCTCACTGACAGGCTACAGCTC
ACGTTAAGAGCCCTGGAAGATTGA

(SEQ ID NO:128)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFYQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATTPGMRAPSFRCTDAEKGKG
LILHYYSERELQDIVIGIKTVAQQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRF
EENGTOESRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGNCSLLSVFSLVRPHIDISFHG
ILSHINTVFVLRSEGLLDVEKLECEDELGTETISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRQLTLRALED

FIG. 8R

Hs. β 1 (1-385) H105F

(SEQ ID NO:129)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTCAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTTTGCCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCGTGTCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGTTTCG
ACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAAA
AGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATATTGTCATTG
GAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTTCAG
CAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAGA
GGATTTTTATGAAGATCTTGACAGATTTGAAGAAAATGGTACCCAGGAATCACGCATCAGCCC
ATATACATTCTGCAAAGCTTTTCTTTTCATATAATTTTGACCGGGACCTAGTGGTCACTCAG
TGTGGCAATGCTATATACAGAGTTCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAATTGCAGCCTTCTGTCTG
TCTTCTCGCTGGTTCGTCTCTCATATTGATATTAGTTTCCATGGGATCCTTTCTCACATCAATACT
GTTTTTGTATTGAGAAGCAAGGAAGGATTGTTGGATGTGGAGAAATTAGAATGTGAGGATGA
ACTGACTGGGACTGAGATCAGCTGCTTACGTCTCAAGGGTCAAATGATCTACTTACCTGAAGC
AGATAGCATACTTTTCTATGTTTACCAAGTGTGATGAACCTGGACGATTTGACAAGGAGAGG
GCTGTATCTAAGTGACATCCCTCTGCATGATGCCACGCGGATCTTGTTCTTTTGGGAGAACA
ATTTAGAGAGGAATACAACTCACCCAAGAACTGGAAATCCTCACTGACAGGCTACAGCTCA
CGTTAAGAGCCCTGGAAGATTGA

(SEQ ID NO:130)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAFLDHLATYIPGMRAPSFRCCTDAEKGKGL
ILHYYSEREGLDIVIGHIKTVAQQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRFE
ENGTQESRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTCGNAIYRVLPQLQPGNCSLLSVFSLVRPHIDISFHGI
LSHINTVFVLRKEGLLDVEKLECEDELGTGEISCLRLKGQMIYLPEADSILFLCSPSVMNLDDLTRR
GLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRQLTLRALED

FIG. 8S

Hs. β 1 (1-385) H105G

(SEQ ID NO:131)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTCAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTTTGCCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCGTGTCTGCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGGGT
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGCACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATATTGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTTGACAGATTTGAAGAAAATGGTACCCAGGAATCACGCATCAGCC
CATATACATTCTGCAAAGCTTTTCCTTTTCATATAATATTTGACCGGGACCTAGTGGTCACTCA
GTGTGGCAATGCTATATACAGAGTTCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAATTGCAGCCTTCTGTCT
GTCCTCTCGCTGGTTCGTCCTCATATTGATATTAGTTTCCATGGGATCCTTTCTCACATCAATAC
TGTTTTGTATTGAGAAGCAAGGAAGGATTGTTGGATGTGGAGAAATTAGAATGTGAGGATG
AACTGACTGGGACTGAGATCAGCTGCTTACGTCTCAAGGGTCAAATGATCTACTTACCTGAAG
CAGATAGCATACTTTTTCTATGTTACCAAGTGTGATGAACCTGGACGATTTGACAAGGAGAG
GGCTGTATCTAAGTGACATCCCTCTGCATGATGCCACGCGCGATCTTGTCTTTTGGGAGAAC
AATTTAGAGAGGAATACAACTCACCAAGAACTGGAAATCCTCACTGACAGGCTACAGCTC
ACGTTAAGAGCCCTGGAAGATTGA

(SEQ ID NO:132)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAALGDHLATIPGMRAPSFRCCTDAEKKG
LILHYYSEREGLQDIVIGIHKTVAQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRF
EENGTSQESRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGNCSLLSVFSLVRPHIDISPHG
ILSHINTVFVLRSEGLLDVEKLECEDELGTGEISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREBYKLTQBLEILTDRLQLTLRALED

Hs. β 1(1-194)

(SEQ ID NO:133)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTCAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTTTGCCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCGTGTCTGCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGCAC
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGCACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATATTGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATTGA

(SEQ ID NO:134)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAALHDHLATIPGMRAPSFRCCTDAEKKG
LILHYYSEREGLQDIVIGIHKTVAQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYED

FIG. 8T

Hs. β 1(1-194) I145Y

(SEQ ID NO:135)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCCTGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTGAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCCTTTGCCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCCTGTCCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGCAC
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGACACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATTATGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTATGAAGATTGA

(SEQ ID NO:136)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATIPGMRAPSFRCCTDAEKKGK
LILHYYSEREGLQDYVIGIHKTVAQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYED

Hs. β 1(1-194) L9W-I145Y

(SEQ ID NO:137)

ATGTACGGATTTGTGAATCACGCCTGGGAGTTGCTGGTGATCCGCAATTACGGCCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCACAGTTAGATGAAGAAGGACAGTTTCTTGTGAGAATAAT
ATATGATGACTCCAAAACCTTATGATTTGGTTGCTGCTGCAAGCAAAGTCCTCAATCTCAATGC
TGGAGAAATCCTCCAAATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCCTTTGCCAAGAATCTGGTTATGAT
ACAATCTTGCCTGTCCTGGGCTCTAATGTCAGAGAATTTCTACAGAACCTTGATGCTCTGCAC
GACCACCTTGCTACCATCTACCCAGGAATGCGTGACACCTTCCTTTAGGTGCACTGATGCAGAA
AAGGGCAAAGGACTCATTTTGCCTACTACTCAGAGAGAGAAGGACTTCAGGATTATGTCATT
GGAATCATCAAAACAGTGGCACAACAAATCCATGGCACTGAAATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAATGAAGAATGTGATCATACTCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAGTCAAAAGAAG
AGGATTTTATGAAGATTGA

(SEQ ID NO:138)

MYGFVNHAWEELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAG
EILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATIPGMRAPSFRCCTDAEKKGK
GLILHYYSEREGLQDYVIGIHKTVAQIHGTEIDMKVIQQRNEECDHTQFLIEEKESKEEDFYED

FIG. 8U

β1 (1-385) de *Rattus norvegicus*

Rn. WT (1-385)

(SEQ ID NO:139)

ATGTACGGTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGAGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGCCTGCTTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGAGAACCTCGACGCCCTGCAC
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGACCCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACATTGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATACCCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTGGACAGGTTTGAAGAGAACGGTACCCAGGACTCCCGTATCAGCC
CGTACACCTTCTGCAAAGCGTTTCTTTTACATCATATTTGACCGGGACCTAGTAGTCACGCA
GTGTGGAATGCTATCTACAGAGTGCTCCCCCAGCTCCAGCCTGGGAAGTGCAGCCTTCTGTC
TGTCTTCTCTCTGGTCCGCCCTCATATTGACATCAGTTTCCACGGGATTCTTTACACATCAAT
ACCGTCTTTGTACTGAGAAGCAAGGAAGGGTTGCTGGATGTTGAGAACTTGAATGTGAGGA
TGAAGTGAAGTGGGGCAGAGATTAGCTGCCTCCGTCTCAAAGGCCAAATGATCTATTTACCGGA
AGCAGATAGCATCCTCTTCTCTGTTACCAAGTGTGATGAACTTGGATGACCTAACAAAGAAG
AGGCCTGTACCTGAGTGACATCCCTCTCCATGATGCTACACGAGACCTGGTCCTTTTGGGAGA
ACAGTTCCGGGAGGAGTACAACTGACACAAGAGCTGGAAATCCTCACAGACAGGCTGCAGC
TCACACTGAGGGCTTTGGAGGATTGA

(SEQ ID NO:140)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFVKMFFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATTPGMRAPSFRCCTDAEKGGK
LILHYYSEREGLQDIVIGIKTVAQQIHGTEIDMKVIQQRSEEC DHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRFE
ENGTDQSRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGKCSLLSVFSLVRPHIDISFHGI
LSHINTVFVLRKEGLLDVEKLECEDELTAIEISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRLQLTLRALED

FIG. 8V

Rn. B1(1-385) I145Y

(SEQ ID NO:141)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGCCTGTCCTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGCAGAACCTCGACGCCCTGCAC
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGCACCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACTACGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATACCCAATTTTAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTGGACAGGTTTGAAGAGAACGGTACCCAGGACTCCCGTATCAGCC
CGTACACCTTCTGCAAAGCGTTTCCTTTTCACATCATATTTGACCGGGACCTAGTAGTCACGCA
GTGTGGAATGCTATCTACAGAGTGCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAAGTGCAGCCTTCTGTC
TGTCTTCTCTCTGGTCCGCCCTCATATTGACATCAGTTTCCACGGGATTCTTTACACATCAAT
ACCGTCTTTGTACTGAGAAGCAAGGAAGGGTTGCTGGATGTTGAGAACTTGAATGTGAGGA
TGAAGTACTGGGGCAGAGATTAGCTGCCTCCGTCTCAAAGGCCAAATGATCTATTTACCGGA
AGCAGATAGCATCCTCTTCCTCTGTTACCAAGTGTGATGAAGTGGATGACCTAACAAGAAG
AGGCCTGTACCTGAGTGACATCCCTCTCCATGATGCTACACGAGACCTGGTCCTTTTGGGAGA
ACAGTTCCGGGAGGAGTACAACTGACACAAGAGCTGGAAATCCTCACAGACAGGCTGCAGC
TCACACTGAGGGCTTTGGAGGATTGA

(SEQ ID NO:142)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDALHDHLATIYPGMRAPSFRCCTDAEKGKG
LILHYYSEREGLQDYVIGIUKTVAQQIHGTEIDMKVIQQRSEEDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRF
EENGTDQSRISPYTFCKAFPFIHIFDRDLVVVTQCGNAIYRVLPQLQPGKCSLLSVFSLVRPHIDISFHG
ILSHINTVFVLRSEGLLDVEKLECEDELTGAEISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDLRLQLTLRALED

FIG. 8W

Rn. β1(1-385) I145H

(SEQ ID NO:143)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGCGTGTCTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGAGAACCTCGACGCCCTGCAC
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGCACCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACCATGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATAACCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTGGACAGGTTTGAAGAGAACGGTACCCAGGACTCCCGTATCAGCC
CGTACACCTTCTGCAAAGCGTTTCCTTTTACATCATATTTGACCGGGACCTAGTAGTCACGCA
GTGTGGAAATGCTATCTACAGAGTGCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAAGTGCAGCCTTCTGTCT
TGTCTTCTCTGCTCCGCCCTCATATTGACATCAGTTCCACGGGATTCTTTCACACATCAAT
ACCGTCTTTGTACTGAGAAGCAAGGAAGGGTTGCTGGATGTTGAGAACTTGAATGTGAGGA
TGAAGTACTGGGGCAGAGATTAGCTGCCTCCGTCTCAAAGGCCAAATGATCTATTTACCGGA
AGCAGATAGCATCCTCTTCTCTGTTTACCAAGTGTGATGAACCTGGATGACCTAACAAAGAAG
AGGCCTGTACCTGAGTGACATCCCTCTCCATGATGCTACACGAGACCTGGTCCTTTTGGGAGA
ACAGTTCCGGGAGGAGTACAAACTGACACAAGAGCTGGAAATCCTCACAGACAGGCTGCAGC
TCACACTGAGGGCTTTGGAGGATGA

(SEQ ID NO:144)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFVKMFFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDLATITPGMRAPSFRCCTDABKGKG
LILHYYSEREGLQDHVIGIHKTVAAQIHGTEIDMKVIQQRSEECDDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRF
EENGTDQSRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVVTQCGNAIYRVLPQLQPGKCSLLSVFSLVRPHIDISFHG
ILSHINTVFVLRKEGLLDVEKLECEDELTAIEISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRLQLTLRALED

FIG. 8X

Rn. β 1(1-385) C78Y

(SEQ ID NO:145)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCAAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTATCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGGCTGTCCTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGCAGAACCTCGACGCCCTGCAC
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGACCCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACATTGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATACCCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTGGACAGGTTTGAAGAGAACGGTACCCAGGACTCCCGTATCAGCC
CGTACACCTTCTGCAAAGCGTTTCCTTTTACATCATATTTGACCGGGACCTAGTAGTCACGCA
GTGTGGAAATGCTATCTACAGAGTGCTCCCCCAGCTCCAGCCTGGGAAGTGCAGCCTTCTGTC
TGTCTTCTCTCTGGTCCGCCCTCATATTGACATCAGTTTCCACGGGATTCTTTACACATCAAT
ACCGTCTTTGTACTGAGAAGCAAGGAAGGGTTGCTGGATGTTGAGAACTTGAATGTGAGGA
TGAAGTACTGGGGCAGAGATTAGCTGCCTCCGTCTCAAAGGCCAAATGATCTATTTACCGGA
AGCAGATAGCATCCTCTTCCTCTGTTTACCAAGTGTGATGAACTTGGATGACCTAACAAAGAAG
AGGCCTGTACCTGAGTGACATCCCTCTCCATGATGCTACACGAGACCTGGTCCTTTTGGGAGA
ACAGTTCCGGGAGGAGTACAAACTGACACAAGAGCTGGAAATCCTCACAGACAGGCTGCAGC
TCACACTGAGGGCTTTGGAGGATTGA

(SEQ ID NO:146)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVVFYQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDALHDHLATIYPGMRAPSFRCDAEKGGK
LILHYYSEREGLDIVIGIHKTVAQIHGTEIDMKVIQQRSECDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRFE
ENGTQDSRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGKCSLLSVFSLVRPHIDISFHGI
LSHINTVFVLRSEGLLDVEKLECEDELTGAEISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRQLTLRALED

FIG. 8Y

Rn. B1 (1-385) H105F

(SEQ ID NO:147)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGGCTGTCTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGCAGAACCTCGACGCCCTGTTCCG
ACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGCACCGATGCAGAAA
AAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACATTGTGATC
GGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATAACCAATTTTTAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTGGACAGGTTTGAAGAGAACGGTACCCAGGACTCCCGTATCAGCC
CGTACACCTTCTGCAAAGCGTTTCCTTTTCACATCATATTTGACCGGGACCTAGTAGTCACGCA
GTGTGGAAATGCTATCTACAGAGTGCTCCCCCAGCTCCAGCCTGGGAAGTGCAGCCTTCTGTC
TGTCTTCTCTCTGGTCCGCCCTCATATTGACATCAGTTTCCACGGGATTCTTTCACACATCAAT
ACCGTCTTTGTACTGAGAAGCAAGGAAGGGTTGCTGGATGTTGAGAAACTTGAATGTGAGGA
TGAAGTACTGGGGCAGAGATTAGCTGCCTCCGTCTCAAAGGCCAAATGATCTATTTACCGGA
AGCAGATAGCATCCTCTTCTCTGTTACCAAGTGTGATGAAGTTGGATGACCTAACAAGAAG
AGGCCGTGACCTGAGTGACATCCCTCTCCATGATGCTACACGAGACCTGGTCCTTTTGGGAGA
ACAGTTCCGGGAGGAGTACAACTGACACAAGAGCTGGAAATCCTCACAGACAGGCTGCAGC
TCACACTGAGGGCTTTGGAGGATTGA

(SEQ ID NO:148)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAFLDHLATTPGMRAPSFRCCTDAEKGKGL
ILHYYSEREGLDIVIGIKTVAQQIHGTEIDMKVIQQRSEEDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRFEE
NGTQDSRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNAIYRVLPQLQPGKCSLLSVFSLVRPHIDISFHGIL
SHINTVFVLRSEGLLDVEKLECEDELTAEISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLDDLTRR
GLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRQLTLRALED

FIG. 8Z

Rn. B1 (1-385) H105G

(SEQ ID NO:149)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGCGTGTCTTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGCAGAACCTCGACGCCCTGGGG
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGCACCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACATTGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTIATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATACCCAATTTTAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATCTGGACAGGTTTGAAGAGAACGGTACCCAGGACTCCCGTATCAGCC
CGTACACCTTCTGCAAAGCGTTTCCTTTTACATCATATTTGACCGGGACCTAGTAGTCACGCA
GTGTGGAATGCTATCTACAGAGTGCTCCCCAGCTCCAGCCTGGGAAGTGCAGCCTTCTGTCT
TGCTTCTCTCTGGTCCGCCCTCATATTGACATCAGTTTCCACGGGATTCTTTACACATCAAT
ACCGTCTTTGTACTGAGAAGCAAGGAAGGTTGCTGGATGTTGAGAACTTGAATGTGAGGA
TGAAGTACTGAGGGGAGAGATTAGCTGCCTCCGTCTCAAAGGCCAAATGATCTATTTACCGGA
AGCAGATAGCATCCTCTTCCTCTGTTACCAAGTGTGATGAAGTGGATGACCTAACAAGAAG
AGGCCTGTACCTGAGTGACATCCCTCTCCATGATGCTACACGAGACCTGGTCTTTTGGGAGA
ACAGTCCCGGAGGAGTACAACTGACACAAGAGCTGGAATCCTCACAGACAGGCTGCAGC
TCACACTGAGGGCTTTGGAGGATTGA

(SEQ ID NO:150)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIHYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATYIPGMRAPSFRCDAEKGGK
LILHYYSERELQDIVIGIHKTVAAQIHGTEIDMKVIQQRSEEDHTQFLIEEKESKEEDFYEDLDRFE
ENGTQDSRISPYTFCKAFPFHIFDRDLVVTQCGNATYRVLPQLQPGKCSLLSVFSLVRPHIDISFHGI
LSHINTVFVLRSGEGLLDVEKLECEDELTAETISCLRLKGQMIYLPEDSILFLCSPSVMNLLDLTR
RGLYLSDIPLHDATRDVLVLLGEQFREEYKLTQELEILTDRQLTLRALED

Rn. B1(1-194)

(SEQ ID NO:151)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGCGTGTCTTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGCAGAACCTCGACGCCCTGCAC
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGCACCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACATTGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTIATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATACCCAATTTTAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATTGA

(SEQ ID NO:152)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIHYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATYIPGMRAPSFRCDAEKGGK
LILHYYSERELQDIVIGIHKTVAAQIHGTEIDMKVIQQRSEEDHTQFLIEEKESKEEDFYED

FIG. 8AA

Rn. β 1(1-194) I145Y

(SEQ ID NO:153)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCCTGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGCGTGTCTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGCAGAACCTCGACGCCCTGCAC
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGCACCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACTACGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATAACCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATTGA

(SEQ ID NO:154)

MYGFVNHALELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAGE
ILQMFGKMFFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATYPGMRAPSFRCCTDAEKKGK
LILHYYSEREGLQDYVIGIHKTVAAQIHGTEIDMKVIQQRSEECDHTQFLIEEKESKEEDFYED

Rn. β 1(1-194) L9W-I145Y

(SEQ ID NO:155)

ATGTACGGTTTTGTGAACCATGCCTGGGAGCTGCTGGTGATCCGCAATTACGGTCCCGAGGTG
TGGGAAGACATCAAAAAAGAGGCGCAGCTGGATGAAGAAGGCCAGTTTCTTGTGAGAATAAT
CTACGATGATTCCAAAACCTATGACTTGGTGGCTGCTGCGAGCAAAGTCCTCAACCTCAATGC
TGGTGAAATCCTGCAGATGTTTGGGAAGATGTTTTTCGTCTTCTGTCAAGAGTCTGGCTATGAT
ACCATCTTGCGTGTCTGGGATCTAATGTCAGGGAGTTTTTGCAGAACCTCGACGCCCTGCAC
GACCACCTCGCCACCATCTACCCAGGGATGCGCGCACCTTCCTTCCGGTGCACCGATGCAGAA
AAAGGCAAAGGGCTCATTCTGCACTACTACTCGGAAAGAGAGGGGCTTCAGGACTACGTGAT
CGGGATTATCAAGACTGTAGCTCAACAGATCCATGGCACTGAGATAGACATGAAGGTTATTCA
GCAAAGAAGTGAAGAATGTGATCATAACCAATTTTAAATTGAAGAAAAAGAATCAAAAGAAG
AGGATTTTTATGAAGATTGA

(SEQ ID NO:156)

MYGFVNHAWEELLVIRNYGPEVWEDIKKEAQLDEEGQFLVRIYDDSKTYDLVAAASKVLNLNAG
EILQMFGKMFFVFCQESGYDTILRVLGSNVREFLQNLDAHDHLATYPGMRAPSFRCCTDAEKKGK
GLILHYYSEREGLQDYVIGIHKTVAAQIHGTEIDMKVIQQRSEECDHTQFLIEEKESKEEDFYED

FIG. 8BB

62 de *Rattus norvegicus*

(SEQ ID NO:157)

ATGTATGGATTTCATCAACACCTGCCTGCAGTCTCTTGTGACAGAGAAATTTGGTGAGGAGACA
 TGGGAGAAAGCTGAAGGCTCCTGCAGAAGTGCAAGATGTCTTCATGACCTACACCGTGATGAT
 GACATCATCACCATTAAAGCTCATCCAAGAAGCCTGCAAGGTTCTGGATGTGTCCATGGAAGCC
 ATTCTGAAGCTCTTTGGCGAATACTTCTTTAAGTTCTGTAAGATGTCTGGCTATGACAGGATGC
 TGGGACACITGGAGGAAATCTCACCGAGTTTATTGAAAACCTAGATGCACTCCACAGTTACC
 TGGCACTGTCTATCAGGAAATGAACGCACCATCCTTTTCGAGTGGAGGAAGGAGCTGACGGG
 GCGATGCTTCTCCACTACTCTCAGACAGACATGGTCTGTGTACATTGTACCAGGTATCATTG
 AAGCTGTGGCCAAGGACTTCTTTGACACTGATGTGGCCATGAGTATCCTGGATATGAACGAAG
 AGGTGGAAGGACAGGGAAGAAAGAACATGTTGTGTTTCTGGTCGTGCAGAAGGCTCACAGA
 CAGATAAGAGGAGCAAAGGCAAGCCGGCCACAAGGCAGTGAGGACAGCCAGGCAGACCAGG
 AGGCTCTCCAGGGAACACTCCTTCGGATGAAGGAGAGATATTTAAACATCCTGTTTGCCCTG
 GGGAGAAATCTCACTCAACTGCTGTGAGGGCATCGGTCCTTTTGGAAAAGGGCCCCCTCAGGG
 ACACCTTCCAGCCCCGTCTATCCTGAGAGACTATGGGTGCAAGAGGAGGTGTTCTGTGATGCTT
 TTCCTTTCCACATTGTCTTTGATGAAGCACTAAGGGTCAAGCAAGCTGGAGTGAATATTCAGA
 AGTATGTCCCTGGAATCTTAACCCAGAAGTTTGCCTAGATGAGTATTTTCCATCATCCACCC
 TCAAGTTACTTTCAACATCTCCAGCATCTGCAAGTTCATTAACAGTCAGTTTGTCTTGAAGACA
 AGAAAAGAAATGATGCCCAAAGCAAGGAAGAGCCAGCCGATGCTCAAACCTCCGGGGTCAGA
 TGATCTGGATGGAGTCTCTGAGGTGCATGATCTTCATGTGTTCCCCAAACGTCCGCAGCCTGC
 AAGAGCTGGAAGAGAGCAAGATGCATCTTTCTGATATCGCTCCGCACGACACGACCAGGGAT
 CTCATCCTCCTCAACCAGCAGAGGCTGGCAGAGATGGAGCTGTCCTGCCAACTGGAAAAAGAA
 GAAGGAGGAGTTGCGTGTCTTTCCAATCACCTGGCCATCGAGAAGAAGAAGACAGAGACCT
 TGCTGTATGCCATGCTGCCTGAACATGTGGCCAACCAACTCAAGGAGGGCAGAAAGGTGGCT
 GCAGGAGAATTTGAAACATGTACAATCCTTTTCAGCGATGTTGTGACATTTACCAACATCTGT
 GCAGCCTGTGAACCTATCCAAATCGTGAACATGCTGAATTCAATGTACTCCAAGTTTGACAGG
 TTAACCAAGTGTCCATGATGTCTACAAAGTAGAAACAATAGGGGATGCTTACATGGTGGTGGT
 GGAGTACCAGTACCCGTTGAAAGCCATGCTCAAAGAGTCGCCAATTTTGCTCTGGGGATGAGA
 ATTTCTGCAAAAGAAGTGATGAATCCTGTCACTGGGGAACCTATCCAGATCAGAGTGGGAATC
 CACTGGACCAAGTCTTAGCAGGTGTTGTGGGAGACAAGATGCCTCGGTACTGCTTGTGTTGGT
 GACACTGTAAACACAGCCTCTAGGATGGAAGTACGGGCTTCCAGCAAAGTGCATCTGAG
 CCCCACAGCCCACAGAGCCCTGAAAAACAAGGGTTTGAAATTGTCAGGAGAGGCGAGATCG
 AAGTGAAGGGGAAAGGAAGATGACCACATACTTTCTGATCCAGAACCTGAATGCCACCGAG
 GATGAGATAATGGGGCGACCTTCAGCCCCCGCTGATGGGAAGGAAGTATGTACTCCCGGAAA
 CCAAGTCAGGAAGTCCCCTGCTGTCCCGAGGAACACAGACCATCAGCAACAAGTCTACAAAG
 GAGACCCAGCAGACGCTTCTAATGAAGTCACACTTGCTGGGAGCCCAGTGGCAGGGCGAAAC
 TCCACAGATGCAGTCAATAACCAGCCATCACCAGATGAGACCAAGACAAGTGTGCTGTAG
 TGGCCCTGTGCTGTCTGCTTTCTGTGTTGTGCTGTGA

(SEQ ID NO:158)

MYGFINTCLQSLVTEKFGEETWEKLKAPAEVQDVFMITYTVYDDIITIKLIQEACKVLDVSMEAILK
 LFGHEYFFKFKMSGYDRMLRTLGGNLTEFIENLDALHSYLAISYQEMNAPSFRVEEGADGAMLLH
 YYSDRHGLCHIVPGIIEAVAKDFFDTDVAMSILDMNEEVERTGKKEHVFLVQKAHRQIRGAKA
 SRPQGSSEDSQADQEAALQGTLLRMKERYLNIPVCPGEKSHSTAVRASVLFKGPLRDTFQPVYPERL
 WVEEEVFCDAFPFHIVFDEALRVKQAGVNIQKYVPGILTQKFALDEYFSIHPQVTFNISICKFINSQ
 FVLKTRKEMMPKARKSQPMLKLRGQMIWMESLRMIFMCSNVRSLELEESKMHLSDIAPHDT
 TRDLILLNQRLAEMELSCQLEKKKEELRVLSNHLAIEKKKTETLLYAMLPEHVNQLEGRKVA
 AGEFETCTILFSDVVTFTNICAACEPIQIVNMLNSMYSKFDRLTSVHDVYKVETIGDAYMVVGGVP
 VPVESHQVRVANFALGMRJSAKEVMNPVTGEPIQIRVGIHTGPVLAGVVGDKMPRYCLFGDTVNT
 ASRMESHGLPSKVHLSPTAHRALKNKGFIVRRGEIEVKGKGKMTTYFLIQNLNATEDEIMGRPSA
 PADGKEVCTPGNQVRKSPAVPRNTDHQQQVYKGDPAASNEVTLAGSPVAGRNSTDAVNNQPS
 DETKTSVVASGPVLSAFCVVL

FIG. 8CC

82 (1-217) de *Homo sapiens*

(SEQ ID NO:159)

ATGTATGGATTTCATCAACACCTGCCTGCAGTCTCTTGTGACAGAGAAATTTGGTGAGGAGACA
TGGGAGAAGCTGAAGGCTCCTGCAGAAGTGCAAGATGTCTTCATGACCTACACCGTGTATGAT
GACATCATCACCATTAAGCTCATCCAAGAAGCCTGCAAGGTTCTGGATGTGTCCATGGAAGCC
ATTCTGAAGCTCTTTGGCGAATACTTCTTTAAGTTCTGTAAGATGTCTGGCTATGACAGGATGC
TGCGGACACTTGGAGGAAATCTCACCGAGTTTATTGAAAACCTAGATGCACTCCACAGTTACC
TGGCACTGTCCTATCAGGAAATGAACGCACCATCCTTTTCGAGTGGAGGAAGGAGCTGACGGG
GCGATGCTTCTCCACTACTACTCAGACAGACATGGTCTGTGTACATTGTACCAGGTATCATTG
AAGCTGTGGCCAAGGACTTCTTTGACACTGATGTGGCCATGAGTATCCTGGATATGAACGAAG
AGGTGGAAGGACAGGGAAGAAAGAACATGTTGTGTTTCTGGTCGTGCAGAAGGCTCACAGA
CAGATAAGAGGAGCAAAGGCAAGCCGGCCACAAGGCAGTGAGGACAGCCAGGCAGACCAGG
AGGCTCTCCAGGGAACACTCCTT

(SEQ ID NO:160)

MYGFINTCLQSLVTEKFGEETWEKCLKAPAEVQDVFMITYTVYDDIITIKLIQEACKVLDVSM EAILK
LFGEYFFKFKMSGYDRMLRTLGGNLTEFIENLDALHSYLALSYQEMNAPSFRVEEGADGAMLLH
YYSDRHGLCHIVPGIIEAVAKDFFD TDVAMSILDMNEEVERTGKKEHV VFLVVQKAHRQIRGAKA
SRPQGSSEDSQADQEALQGTL

82 (1-217) 1142Y de *Homo sapiens*

(SEQ ID NO:161)

ATGTATGGATTTCATCAACACCTGCCTGCAGTCTCTTGTGACAGAGAAATTTGGTGAGGAGACA
TGGGAGAAGCTGAAGGCTCCTGCAGAAGTGCAAGATGTCTTCATGACCTACACCGTGTATGAT
GACATCATCACCATTAAGCTCATCCAAGAAGCCTGCAAGGTTCTGGATGTGTCCATGGAAGCC
ATTCTGAAGCTCTTTGGCGAATACTTCTTTAAGTTCTGTAAGATGTCTGGCTATGACAGGATGC
TGCGGACACTTGGAGGAAATCTCACCGAGTTTATTGAAAACCTAGATGCACTCCACAGTTACC
TGGCACTGTCCTATCAGGAAATGAACGCACCATCCTTTTCGAGTGGAGGAAGGAGCTGACGGG
GCGATGCTTCTCCACTACTACTCAGACAGACATGGTCTGTGTCACTATGTACCAGGTATCATTG
AAGCTGTGGCCAAGGACTTCTTTGACACTGATGTGGCCATGAGTATCCTGGATATGAACGAAG
AGGTGGAAGGACAGGGAAGAAAGAACATGTTGTGTTTCTGGTCGTGCAGAAGGCTCACAGA
CAGATAAGAGGAGCAAAGGCAAGCCGGCCACAAGGCAGTGAGGACAGCCAGGCAGACCAGG
AGGCTCTCCAGGGAACACTCCTT

(SEQ ID NO:162)

MYGFINTCLQSLVTEKFGEETWEKCLKAPAEVQDVFMITYTVYDDIITIKLIQEACKVLDVSM EAILK
LFGEYFFKFKMSGYDRMLRTLGGNLTEFIENLDALHSYLALSYQEMNAPSFRVEEGADGAMLLH
YYSDRHGLCHYVPGIIEAVAKDFFD TDVAMSILDMNEEVERTGKKEHV VFLVVQKAHRQIRGAK
ASRPQGSSEDSQADQEALQGTL

FIG. 8DD