



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 321 210**

(51) Int. Cl.:

**C12N 7/04** (2006.01)

**A61K 39/00** (2006.01)

**A61K 39/187** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **05741681 .0**

(96) Fecha de presentación : **18.05.2005**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1751276**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **14.02.2007**

(54) Título: **Vacuna que comprende un pestivirus atenuado.**

(30) Prioridad: **19.05.2004 DE 10 2004 025 452**

(73) Titular/es: **Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH**  
**Binger Strasse 173**  
**55216 Ingelheim am Rhein, DE**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**03.06.2009**

(72) Inventor/es: **Meyers, Gregor;**  
**Ege, Andreas;**  
**Meyer, Christiane y**  
**Von Freyburg, Martina**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**03.06.2009**

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Vacuna que comprende un pestivirus atenuado.

### 5 Antecedentes de la invención

#### Campo técnico

La presente invención se refiere al sector de la salud animal y, en particular, a pestivirus atenuados, tal como virus de la diarrea viral bovina (VDVB).

#### Información de antecedentes

Los pestivirus son agentes causantes de enfermedades económicamente importantes de animales en muchos países del mundo. Aislados de virus actualmente conocidos se han agrupado en cuatro especies diferentes que juntas forman un género dentro de la familia *Flaviviridae*.

I/II El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) tipo 1 (VDVB-1) y tipo 2 (VDVB-2) causan la diarrea viral bovina (DVB) y enfermedad de la mucosa (EM) en ganado vacuno (Baker, 1987; Moennig y Plagemann, 1992; Thiel *et al.*, 1996). La división de VDVB en 2 especies se basa en diferencias significativas al nivel de secuencias genómicas (resumidas en Heinz *et al.*, 2000) que también son obvias a partir de reacciones de anticuerpos neutralizantes cruzadas limitadas (Ridpath *et al.* 1994).

III El virus de la fiebre porcina clásica (VFPC), antiguamente denominado virus del cólera porcino, es el responsable de la fiebre porcina clásica (FPC) o cólera porcina (CP) (Moennig y Plagemann, 1992; Thiel *et al.*, 1996).

IV El virus de la enfermedad de la frontera (VEF) se encuentra, típicamente, en ovejas y provoca la enfermedad de la frontera (EF). Tras la infección intrauterina de corderos con VEF, pueden nacer corderos persistentemente infectados que son débiles y que muestran distintas deformidades entre las que el síndrome de la “coctelera melenuda” es el mejor conocido (Moennig y Plagemann, 1992; Thiel *et al.*, 1996).

Los pestivirus son pequeños virus con cubierta con un genoma de ARN de cadena sencilla de polaridad positiva que carecen de secuencias tanto 5' cap como 3' poli(A). El genoma viral codifica una poliproteína de aproximadamente 4000 aminoácidos que da lugar a productos de escisión final mediante tratamiento co- y post-traducción que implican proteasas celulares y virales. Las proteínas virales están dispuestas en la poliproteína en el orden NH<sub>2</sub>-N<sup>pro</sup>-C-E<sup>ms</sup>-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-000H (Lindenbach y Rice, 2001). La proteína C (= proteína del núcleo o de la cápsida) y las glicoproteínas E<sup>ms</sup>, E1 y E2 representan componentes estructurales del virión del pestivirus, según se demuestra para el VFPC (Thiel *et al.*, 1991). Esto también es cierto para el VDVB. Se encontró que E2, y en menor medida E<sup>ms</sup>, eran dianas para la neutralización de anticuerpos (Donis *et al.*, 1988; Paton *et al.*, 1992; van Rijn *et al.*, 1993; Weiland *et al.*, 1990, 1992). E<sup>ms</sup> carece de un anclaje de la membrana típico y se secreta en cantidades considerables a partir de las células infectadas; se ha informado que esta proteína exhibe una actividad de RNasa (Hulst *et al.*, 1994; Schneider *et al.*, 1993; Windisch *et al.*, 1996). La función de esta actividad enzimática para el ciclo de vida viral es desconocida en la actualidad. La actividad enzimática depende de la presencia de dos tramos de aminoácidos conservados entre el pestivirus E<sup>ms</sup> y diferentes RNAsas conocidas de origen vegetal y fúngico. Estas dos secuencias conservadas contienen un residuo histidina (Schneider *et al.*, 1993). El intercambio de cada uno de estos residuos por lisina en la proteína E<sup>ms</sup> de una cepa de vacuna contra el VFPC resultó en la destrucción de la actividad de RNasa (Hulst *et al.*, 1998). La introducción de estas mutaciones en el genoma de la cepa de vacuna contra el VFPC no influía sobre la viabilidad viral ni sobre las propiedades de crecimiento, pero condujo a un virus que exhibe un fenotipo citopatológico (Hulst *et al.*, 1998). De manera similar, Meyers *et al.* demostró que una variante RNasa negativa de la cepa virulenta Alfort/Tübingen del VFPC era totalmente viable. Sin embargo, el respectivo mutante del virus no mostró un fenotipo citopatológico (Meyers *et al.*, 1999).

N<sup>pro</sup> representa la primera proteína codificada por el largo marco de lectura abierto en el ARN del pestivirus. N<sup>pro</sup> representa una proteína no estructural que tiene una actividad de proteasa y que se escinde por sí misma de la poliproteína naciente (Stark *et al.*, 1993; Wiskerchen *et al.*, 1991), presumiblemente ya durante la traducción. N<sup>pro</sup> es una cisteína proteasa (Rümenapf *et al.*, 1998), que no es esencial para la replicación del virus (Tratschin *et al.*, 1998). Recientemente, se ha demostrado que N<sup>pro</sup> interfiere de algún modo con la defensa celular antiviral, de modo que se puede sacar la hipótesis de modular el sistema inmune dentro de un huésped infectado (Rüeggli *et al.*, 2003). Mayer y colaboradores presentaron indicios de una atenuación del VFPC como consecuencia de una delección del gen N<sup>pro</sup> (Mayer *et al.*, 2004).

Las presentes vacunas contra el VDVB para la prevención y el tratamiento de infecciones por VDVB siguen teniendo inconvenientes (Oirschot *et al.* 1999). Vacunas contra el VDVB-1 proporcionan sólo una protección parcial frente a una infección por VDVB-2, y las madres vacunadas pueden producir terneros que están persistentemente infectados con VDVB-2 virulento (Bolin *et al.*, 1991; Ridpath *et al.*, 1994). Este problema se debe probablemente a la gran diversidad antigenética entre cepas de tipo 1 y tipo 2 que es lo más marcada en la glicoproteína E2, el antígeno principal para la neutralización del virus (Tijssen *et al.*, 1996). La mayoría de los anticuerpos monoclonales contra cepas del tipo 1 no pueden unirse a virus del tipo 2 (Ridpath *et al.*, 1994).

# ES 2 321 210 T3

Las vacunas que comprenden virus atenuados o muertos o proteínas virales expresadas en sistemas de expresión heterólogos han sido generadas para el VFPC y el VDVB y actualmente se utilizan. Las vacunas muertas (virus entero inactivado) o vacunas subunidad (proteínas virales convencionalmente purificadas o heterólogamente expresadas) son, con mucha frecuencia, inferiores a las vacunas vivas en su eficacia para producir una respuesta inmunitaria totalmente protectora, incluso en presencia de adyuvantes.

No se conoce la base estructural de la atenuación de VDVB, utilizados como vacunas vivas. Estas vacunas, a pesar de estar atenuadas, están, con mucha frecuencia, asociadas a problemas de seguridad. Los virus vacunales pueden atravesar la placenta de animales preñados, p. ej. vacas, y pueden conducir a manifestaciones clínicas en el feto y/o a la inducción de terneros persistentemente infestados. Por lo tanto, no pueden aplicarse a rebaños de crianza que contengan vacas preñadas. Las vacas preñadas tienen que mantenerse alejadas del ganado vacunado para proteger a los fetos y no deben ser vacunadas ellas mismas. Además, revertentes de VDVB vivos atenuados suponen una seria amenaza a los animales. Para virus atenuados, convencionalmente derivados, en los que la atenuación se consigue mediante un paso múltiple convencional, el origen molecular, así como la estabilidad genética de la atenuación siguen siendo desconocidos, y es impredecible la reversión al tipo salvaje virulento.

Dada la importancia de una profilaxis y un tratamiento eficaces y seguros, así como detectables, de infecciones por pestivirus, existe una fuerte necesidad de pestivirus atenuados mejorados, tales como VDVB, con un elevado potencial de inducción de la inmunidad, así como una base definida de la atenuación, que también puede distinguirse de pestivirus patógenos, tal como el VDBVB, así como composiciones y vacunas que comprenden dichos pestivirus atenuados, tal como el VDVB.

Por lo tanto, el problema técnico en el que se basa la presente invención consiste en proporcionar pestivirus atenuados mejorados, preferiblemente un VDVB atenuado, para uso como vacunas atenuadas vivas. Pestivirus atenuados mejorados de este tipo, preferiblemente VDVB, deberían especialmente (i) no atravesar la placenta por sí mismos y (ii) deberían inducir una inmunidad que evite la transmisión viral a través de la placenta y, con ello, prevenga problemas de preñez, tal como el aborto del feto o el nacimiento de terneros persistentemente infestados en el caso de una infección por VDVB.

## 30 Breve descripción de los dibujos

Fig. 1 Neutralización del suero contra NY93/C (VDVB tipo II)

Fig. 2 Ensayo de neutralización del suero contra KE9 (VDVB tipo II)

35 Fig. 3 Ensayo de neutralización del suero contra NY93/C (VDVB tipo II)

Todas las subsiguientes secuencias muestran las regiones suprimidas indicadas con guiones (-), que también están numerados, mientras que las secuencias en el listado de secuencias anexo a esta memoria están numeradas de forma continua sin las regiones suprimidas ni los codones de aminoácidos.

40 SEC ID NO:1 secuencia de ADNc de XIKE-A

SEC ID NO:2 secuencia de ADNc de XIKE-A-NdN

45 SEC ID NO:3 secuencia de ADNc de XIKE-B

SEC ID NO:4 ADNc de XIKE-B-NdN

50 SEQ ID NO:5 secuencia de aminoácidos de XIKE-A

SEC ID NO:6 secuencia de aminoácidos de XIKE-A-NdN

55 SEC ID NO:7 secuencia de aminoácidos de XIKE-B

SEQ ID NO:8 secuencia de aminoácidos de XIKE-B-NdN

SEC ID NO:9 secuencia de aminoácidos de XIKE-C-NdN

60 SEQ ID NO:10 secuencia de ADNc de XIKE-C-NdN

SEQ ID NO:11 secuencia de ADNc de XIKE-C

65 SEQ ID NO:12 secuencia de aminoácidos de XIKE-C

**Breve sumario de la invención**

La presente invención se refiere a pestivirus atenuados, preferiblemente a VDVB atenuados, en donde al menos una mutación se encuentra en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> y al menos otra mutación se encuentra en la

- 5 secuencia codificadora de N<sup>pro</sup>, que preferiblemente conduce a una inactivación combinada de la actividad de RNasa que reside en la glicoproteína E<sup>ms</sup>, además de la inactivación de la actividad inmunomoduladora (en hipótesis) que reside en N<sup>pro</sup>. La invención también se refiere a métodos para atenuar pestivirus, de manera que la atenuación resulta en un pestivirus atenuado, preferiblemente en un VDVB atenuado, tal como se ha descrito antes. La presente invención se refiere, además, a moléculas de ácidos nucleicos que codifican dichos pestivirus atenuados, preferiblemente 10 que codifican VDVB atenuados, a composiciones y vacunas que comprenden el pestivirus atenuado, preferiblemente VDVB, según se describe en esta memoria.

**Descripción detallada de la invención**

- 15 *Definiciones de términos y expresiones utilizados en la memoria descriptiva*

Antes de las realizaciones de la presente invención, se debe señalar que, tal y como se emplea en esta memoria y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares “un”, “una” y “el”, “la”, incluyen una referencia plural, a no ser que en el contexto se dicte claramente de otro modo. Así, por ejemplo la referencia a “un VDVB” incluye una 20 pluralidad de VDVBs de este tipo, la referencia a la “célula” es una referencia a una o más células y sus equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, etcétera. A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos empleados en esta memoria, tienen los mismos significados que los que entiende generalmente un experto ordinario en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque se puede utilizar en la práctica o someter a ensayo en la presente invención cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en esta memoria, los métodos, 25 los dispositivos y los materiales preferidos se describen a continuación. Todas las publicaciones mencionadas en esta memoria se incorporan como referencia a los fines de describir y exponer las líneas de células, los vectores y las metodologías según se reseñan en las publicaciones que podrían utilizarse en relación con la invención. Nada en esta memoria debe ser interpretado como una admisión de que la invención no tiene derecho a ser un precedente de tal descripción en virtud de la invención anterior.

- 30 El término “pestivirus”, según se utiliza en esta memoria, se refiere a todos los miembros del género *Pestivirus*, incluidos el VDVB, VFPC y VEF, dentro de la familia *Flaviviridae*.

- 35 El término “VFPC”, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a todos los virus que pertenecen a las especies del virus de la fiebre porcina clásica (VFPC) en el género *Pestivirus* dentro de la familia *Flaviviridae*.

- 40 El término “VDVB”, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a todos los virus que pertenecen a las especies virus de la diarrea viral bovina (VDVB) tipo 1 (VDVB-1) y VDVB tipo 2 (VDVB-2) en el género *Pestivirus* dentro de la familia *Flaviviridae* (Heinz *et al.*, 2000). Las cepas de VDVB tipo 1 más clásicas y las cepas de VDVB tipo 2 más recientemente reconocidas exhiben algunas diferencias limitadas pero distintivas en las secuencias de nucleótidos y aminoácidos.

- 45 El término “N<sup>pro</sup>”, tal como se entiende en esta memoria, se refiere a la primera proteína codificada por el marco de lectura abierto viral y se escinde por sí misma del resto de la poliproteína sintetizada (Stark, *et al.*, J. Virol. 67:7088-7093 (1993); Wiskerchen, *et al.*, Virol. 65:4508-4514 (1991)). Dicho término, dependiendo del contexto, puede también referirse a los restantes aminoácidos “N<sup>pro</sup>” tras la mutación de la secuencia de nucleótidos codificadora o la secuencia de nucleótidos codificadora de dicha proteína propiamente dicha. “Actividad de proteasa que reside en N<sup>pro</sup>” se refiere a la actividad de escisión del polipéptido de dicha “N<sup>pro</sup>”.

- 50 “E<sup>ms</sup>”, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a la glicoproteína E<sup>ms</sup> que representa un componente estructural del virión del pestivirus (Thiel *et al.*, 1991). E<sup>ms</sup> carece de un anclaje de la membrana típico y se secreta en cantidades considerables a partir de las células infectadas; se ha informado que esta proteína exhibe una actividad de RNasa (Hulst *et al.*, 1994; Schneider *et al.*, 1993; Windisch *et al.*, 1996). Debe señalarse que el término glicoproteína EO se utiliza a menudo de una manera sinónima a glicoproteína E<sup>ms</sup> en las publicaciones. Dicho término, dependiendo 55 del contexto, puede también referirse a la proteína “E<sup>ms</sup>” mutada tras la mutación de la secuencia de nucleótidos codificadora o la secuencia de nucleótidos codificadora de dicha proteína propiamente dicha. “Actividad de RNasa que reside en la glicoproteína E<sup>ms</sup>” se refiere a la actividad de escisión del ARN de dicha glicoproteína, es decir la capacidad de la glicoproteína E<sup>ms</sup> de hidrolizar ARN. La expresión “inactivación de la actividad de RNasa que reside en dicha glicoproteína” se refiere a la incapacidad o capacidad reducida de una glicoproteína E<sup>ms</sup> modificada de hidrolizar 60 ARN en comparación con el tipo salvaje no modificado de dicha glicoproteína E<sup>ms</sup>.

- 65 Atenuación: “un pestivirus o partícula de VDVB atenuado”, tal como se utiliza en esta memoria, significa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la virulencia de pestivirus o partículas de VDVB atenuados de la presente invención, en donde dichas partículas virales atenuadas han sido atenuadas mediante un método descrito en esta memoria, y pestivirus de tipo salvaje o aislados de VDVB de los que se han derivado dichos pestivirus o partículas de VDVB atenuados, para los parámetros clínicos predominantes, en el caso de VDVBs para diarrea, pirexia y letalidad en animales infestados con la misma dosis, preferiblemente 6x10<sup>6</sup> DCIT<sub>50</sub>. Así, dichas partículas de VDVB atenuadas no provocan diarrea, pirexia ni letalidad y, así, pueden utilizarse en una vacuna.

## ES 2 321 210 T3

La inactivación de E<sup>ms</sup> tal como se utiliza en esta memoria, significa una actividad de RNasa no significativamente por encima del nivel medido para células control no infestadas en un ensayo de RNasa según se describe en Meyers *et al.*, 1999. “No significativamente por encima del nivel medido para células control no infestadas en un ensayo de RNasa, según se describe en Meyers *et al.*, 1999, significa, por ejemplo, que la actividad de RNasa es menor que 5 150%, comparada con las células control no infestadas.”

Inactivación de N<sup>pro</sup>, tal como se utiliza en esta memoria, significa la prevención o una considerable reducción de la actividad inmunomoduladora probable de N<sup>pro</sup> por mutación. En una realización preferida, esta mutación evita 10 o reduce considerablemente la interferencia de N<sup>pro</sup> con la inducción de una respuesta de interferón por parte de las células infestadas, según se describe por Rügigli *et al.*, (2003). En este caso, la inactivación de N<sup>pro</sup> permitiría montar una respuesta normal de interferón.

“Señal de procesamiento”, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a una sustancia que asegura la generación 15 de un extremo N-funcional de la proteína C del pestivirus, preferiblemente del VDVB, en particular una sustancia seleccionada del grupo de ubiquitina, LC3, SUMO-1, NEDD8, GATE-16 y GABA(A)RAP. También proteasas seleccionadas del grupo de inteína, 3C de picornavirus, 2A de cardiovirus y p15 del virus de la enfermedad hemorrágica del conejo se entienden como “señales de procesamiento”, tal como se utilizan en esta memoria. Cualquier otra señal similar 20 de procesamiento conocida por los expertos que asegure la generación de un extremo N-funcional de la proteína C debe estar también comprendida en la expresión “señal de procesamiento”.

20 Proteína C” o “proteína C” o “proteína-C”, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un componente estructural del virión del pestivirus (Thiel *et al.*, 1991). La “proteína C” es la proteína de la cápsida o del núcleo de pestivirus. Dicho término, dependiendo del contexto, también puede referirse a la “Proteína C” con uno o varios intercambios de aminoácidos que resultan de la mutación de la secuencia de nucleótidos codificadora.

25 Un “fragmento” de acuerdo con la invención es cualquier subunidad de una molécula de polinucleótido de acuerdo con la invención, es decir cualquier subconjunto. Para el ADN, dicho fragmento se caracteriza porque es más corto que el ADN que cubre el genoma viral de longitud completa.

30 Una “variante funcional” de la molécula de nucleótido de acuerdo con la invención es una molécula de nucleótido que posee una actividad biológica (ya sea funcional o estructural) que es esencialmente similar a la molécula de nucleótido de acuerdo con la invención. La expresión “variante funcional” también incluye “un fragmento”, “una variante funcional”, “variante basada en el código degenerativo de los ácidos nucleicos” o “derivado químico”. Una 35 “variante funcional” de este tipo puede, p. ej., portar uno o varios cambios, delecciones o inserciones de nucleótidos. Dicha variante funcional conserva, al menos en parte, su actividad biológica, p. ej. la función en calidad de un clon infeccioso o una cepa de vacuna, o incluso exhibe una actividad biológica mejorada. “Posee una actividad biológica que es esencialmente similar” significa, con relación a los pestivirus provistos de la misma, por ejemplo, que dicho pestivirus está atenuado de una manera como la descrita en esta memoria y da como resultado un virus no patógeno adecuado para la producción del virus vivo atenuado, que pierde capacidad de atravesar la placenta, pero que media 40 en una respuesta inmune después de la vacunación.

Una “variante basada en la naturaleza degenerativa del código genético” es una variante que resulta del hecho de que un determinado aminoácido puede ser codificado por varios tripletes diferentes de nucleótidos. Dicha variante conserva, al menos en parte, su actividad biológica, o incluso exhibe una actividad biológica mejorada.

45 Una molécula es “esencialmente similar” a otra molécula si ambas moléculas tienen secuencias de nucleótidos o una actividad biológica esencialmente similares. Así, con la condición de que dos moléculas posean una actividad similar se las considera variantes, ya que ese término se utiliza en esta memoria si la secuencia de nucleótidos no es idéntica, y dos moléculas que tienen una secuencia similar de nucleótidos se consideran variantes, ya que ese término 50 se utiliza en esta memoria incluso si su actividad biológica no es idéntica.

Una mutación, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a modificaciones en las moléculas de ácidos nucleicos que codifican las proteínas/aminoácidos de acuerdo con la invención. Dichas mutaciones se refieren, pero no están limitadas a sustituciones (reemplazamiento de uno o varios nucleótidos/pares de bases), delecciones (separación de uno o varios nucleótidos/pares de bases), y/o inserciones (adición de uno o varios nucleótidos/pares de bases). Tal como 55 se utiliza en esta memoria, la mutación puede ser una mutación sencilla o varias mutaciones, por lo tanto, a menudo se utiliza el término “mutación(es)” y se refiere tanto a una mutación sencilla como a varias mutaciones. Dichas mutaciones incluyen, pero no se limitan a mutaciones puntuales (mutaciones de un solo nucleótido) o mutaciones mayores, en donde, p. ej., partes de las moléculas de ácido nucleico codificadoras están suprimidas, sustituidas y/o 60 está insertado un ácido nucleico codificador adicional. Dichas mutaciones pueden dar como resultado un polipéptido expreso modificado, debido al cambio en la secuencia codificadora. Se desean polipéptidos modificados de este tipo, tal como se recoge en la descripción de la invención según figura más abajo.

El término “vacuna”, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos un componente inmunológicamente activo que induce una respuesta inmunológica en un animal y, 65 posible, pero no necesariamente uno o más componentes adicionales que refuerzan la actividad inmunológica de dicho componente activo. Una vacuna puede comprender, adicionalmente, componentes adicionales típicos de las composiciones farmacéuticas. El componente inmunológicamente activo de una vacuna puede comprender partículas de

virus completas, ya sea en su forma original o como partículas atenuadas en una denominada vacuna viva modificada (VVM) o partículas inactivadas por métodos apropiados en una denominada vacuna muerta (VM). En otra forma, el componente inmunológicamente activo de una vacuna puede comprender elementos apropiados de dichos organismos (vacunas subunidad), en donde estos elementos se generan destruyendo la partícula completa o los cultivos en desarrollo que contienen partículas de este tipo y, opcionalmente, subsiguientes etapas de purificación que proporcionan la o las estructuras deseadas, o por procedimientos de síntesis que incluyen una manipulación apropiada mediante el uso de un sistema adecuado, basado, por ejemplo, en bacterias, insectos, mamíferos u otras especies más, opcionalmente, procesos de aislamiento y purificación subsiguientes, o por inducción de dichos procedimientos de síntesis en el animal que necesita una vacuna mediante la incorporación directa de material genético utilizando composiciones farmacéuticas adecuadas (vacunación con polinucleótidos). Una vacuna puede comprender uno o simultáneamente más de uno de los elementos descritos anteriormente. El término "vacuna", tal como se entiende en esta memoria, es una vacuna para uso veterinario que comprende sustancias antigenicas y se administra con el fin de inducir una inmunidad específica y activa frente a una enfermedad provocada por una infección por pestivirus, preferiblemente por una infección por VDVB. Los pestivirus atenuados, en particular el VDVB atenuado tal como se describe en esta memoria, confieren una inmunidad activa que puede ser transferida pasivamente a través de anticuerpos maternales contra los inmunógenos que contiene y algunas veces también contra organismos antigenicamente relacionados. Una vacuna de la invención se refiere a una vacuna según se define antes, en donde un componente inmunológicamente activo es un VDVB o de origen pestivírico o derivado de una secuencia de nucleótidos que tiene una homología mayor que 70% con cualquier secuencia de pestivirus conocida (sentido o antisentido).

La expresión "vacuna viva" se refiere a una vacuna que comprende un componente activo vivo, en particular un componente activo vírico vivo.

Componentes adicionales para reforzar la respuesta inmunitaria son constituyentes a los que habitualmente se les alude como "adyuvantes", tales como, p. ej., hidróxido de aluminio, aceite mineral u otros aceites o moléculas auxiliares añadidas a la vacuna o generadas por el cuerpo tras la respectiva inducción por componentes adicionales de este tipo, tales como, pero no limitados a interferones, interleucinas o factores de crecimiento.

Una "composición farmacéutica" consiste esencialmente en uno o más ingredientes capaces de modificar funciones fisiológicas, p. ej. funciones inmunológicas del organismo a los que se les administra, o de organismos que viven en o sobre el organismo. El término incluye, pero no se limita a antibióticos o antiparasitarios, así como otros constituyentes habitualmente utilizados para conseguir otros determinados objetivos, pero no limitados a rasgos de procesamiento, esterilidad, estabilidad, capacidad de administrar la composición por las vías enteral o parenteral, tales como oral, intranasal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradermal u otra vía adecuada, tolerancia tras la administración, propiedades de liberación controlada. Un ejemplo no limitante de una composición farmacéutica de este tipo, sólo proporcionado para fines demostrativos, podría prepararse como sigue: un sobrenadante de un cultivo celular infestado se mezcla con un estabilizador (p. ej. espermidina y/o ASB (albúmina de suero bovino)) y la mezcla se liofiliza subsiguientemente o se deshidrata por otros métodos. Antes de la vacunación, dicha mezcla se rehidrata luego en solución salina acuosa (p. ej. solución salina, STF (solución salina tamponada con fosfato)) o soluciones no acuosas (p. ej. emulsión en aceite, adyuvante basado en aluminio).

### **Descripción de la invención**

La solución al problema técnico anterior se alcanza con la descripción y las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones.

Se ha encontrado, sorprendentemente, que pestivirus, en particular VDVB, se pueden atenuar de manera más eficaz al introducir al menos una mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> y al menos otra mutación en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup>, que preferiblemente conduce a una inactivación combinada de la actividad de RNasa que reside en la glicoproteína E<sup>ms</sup>, además de la inactivación de la actividad inmunomoduladora que reside en N<sup>pro</sup>. Un efecto inmunomodulador en un aspecto se indica, pero no se limita a la función indicada para un pestivirus de una manera ejemplar por Rüeggli *et al.* (2003).

Un pestivirus, en particular VDVB atenuado de acuerdo con la presente invención, puede utilizarse ventajosamente en vacunas. Dichos pestivirus atenuados, en particular dicho VDVB atenuado, proporcionan ahora vacunas vivas de elevada inmunogenicidad. Sorprendentemente, los pestivirus, en particular el VDVB de acuerdo con la invención son, además, seguros para el uso en animales preñados, ya que no atraviesan la placenta. Esto se exemplifica de una manera no limitante para VDVB en el ejemplo 3.

Además, vacunas vivas con mutaciones definidas como base de la atenuación permitirán evitar las desventajas de la presente generación de vacunas, p. ej. el riesgo de la reversión a una cepa más patogénica. Una ventaja adicional de dichas mutaciones atenuantes estriba en su singularidad molecular que permite utilizarlas como marcadores distintivos para un pestivirus atenuado, en particular VDVB, y para distinguirlas de pestivirus, en particular VDVB del campo. Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención proporciona un pestivirus atenuado, en particular un VDVB atenuado con al menos una mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> y al menos otra mutación en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup>. Preferiblemente, en pestivirus atenuados de este tipo, preferiblemente en VDVB atenuado de este tipo dicha mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> conduce a la inactivación de la actividad de RNasa que reside en E<sup>ms</sup> y/o dicha mutación en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conduce a la inactivación de dicha

## ES 2 321 210 T3

N<sup>por</sup>. Dicha inactivación puede tener lugar por cualquier mutación conocida por la persona experta en la técnica de la secuencia codificadora de E<sup>ms</sup> y la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> en donde las mutaciones son cualquier mutación según se define en la sección “definiciones”, tales como delecciones, mutaciones por inserción y/o mutaciones por sustitución. Lo más preferiblemente, la o las mutaciones son delecciones, tales como la probabilidad de la reversión al tipo salvaje son las más bajas para las delecciones.

Se ha demostrado que la glicoproteína E<sup>ms</sup> forma un homodímero unido por disulfuro de aproximadamente 97 kD, en donde cada monómero consiste en 227 aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 268 a 494 de la poliproteína del VFPC, según se describe por Rümenapf *et al.* (1993). La secuencia del genoma de la cepa Alfort/Tübingen de VFPC está disponible en el banco de datos GenBank/EMBL bajo el número de acceso J04358; alternativamente, se puede acceder a la secuencia de aminoácidos para la cepa CP7 de VDVB en el banco de datos GenBank/EMBL (número de acceso U63479); en la poliproteína de CP7 de VDVB, la proteína E<sup>ms</sup> corresponde a los residuos 271 a 497. Dos regiones de aminoácidos están muy conservadas en la glicoproteína E<sup>ms</sup>, así como en algunas proteínas RNAsas activas de vegetales y hongos (Schneider *et al.*, 1993). Estas dos regiones son de particular importancia para la actividad enzimática de RNasa. La primera región consiste en la región en los aminoácidos en las posiciones 295 a 307 (298 a 310 para la cepa cp7 de VDVB) y la segunda región consiste en los aminoácidos en las posiciones 338 a 357 (341 a 360 para la cepa cp7 de VDVB) de dicha poliproteína viral, según se ejemplifica para la cepa Alfort de VFPC en Meyers *et al.*, 1999 (numeración de acuerdo con la secuencia de aminoácidos deducida publicada de la cepa Alfort/Tübingen de VFPC (Meyers *et al.*, 1989)). Los aminoácidos de particular importancia para la actividad de RNasa, según se menciona antes, no están de modo alguno limitados a la posición según se define para la cepa Alfort/Tübingen de VFPC, sino que simplemente se usan de una manera ejemplar para indicar que los aminoácidos preferidos están en esa posición o corresponden a esa posición en otras cepas, tales como las encontradas en VDVB, VEF y pestivirus en general, ya que están muy conservados. Para pestivirus que no sean la cepa Alfort/Tübingen de VFPC, la numeración de las posiciones de los aminoácidos preferidos puede ser diferente, pero un experto en el campo de la biología molecular de pestivirus identificará fácilmente estos aminoácidos preferidos por el alto grado de conservación de esta secuencia de aminoácidos y la posición de estos motivos en el contexto de la secuencia. En un ejemplo particular, no limitante, la posición 346 de Alfort/Tübingen de VFPC es idéntica a la posición 349 de la cepa cp7 de VDVB.

Como consecuencia, la presente invención se refiere, preferiblemente, a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están situadas en la secuencia de nucleótidos codificadora correspondientes a los aminoácidos en las posiciones 298 a 310 y/o en las posiciones 341 a 360. Preferiblemente, mutaciones de este tipo son (los aminoácidos se indican en los símbolos de una letra; el aminoácido delante del número de la posición indica el aminoácido a sustituir, el aminoácido detrás del número de la posición del aminoácido indica el aminoácido sustituyente (del indica delección): por ejemplo, H300L significa histidina 300 estaba sustituida con leucina.

Modificaciones adecuadas de la glicoproteína E<sup>ms</sup> son, por ejemplo, las sustituciones/delecciones sencillas: S298G, H300K, H300L, H300R, H300del, W303G, P304del, E305A, C308G, R343G, E345del, W346G, K348A, H349K, H349L, H349del, H349Q, H349SV (mutación H349S e inserción de V), K348R, W351P, W351G, W351, W351K, W351H; las sustituciones/delecciones dobles: H300L/H349L, K348del/H349del, H349del/G350del, E345del/H349del, W303G/E305A, H300K/H349K, H300K/H349L y las delecciones triples: L299del/H300del/G300del, K348del/H349del/G350del. La numeración está de acuerdo con la secuencia de aminoácidos publicada de CP7 de VDVB para todos los mutantes listados anteriormente (los números indicados menos 3 corresponderían a los residuos equivalentes de la secuencia de aminoácidos de Alfort/Tübingen de VFPC) Todos los mutantes antes listados se ensayaron al menos como mutantes de VFPC o VDVB respectivos sin mutaciones en la región N<sup>pro</sup>. Por ejemplo, por el documento WO 99/64604 se proporcionan mutantes adecuados de la glicoproteína de pestivirus E<sup>ms</sup> que se incorpora en esta memoria en su totalidad. Sin embargo, debe señalarse que, de acuerdo con la presente invención, debe estar presente al menos una mutación adicional en la región N<sup>pro</sup>, según se describe con mayor detalle más abajo.

Particularmente, se encontró que la delección o sustitución del residuo histidina en la posición 346 (VFPC) ó 349 (VDVB) conduce a una inactivación eficaz de E<sup>ms</sup> y, por lo tanto, conduce a vacunas vivas pestivirales particularmente útiles. La presente invención demuestra que los pestivirus son viables y codifican una proteína E<sup>ms</sup> sin actividad de RNasa cuando se suprime el residuo histidina en la posición 346 de la poliproteína viral (numeración de acuerdo con la secuencia publicada de Alfort/Tübingen de VFPC (Meyers *et al.*, 1989)), o en la posición 349 (numeración 349 (numeral de acuerdo con la secuencia publicada de CP7 de VDVB (Meyers *et al.*, 1996b)) si dicho pestivirus es VDVB, el cual representa uno de los residuos de sitio activo putativo conservados de la RNasa de E<sup>ms</sup>. Así, preferiblemente, la invención también se refiere a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> es una delección o sustitución del residuo histidina en la posición 349. Incluso más específicamente, el sitio activo putativo de la RNasa se representa por las secuencias conservadas de E<sup>ms</sup> SLHGIW PÉKICTG y/o LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW (secuencia de la proteína New York'93 de VDVPB-2 aquí indicada de una manera ejemplar; cambios menores se pueden encontrar, posiblemente, en otras secuencias de pestivirus, pero la identidad del motivo resultará siempre obvia para un experto en el sector. Como ejemplo, las correspondientes secuencias de aminoácidos de CP7 de VDVB-1 serían SLHGIWPEKICTG y/o LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW, y las de Alfort/Tübingen de VFPC SLHGIWPEKICKG y/o LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW). Así, preferiblemente, la invención se refiere, además, a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están situadas en la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKICTG y/o LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW. Estas secuencias representan el sitio

activo putativo de la RNasa. Las secuencias SLHGIWPEKIC y RHEWNKHGWCNW del sitio activo putativo de E<sup>ms</sup> están incluso más conservadas entre los pestivirus. Así, preferiblemente, la invención también se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB con al menos una mutación en la secuencia codificadora de la proteína N<sup>pro</sup> y de la glicoproteína E<sup>ms</sup>, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están situadas en la secuencia de nucleótidos de la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKIC y/o RHEWNKHGWCNW.

Preferiblemente, la mutación está localizada en sólo una de dichas secuencias. Así, la invención también se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB, con al menos una mutación en la secuencia codificadora de la proteína N<sup>pro</sup> y de la glicoproteína E<sup>ms</sup>, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están situadas en la secuencia de nucleótidos de la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKIC o RHEWNKHGWCNW.

10 Preferiblemente, mutaciones de este tipo conciernen a dos aminoácidos diferentes, es decir son mutaciones dobles. Así, dichas mutaciones pueden ser mutaciones de 1 a 3 nucleótidos en dos tripletes diferentes que codifican dos aminoácidos. Así, la invención también se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB con al menos una mutación en la secuencia codificadora de la proteína N<sup>pro</sup> y de la glicoproteína E<sup>ms</sup>, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> son dos mutaciones situadas en la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKIC y/o RHEWNKHGWCNW. Preferiblemente, mutaciones de este tipo conciernen a un aminoácido sencillo. Así, dicha mutación pueden ser mutaciones de 1 a 3 nucleótidos en un triplete que codifica un aminoácido. Así, la invención también se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB con al menos una mutación en la secuencia codificadora de la proteína N<sup>pro</sup> y la glicoproteína E<sup>ms</sup>, en donde una mutación sencilla está localizada en la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKIC o RHEWNKHGWCNW.

15

20 Como se ha mencionado antes, los pestivirus atenuados proporcionados por la presente invención, con al menos una mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> y en la secuencia codificadora de la proteína N<sup>pro</sup>, en donde dicha mutación da como resultado, preferiblemente, la inactivación de la actividad de RNasa que reside en la glicoproteína E<sup>RNS</sup> y de la actividad inmunomoduladora que reside en N<sup>pro</sup>. La inactivación de la N<sup>pro</sup> se consigue en pestivirus, en particular VDVB de la fórmula especificada descrita más en detalle más abajo, en donde están presentes entre 0 y todos los aminoácidos de N<sup>pro</sup>; está presente o ausente ubiquitina o LC3 u otra secuencia que servía como una señal de procesamiento (p. ej. SUMO-1, NEDD8, GATE-16, GABA(A)RAP, o proteasas, tales como, p. ej., inteína, 3C de picornavirus, 2A de caridovirus o p15 de la enfermedad hemorrágica de conejos). En el caso de que esté presente una señal de procesamiento, la secuencia codificadora de la señal de procesamiento está insertada en o cerca del extremo C-terminal de la proteína N<sup>pro</sup> (parte restante de la misma). Sólo en el caso de que esté presente una señal de procesamiento, puede estar presente cualquier número de aminoácidos que codifican N<sup>pro</sup> (= aminoácidos de N<sup>pro</sup>). En el caso de que no esté insertada ninguna señal de procesamiento, puede estar presente un máximo de 12 aminoácidos, preferiblemente aminoácidos amino-terminales, de N<sup>pro</sup>, debiéndose suprimir los restantes aminoácidos. Además, mutaciones distintas de las de E<sup>ms</sup> según se describen antes (al menos una de las cuales debe estar presente en el pestivirus, en particular en VDVB de acuerdo con la invención), las restantes secuencias del pestivirus, en particular VDVB, pueden permanecer sin modificar, es decir no están mutadas, o pueden también tener mutaciones próximas al extremo N-terminal de la proteína C. Un cierto número de realizaciones más específicas según se describen más abajo, ejemplifican esto.

25

30 40 Así, la invención se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

$$[N^{pro}]_x - [PS]_y - [C\text{-term}]$$

45 y en donde:  
50 [N<sup>pro</sup>] se refiere a la porción N<sup>pro</sup> de dicha poliproteína, en donde "x" representa el número de aminoácidos de la N<sup>pro</sup> presente en la poliproteína;

55 [PS] se refiere a una señal de procesamiento seleccionada de: ubiquitina, LC3, SUMO-1, NEDD8, GATE-16 o GABA(A)RAP o proteasas tales como, p. ej., inteína, 3C de picornavirus, 2A de caridovirus o p15 del virus de la enfermedad hemorrágica del conejo, o cualquier señal de procesamiento conocida por una persona experta que asegure la generación de un N-terminal funcional de la proteína C. "Y" puede ser = 0, lo que significa que no está presente una señal de procesamiento (= PS está ausente), o "Y" puede ser = 1, lo que significa que está presente una señal de procesamiento (= PS presente).

60 65 [C-term] se refiere al pestivirus completo, en particular a la poliproteína completa de VDVB, excepto N<sup>pro</sup>, pero que incluye la proteína de la cápsida (C) y cualquier otra proteína presente en la poliproteína del pestivirus, en particular en la poliproteína de VDVB, incluida la NS5B carboxi-terminal. Preferiblemente, la glicoproteína E<sup>ms</sup> en dicho [C-term] está mutada, de modo que está inactivada la actividad de RNasa que reside en la glicoproteína E<sup>ms</sup>. La expresión "cualquier otra proteína presente en la poliproteína de pestivirus/poliproteína de VDVB" se refiere a E<sup>ms</sup>, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B y NS5A, en donde la glicoproteína E<sup>ms</sup> está mutada, preferiblemente según se describe en esta memoria (véase antes), de manera que está inactivada la actividad de RNasa que reside en la glicoproteína E<sup>ms</sup>. Preferiblemente, el pestivirus, en particular el VDVB de acuerdo con la invención tiene una proteína C que no está mutada, excepto por el aminoácido en la posición 2 que está cambiado de D a N. Por lo tanto, [C-term\*] es el mismo que [C-term], pero con una mutación en la posición 2 de la proteína C (N en lugar de D);

## ES 2 321 210 T3

si "y" es = 0 (significa que no está presente [PS]), entonces "x" es 0 a 12, (significa que no está presente un aminoácido específico de N<sup>pro</sup> ni 1 a 12 aminoácidos de N<sup>pro</sup>, preferiblemente del extremo N de N<sup>pro</sup>);

5 si "y" es = 1 (significa que está presente [PS]), entonces "x" es 0 a 168; (significa que no está presente un aminoácido específico de N<sup>pro</sup> ni 1 a todos los 168 aminoácidos de N<sup>pro</sup>, preferiblemente del extremo N de N<sup>pro</sup>).

También más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

10

$$[N^{pro}]_1-[PS]_0-[C\text{-term}]$$

15 y en donde las definiciones son como se definen antes.

Más abajo se describe un ejemplo específico de la misma, en donde a la metionina N-terminal le sigue la proteína C y cualquier otra proteína presente en la poliproteína, incluida la NS5B carboxi-terminal. Por lo tanto, lo más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, en particular VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o 20 dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

20

$$M[C\text{-term}],$$

25

y en donde las definiciones son como se definen antes.

También más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB de acuerdo con la 30 invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

30

$$[N^{pro}]_3-[PS]_0-[C\text{-term}]$$

35

y en donde las definiciones son como se definen antes.

Se describe a continuación un ejemplo específico de VDVB, en donde a la metionina N-terminal le sigue la secuencia EL de N<sup>pro</sup> y la proteína C y cualquier otra proteína presente en la poliproteína que incluya la NS5B carboxi- 40 terminal. Por lo tanto, lo más preferiblemente, la invención se refiere a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

40

$$MEL-[C\text{-term}]$$

45

y en donde las definiciones son como se definen antes.

También más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB de acuerdo con la 50 invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

50

$$[N^{pro}]_4-[PS]_0-[C\text{-term}]$$

55

y en donde las definiciones son como se definen antes.

Se describe a continuación un ejemplo específico de VDVB, en donde a la metionina N-terminal le sigue la secuencia ELF de N<sup>pro</sup> y la proteína C y cualquier otra proteína presente en la poliproteína que incluya la NS5B carboxi- 60 terminal. Por lo tanto, lo más preferiblemente, la invención se refiere a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

60

$$MELF-[C\text{-term}]$$

65

y en donde las definiciones son como se definen antes.

# ES 2 321 210 T3

También más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

5 [N<sup>pro</sup>]<sub>6</sub>-[PS]<sub>0</sub>-[C-term]

y en donde las definiciones son como se definen antes.

10 Se describe a continuación un ejemplo específico de VDVB, en donde a la metionina N-terminal le sigue la secuencia ELFSN de N<sup>pro</sup> y la proteína C y cualquier otra proteína presente en la poliproteína que incluya la NS5B carboxiterminal. Por lo tanto, lo más preferiblemente, la invención se refiere a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según  
15 se caracteriza por la siguiente fórmula:

MELFSN-[C-term]

20 y en donde las definiciones son como se definen antes.

También más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

25 [N<sup>pro</sup>]<sub>4</sub>-[PS]<sub>0</sub>-[C-term]

30 y en donde las definiciones son como se definen anteriormente, excepto por el hecho de que está cambiada la parte amino-terminal de la proteína C.

35 Se describe a continuación un ejemplo específico de VDVB, en donde a la metionina N-terminal le sigue la secuencia ELF de N<sup>pro</sup> y en la secuencia de la proteína C, el aminoácido en la posición 2 está cambiado de D a N. Por lo tanto, la secuencia de la proteína C amino-terminal es SNEGSK... en lugar de SDEGSK. Por lo tanto, lo más preferiblemente, la invención se refiere a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

40 MELF-[C-term]

en donde en la proteína C el aminoácido en la posición 2 está cambiado de D a N, y

45 en donde las definiciones son como se definen antes.

También más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, en particular a VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula:

50 [N<sup>pro</sup>]<sub>x</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term]

55 en donde las definiciones son como se definen antes,

y en donde PS es cualquiera de las PS descritas anteriormente, preferiblemente seleccionadas del grupo de ubiquitina o LC3.

60 Se describe más abajo un ejemplo específico de VDVB, en donde a la metionina N-terminal le siguen cualquiera de los 21 ó 28 aminoácidos de N<sup>pro</sup>, ubiquitina o LC3 y la proteína C. Por lo tanto, lo más preferiblemente, la invención se refiere a un VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracterizan por la siguiente fórmula:

65 [N<sup>pro</sup>]<sub>22</sub>-[PS]<sub>1</sub>-[C-term], en donde preferiblemente, la PS es ubiquitina o LC3 o

[N<sup>pro</sup>]<sub>22</sub>-[PS]<sub>1</sub>-[C-term], en donde preferiblemente, la PS es ubiquitina o LC3.

## ES 2 321 210 T3

Ubiquitina es una proteína celular de 76 aminoácidos muy conservada y bien conocida. Entre otras funciones, la ubiquitina es un jugador clave en el catabolismo de la proteína, ya que la conjugación con ubiquitina puede marcar una proteína para la degradación a través del proteosoma. Ubiquitina conjugada con o condensada a otras proteínas a través de la glicina carboxi-terminal puede ser separada por escisión por parte de proteasas celulares específicas de ubiquitina. Así, la fusión de una proteína al extremo carboxi de ubiquitina dará como resultado, habitualmente, una escisión proteolítica definida de la proteína de fusión en sus componentes cuando se expresa en una célula.

LC3 (cadena ligera 3 de proteínas asociadas a los microtúbulos) representa una proteína celular de 125 aminoácidos que cumple una diversidad de funciones (longitud dada para LC3 bovina). Recientemente, se ha definido un papel fundamental de la proteína en la autofagia. Durante este proceso, LC3 es activada por la escisión carboxi-terminal. Con ello, se genera un nuevo extremo carboxi que consiste en glicina. LC3 se conjuga luego, a través de la glicina carboxi-terminal, a fosfatidiletanolamina presente en las membranas de vesículas autofágicas. Debido a este procedimiento, una proteína condensada al extremo carboxi de LC3 se separará por escisión por parte de una proteasa celular en una posición definida.

También más preferiblemente, la invención se refiere a un pestivirus, preferiblemente a VDVB de acuerdo con la invención, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se caracteriza por la siguiente fórmula, seleccionada del grupo de:

[N<sup>pro</sup>]<sub>2</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS]Y [C-term];  
[N<sup>pro</sup>]<sub>5</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS]y-[C-term];  
[N<sup>pro</sup>]<sub>7</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS] -[C-term];  
[N<sup>pro</sup>]<sub>8</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS] -[C-term];  
[N<sup>pro</sup>]<sub>9</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS] -[C-term];  
[N<sup>pro</sup>]<sub>10</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS] -[C-term];  
[N<sup>pro</sup>]<sub>11</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS] -[C-term]; y  
[N<sup>pro</sup>]<sub>12</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term] y, preferiblemente, ME-[PS]y[C-term];

y en donde las definiciones son como se definen antes. Las realizaciones preferiblemente descritas se refieren a VDVB.

Lo más preferiblemente, y es 0 (no está presente PS).

También más preferiblemente, dicho VDVB de acuerdo con la invención según se describe arriba, es un VDVB de tipo 1. Lo más preferiblemente, dicho VDVB de acuerdo con la invención según se describe arriba, es un VDVB de tipo 2. VDVB-1 y VDVB-2 se diferencian de acuerdo con rasgos de sus secuencias genómicas (Heinz *et al.*, 2000 y referencias en el mismo). VDVB-1, según se describe en esta memoria, se puede utilizar en la fabricación de una composición para uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones por VDVB de tipo 1 en razas de crianza de ganado, en vacas preñadas y en la inducción de la protección fetal frente a una infección por VDVB de tipo 1 en vacas preñadas. Sorprendentemente, un VDVB-2, tal como se describe en esta memoria, se puede utilizar en la fabricación de una composición para uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones por VDVB de tipo 1 en razas de crianza de ganado. En particular, la invención se refiere al uso de un VDVB de tipo 2 de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición para uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones por VDVB de tipo 1 en vacas preñadas. Preferiblemente, el VDVB de tipo 2 de acuerdo con la invención se puede utilizar en la fabricación de una composición para uso en la inducción de una protección fetal frente a infecciones por VDVB de tipo 1 en vacas preñadas. Sorprendentemente, también un VDVB-1, tal como se describe en esta memoria, se puede utilizar en la fabricación de una composición para uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones por VDVB de tipo 2 en razas de crianza de ganado. En particular, la invención se refiere al uso de un VDVB de tipo 1 de acuerdo con la invención en la fabricación de una composición para uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones por VDVB de tipo 2 en vacas preñadas. Preferiblemente, el VDVB de tipo 1 de acuerdo con la invención se puede utilizar en la fabricación de una composición para uso en la inducción de una protección fetal frente a infecciones por VDVB de tipo 2 en vacas preñadas. Lo más preferido es el uso de VDVB de tipo 1 y de tipo 2 en combinación para la fabricación de una composición para uso en la prevención y/o el tratamiento de infecciones por VDVB de tipo 1 y/o de tipo 2 en razas de crianza de ganado, en vacas preñadas y en la inducción de la protección fetal frente a infecciones por VDVB de tipo 1 y/o de tipo 2 en vacas preñadas.

Lo más preferiblemente, el VDVB de tipo salvaje de acuerdo con la invención que se ha de mutar, según se describe en esta memoria, corresponde a la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 5 (denominada XIKE A) o es una variante funcional de la misma. Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene una mutación N<sup>pro</sup> de acuerdo con la invención y corresponde a la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 6 (denominada XIKE-A-NdN)

## ES 2 321 210 T3

o es una variante funcional de la misma. Preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 65% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. Al nivel de aminoácido, las homologías son muy aproximadas: VDVB-1/-VDVB-1: 93%; VDVB-1/-VDVB-2: 84%; VDVB-2/-VDVB-2: 98%. Por lo tanto, de manera más preferible, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% ó 90% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. Más preferiblemente también, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% ó 98% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. Lo más preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 99 ó 99,9% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria.

10 Lo más preferiblemente, el VDVB de acuerdo con la invención tiene una mutación E<sup>ms</sup> de acuerdo con la invención que tiene una delección del codón que codifica histidina 349, y corresponde a la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 7 (denominada XIKE-B) o es una variante funcional de la misma. Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene tanto una mutación E<sup>ms</sup> como una mutación N<sup>pro</sup> de acuerdo con la invención, en donde 15 está suprimido el codón que codifica histidina 349 de E<sup>ms</sup> y también está suprimida la región completa codificadora de N<sup>pro</sup>, excepto los codones 1 a 4, así permanecen los aminoácidos MELF de N<sup>pro</sup>. Dicho mutante corresponde a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 8 (denominada XIKE-B-NdN) o es una variante funcional de la misma. Preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 65% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. De manera más preferible, una variante funcional de este tipo tiene una homología 20 de al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% ó 90% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. Más preferiblemente también, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% ó 98% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. Lo más preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 99 ó 99,9% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria.

25 Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene una mutación E<sup>ms</sup> de acuerdo con la invención que tiene una sustitución del codón que codifica histidina 300 por el codón que codifica leucina, y corresponde a la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 9 (denominada XIKE-C) o es una variante funcional de la misma. Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene tanto una mutación E<sup>ms</sup> como 30 una mutación N<sup>pro</sup> de acuerdo con la invención, en donde está sustituido el codón que codifica histidina 300 por el codón que codifica leucina y también está suprimida la región completa codificadora de N<sup>pro</sup>, excepto los codones 1 a 4, así permanecen los aminoácidos MELF de N<sup>pro</sup>. Dicho mutante corresponde a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 10 (denominada XIKE-C-NdN) o es una variante funcional de la misma. Preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 65% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. 35 De manera más preferible, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% ó 90% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. Más preferiblemente también, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% ó 98% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria. Lo más preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 99 ó 40 99,9% con la secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria.

Otra realización importante de la invención descrita en esta memoria es una composición que comprende un pestivirus, en particular un VDVB de acuerdo con la invención y una solución. La persona experta conoce componentes adicionales que pueden estar contenidos en dicha composición (véase también Remington's Pharmaceutical Sciences. 45 (1990). 18<sup>a</sup> ed. Mack Publ., Easton). El experto puede utilizar soluciones estériles inyectables, fisiológicamente aceptables conocidas. Para preparar una solución lista para el uso para inyección parenteral o infusión, están fácilmente disponibles soluciones isotónicas acuosas, tal como, p. ej., solución salina o correspondientes soluciones de proteínas en el plasma. Las composiciones farmacéuticas pueden estar presentes en forma de liofilizados o preparaciones secas, las cuales se pueden reconstituir con una solución inyectable conocida, directamente antes del uso bajo condiciones estériles, p. ej. en forma de un kit de partes.

La preparación final de las composiciones de la presente invención se preparan, p. ej. para inyección, mezclando dicho pestivirus, preferiblemente VDVB de acuerdo con la invención con una solución estéril fisiológicamente aceptable, de manera que se puede complementar con sustancias de soporte y/o aditivos conocidos (p. ej. albúmina de suero, dextrosa, bisulfito de sodio, AEDT). Dicha solución se puede basar en un disolvente fisiológicamente aceptable, p. ej. una solución acuosa entre pH 7 y 8. El pH se puede estabilizar por un tampón farmacéuticamente aceptable. La solución también puede contener agentes estabilizadores adicionales, tales como un detergente, tal como Tween 20, albúmina de suero, tal como ASB (albúmina de suero bovino), ácido ascórbico y/o espermidina. La composición también puede comprender adyuvantes, p. ej. hidróxido de aluminio, aceites minerales u otros aceites o moléculas auxiliares añadidas a la vacuna o generadas por el cuerpo después de la respectiva inducción por componentes adicionales de este tipo, tales como, pero no limitados a interferones, interleucinas o factores de crecimiento.

# ES 2 321 210 T3

Por ejemplo, en una composición de acuerdo con la invención, el pestivirus, en particular el VDVB puede estar disuelto en:

5	<i>Pestivirus (preferiblemente VDVB)</i>	$10^2 - 10^8 DCIT50$
	<i>SGS*</i>	<i>25 % v/v</i>
10	<i>Medio de cultivo celular</i>	<i>csp 1 dosis</i>
	<i>* SGS:</i>	<i>Composición por</i>
15	<i>cada 2 ml</i>	
	<i>Sacarosa</i>	<i>75 mg</i>
	<i>Gelatina</i>	<i>20 mg</i>
20	<i>Hidróxido de potasio</i>	<i>0,274 mg</i>
	<i>Ácido L- glutámico</i>	<i>0,72 mg</i>
	<i>Dihidrógeno-fosfato de potasio</i>	<i>0,516 mg</i>
25	<i>Fosfato dipotásico</i>	<i>1,254 mg</i>
	<i>Agua para inyección</i>	<i>csp 2 ml</i>

30 Si la composición se liofiliza o deshidrata primero por otros métodos, entonces, antes de la vacunación, dicha composición se rehidrata en soluciones acuosas (p. ej. solución salina, STF (solución salina tamponada con fosfato)) o no acuosas (p. ej. emulsión en aceite (aceite mineral, o basado en aceite vegetal/metabolizable/basado en emulsión sencilla o doble), basado en aluminio, adyuvante basado en carbómero).

35 Preferiblemente, la composición de acuerdo con la invención induce una respuesta inmunológica en un animal. De manera más preferida, la composición de acuerdo con la invención es una vacuna. Una vacuna, según se entiende en esta memoria, comprende un pestivirus, en particular VDVB de acuerdo con la invención y se define antes (sección "Definiciones").

40 De manera lo más preferida, la composición de acuerdo con la invención comprende, además, un soporte o excipiente farmacéuticamente aceptable. En lo que antecede se describen varios soportes o excipientes. La composición puede comprender, si está prevista en inyecciones o infusión, sustancias para preparar soluciones isotónicas, conservantes, tales como p-hidroxibenzoatos, estabilizadores, tales como sales de metales alcalinos de ácido etilendiamino-tetraacético, que posiblemente también contienen emulsionante y/o dispersante.

45 La composición de acuerdo con la invención se puede aplicar por vía intradérmica, intratraqueal o intravaginal. Preferiblemente, la composición se puede aplicar por vía intramuscular o intranasal. En un cuerpo animal, se puede manifestar ventajoso aplicar las composiciones farmacéuticas, según se describe antes, a tejidos diana a través de una inyección intravenosa o por inyección directa. Para la aplicación sistémica, se prefieren las vías intravenosa, intravascular, intramuscular, intranasal, intraarterial, intraperitoneal, oral o intratecal. Se puede efectuar una aplicación más local por vía subcutánea, intradermal, intracutánea, intracardial, intralobal, intramedular, intrapulmonar, o directamente en o cerca del tejido a tratar (tejido conjuntivo, óseo, muscular, nervioso, epitelial). Dependiendo de la duración y eficacia del tratamiento deseadas, las composiciones de acuerdo con la invención se pueden administrar una o varias veces, también de forma intermitente, por ejemplo sobre una base diaria durante varios días, semanas o meses y en diferentes dosificaciones.

55 La invención también se refiere al uso de un pestivirus, en particular VDVB de acuerdo con la invención en la fabricación de una vacuna para la profilaxis y el tratamiento de infecciones por pestivirus, en particular de infecciones por VDVB.

60 Otra parte importante de la invención es una molécula de polinucleótido que comprende el ácido nucleico que codifica un pestivirus, en particular un VDVB de acuerdo con la invención, o un fragmento, variante funcional, variante basada en el código degenerativo de ácidos nucleicos, molécula de fusión o un derivado químico del mismo. Preferiblemente, dicha molécula de polinucleótido es ADN. También preferiblemente, dicha molécula de polinucleótido es ARN. En una realización más preferida, dicha molécula de polinucleótido comprende también la secuencia de nucleótidos de una región funcional 5'- y/o 3'-no traducida de un pestivirus, en particular de VDVB.

Existen varias secuencias de nucleótidos conocidas en la técnica que representan la base de la producción de una molécula de polinucleótido que codifica un pestivirus atenuado de acuerdo con la presente invención, con al menos una mutación en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> y al menos una en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup>, en donde dichas mutaciones dan como resultado una inactivación combinada de la actividad de RNasa que reside en la glicoproteína E<sup>ms</sup> y en la inactivación de la actividad inmunomoduladora que reside en N<sup>pro</sup>. Ejemplos de secuencias de ácidos nucleicos de secuencias de tipo salvaje de varios miembros de pestivirus se listan en lo que sigue:

Virus de la enfermedad de la frontera

10 Cepa BD31	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[U70263]</a>
Cepa X818	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[AF037405]</a>

Virus de la diarrea viral bovina 1

15 Cepa NADL	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[AF037405]</a>
Cepa Osloss	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[M96687]</a>
20 Cepa SD-1	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[M96751]</a>
Cepa CP7	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[U63479]</a>

Virus de la diarrea viral bovina 2

25 Cepa 890	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[U18059]</a>
Cepa C413	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[AF002227]</a>

Virus de la fiebre porcina clásica

30 Cepa Alfort 187	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[X87939]</a>
Cepa Alfort-Tübingen	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[J04358]</a>
35 Cepa Brescia	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[M31768]</a>
Cepa Cepa C	Nº de acceso a NCBI GenBank <a href="#">[Z46258]</a>

40 Las mutaciones/modificaciones de acuerdo con la invención relacionadas con la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> y E<sup>ms</sup> se describen anteriormente con mayor detalle. Poseyendo esta información, una persona experta en la técnica es capaz de realizar la fabricación de cualquier polinucleótido/ácido nucleico que codifique un pestivirus de acuerdo con la presente invención. Además, esta persona es capaz de fabricar un pestivirus atenuado de acuerdo con la invención. Un método molecular para introducir una mutación en una secuencia de un polinucleótido, la clonación y amplificación de dicho polinucleótido mutado se proporcionan, por ejemplo, por Sambrook *et al.* 1989 o Ausubel *et al.* 1994.

50 Lo más preferiblemente, el VDVB de tipo salvaje de acuerdo con la invención que se ha de mutar, según se describe en esta memoria, es codificado por la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 1 (denominada XIKE A) o una variante funcional de la misma. Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene una mutación N<sup>pro</sup> de acuerdo con la invención y es codificado por la secuencia de ácidos nucleicos SEQ ID No. 2 (denominada XIKE-A-NdN) o una variante funcional de la misma. Preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 65% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. Al nivel de ácido nucleico, las homologías son muy aproximadas: VDVB-1/-VDVB-1: 80%; VDVB-1/-VDVB-2: 70%; VDVB-2/-VDVB-2: 96%. Por lo tanto, de manera más preferible, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% ó 90% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. Más preferiblemente también, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% ó 98% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. Lo más preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 99 ó 99,9% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria.

60 Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene una mutación E<sup>ms</sup> de acuerdo con la invención que tiene una delección del codón H349, y es codificado por la secuencia de ácidos nucleicos SEQ ID No. 7 (denominada XIKE-B) o por una variante funcional de la misma. Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene tanto una mutación E<sup>ms</sup> como una mutación N<sup>pro</sup> de acuerdo con la invención, en donde está suprimido el codón que codifica histidina 349 de E<sup>ms</sup> y también está suprimida la región completa codificadora de N<sup>pro</sup>, excepto los codones 1 a 4, así permanecen los aminoácidos MELF de N<sup>pro</sup>. Dicho mutante es codificado por la secuencia de ácidos nucleicos SEQ ID No. 8 (denominada XIKE-B-NdN) o por una variante funcional de la misma. Preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 65% con la secuencia de ácidos

## ES 2 321 210 T3

nucleicos descrita en esta memoria. De manera más preferible, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% ó 90% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. Más preferiblemente también, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% ó 98% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. Lo más preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 99 ó 99,9% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria.

Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene una mutación E<sup>ms</sup> de acuerdo con la invención que es una sustitución del codón “H300” por un codón leucina, y es codificado por la secuencia de ácidos nucleicos SEQ ID No. 11 (denominada XIKE-C) o por una variante funcional de la misma. Lo más preferiblemente también, el VDVB de acuerdo con la invención tiene tanto una mutación E<sup>ms</sup> como una mutación N<sup>pro</sup> de acuerdo con la invención, en donde está sustituido el codón que codifica histidina 300 por el codón que codifica leucina, y también está suprimida la región completa codificadora de N<sup>pro</sup>, excepto los codones 1 a 4, así permanecen los aminoácidos MELF de N<sup>pro</sup>. Dicho mutante es codificado por la secuencia de ácidos nucleicos SEQ ID No. 12 (denominada XIKE-C-NdN) o por una variante funcional de la misma. Preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 65% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. De manera más preferible, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89% ó 90% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. Más preferiblemente también, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% ó 98% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria. Lo más preferiblemente, una variante funcional de este tipo tiene una homología de al menos 99 ó 99,9% con la secuencia de ácidos nucleicos descrita en esta memoria.

Otro aspecto importante de la invención es un método para atenuar un pestivirus, caracterizado porque en un genoma del pestivirus se genera al menos una mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> y al menos otra mutación se genera en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup>. De acuerdo con una realización preferida, dicho pestivirus es VDVB.

De acuerdo con una realización más preferida, dicho método comprende las etapas de:

- 30 a) transcripción inversa de una secuencia de nucleótidos de pestivirus de tipo salvaje en un ADNc;
- b) clonar dicho ADNc;
- 35 c) introducir mutaciones seleccionadas del grupo de delecciones, mutaciones por inserción y/o mutaciones por sustitución en dicho ADNc, en donde dichas mutaciones se localizan en la secuencia codificadora que codifica la glicoproteína E<sup>ms</sup> y la proteasa N<sup>pro</sup>,
- d) incorporar el ADNc en un plásmido o en un virus de ADN capaz de dirigir la transcripción del ADNc del pestivirus en ARN *in vitro* o tras la infección de células adecuadas.

En relación con el método para atenuar un VDVB de acuerdo con la invención, dichos métodos preferidos comprenden las etapas de:

- 45 a) transcripción inversa de una secuencia de nucleótidos de VDVB de tipo salvaje en un ADNc;
- b) clonar dicho ADNc;
- 50 c) introducir mutaciones seleccionadas del grupo de delecciones, mutaciones por inserción y/o mutaciones por sustitución en dicho ADNc, en donde dichas mutaciones se localizan en la secuencia codificadora que codifica la glicoproteína E<sup>ms</sup> y la proteasa N<sup>pro</sup>,
- d) incorporar el ADNc en un plásmido o en un virus de ADN capaz de dirigir la transcripción del ADNc del pestivirus en ARN *in vitro* o tras la infección de células adecuadas.

Todavía una realización importante de la invención es un método para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades causadas por un pestivirus, en el que un pestivirus de acuerdo con la invención o una composición de acuerdo con la invención, en el que dicho pestivirus o dicha composición se administra a un animal que lo necesita a una dosis adecuada, tal como se conoce por la persona experta y la reducción de síntomas de dicha infección por pestivirus.

Todavía otra realización importante de la invención es un método para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades causadas por VDVB, en el que un VDVB de acuerdo con la invención o una composición de acuerdo con la invención, en el que dicho VDVB o dicha composición se administra a un animal que lo necesita a una dosis adecuada, tal como se conoce por la persona experta y se vigila la reducción de síntomas de la infección por VDVB, tal como viremia y/o leucopenia y/o pirexia y/o diarrea.

## Ejemplos

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar adicionalmente la presente invención; pero éstos no se deben interpretar como limitantes del alcance de la invención descrita en esta memoria.

5

### Ejemplo 1

#### *XIKE-B de VDVB: determinación de la fetopatogenicidad en vaquillas preñadas*

10

XIKE-B de VDVB, un mutante RNasa negativo del aislado NewYork'93/C de VDVB tipo 2 muy patógeno se recuperó del clon pKANE40B de ADNc infeccioso y mostró características de crecimiento similares a las de tipo salvaje (ts) en cultivo tisular. En experimentos con animales, se encontró que el virus mutante estaba considerablemente atenuado, de manera que representaba un candidato prometedor para el desarrollo de un virus vacuna vivo 15 atenuado (Meyer *et al.*, 2002). Para ensayar si este virus atenuado es todavía capaz de atravesar la placenta e infestar al feto, vaquillas preñadas se infestaron con XIKE-B. Como control se utilizó VDVB de tipo salvaje recuperado del clon pKANE40A de ADNc. El virus respectivo, denominado XIKE-A, expresa una RNasa activa de E<sup>ms</sup> en la célula infestada.

20

El estudio pretendía confirmar la seguridad de XIKE-A y XIKE-B en animales preñados.

#### *Diseño experimental*

25

Diez vaquillas preñadas se seleccionaron de un rebaño VDVB negativo. En el ensayo se incluyeron los siguientes grupos de 5 vaquillas:

30

	Nº	Inoculación	Virus
<u>Grupo 1:</u>	5	Una administración i. n., 3 ml en cada ventana nasal	XIKE-A
<u>Grupo 2:</u>	5	Una administración i. n., 3 ml en cada ventana nasal	XIKE-B

40

Las vaquillas se transportaron a las instalaciones experimentales 8 días antes de las inoculaciones. El estado de preñez se confirmó tras el transporte a la instalación experimental. El día de la inoculación, las vaquillas se encontraban entre los días 60 y 90 de gestación. La inoculación tuvo lugar para todos los animales en un mismo momento.

45

Las vaquillas se vigilaron en cuanto a la presencia de síntomas clínicos de la infección por VDVB, incluidos los abortos durante el periodo de observación. Se tomaron muestras de sangre de los animales para la serología, la detección de antígenos y se recontaron los leucocitos. El experimento se terminó 9 semanas tras la infestación. Se sacrificó a las vacas que no abortaron, y se examinó y recogió el útero. Se recogieron muestra de órganos del feto 50 durante la necropsia rutinaria y se examinaron en cuanto a la infección por VDVB.

55

La presencia de una infección del feto era el parámetro de evaluación principal, compuesto por la cifra de mortalidad de las vacas relacionada con el VDVB, el número de abortos relacionados con el VDVB y el número de fetos VDVB positivos a la conclusión. Además del parámetro principal, se evaluaron síntomas clínicos característicos de una infección por VDVB, viremia y recuentos de leucocitos en vacas y la temperatura rectal después del enfrentamiento.

#### *Animales*

60

Las vaquillas se adquirieron de una granja exenta de VDVB.

Se utilizaron únicamente animales que cumplían los siguientes criterios de inclusión.

65

#### *Criterios de inclusión*

- Exención de anticuerpos de DVB; cada individuo se someterá a ensayo en el ensayo de anticuerpos de suero antes del transporte y al inicio del estudio (en la instalación de ensayo de los animales).

## ES 2 321 210 T3

- Exención de VDVB; la preparación de plasma y/o de la capa superficial de plasma coagulado anteado de cada individuo se someterá a ensayo mediante un ensayo adecuado.
- Clínicamente sanos al inicio del estudio, juzgados tras un examen físico. El examen de salud de los animales se logró de acuerdo con la actual práctica veterinaria, generalmente aceptada.
- Preñez confirmada por un examen físico antes de la inoculación. La preñez se encontraba entre los días 60-90 en el momento de la inoculación, demostrada por registros de inseminación.

10

### *Cepa de ensayo A*

15	<b>Descripción:</b>	XIKE A, cepa de virus VDVB viva
20	<b>Composición:</b>	Material experimental que comprende sobrenadante del cultivo celular de XIKE-A de bajo paso
25	<b>Componentes de DVB:</b>	Cepa de VDVB tipo II: XIKE-A
30	<b>Suministrada por:</b>	Dr. Gregor Meyers, "Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere" (BFAV), Paul-Ehrlich-Straße 28, 72076 Tübingen, Alemania
35	<b>Dosis de virus DVB aplicada:</b>	Cepa de tipo 1:10 <sup>5</sup> DCIT <sub>50</sub> /6 ml (DCIT = Dosis Infecciosa de Cultivo Tisular)
40	<b>Volumen de vacuna aplicado:</b>	3 ml por cada ventana nasal
45	<b>Vía de aplicación:</b>	Intranasal
50	<b>Preparación de la forma de dosificación:</b>	El inóculo fue enviado en una forma congelada pre-diluida en un vial de 50 ml en hielo seco y fue almacenado a -70 °C antes de la inoculación. Inmediatamente antes de la inoculación de vaquillas del Grupo 1, se descongeló el material, evitando temperaturas locales por encima de 37 °C. Una vez que ya no era visible nada de hielo en el fluido, el material se agitó suavemente e inmediatamente se utilizó para la inoculación de los animales.
55	<b>Inóculo no utilizado:</b>	Se midió el volumen del material no utilizado y se dividió en dos partes alícuotas antes de congelarlo inmediatamente en hielo seco o nitrógeno líquido y se almacenó para fines de re-titulación. El virus y los objetos de plástico o vidrio contaminados se incubaron con un volumen apropiado de una solución de formaldehído al 8 - 10 % durante al menos 24 horas a la temperatura ambiente antes de desecharlos con el fin de inactivar los virus.

60

65

# ES 2 321 210 T3

## *Cepa de ensayo B*

5	<b>Descripción:</b>	XIKE B, cepa de virus VDVB viva
	<b>Composición:</b>	Material experimental que comprende sobrenadante del cultivo celular de XIKE-B de bajo paso
10	<b>Componentes de DVB:</b>	Cepa de VDVB tipo II: XIKE-B
	<b>Suministrada por:</b>	Dr. Gregor Meyers, "Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere" (BFAV), Paul-Ehrlich-Straße 28, 72076 Tübingen, Alemania
15	<b>Dosis de virus DVB aplicada:</b>	Cepa de tipo 1: $10^5$ DCIT <sub>50</sub> /6 ml (DICT = Dosis Infecciosa de Tejido Tisular)
	<b>Volumen de vacuna aplicado:</b>	3 ml por cada ventana nasal
20	<b>Vía de aplicación:</b>	Intranasal
	<b>Preparación de la forma de dosificación:</b>	El inóculo fue enviado en una forma congelada pre-diluida en un vial de 50 ml en hielo seco y fue almacenado a -70 °C antes de la inoculación. Inmediatamente antes de la inoculación de vaquillas del Grupo 2, se descongeló el material, evitando temperaturas locales por encima de 37 °C. Una vez que ya no era visible nada de hielo en el fluido, el material se agitó suavemente e inmediatamente se utilizó para la inoculación de los animales.
25		
30		
35	<b>Vacuna no utilizada:</b>	Se midió el volumen del material no utilizado y se dividió en dos partes alícuotas antes de congelarlo inmediatamente en hielo seco o nitrógeno líquido y se almacenó para fines de re-titulación. El virus y los objetos de plástico o vidrio contaminados se incubaron con un volumen apropiado de una solución de formaldehído al 8 - 10 % durante al menos 24 horas a la temperatura ambiente antes de desecharlos con el fin de inactivar los virus.
40		
45		

## *Control de Preñez*

50 La preñez se confirmó inmediatamente antes de la inoculación.

## *Inoculación de Vaquillas*

55 La inoculación es el Día 0 del experimento.

En cada ventana nasal se administraron por vía intranasal, mediante una jeringa sin aguja, 3 ml del material de ensayo. Cada vez se cogió una jeringa estéril nueva. La administración se realizó durante la fase de aspiración con el fin de minimizar la pérdida de fluido a través de la expiración del material.

60

## *Observaciones post-inoculación*

### *Recogida y examen de muestras de sangre*

65 La sangre se recogió siguiendo procesos asépticos convencionales (desinfectando el sitio de la sangradura). Para cada animal se utilizaron una nueva jeringa y aguja estériles.

# ES 2 321 210 T3

## *Recogida de sangre para preparar suero*

Al menos 10 ml de sangre se recogieron de las vaquillas, inmediatamente antes de la inoculación, y luego semanalmente después de la infección y a la conclusión del estudio. El suero se almacenó a -20°C hasta que se requirió.

## *Recogida de sangre para el recuento de leucocitos y preparaciones de la capa superficial de plasma coagulado anteado*

Para el recuento de leucocitos, 3 ml de sangre se transfirieron inmediatamente después de la recogida a recipientes estériles adecuados (Venoject, Terumo Europe N.V., Leuven, Bélgica), precargados con 0,06 ml de AEDT (0,235 MOL/L).

Para las preparaciones de la capa superficial de plasma coagulado anteado, al menos 15 ml de sangre se transfirieron inmediatamente después de la recogida a recipientes estériles adecuados, pre-cargados con 0,1 ml de solución de heparina (heparina Na para iny., 5.000 UI/ml lote. A7B163A fecha de caducidad: 11/2000 Gedeon Richter RT, Budapest, Hungría), proporcionando al menos 20 UI de heparina por ml de sangre en la muestra de sangre. Después se mezcló cuidadosamente el contenido.

Para la preparación de la capa superficial de plasma coagulado anteado y el recuento de leucocitos, se extrajo sangre de las vaquillas

- cada día, entre el Día 0 y el Día 14 después de la infestación;
- cada dos días, entre el Día 15 y el Día 40, o hasta que todos los animales eran negativos para el aislamiento del virus durante tres momentos de muestreo consecutivos.

## *Preparación de suero*

Se dejó que la sangre coagulara a la temperatura ambiente, y se separó por centrifugación. Cada muestra de suero se dividió en dos partes alícuotas de al menos 2 ml cada una. Un conjunto de partes alícuotas se sometió a ensayo mediante ELISA en cuanto a anticuerpos específicos de VDVB. El resto de los sueros se congeló y se almacenó a -20°C hasta que se requirió.

## *Recuentos de leucocitos*

Los recuentos de leucocitos se determinaron con un dispositivo electrónico semi-automatizado contador Coulter (Diatron Minicell-16, Messtechnik GmbH, Viena, Austria) con una precisión reivindicada de  $0,1 \times 10^9/l$ ,  $100/\mu l$ . El instrumento se utilizó (calibración y recuentos de leucocitos) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

## *Preparación de capas superficiales de plasma coagulado anteado*

Muestras de sangre heparinizada se transportaron lo antes posible al laboratorio. El proceso de preparación de la capa superficial de plasma coagulado anteado, siguiendo un procedimiento de laboratorio convencional se realizó bajo condiciones asépticas (pipetas estériles, manipulación, banco limpio, etc.).

Las capas superficiales de plasma coagulado anteado obtenidas se re-suspendieron en un pequeño volumen (2 ml) de RPMI 1640 y se congelaron a -70°C en dos partes alícuotas de 0,5 ml. El 1 ml residual de las capas superficiales de plasma coagulado anteado se utilizó inmediatamente para la determinación del VDVB asociado a las células de la sangre mediante co-cultivo en un cultivo celular permisivo.

## *Ensayo ELISA de anticuerpos del suero de DVB*

Cada muestra de suero se sometió a ensayo en cuanto a la presencia de anticuerpos de VDVB utilizando un ensayo ELISA adecuado y validado (ensayo de anticuerpos de VDVB Svanovir® n° de cat 10-2200-10). El ensayo se validó y se realizó de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Las muestras positivas se diluyeron de acuerdo con la escala  $\log_2$  para determinar los títulos de anticuerpos de VDVB.

# ES 2 321 210 T3

## *Ensayo(s) de antígenos de DV8*

Cada muestra de capa superficial de plasma coagulado anteado se sometió a ensayo en cuanto a la presencia de VDVB mediante co-cultivo de las capas superficiales de plasma coagulado anteado recién preparadas con células susceptibles o una línea de células. No se permitió una congelación antes del co-cultivo.

El plasma se recogió y se proporcionó a Man-Gene procedente de cada muestra.

## **10 Observaciones clínicas**

### *Observación de vaquillas*

Los animales se examinaron diariamente desde los Días 0-42 post inoculación en cuanto a la presencia de síntomas clínicos mediante un veterinario suficientemente entrenado.

Todos los síntomas clínicos se registraron y describieron por su naturaleza, consistencia/tacto, gravedad (ligera, media o grave), localización, tamaño de la zona afectada, y serán valorados de acuerdo con las definiciones acordadas y convencionales. Se otorgó una atención especial a los síntomas respiratorios (respiración, su tasa; descarga nasal u ocular; conjuntivitis, estornudo, tos, etc.) y diarrea.

### *Temperaturas rectales*

Las temperaturas rectales se midieron diariamente en cada vaquilla, a la misma hora del día (preferiblemente por la mañana) 5 días antes de la inoculación hasta 21 días post infección.

Se continuó con la medición de la temperatura rectal hasta que cada animal tenía temperaturas rectales por debajo o igual a 39°C durante al menos 3 días consecutivos.

30

### *Detección de la preñez interrumpida*

Se confirmó la preñez y la sospecha del aborto o la resorción del feto se estableció mediante un examen rectal. Un veterinario entrenado examinó todos los animales en la inoculación, 1 y 2 meses post-inoculación. El examen se llevó a cabo de acuerdo con la práctica veterinaria generalmente aceptada.

Se examinó diariamente a las vaquillas en cuanto a cualquier síntoma de aborto hasta la conclusión del estudio (8-12 semanas post-enfrentamiento).

40

### *Terminación del Estudio*

El estudio concluyó sacrificando a las vaquillas y extrayendo los fetos. Los fetos y el material fetal se transfirieron a recipientes de transporte cerrados marcados con el número de vacas y la fecha/hora. Los recipientes se transportaron a una sala de necropsia seleccionada.

No se requirió la necropsia de las vaquillas. La necropsia se realizó en fetos, se registraron los hallazgos y se recogió un panel de muestras según se describe antes.

50

### *Examen Post-Mortem*

En cada caso de muerte se realizó una necropsia detallada de los animales experimentales.

55

Los exámenes post-mortem se llevaron a cabo mediante un cirujano veterinario experimentado y los datos se registraron en hojas de datos apropiadas. Ensayos de laboratorio adicionales se realizaron de acuerdo con los síntomas clínicos y las lesiones observadas. Si el diagnóstico de la necropsia aludida se refería a una enfermedad provocada por el agente microbiano, el diagnóstico se verificó mediante un ensayo apropiado, específico para el agente.

60

Cada muestra de tejido se recogió en al menos 2 recipientes etiquetados separados y se congelaron en nitrógeno líquido. Las muestras se almacenaron a -70°C hasta que se requirió.

65

## ES 2 321 210 T3

### *Fetos abortados y conclusión del estudio*

De los fetos se recogieron al menos las siguientes muestras de tejido:

- 5 • exudado de la cavidad peritoneal o tórax, si está presente,
- nódulos linfáticos mesentéricos,
- 10 • bazo,
- timo,
- cerebelo,
- 15 • riñón,
- médula ósea procedente del esternón,
- muestra de la placenta, si está disponible.

### *Vaquillas muertas o sacrificadas*

Se recogieron al menos las siguientes muestras de tejidos:

- 25 • sangre para la capa superficial de plasma coagulado anteado, si está disponible,
- sangre para el suero, si está disponible,
- 30 • parches de Peyer,
- nódulos linfáticos mesentéricos,
- bazo,
- 35 • riñón,
- útero, incluida una muestra de la placenta, si está disponible.

### *Almacenamiento y transporte de muestras*

Muestras:	Almacenamiento:
Suero	-20 °C
Capa superficial de plasma coagulado anteado	-70 °C
Virus	-70 °C
Tejido procedente de vaquillas	-70 °C
Tejido procedente de fetos	-70 °C

60 Las muestras se enviaron para el análisis de laboratorio según se requería por el patrocinador. La elección de muestras y la regulación del transporte se acordaron con el monitor del estudio o el director del proyecto. Como un asunto de principio general, se investigaron lo antes posible muestras procedentes del material abortado o de terneras neonatas.

# ES 2 321 210 T3

## Resultados

### Mortalidad

5 La vaquilla nº 626 (Grupo 1) murió el Día 13 PI (post inoculación). La tabla siguiente resume los síntomas clínicos observados y las lesiones reveladas durante la necropsia:

Vaquilla	Observaciones en vida	Hallazgos Post mortem
	<ul style="list-style-type: none"><li>• síntomas de la enfermedad desde 7 Días PI (DPI)</li><li>• lacrimación, descarga nasal los 7 - 12 DPI</li><li>• pérdida de apetito desde los 8 - 12 DPI</li><li>• diarrea los 11 - 12 DPI</li><li>• tasa respiratoria elevada los 9 - 10 y 12 DPI</li><li>• tos el 9 DPI</li><li>• respiración anormal el 12 DPI</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• deshidratación</li><li>• hemorragias en las membranas serosas</li><li>• hiperemia de los parches de Peyer</li><li>• edema pulmonar</li></ul>

30 Estos hallazgos clínicos y groso-patológicos son consistentes con las lesiones inducidas por VDVB, por lo tanto se puede concluir que el motivo de la muerte era la infección por VDVB.

### Abortos después de la infección

35 En cada grupo una vaquilla tuvo un aborto clínico. La vaquilla nº 615 (Grupo 1) abortó el Día 38 PI, la vaquilla nº 469 (Grupo 2) abortó el Día 39 PI. Ambos fetos mostraron los síntomas de autolisis, y se estimó que morían al menos 3 -7 días antes del aborto (alrededor 32-35 DPI).

40 En el Grupo 1, no se encontró ningún feto en la vaquilla nº 526 durante el examen del matarife a la conclusión. La groso patología del útero reveló lo siguiente:

- 45
- el cuerno uterino derecho estaba ligeramente agrandado,
  - el resto de la placenta con autolisis avanzada se retuvo en el lumen.

50 Los hallazgos en el útero de la vaquilla nº 526 es consistente con un aborto “silencioso”, lo más probablemente debido a una infección por DVB.

### Observación clínica de vaquillas

55 Más abajo se presenta un resumen de los datos de observación clínica y la duración de los síntomas clínicos en los grupos.

60

65

# ES 2 321 210 T3

*Síntomas clínicos y los días post inoculación (DPI) cuando se observaron*

## Grupo 1 (XIKE-A)

Síntoma clínico	ID animal				
	526	598	615	618	626*
	DPI				
Pérdida de apetito	8 - 13	8 - 18	8 - 18	8 - 16	8 - 12
Lacrimación	7 - 10	7- 8, 10-12	8 - 10	8 - 10	7 - 8
Conjuntivitis	9 - 10	9 - 12	9 - 11	9 - 11	-
Descarga nasal	7 - 13	7- 9, 11-12	8 -13	8 - 12	7 - 12
Erosión oral	-	-	-	-	-
Hemorragia oral	-	-	-	-	-
Diarrea	-	11 - 16	10 - 15	11 - 15	11 - 12
Tos	9	10 - 15	9	8- 9, 13	9
Respiración anormal	-	11 - 14	12 - 14	12 - 14	12
Tasa respiratoria elevada	-	10 - 13	9 - 13	8 - 13	9- 10, 12
Erosión de la pezuña	-	-	-	-	-

\*La vaquilla nº 626 murió el Día 13 PI

## Grupo 2 (XIKE-B)

Síntoma clínico	ID animal				
	469	588	565	608	619
Pérdida de apetito	-	-	-	-	-
Lacrimación	-	-	-	-	-
Conjuntivitis	-	-	-	-	-
Descarga nasal	-	-	-	-	-
Erosión oral	-	-	-	-	-
Hemorragia oral	-	-	-	-	-
Diarrea	-	-	-	-	-
Tos	-	-	-	-	-
Respiración anormal	-	-	-	-	-
Tasa respiratoria elevada	-	-	-	-	-
Erosión de la pezuña	-	-	-	-	-

Todos los animales del Grupo 1 infestados con XIKE-A exhibieron un amplio espectro de síntomas clínicos. Los síntomas respiratorios aparecieron primero acompañados de pérdida de apetito, y unos pocos días más tarde las vaquillas desarrollaron diarrea, con la excepción de la vaquilla nº 526. Una vaquilla murió y otra abortó (véase antes) después de la infección. Todos estos síntomas eran consistentes con los síntomas esperados después de la infección con una cepa virulenta de VDVB.

Todos los animales del Grupo 2 infestados con XIKE-B estaban libres de síntomas clínicos. Al mismo tiempo, una vaquilla abortó durante el periodo de observación.

# ES 2 321 210 T3

## *Temperaturas rectales*

No se detectaron cambios anormales de la temperatura antes de la infestación de los animales.

5 En el Grupo 2, todos los valores de temperatura permanecieron dentro del intervalo fisiológico del Día 0 al Día 21 después de la infestación.

Todos los animales del Grupo 1 mostraron una temperatura rectal elevada después de la infestación que se detectaron entre los Días 7-11 Pl.

10

## *Hallazgos a la Conclusión del Estudio*

A la conclusión del estudio, se examinaron los fetos en el sacrificio.

15

No se recuperó un feto de la vaquilla nº 526 (véase la sección 10.2 "Abortos después de la Infestación").

Se observaron los siguientes hallazgos en la necropsia de los fetos:

20

Animal nº	Hallazgos	Conclusión:
<b>Grupo 1:</b>		
1:		
598	Ascites, edema general, autolisis	Murió al menos 2 semanas antes
618	Ascites, edema general, autolisis	Murió al menos 3 semanas antes
<b>Grupo 2:</b>		
565	Ascites, edema general, degeneración del hígado	Feto considerado no viable
588	Normal	-
608	Normal, edema perirrenal	-
619	Autolisis general	Murió 3 - 6 semanas antes

45

Los hallazgos sugieren que 2 animales del Grupo 1 (vaquillas nº 598 y nº 618) y un animal del Grupo 2 (vaquilla nº 619) murieron varias semanas antes de la extracción y, así, se pueden considerar abortos.

50

## *Abortos Modificados por Hallazgos Post-Mortem*

Después del examen post-mortem no resultó claro el por qué algunas de las vaquillas no abortaba. Los fetos muertos deberían considerarse como abortos, por lo tanto la imagen clínica se modificó después de la conclusión del estudio como sigue:

55

## Grupo 1:

Animal nº	Conclusión:
526	Aborto por DVB (útero con placenta post-mortem)
598	Aborto por DVB (feto post-mortem)
615	Aborto por DVB clínico
618	Aborto por DVB (feto post-mortem)
626	Murió debido a DVB

# ES 2 321 210 T3

## Grupo 2:

Animal nº	Conclusión:
469	Aborto por DVB clínico
565	Aborto esperado por DVB; feto no viable
588	Normal
608	Normal
619	Aborto por DVB (feto post-mortem)

## 15 Examen de las Muestras de Sangre

### *Recuento de leucocitos*

El recuento WBC se interrumpió el Día 26 PI, ya que todos los animales se volvieron negativos para el aislamiento del virus para este instante.

20 Para la comparación se consideraron como línea base individual 0 valores DPI.

En el Grupo 2, los recuentos de leucocitos nunca alcanzó 40% o más por debajo del valor de línea base hasta el final del período de observación (26 DPI).

25 En el Grupo 1, un animal (vaquilla nº 598) tenía un recuento WBC por debajo del 40% de la línea base durante un día.

## 30 Serología

Ninguno de los animales seleccionados tenía un anticuerpo específico para VDVB en sus sueros antes de la infestación. Después de la infestación, todas las vaquillas supervivientes del Grupo 1 desarrollaron anticuerpos específicos para VDVB, detectados 3 semanas PI y duraron hasta el final del período de observación en todos los animales de estudio. En el Grupo 2, 4 de las 5 vaquillas tenía anticuerpos específicos para VDVB detectados a partir de 4 semanas PI. La respuesta medible de los anticuerpos duró sólo 3 animales hasta el final del período de observación. Los títulos eran menores en el Grupo 2 que en el Grupo 1.

## 40 Detección del Virus mediante Co-Cultivo

### *Capas superficiales de plasma coagulado anteado*

45 El VDVB se detectó en ambos grupos. La duración de la detección del virus se resume a continuación. Todas las muestras se co-cultivaron inmediatamente después de la recogida, es decir sin congelación.

Animal nº	DPI cuando se detectó VDVB
<b>50 Grupo 1:</b>	
615	5 - 12
526	5 - 9
626	5 - 12
618	5- 11, 14
598	5- 11, 13
<b>55 Grupo 2:</b>	
565	7 - 9
588	8
608	6 - 9
469	8
619	5 - 11

# ES 2 321 210 T3

## *Muestras de Tejidos*

La presencia de virus de DVB en la vaquilla muerta y los fetos se resume a continuación:

5

### Vaquilla:

10

Animal nº	VDVB en muestras de tejidos
Grupo 1:	
626	Presente <sup>#</sup>

15

### Fetos:

20

Animal nº	VDVB en muestras de tejidos
Grupo 1:	
615	No presente <sup>#</sup>
526	NE
626	Presente <sup>#</sup>
618	No presente
598	Presente
Grupo 2:	
565	Presente
588	No presente
608	Presente
469	No presente <sup>#</sup>
619	No presente

25

30

35

40

NE = No ensayado

45

Las muestras se co-cultivaron inmediatamente después de la recogida (es decir sin congelación), excepto los marcados con "#", de las que sólo estaban disponibles muestras congeladas.

50

## *Sumario de datos clínicos y de laboratorio relacionados con DVB*

### Grupo 1:

55

Animal nº	Conclusión:	DVB
526	Aborto por DVB (útero con placenta post-mortem)	NE (ninguna muestra encontrada)
598	Aborto por DVB (feto post-mortem)	+ (feto)*
615	Aborto por DVB clínico	- (feto)*
618	Aborto por DVB (feto post-mortem)	- (feto)*
626	Murió debido a DVB	+ (feto) / + (vaquilla)

60

NE no ensayado

65

Grupo 2:

Animal nº	Conclusión:	DVB
469	Aborto por DVB clínico	- (feto)*
565	Aborto esperado por DVB; feto no viable	+ (feto)
588	Normal	- (feto)
608	Normal	+ (feto)
619	Aborto por DVB (feto post-mortem)	- (feto)*

\* Los fetos se autolisaron en el instante de la toma de muestras

*Conclusión*

El estudio pretendía confirmar la seguridad de XIKE-A y XIKE-B en animales preñados.

Diez vaquillas preñadas se seleccionaron de un rebaño VDVB negativo. En el ensayo se incluyeron dos grupos de 5 vaquillas: una se inoculó con la cepa de virus XIKE-A y la otra con la cepa de virus XIKE-B. El día de la inoculación, las vaquillas se encontraban entre los días 60 y 90 de gestación.

Las vaquillas se vigilaron en cuanto a la presencia de síntomas clínicos de la infección por VDVB, incluidos los abortos durante el periodo de observación. Se tomaron muestras de sangre de los animales para la serología, se efectuó la detección de antígenos y se recontaron los leucocitos. El experimento se terminó 9 semanas tras la infestación. Se sacrificó a las vacas que no abortaron, y se examinó y recogió el útero. Se recogieron muestra de órganos del feto durante la necropsia rutinaria y se examinaron en cuanto a la infección por VDVB.

La presencia de una infección del feto era el parámetro de evaluación principal, compuesto por la cifra de mortalidad de las vacas relacionada con el VDVB, el número de abortos relacionados con el VDVB y el número de fetos DVB positivos a la conclusión. Además del parámetro principal, se evaluaron síntomas clínicos característicos de una infección por VDVB, viremia y recuento de leucocitos en vacas y la temperatura rectal después del enfrentamiento.

El virus XIKE-B demostró ser menos patógeno que XIKE-A, no obstante también en el grupo XIKE-B se observaron un aborto relacionado con la DVB y la infestación del feto. Por lo tanto, se puede concluir que la inactivación de la RNasa de E<sup>ms</sup> no previene una infestación fetal.

*Ejemplo 2**XIKE-A-NdN de VDVB: determinación de la fetopatogenicidad en vaquillas preñadas*

El gen N<sup>pro</sup> ha demostrado ser no esencial para el desarrollo de VFPC en cultivo tisular (Tratschin *et al.*, 1998). A pesar de que sigue faltando una prueba de la atenuación de VDVB como consecuencia de la delección N<sup>pro</sup>, parecía ser posible un papel de esta proteína en la interacción entre virus y huésped y realmente se indicó mediante experimentos recientes para el VFPC (Mayer *et al.*, 2004; Rüeggli *et al.*, 2003). Por lo tanto, los autores de la invención desearon investigar si la delección de la parte principal de la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conduce a un virus que ya no infesta al feto en vaquillas preñadas. El gen N<sup>pro</sup>, excepto los 4 codones 5' terminales, se suprimió del clón pKANE40A de ADNc de longitud completa de acuerdo con procesos convencionales. El clón de longitud completa mutante resultante se utilizó como plantilla para la transcripción *in vitro* y el ARNc resultante se transfirió en células MDBK, según se describe (Meyer *et al.*, 2002). El virus recuperado se amplificó en el cultivo tisular y luego se utilizó en el experimento con animales descrito más abajo. XIKE-B de VDVB sirvió como control, ya que antes se demostró que es capaz de atravesar la placenta (Ejemplo 1).

*Objetivo(s)/finalidad del estudio*

El estudio pretende confirmar la seguridad de un VDVB atenuado vivo con una delección genómica de la mayoría de la región codificadora de N<sup>pro</sup> en animales preñados.

El material y los métodos empleados se describen en el Ejemplo 1.

# ES 2 321 210 T3

## *Diseño del estudio*

Ocho vaquillas preñadas se asignaron al azar a dos grupos. Éstas se trataron y observaron de acuerdo con el siguiente catálogo:

	Grupo 1	Grupo 2:
N	5	3
Tratamientos	XIKE-A-NdN:	XIKE-B / control
Vía	Intramuscular	
Tiempo de vacunación	entre los días 60 y 90 de preñez (día 0 del estudio)	
Observaciones después de la vacunación (en vida)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Síntomas clínicos</li> <li>Suero los días 0, 14, 28, 42 y a la conclusión</li> <li>WBC el día 0 y luego diariamente durante 14 días</li> <li>Capa superficial de plasma coagulado anteado el día 0 y luego diariamente durante 14 días</li> </ul>	
Post-mortem (día 60)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Grosso-patología</li> <li>Panel de órganos para el aislamiento del virus</li> </ul>	

Tipo de estudio:	estudio clínico controlado abierto
Unidad experimental :	Animal individual
Método de ceguera:	Ceguera parcial. No se emplearon procesos detallados para la ceguera y el catálogo del acceso al tratamiento. El veterinario observador en el lugar de estudio y el patólogo no eran conscientes del tratamiento; sólo recibieron un extracto del protocolo relevante a sus misiones. La vacunación se efectuó por el investigador o su cesionario. Las muestras para el aislamiento del virus fueron codificadas por el investigador hasta que todos los resultados estaban disponibles.

## *Resultados*

Todas las vaquillas eran sanas y estaban preñadas al comienzo del estudio. Todos los animales demostraron estar exentos de VDVB y anticuerpos de VDVB antes del inicio del estudio.

## *Preparación y Control del Virus utilizado para la Infestación*

Las muestras se recogieron a lo largo de las etapas de dilución y se analizaron el día de la preparación, es decir sin congelación mediante co-cultivo en un cultivo tisular adecuado. Los resultados de la titulación del virus se muestran en la siguiente tabla.

Muestra ID	Cepa del virus	Dilución / descripción	$\log_{10}$ título/ml
VT1a	XIKE-A/NdN: (S)	1:2 (a 4 °C)	4.4
VT1b		#2a en hielo sin abertura	4.0
VT1c		Retorno de #2b	2.8
VT2a	XIKE-B	1:2.2 (a 4 °C)	2.3
VT2b		#3a en hielo sin abertura	2.8
VT2c		Retorno de #3b	Negativo

# ES 2 321 210 T3

## *Síntomas clínicos de Infestación por VDVB*

La tabla que figura más abajo proporciona un resumen sobre los animales con síntomas clínicos durante el periodo de observación.

5

*Síntomas clínicos y los días post inoculación (DPI) cuando se observaron*

Grupo 1 (XIKE-A NdN)		Grupo 2 (XIKE-B)	
Síntoma clínico	ID animal	ID animal	
	1583	1438	1585
Pérdida de apetito	8	-	10
Lacrimación	-	-	-
Conjuntivitis	-	-	-
Descarga nasal	-	-	-
Erosión oral	-	-	-
Hemorragia oral	-	-	-
Diarrea	-	-	-
Tos	-	12	10-13
Respiración anormal	-	-	-
Tasa respiratoria elevada	-	-	-
Erosión de la pezuña	-	-	-

En algunos de los animales en cada grupo se observaron sólo síntomas clínicos suaves y transitorios.

35 En el Grupo 1, una de las 5 vaquillas había perdido apetito el día 8 PI. En el Grupo 2, dos de los 3 animales tenía síntomas clínicos. Ambas vaquillas experimentaron tos en torno al día 21 PI que iba acompañado de pérdida de apetito en uno de los animales.

## 40 *Temperaturas rectales*

No se detectaron cambios anormales de la temperatura antes de la inoculación de los animales. Los pocos casos de temperaturas elevadas medidas después de la inoculación se resumen en la tabla que figura más abajo.

45	Grupo	ID animal	Temperatura (°C)	día PI
50	1	1583	39.9	8
		1621	39.0	5
55	2	1438	39.0	2
		1585	40.8	9

En cada grupo un animal tenía una temperatura ligeramente elevada, y también en cada grupo un animal tenía fiebre. La fiebre se detectó el día 8 ó 9 PI. Los valores de temperatura siempre volvieron a un valor normal al día siguiente.

55

## *Recuentos de leucocitos*

60 Una cierta leucopenia se observó en todos los grupos entre los días 3 - 8 PI. El número de animales con al menos una reducción del 40% en el recuento de leucocitos era el siguiente:

65	Grupo	Número de animales con leucopenia/total
	1	3/5 (60%)
	2	1/3 (33%)

# ES 2 321 210 T3

## Serología (anticuerpos de VDVB)

De acuerdo con el protocolo de estudio, todas las vaquillas estaban exentas de anticuerpos de VDVB antes de la vacunación. En el Grupo 1 (inoculado con XIKE-A NdN) y el Grupo 2 (inoculado con XIKE-B), se detectó una 5 seroconversión completa sólo al término del estudio (2 meses después de la inoculación).

## Aislamiento del virus de DVB a partir de capas superficiales de plasma coagulado anteado

10 No se detectó viremia.

## Aislamiento de virus de DVB a partir de muestras de tejido fetal

	Grupo 1:	Grupo 2:	
15	N	5	3
20	Tratamientos	XIKE-A-NdN:	XIKE-B / control
25	Vía	Intramuscular	Intramuscular
30	Número de fetos en los que se detectó una transmisión fetal:	4 de 5 fetos infestados	2 de 3 fetos infestados
35	Conclusión del virus utilizado para el tratamiento tiene el potencial de ser transmitido sobre la placenta:	Transmisión fetal para XIKE-A-NdN observada	Transmisión fetal para XIKE-B observada

## Conclusión

La delección N<sup>pro</sup> dio como resultado una atenuación considerable del VDVB en comparación con el virus XIKE-A parental, que demostró ser muy patógeno (Meyer *et al.*, 2002). Sin embargo, la delección N<sup>pro</sup> sola no previene la 40 transmisión de un virus basado en NY93 recombinante con el feto después de la inoculación de vacas preñadas.

## Ejemplo 3

### XIKE-B-NdN de VDVB: determinación de la fetopatogenicidad en vaquillas preñadas

Para ser capaces de ensayar el potencial de una combinación de la inactivación de RNasa y la delección de N<sup>pro</sup> con respecto a la atenuación del VDVB y la transmisión fetal, se establecieron diferentes mutantes VDVB-2 con delecciones dentro de la región codificadora de N<sup>pro</sup>, basadas en el clón pKANE40B de ADNc infeccioso, el mutante 50 RNasa negativo de pKANE40A con una delección del codón 349. Los virus recuperados se analizaron con respecto a la presencia de las mutaciones deseadas, la ausencia de mutaciones de segundo sitio en las regiones que flanquean los cambios introducidos y sus características de crecimiento en cultivo tisular. XIKE-B-NdN (V-pK88C), una variante que contiene una delección de la región codificadora completa de N<sup>pro</sup>, excepto los codones 1 a 4, además de la delección 55 inactivante de RNasa del codón 349 se eligió para un experimento con animales, ya que combinaba las mutaciones deseadas con aceptables características de crecimiento. El objetivo del estudio era confirmar la seguridad de un aislado de VDVB atenuado vivo en animales preñados.

Cinco vaquillas preñadas, VDVB-negativas, se inocularon por vía intranasal con una dosis infectiva de 10<sup>5</sup> DCIT<sub>50</sub>/animal XIKE-B-NdN (en la Tabla 3.1 se describen datos de retrotitulación). Los datos clínicos se registraron diariamente. Las muestras de sangre se recogieron para el recuento de leucocitos, para la preparación de la capa superficial de plasma coagulado anteado y la serología. Después de terminar el estudio se recogieron tejidos fetales para el aislamiento del virus.

### Material y métodos

Como se detalla para el ejemplo 1:

# ES 2 321 210 T3

## Resultados

No se observaron datos clínicos (datos no mostrados). Los recuentos de leucocitos permanecieron virtualmente sin cambios, excepto por una disminución significativa en aprox. el 40% por debajo del valor de línea base (día 0) en la 5 vaquilla nº 1015 en un solo día (día 6 p.i.) (datos no mostrados).

### a) Análisis de preparaciones de la capa superficial de plasma coagulado anteado

10 Aproximadamente  $10^6$  leucocitos se cultivaron por duplicado con células MDBK en placas de cultivo tisular de 24 pocillos durante 5 días. Las muestras se congelaron-descongelaron dos veces. Partes alícuotas de cien microlitros de muestras descongeladas se inocularon sobre placas de cultivo tisular de 24 pocillos recién sembradas y se sometieron a ensayo en cuanto a virus mediante tinción por inmunofluorescencia indirecta (anticuerpo monoclonal (amc) código 4, dirigido contra un epítopo conservado en la proteína NS3 no estructural). Ningún VDVB podría aislar de las 15 15 preparaciones de la capa superficial de plasma coagulado anteado de los animales nºs 921, 1013, 1015, 1055 y 1075 (Tabla 3.2), mientras que los controles positivos mostraron claramente la realización correcta del ensayo.

### b) Examen post-mortem de tejidos fetales

20 Después de terminar el estudio se recogieron los siguientes tejidos fetales para el aislamiento del virus. bazo, riñón, timo, esternón, cerebelo, placenta, intestino y fluido abdominal. En síntesis, las suspensiones de tejidos se realizaron en un mortero utilizando arena de mar estéril y PBS helada sin  $\text{Ca}^{2+}$  ni  $\text{Mg}^{2+}$ . Los morteros se aclararon con 1 ml de PBS helada sin  $\text{Ca}^{2+}$  ni  $\text{Mg}^{2+}$  y las suspensiones se centrifugaron durante 10 min a 2000 x g ( $4^\circ\text{C}$ ). El sobrenadante se 25 hizo pasar primero a través de un soporte de filtro desechable de  $0,45 \mu\text{m}$ , seguido de un paso por un segundo filtro ( $0,2 \mu\text{m}$  de tamaño de poro). El aislamiento del virus se llevó a cabo por duplicado ( $400 \mu\text{l}$  de suspensión de tejido fetal ó  $100 \mu\text{l}$  de fluido fetal abdominal) en una monocapa de células MDBK en una placa de cultivo tisular de 24 pocillos ( $37^\circ\text{C}$ , 7% de  $\text{CO}_2$ ). Las muestras de tejido se controlaron diariamente en cuanto a los efectos citopáticos o la 30 contaminación bacteriana, y después de un tiempo de incubación de 5 días, las placas se congelaron y descongelaron dos veces.  $100 \mu\text{l}$  de muestras se hicieron pasar a células MDBK recién sembradas. El virus se detectó por tinción de inmunofluorescencia indirecta (amc Código 4). No se pudo detectar un VDVB en las muestras de tejidos o el fluido fetal abdominal (Tabla 3.3).

### c) Hallazgos Serológicos

35 Los títulos de neutralización del suero se determinaron antes de la inoculación, 1 mes post-inoculación y a la conclusión del estudio. Los sueros procedentes de todos los animales se sometieron a ensayo por triplicado para neutralizar anticuerpos contra NY93/C, y la dilución de punto final se leyó mediante tinción por inmunofluorescencia indirecta. 40 Los resultados se expresaron como la dilución de punto final, que neutralizaba aproximadamente 100 DCIT<sub>50</sub> y se calcularon por el método de Kaerber. No se pudieron obtener datos definitivos para el día 0, y 1 y 2 semanas post infección, ya que los sueros eran tóxicos para las células MDBK en diluciones hasta 1:16 y no se pudo detectar una neutralización a diluciones mayores. Comenzando con la tercera semana post-vacunación todos los animales desarrollaron anticuerpos neutralizantes contra el virus NY'93/C de VDVB homólogo y dura hasta el final del experimento 45 (Tabla 3.4 y Fig. 1).

### d) Conclusiones

50 Los datos obtenidos durante el estudio con los animales demuestran claramente que XIKE-B-NdN de VDVB representa un virus muy atenuado. En contraposición al virus de tipo salvaje o los mutantes sencillos XIKE-B o XIKE-A-NdN que muestran una transmisión fetal en vaquillas preñadas a altas tasas, el mutante doble no atravesó la placenta. XIKE-B-NdN de VDVB, así como mutantes dobles similares son extremadamente adecuados para uso en una vacuna viva atenuada.

55 Estudio Nº.: B01 BIVIO20 y B01 BIVIO22

TABLA 3.1

Retro-titulación de Virus

Muestra ID	Cepa del virus	Dilución	Título
1A	XIKE-B-NdN de VDVB	virus concentrado	$10^{5,44} \text{ DCIT}_{50}/\text{ml}$
1		1 - 4	$104,86 \text{ DCIT}_{50}/\text{ml}$
6		residuos de infección (nº 1)	$104,27 \text{ DCIT}_{50}/\text{ml}$

**Tabla 3.2:**  
**Detección de Viremia**

Animal ID Nº.	Días después de la vacunación														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0921	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1055	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1075	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
Fecha	13.12.2001	14.12.2001	15.12.2001	16.12.2001	17.12.2001	18.12.2001	19.12.2001	20.12.2001	21.12.2001	22.12.2001	23.12.2001	24.12.2001	25.12.2001	26.12.2001	- muestra negativa

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

**Tabla 3.3:**  
**Análisis de muestras de tejido fetal para la presencia de VDVb**

Animal Nº	Fluido Abdominal	Fluido Torácico/mesentéricos	Bazo	Riñón	Tímo	Médula ósea (esternón)	Cerebro	Placenta/intestino	Fecha de recogida del tejido	Aislamiento
0921	-	NC	NC	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1013	-	NC	NC	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1015	-	NC	NC	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1055	-	NC	NC	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento
1075	-	NC	NC	-	-	-	-	-	-	1. aislamiento 2. aislamiento

NC = Not collected  
 NC = No recogido  
 - muestra negativa

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

## ES 2 321 210 T3

**Tabla 3.4: B01 BIVI022 /XIKE-B-NdN de VDVB; Estudio de protección fetal**  
**Análisis de neutralización del suero**

Animal ID Nº.	a selección	durante ACC	procedente de las vaquillas						8 sPV
			1 sPV	2 sPV	3 sPV	4 sPV	5 sPV	6 sPV	
0921	*	*	*	1- 40, 2	1- 161, 1	1- 256, 1	1- 323, 1	1- 128, 1	1- 256, 1
1013	*	*	*	1- 3, 2	NA	1- 161, 1	1- 323, 1	1- 406, 1	1- 256, 1
1015	*	*	*	1- 64, 2	1- 161, 1	1- 256, 1	1- 323, 1	1- 406, 1	1- 323, 1
1055	*	*	*	1- 32, 2	1- 40, 2	1- 256, 1	1- 323, 1	1- 406, 1	1- 406, 1
1075	*	*	*	NA	1- 128, 2	1- 102, 1	1- 203, 1	1- 161, 1	1- 406, 1
Fecha	06.12.2001	20.12.2001	27.12.2001	03.01.2002	10.01.2002	17.01.2002	24.01.2002	31.01.2002	07.02.2002

<sup>(1)</sup> SNT contra 1456 Nasa (= NY93/C)  $10^{1.57}$  DCIT<sub>50</sub>/ 50μl \* Suero tóxico para células MDBK en diluciones de hasta 1:16 ⇒ ningún dato disponible

<sup>(2)</sup> SNT contra 1456 Nasa (= NY93/C)  $10^{2.03}$  DCIT<sub>50</sub>/ 50μl NA datos no disponibles

El Análisis de Neutralización del Suero frente a NY93/C se ilustra en la Fig. 1.

# ES 2 321 210 T3

## *Eficacia y estudio de protección cruzada*

Se ha de enfrentar uno con dos posibles problemas con respecto a la vacunación con mutantes de virus atenuados XIKE-B de VDVB o XIKE-B-NdN de VDVB. Primero, existe un problema general concerniente a la protección cruzada entre VDVB-1 y VDVB-2. Al menos la vacunación con vacunas de VDVB-1 inactivadas no prevenía la transmisión de VDVB-2 al feto en animales preñados. Dado que la protección contra la infección fetal representa el objetivo principal de una vacunación anti VDVB, no se puede considerar que vacunas de este tipo induzcan una inmunidad protectora en un amplio intervalo. Por lo tanto, la cuestión era si la vacunación con VDVB-2 atenuado vivo no puede prevenir la transmisión al feto. En segundo lugar, las tasas de crecimiento reducidas de XIKE-B-NdN de VDVB podrían dar como resultado sólo un bajo nivel de protección, incapaz de prevenir la infección transplacentaria del feto en vaquillas preñadas. Para enfrentarse a estos problemas, se inició un estudio con animales. Los animales (2 grupos de 10 animales cada uno) se vacunaron con XIKE-B o XIKE-B-NdN de VDVB (dosificación pretendida: 1 ml de sobrenadante con  $10^5$  DCIT<sub>50</sub> de virus; la retro-titulación se muestra en la Tab. 3.5). Ninguno de los animales mostró síntomas clínicos significativos después de la vacunación, excepto un animal del grupo control no vacunado que tuvo un suave dolor rectal durante un día. Los valores de la temperatura rectal se encontraban por debajo de 39°C, excepto un animal del grupo control no vacunado que tuvo 39,1°C durante un día. Muestras de la capa superficial de plasma coagulado anteado, preparadas después de la vacunación, se analizaron en cuanto a la presencia de virus según se describe antes. Los experimentos demostraron que sólo 5 de los 20 animales contenían virus en la sangre durante 1 ó 2 días a los 4 hasta 8 días post-infección (Tab. 3.6).

20

TABLA 3.5

*Retro-Titulación de Virus utilizados para la vacunación*

Muestra ID	Cepa del virus	Dilución	Título
1A	XIKE-B-NdN de VDVB	virus concentrado	$10^{5,44}$ DCIT <sub>50</sub> / ml
1		1 - 4	104,86 DCIT <sub>50</sub> / ml
6		residuos de infección (nº 1)	104,27 DCIT <sub>50</sub> / ml
3		1 - 11	105,76 DCIT <sub>50</sub> / ml
4		1 - 110	104,92 DCIT <sub>50</sub> / ml
5		residuos de infección (nº 4)	104,27 DCIT <sub>50</sub> / ml

40

45

50

55

60

65

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

**Estudio Nº. / Id.: B01 BIV1020 / Tü XIKE-B/XIKE-B-NdN de VDVB; Estudio de protección fetal**  
**Tabla 3.6: Inoculación con preparaciones de leucocitos (capa superficial de plasma coagulado anteado), recogidas después de la vacunación**

Animal ID No.	Días después de la vacunación														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1134 <sup>(2)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1141 <sup>(1)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1142 <sup>(1)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1145 <sup>(2)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1149 <sup>(1)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1151 <sup>(2)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1152 <sup>(2)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1156 <sup>(2)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1158 <sup>(1)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
1160 <sup>(2)</sup>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
Fecha	13.12.2001	14.12.2001	15.12.2001	16.12.2001	17.12.2001	18.12.2001	19.12.2001	20.12.2001	21.12.2001	22.12.2001	23.12.2001	24.12.2001	25.12.2001	26.12.2001	27.12.2001

# ES 2 321 210 T3

5  
 10  
 15  
 20  
 25  
 30  
 35  
 40  
 45  
 50  
 55  
 60  
 65

Animal ID No.	Días después de la vacunación														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>1197<sup>(1)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1200<sup>(1)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1206<sup>(2)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	0+	00	00	00	00	00	00	00
<b>1210<sup>(2)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1212<sup>(1)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	0+	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1214<sup>(1)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1216<sup>(2)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1217<sup>(1)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	0+	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1218<sup>(1)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>1225<sup>(2)</sup></b>	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
<b>Fecha</b>	13.12 2001	14.12 2001	15.12 2001	16.12 2001	17.12 2001	18.12 2001	19.12 2001	20.12 2001	21.12 2001	22.12 2001	23.12 2001	24.12 2001	25.12 2001	26.12 2001	27.12 2001

Tinción por inmunofluorescencia: Código 4 Códigos de números de animales:

<sup>(1)</sup> vacunación con XIKE-B de VDVb (mutante de RNasa)

<sup>(2)</sup> vacunación con XIKE-B-NdN de VDVb (RNasa y doble mutante de N<sup>pro</sup>)

+ muestra positiva  
B contaminación bacteriana en el pocillo

# ES 2 321 210 T3

Cuatro semanas después de la vacunación, se llevó a cabo la inseminación de los animales. Las infecciones de enfrentamiento se realizaron 60 a 90 días más tarde, utilizando una cepa de VDVB-1 (KE-9 de VDVB, enfrentamiento heterólogo, animales vacunados con XIKE-B) o una cepa de VDVB-2 heteróloga (KE-13 de VDVB, enfrentamiento homólogo, animales vacunados con XIKE-B-NdN) (dosificación pretendida:  $10^5$  DCIT<sub>50</sub> en 6 ml; la retro-titulación se muestra en la Tab. 3.7). A partir de cada grupo de animales vacunados, se seleccionaron al azar 5 vaquillas preñadas para la infección de enfrentamiento. Los animales vacunados con XIKE-B de VDVB se enfrentaron con la cepa KE-9 de VDVB-1, mientras que las vaquillas vacunadas con XIKE-B/NdN de VDVB se enfrentaron con KE-13 de VDVB-2. Además, 2 animales control no vacunados se infestaron con cada uno de los virus de enfrentamiento.

10 Estudio N°./Id.: B01 BIVIO20/Tü XIKE-B-NdN de VDVB; Estudio de protección fetal

TABLA 3.7  
*Retro-titulación de Virus de enfrentamiento*

<b>Cepa del virus</b>	<b>Muestra ID</b>	<b>Título (DCIT<sub>50</sub> / ml)</b>	<b>Título Medio (DCIT<sub>50</sub> / ml)</b>
KE 9	1	$10^{4,44}$	$10^{4,94}$
		$10^{5,10}$	
	2	104,69*	$10^{4,44}$
KE13	3	**	
	1	$10^{4,69}$	$10^{4,76}$
		$10^{4,82}$	
	2	$10^{4,57}$	$10^{4,63}$
	3***	$10^{4,69}$	
		$10^{3,5}$	$10^{3,5}$

Muestra 1: material de inoculado

Muestra 2: material de inoculado devuelto del estable

Muestra 3: inoculado en exceso

\* Segunda inoculación de KE9, la muestra 2 no era interpretable, debido a la muerte de las células.

KE9, la muestra 3 no era interpretable, debido a la muerte de las células o la contaminación bacteriana.

\*\*\* Primera inoculación de KE13, la muestra 3 no era interpretable, debido a la contaminación bacteriana.

45 Los animales vacunados no mostraron viremia ni síntomas clínicos tras la infección de enfrentamiento. El enfrentamiento tuvo éxito, ya que todos los controles no vacunados eran VDVB positivos (Tab. 3.8). En los grupos control sólo se observaron síntomas suaves de la enfermedad. Los recuentos de leucocitos eran casi normales (no mostrados).

50

55

60

65

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

# ES 2 321 210 T3

**Estudio N°. / Id.: B01 BIVI020 / Tú XIKE-B/XIKE-B-NdN de VDV; Estudio de protección fetal**  
**Tabla 3.8: Inoculación con preparaciones de leucocitos (capa superficial de plasma coagulado anteado), recogidas después del enfrentamiento**

Animal ID No.	Días después del enfrentamiento												Aislamiento				
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	Aislamiento
<b>1104<sup>(3)</sup></b>	ØØ	ØØ	Ø+	++	++	Ø+	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	1. aislamiento 2. aislamiento						
<b>1108<sup>(3)</sup></b>	ØØ	ØØ	ØØ	++	++	+Ø	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	1. aislamiento 2. aislamiento						
<b>1126<sup>(3)</sup></b>	ØØ	ØØ	ØØ	Ø+	ØØ	Ø+	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	1. aislamiento 2. aislamiento						
<b>1145<sup>(2)</sup></b>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	1. aislamiento 2. aislamiento
<b>1151<sup>(2)</sup></b>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	1. aislamiento 2. aislamiento 3. aislamiento
<b>1152<sup>(2)</sup></b>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	1. aislamiento 2. aislamiento 3. aislamiento
<b>1156<sup>(2)</sup></b>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	1. aislamiento 2. aislamiento 3. aislamiento
<b>Fecha</b>	04.22	04.25	04.27	04.29	05.01	05.03	05.05	05.07	05.09	05.11	05.13	05.15	05.17	05.19	05.21	05.23	
	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	

# ES 2 321 210 T3

Animal ID No.	Días después del enfrentamiento																																
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	46	48	50	52	54	56	58	60		
1197 <sup>(1)</sup>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ			
1200 <sup>(1)</sup>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ			
1214 <sup>(1)</sup>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ			
1216 <sup>(2)</sup>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ			
1217 <sup>(1)</sup>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ			
1218 <sup>(1)</sup>	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ			
1249 <sup>(3)</sup>	ØØ	ØØ	ØØ	++	++	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ												
Fecha	04.22	04.27	04.29	05.01	05.03	05.05	05.07	05.09	05.11	05.13	05.15	05.17	05.19	05.21	05.23																		
	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	2002	

Tinción por inmunofluorescencia: Código 4

Código de números de animales:

(1) vacunación con XIKE-B de VDVb (mutante de RNasa)

(2) vacunación con XIKE-B-NdN de VDVb (RNasa y doble mutante de Nro)

(3) controles no vacunados

- muestra negativa
- muestra positiva
- contaminación bacteriana en el pocillo

## ES 2 321 210 T3

Los títulos de neutralización del suero se determinaron antes de la inoculación, 1 mes post-inoculación, antes del enfrentamiento, 1 mes después del enfrentamiento y a la conclusión del estudio. Los sueros procedentes de todos los animales se sometieron a ensayo por triplicado para neutralizar anticuerpos contra KE9 y NY93/C (1456NAsa), y la dilución de punto final se leyó mediante tinción por inmunofluorescencia indirecta. Los resultados se expresaron como

- 5 la dilución de punto final, que neutralizaba aproximadamente 100 DCIT<sub>50</sub> y se calcularon por el método de Kaerber. En algunos de los altos títulos de anticuerpos, la dilución de punto final utilizada no era suficientemente alta. Contra KE9, sólo animales vacunados con XIKE-B desarrollaron bajos títulos de anticuerpos, comenzando aproximadamente 10 la semana 4. En el enfrentamiento, todos los animales tenían títulos de anticuerpos que aumentaron considerablemente comenzando en torno a la semana 4 post enfrentamiento. Animales vacunados con XIKE-B tenían títulos de anticuerpos mayores que los vacunados con XIKE-B-NdN. Todos los animales desarrollaron aproximadamente el mismo título 15 de neutralización contra NY93/C cuatro semanas post vacunación, con títulos marginalmente menores en animales vacunados con XIKE-B-NdN. Después del enfrentamiento, todos los animales tenían altos títulos de anticuerpos. La fig. 2 muestra el análisis de neutralización del suero contra KE9 (VDVB-1) y la fig. 3 muestra el análisis de neutralización del suero contra NY93/C (VDVB-2).

15 20 El análisis de las muestras de tejidos, obtenidas tras la conclusión del estudio de los fetos, reveló que el material obtenido de los animales vacunados dio resultados negativos, mientras que la transmisión había ocurrido en los 4 animales control (Tab. 3.9). Así, es claro que los mutantes de VDVB-2 establecidos son bien adecuados como virus vacuna de protección cruzada eficaces.

25

(Tabla pasa a página siguiente)

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**Estudio N°. / Id.: B01 BIVI020 / Tú XIKE-B/XIKE-B-NdN de VDVB; Estudio de protección fetal**  
**Tabla 3.9: Análisis de muestras de tejido fetal para la presencia de VDVB**

Nº	Animal	Fluido abdominal	Fluido torácico	Nódulos linfáticos mesentéricos	Intestino delgado	Bazo	Timo	Riñón	Médula ósea	Cerebelo	Placenta	Fecha
1214 <sup>(1)</sup>	NA	NA	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	17.06.02
1126 <sup>(3)</sup>	++	***	++	++	++	++	++	++	++	++	++	17.06.02
1249 <sup>(3)</sup>	++	NA	++	++	++	++	++	++	++	++	++	17.06.02
1218*( <sup>1</sup> )	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	∅∅**	17.06.02
1197 <sup>(1)</sup>	∅∅	NA	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	17.06.02
1217 <sup>(1)</sup>	∅∅	NA	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	17.06.02
1200 <sup>(1)</sup>	∅∅	NA	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	∅∅	17.06.02

# ES 2 321 210 T3

Animal Nº	Fluido abdominal	Fluido torácico	Nódulos linfáticos mesentéricos	Intestino delgado	Bazo	Timo	Rínón	Médula ósea	Cerebelo	Placenta	Fecha
1145 <sup>(2)</sup>	ØØ	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	21.06.02
1108 <sup>(3)</sup>	+Ø	NA	++	++	++	++	++	++	++	ØØ	21.06.02
1156 <sup>(2)</sup>	ØØ	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	21.06.02
1104 <sup>(3)</sup>	++	NA	++	++	++	++	++	++	++	++	++
1216 <sup>(2)</sup>	ØØ	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	21.06.02
1151 <sup>(2)</sup>	NA	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	21.06.02
1152 <sup>(2)</sup>	ØØ	NA	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	ØØ	21.06.02

NA = no disponible

\*No se encontró ningún feto en el útero de la vaquilla nº 1218

\*\*Endometrio (también recogido para la histología)

\*\*\* La muestra no se envió a BfA Tübingen

Código de números de animales:

(1) vacunación con XIKE-B de VDVB (mutante de RNasa)

(2) vacunación con XIKE-B-NdN de VDVB (RNasa y doble mutante de N<sup>pro</sup>)

(3) controles no vacunados

ES 2 321 210 T3

## *Conclusión*

El enfrentamiento tuvo éxito, ya que todos los controles no vacunados eran VDVB virémicos y los fetos de todos los controles no vacunados eran VDVB positivos.

5 Los dos aislados proporcionaron una protección completa bajo el presente ensayo y las condiciones de análisis.  
El aislado XIKE-B, con el marcador genético sencillo demostró proteger cruzadamente contra el enfrentamiento el  
VDVB de tipo 1 en términos de virema por DVB y la transmisión del feto después del enfrentamiento. El aislado  
XIKE-B, con el marcador genético doble era capaz de proteger completamente contra un enfrentamiento de VDVB de  
10 tipo 2 heterólogo en términos de virema por DVB y la transmisión del feto después del enfrentamiento.

1. El aislado XIKE-B (aislado de tipo 2) demostró una protección cruzada contra el enfrentamiento de VDV B de tipo 1 en términos de viremia por DVB y la transmisión del feto después del enfrentamiento bajo las presentes condiciones de ensayo y análisis (n=4).

15 2. El aislado XIKE-B (aislado de tipo 2) totalmente protegido contra el enfrentamiento de VDVB de tipo 2 en términos de virema por DVB y la transmisión del feto después del enfrentamiento bajo las presentes condiciones de ensayo y análisis ( $n=5$ ).

20

Ejemplo 4

### *Establecimiento de mutantes de N<sup>pro</sup>*

25 Análisis adicionales de mutantes de VDVB-2 con delecciones N<sup>pro</sup>. Se establecieron diferentes mutantes con delecciones en la región codificadora de N<sup>pro</sup> del genoma. Inicialmente, se introdujeron sólo delecciones verdaderas o una delección acompañado por una mutación puntual.

- 30 A:  $[N^{pro}]_1$ -[C-term];  
B:  $[N^{pro}]_3$ -[C-term];  
C:  $[N^{pro}]_4$ -[C-term];  
35 D:  $[N^{pro}]_6$ -[C-term];  
E:  $[N^{pro}]_4$ -[C-term];

40 En las fórmulas  $[N^{pro}]_x$  representa el número de residuos del extremo amino de  $N^{pro}$  que se dejan en los aminoácidos de la poliproteína mutados,  $[C-term]$  es la poliproteína completa, excepto  $N^{pro}$  (que comienza con la proteína C y termina con NS5B), y  $[C-term^*]$  es el mismo que  $[C-term]$ , pero con una mutación en la posición 2 de la proteína C (N en lugar de D).

45 Las tasas de crecimiento de los virus recuperados eran considerablemente menores que las de XIKE-A de tipo salvaje o el mutante XIKE-B RNasa negativo. Hay dos posibles explicaciones para este hallazgo: (i) dependiente de la cepa de virus, las secuencias de longitud variable de la región codificadora de N<sup>pro</sup> son necesarias para el inicio de una traducción eficaz (Myers *et al.*, 2001; Tautz *et al.*, 1999) y (ii) la fusión de secuencias adicionales al extremo amino de la proteína de la cápsida interfiere con la función de la proteína de la cápsida.

Para obtener mejores mutantes por delección N<sup>pro</sup> en desarrollo, se generó un segundo conjunto de mutantes con un gen ubiquitina bovino o un fragmento de la secuencia codificadora de LC3 bovina que reemplaza a la parte principal del gen N<sup>pro</sup>. Estas construcciones permiten una traducción eficaz y generan una proteína de la cápsida con el extremo amino correcto.

[N<sup>pro</sup>]<sub>cat</sub>-[PS]-C-term]

en donde PS es ubiquitina o LC3, C-term es la poliproteína completa, excepto N<sup>pro</sup> (comenzando con la proteína C y terminando con NS5B).

Las tasas de crecimiento de estos mutantes eran más similares a lo que se determinó para XIKE-A. Incluso pareció que los dos virus RNasa positivos de acuerdo con la fórmula  $[N^{pro}]_{22}\text{-[PS]-[C-term]}$ , denominados V-pK87F y V-pK87G, no mostraron en absoluto un retardo significativo del crecimiento, mientras que la parte antagonista V-pk88G RNasa negativa estaba, de nuevo, algo impedida en la propagación, pero en menor medida que los mutantes anteriormente descritos.

# ES 2 321 210 T3

Ejemplos adicionales de mutantes por delección de N<sup>pro</sup> pueden ser:

**MESDEGSK...**

5      **MELFSSDEGSK...**

**MELFSNESDEGSK...**

**MELFSNELSDEGSK...**

10     **MELFSNELLSDEGSK...**

**MELFSNELLYSDEGSK...**

**MELFSNELLYKSDEGSK...**

15     **MELFSNELLYKTSDEGSK...**

**MELFSNELLYKT** representa la secuencia amino-terminal de N<sup>pro</sup> del aislado NewYork93/C de

20     **VDVB.**

También puede ser posible utilizar variantes de esta secuencia con una o varias mutaciones. Puede esperarse que sean funcionales especialmente las variaciones que se producen de forma natural tal como se encuentran en otros pestivirus. Por lo tanto, la lista completa de las variantes ensayadas o propuestas con las diferentes partes del extremo 25 amino-terminal de N<sup>pro</sup> se puede ampliar por conjuntos equivalentes con intercambios de aminoácidos. En lo que sigue se dan ejemplos típicos de las secuencias respectivas para varios pestivirus, pero las posibles variaciones no están limitadas a estos ejemplos.

**NewYork93/C DE VDVB:**    **MELFSNELLYKT**

30     **CP13 DE VDVB:**                **MELISNELLYKT**

**SD1 DE VDVB:**                **MELITNELLYKT**

35     **Brescia de VFPC :**        **MELNHFELLYKT**

**X818 DE DVB :**                **MELNKFELLYKT**

Así, estas variantes pueden incluir, por ejemplo: MELI-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];

40     **MELI-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELIS-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELISN-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

45     **MELISNE-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELISNEL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELISNELL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

50     **MELISNELLY-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELISNELLYK-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELISNELLYKT-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

55     **MELIT-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELITN-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELITNE-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

60     **MELITNEL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELITNELL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELITNELLY-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

65     **MELITNELLYK-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**

**MELITNELLYKT-[PS]<sub>0</sub>-[C-term].**

## ES 2 321 210 T3

Estas fórmulas también pueden tener [PS]<sub>1</sub>, es decir PS también puede ser una de las PS según se describe en esta memoria.

Las secuencias que pertenecen a la proteína N<sup>pro</sup> figuran en letra itálica. Los intercambios de aminoácidos con respecto a la secuencia de New York 93/C de VDVB figuran en negrillas.

Ejemplos adicionales se pueden encontrar, p. ej., utilizando los números de acceso a GenBank dados en Becher *et al.*, 2003, *Virology* 311, 96-104, o mediante búsquedas de datos de la secuencia convencionales.

Una posibilidad adicional podría ser el uso de una señal de procesamiento (PS) insertada entre la secuencia N<sup>pro</sup> (residual) y el extremo amino de la proteína de la cápsida. La PS conduce a una escisión que genera una proteína de la cápsida funcional. La configuración de este tipo de construcciones podría ser como sigue:

$$[N^{pro}]_{22}\text{-PS}[C\text{-term}]$$

15

PS: señal de procesamiento. Puede ser una diana para una proteasa (p. ej. ubiquitina, LC3 según se define en esta memoria o una proteasa o un péptido inestable que conduce al procesamiento en su propio extremo carboxi, tal como, p. ej. inteína (Chong *et al.* 1998 y referencias en el mismo) ó 3C de picornavirus, 2A de cardiovirus o aftovirus, p15 de virus de la enfermedad hemorrágica de conejo o la correspondiente proteasa de otros calicivirus (Proter 1993, y referencias en el mismo; Meyers *et al.*, 2000 y referencias en el mismo).

Cuando se utiliza una PS, es posible un gran número de variantes diferentes, ya que la PS asegura la generación del extremo amino correcto de la proteína C o de la cápsida. Así, cuando se utiliza una construcción de PS, se espera que resulten todos los tipos de delecciones o mutaciones de la secuencia N<sup>pro</sup> en mutantes viables en tanto que el marco de lectura no sea desplazado ni la traducción sea detenida por un codón de detención del marco. Como ejemplo, los autores de la invención establecieron un mutante por delección variable de N<sup>pro</sup> de VDVB de acuerdo con la fórmula

$$[N^{pro}]_{29}\text{-PS}[C\text{-term}]$$

30

Especialmente interesantes podrían ser mutaciones de N<sup>pro</sup> que bloquean la actividad proteolítica de la proteína. Rümenapf *et al.* (1998) han publicado la identificación de los residuos de sitio activo de la proteasa para Alfort Tübingen de VFPC. Los aminoácidos respectivos (ácido glutámico en la posición 22, histidina en la posición 49 y cisteína en la posición 69) están conservados para otros pestivirus. Así, intercambios de cualquier aminoácido, excepto serina o treonina por la cisteína en la posición 69 darán como resultado la destrucción de la actividad de proteasa. De manera similar, el cambio del ácido glutámico en la posición 22 dará como resultado, lo más probablemente, la inactivación de la proteasa, a menos que el nuevo aminoácido sea ácido aspártico. De manera similar, la mayoría, si no todos los intercambios en la posición 49 conducirán a una proteasa inactiva).

40

### Referencias

Ausubel, F.M. *et al.*, *Current Protocols in molecular biology*. New York: Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience. 1994 (actualizado).

Baker, J.C. 1987. Bovine viral diarrhea virus: una revisión. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190: 1449-1458.

Becher, P., König, M., Paton, D.J., Thiel, H.J., 1995, Further characterization of border disease virus isolates: evidence for the presence of more than three species within the genus pesivirus. *Virology* 209 (1), 200-206.

Chong, S., Williams, K.S., Wotkowicz, C., y Xu, M.Q. 1998. Modulation of Protein Splicing of the *Saccharomyces cerevisiae* Vacuolar Membrane ATPase Intein. *J. Biol. Chem.* 273: 10567-10577.

Donis, R.O., Corapi, W., y Dubovi, E.J. 1988. Neutralizing monoclonal antibodies to bovine viral diarrhea virus bind to the 56K to 58K glycoprotein. *J. Gen. Virol.* 69: 77-86.

Fuerst T.R. *et al.* 1986. Eukaryotic transient expression system based on recombinant vaccinia virus that synthesizes bacteriophage T7 RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83: 8122-8126.

60

Heinz, F.X., Collett, M.S., Purcell, R.H., Cold, E.A., Howard, C.R., Houghton, M., Moormann, R.J.M., Rice, C.M., y Thiel, H.-J. 2000. Family Flaviviridae. Págs. 859-878. En: Virus Taxonomy (van Regenmortel, H.H.V., Fauquet, C.M., y Bishop, D.H.L, compiladores.). *Academic Press*, San Diego.

65

Hulst, M.M., Himes, G., Newbigin, E., Moormann, R.J.M. 1994. Glycoprotein E2 of classical swine fever virus: expression in insect cells and identification as a ribonuclease. *Virology* 200: 558-565.

# ES 2 321 210 T3

- 5      **Hulst, M.M., F.E. Panoto, A. Hooekmann, H.G.P. van Gennip., y Moormann, R.J.M.** 1998. Inactivation of the RNase activity of glycoprotein E<sup>ms</sup> of classical swine fever virus results in a cytopathogenic virus. *J. Virol.* 72: 151-157.
- 10     5      **Kit, M. y S. Kit.** 1991. Sensitive glycoprotein gill blocking ELISA to distinguish between pseudorabies (Aujeszky's disease) -infected and vaccinated pigs. *Veterinary Microbiology* 28:141-155.
- 15     10     **Kunkel, T. A., J. D. Roberts, y R. A. Zakour.** 1987. Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. *Methods Enzymol.* 154:367-392.
- 20     15     **König, Matthias,** 1994, Virus der klassischen Schweinepest: Untersuchungen zur Pathogenese und zur Induktion einer protektiven Immunantwort. Dissertation, Tierarztliche Hochschule Hannover, Alemania.
- 25     15     **Lindenbach, B.D., y Rice, C. M.** 2001. The pestiviruses. In Fields Virology, compiladores Knipe, D.M., & Howley, P.M. (Lippincott-Raven, Philadelphia), págs. 991-1042.
- 30     20     **Mayer, D., Hofmann, M.A., y Tratschin, J.D.** 2004. Attenuation of classical swine fever virus by deletion of the viral N(pro) gene. *Vaccine*. 22:317-328.
- 35     20     **Meyers, G., Rümenapf, T. y Thiel, H.-J.** 1989. Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus. *Virology* 171: 555-567.
- 40     25     **Meyers, G., Saalmüller, A., y Büttner, M.** (1999). Mutations abrogating the RNase activity in glycoprotein e(rns) of the pestivirus classical swine fever virus lead to virus attenuation. *J Virol* 73: 10224-10235.
- 45     25     **Meyers, G., Tautz, N., Becher, P., Thiel, H.-J., y Kümmeler, B.M.** 1996b. Recovery of cytopathogenic and noncytopathogenic bovine viral diarrhea viruses from cDNA constructs. *J. Virol.*, 70: 8606-8613.
- 50     30     **Meyers, G., Thiel, H.-J., y Rümenapf, T.** 1996a. Classical swine fever virus: Recovery of infectious viruses from cDNA constructs and generation of recombinant cytopathogenic swine fever virus. *J. Virol.* 67:7088-709526.
- 55     35     **Meyers, G., Wirblich, C., Thiel, H.-J. y Thumfart, J.O.** 2000. Rabbit hemorrhagic disease Virus: genome organization and polyprotein processing of a calicivirus studied after transient expression of cDNA constructs. *Virology* 276: 349-363.
- 60     40     **Paton, D.J., Lowings, J.P., Barrett, A.D.** 1992. Epitope mapping of the gp53 envelope protein of bovine viral diarrhea virus. *Virology* 190: 763-772.
- 65     45     **Pellerin, C. et. al.** Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities, *Virology* 203, 1994:260-268.
- 70     50     **Porter, A.G.** (1993). Picornavirus nonstructural proteins: emerging roles in virus replication and inhibition of host cell functions. *J. Virol.* 67, 6917-6921.
- 75     55     **Rüeggli, N., Tratschin, J.D., Schweizer, M., McCullough, K.C., Hofmann, M.A., Summerfield, A.** 2003. Classical swine fever virus interferes with cellular antiviral defense: evidence for a novel function of N(pro). *J. Virol.* 77:7645-7654.
- 80     60     **Rümenapf, T., Stark, R., Heimann, M., y Thiel, H.-J.** 1998. N-terminal protease of pestiviruses: identification of putative catalytic residues by site directed mutagenesis. *J. Virol.* 72: 2544-2547.
- 85     65     **Rümenapf, T., Unger, G., Strauss, J.H., y Thiel, H.-J.** 1993. Processing of the envelope glycoproteins of pestiviruses. *J. Virol.* 67: 3288-3294.
- 90     70     **Schneider, R., G. Unger, R. Stark, E. Schneider-Scherzer, y H.-J. Thiel.** 1993. Identification of a structural glycoprotein of an RNA virus as a ribonuclease. *Science* 261: 1169-1171.
- 95     75     **Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T.**, Molecular Cloning: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1989.
- 100     80     **Stark, R., Meyers, G., Rümenapf, T., y Thiel, H.-J.** (1993): Processing of pestivirus polyprotein: Cleavage site between autoprotease and nucleocapsid protein of classical swine fever virus. *J. Virol.*, 67, 7088-7095.
- 105     85     **Thiel, H.-J., Plagemann, G.W., & Moennig, V.** 1996. The pestiviruses. In Fields Virology, compiladores Fields, B.N., Knipe, D.M., y Howley, P.M.(Lippincott-Raven, Philadelphia), págs. 1059-1073.

ES 2 321 210 T3

- Thiel, H.-J., Stark, R., Weiland, E., Rümenapf, T. y Meyers, G. 1991. Hog cholera virus: molecular composition of virions from a pestivirus. *J. Virol.* 65: 4705-4712.31.
- Tratschin, J.-D., Moser, C., Ruggli, N., y Hofmann, M.A. 1998. Classical swine fever virus leader proteinase Npro is not required for viral replication in cell culture. *J. Virol.* 72, 7681-7684.
- Van Rijn, P.A., van Gennip, H.G., de Meijer, E.J., Moormann, R.J. 1993. Epitope mapping of envelope glycoprotein El of hog cholera virus strain Brescia. *J. Gen. Virol.* 74: 2053-2060.
- Weiland, E., Thiel, H.-J., Hess, G., y Weiland, F. (1989). Development of monoclonal neutralizing antibodies against bovine viral diarrhea virus after pretreatment of mice with normal bovine cells and cyclophosphamide. *J. Virol. Methods* 24: 237-244.
- Weiland, E., Stark, R., Haas, B., Rümenapf, T., Meyers, G. y Thiel, H.-J. (1990). Pestivirus glycoprotein which induces neutralizing antibodies forms part of a disulfide-linked heterodimer. *J. Virology* 64, 3563-3569.
- Weiland, E., Ahl, R., Stark, R., Weiland, F. y Thiel, H.-J. (1992). A second envelope glycoprotein mediates neutralization of a pestivirus, hog cholera virus. *J. Virology* 66, 3677-3682.
- Windisch, J.M., Schneider, R., Stark, R., Weiland, E., Meyers, G., y Thiel, H.-J. 1996. RNase of classical swine fever virus: biochemical characterization and inhibition by virus-neutralizing monoclonal antibodies. *J. Virol.* 70: 352-358.
- Wiskerchen, M., Belzer, S.K., y Collett, M. S. 1991. Pestivirus gene expression: the first protein product of the bovine viral diarrhea virus large open reading frame, p20, possesses proteolytic activity. *J. Virol.* 65:4508-4514.

30

35

40

45

50

55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Un pestivirus atenuado, con al menos una mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> y al menos otra mutación en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup>, en donde dicha mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> conduce a la inactivación de la actividad de RNasa que reside en E<sup>ms</sup> y dicha mutación en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conduce a la inactivación de dicha N<sup>pro</sup>.
- 5
2. El virus de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dichas mutaciones se seleccionan del grupo de delecciones, mutaciones por inserción y/o mutaciones por sustitución.
- 10
3. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde dicha o dichas mutaciones son delecciones.
- 15
4. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho pestivirus es un virus de la diarrea viral bovina (VDVB).
- 20
5. El virus de acuerdo con la reivindicación 4, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están localizadas en la secuencia de nucleótidos codificadora, correspondiente a los aminoácidos en las posiciones 298 a 310 y/o en las posiciones 341 a 360.
- 25
6. El virus de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, en donde dicha mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> es una delección o sustitución de la histidina en la posición 349.
- 30
7. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están situadas en la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKICTG y/o LQRHEWNKHGWCNWFHIEPW.
- 35
8. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están localizadas en la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKIC y/o RHEWNKHGWCNW.
- 35
9. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> están localizadas en la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKIC y/o RHEWNKHGWCNW.
- 40
10. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicha mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> es una mutación sencilla localizada en la secuencia de E<sup>ms</sup> conservada SLHGIWPEKIC y/o RHEWNKHGWCNW.
- 45
11. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la siguiente fórmula:
- [N<sup>pro</sup>]<sub>x</sub>-[PS]<sub>y</sub>-[C-term]
- 45
- y en donde:
- [N<sup>pro</sup>] se refiere a la porción N<sup>pro</sup> de dicha poliproteína, en donde “x” representa el número de aminoácidos de la N<sup>pro</sup> presente en la poliproteína; y en donde:
- 50
- [PS] se refiere a una señal de procesamiento seleccionada del grupo consistente en: ubiquitina, LC3, SUMO-1, NEDD8, GATE-16 o GABA(A)RAP, inteína, 3C de picornavirus, 2A de cardiovirus o p15 de virus de la enfermedad hemorrágica del conejo; y en donde:
- 55
- “Y” puede ser = 0, lo que significa que no está presente una señal de procesamiento, o
- “Y” puede ser = 1, lo que significa que está presente una señal de procesamiento, y en donde:
- 60
- [C-term] se refiere a la poliproteína completa del virus, excepto N<sup>pro</sup>, pero que incluye la proteína de la cápsida (C) y cualquier otra proteína presente en la poliproteína del virus, incluida la NS5B carboxi-terminal; y en donde:
- 65
- si “y” es = 0, entonces “x” es 0 a 12, (significa que no está presente ningún aminoácido específico de N<sup>pro</sup> o están presentes 1 a 12 aminoácidos de N<sup>pro</sup>); y en donde:
- si “y” es = 1, entonces “x” es 0 a 168; (significa que no está presente ningún aminoácido específico de N<sup>pro</sup> o están presentes 1 a todos los 168 aminoácidos de N<sup>pro</sup>).

# ES 2 321 210 T3

12. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la siguiente fórmula:

5 [N<sup>pro</sup>]<sub>1</sub>-[PS]<sub>0</sub>-[C-term]

13. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la siguiente fórmula:

10 [N<sup>pro</sup>]<sub>3</sub>-[PS]<sub>0</sub>-[C-term]

y en donde las definiciones son como se definen en la reivindicación 11.

15 14. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la siguiente fórmula:

20 [N<sup>pro</sup>]<sub>4</sub>-[PS]<sub>0</sub>-[C-term]

15. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la siguiente fórmula:

25 [N<sup>pro</sup>]<sub>6</sub>-[PS]<sub>0</sub>-[C-term]

16. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la siguiente fórmula:

30 [N<sup>pro</sup>]<sub>4</sub>-[PS]<sub>0</sub>-[C-term]

y en donde [C-term]\* es = [C-term], en donde en la proteína C el aminoácido en la posición 2 está cambiado de D a N.

35 17. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la siguiente fórmula:

40 [N<sup>pro</sup>]<sub>x</sub>-[PS]<sub>1</sub>-[C-term]

y en donde PS se selecciona del grupo de ubiquitina o LC3.

45 18. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho virus es VDVB, y en donde la o las mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada según se **caracteriza** por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:

- M-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- 50 MEL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- MELF-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- 55 MELFS-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- MELFSN-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- MELFSNE-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- 60 MELFSNEL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- MELFSNELL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- MELFSNELLY-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- 65 MELFSNELLYK-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];
- MELFSNELLYKT-[PS]<sub>0</sub>-[C-term].

# ES 2 321 210 T3

19. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho virus es VDVB, y en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada según se **caracteriza** por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:

- 5           **MELI-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELIS-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
10          **MELISN-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELISNE-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELISNEL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
15          **MELISNELL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELISNELLY-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELISNELLYK-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
20          **MELISNELLYKT-[PS]<sub>0</sub>-[C-term].**

20. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho virus es VDVB, y en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada según se **caracteriza** por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:

- 30         **MELIT-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELITN-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELITNE-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELITNEL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
35         **MELITNELL-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELITNELLY-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
         **MELITNELLYK-[PS]<sub>0</sub>-[C-term];**  
40         **MELITNELLYKT-[PS]<sub>0</sub>-[C-term].**

45. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicho virus es VDVB, y en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada según se **caracteriza** por la fórmula:

$$[N^{pro}]_x-[PS]_0-MELF-[PS]_0-[C-term^*];$$

50         y en donde [C-term]\* es = [C-term], en donde en la proteína C el aminoácido en la posición 2 está cambiado de D a N.

55. El virus de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha o dichas mutaciones en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup> conducen a una poliproteína codificada, según se **caracteriza** por la fórmula:

$$[N^{pro}]_{22}-[PS]_1-[C-term]$$

60         y en donde PS es ubiquitina o LC3.

65. El virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21, en donde la [PS]<sub>0</sub> está reemplazada por [PS]<sub>1</sub>, y en donde dicha PS se selecciona del grupo que consiste en: ubiquitina, LC3, SUMO-1, NEDD8, GATE-16 o GABA(A)RAP, inteína, 3C de picornavirus, 2A de cardiovirus y p15 de virus de la enfermedad hemorrágica del conejo.

24. El VDVB de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 23, en donde dicho VDVB se selecciona del grupo de VDVB tipo 1 o VDVB tipo 2.

## ES 2 321 210 T3

25. El VDVB de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 24, en donde el VDVB tiene la secuencia de SEQ ID n° 8.

5    26. Una composición que comprende el virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 y una solución.

27. La composición de acuerdo con la reivindicación 26, que induce una respuesta inmunológica en un animal.

10    28. La composición de acuerdo con la reivindicación 26 ó 27, que es una vacuna.

29. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 28, en donde dicha composición comprende, además, un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15    30. Uso de un virus de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 en la fabricación de una vacuna para la profilaxis y el tratamiento de una infección por pestivirus.

31. Uso de un VDVB de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 25 en la fabricación de una vacuna para la profilaxis y el tratamiento de una infección por VDVB.

20    32. Una molécula de ácido nucleico que comprende el ácido nucleico que codifica un VDVB vivo atenuado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 25.

33. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 32, en donde dicha molécula de ácido nucleico es ADN.

25    34. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 32, en donde dicha molécula de ácido nucleico es ARN.

35    35. Un método para atenuar un pestivirus, **caracterizado** porque en un pestivirus se genera al menos una mutación en la secuencia codificadora de la glicoproteína E<sup>ms</sup> y al menos otra mutación en la secuencia codificadora de N<sup>pro</sup>.

36. El método de acuerdo con la reivindicación 35, que comprende las siguientes etapas:

- a) transcripción inversa de una secuencia de nucleótidos de pestivirus de tipo salvaje en un ADNc;
- b) clonar dicho ADNc;
- c) introducir mutaciones seleccionadas del grupo de delecciones, mutaciones por inserción y/o mutaciones por sustitución en dicho ADNc, en donde dichas mutaciones se localizan en la secuencia codificadora que codifica la glicoproteína E<sup>ms</sup> y la proteasa N<sup>pro</sup>,
- d) incorporar el ADNc en un plásmido o en un virus de ADN capaz de dirigir la transcripción del ADNc del pestivirus en ARN *in vitro* o tras la infección de células adecuadas.

45    37. El método de acuerdo con la reivindicación 35 ó 36, en donde dicho pestivirus es VDVB.

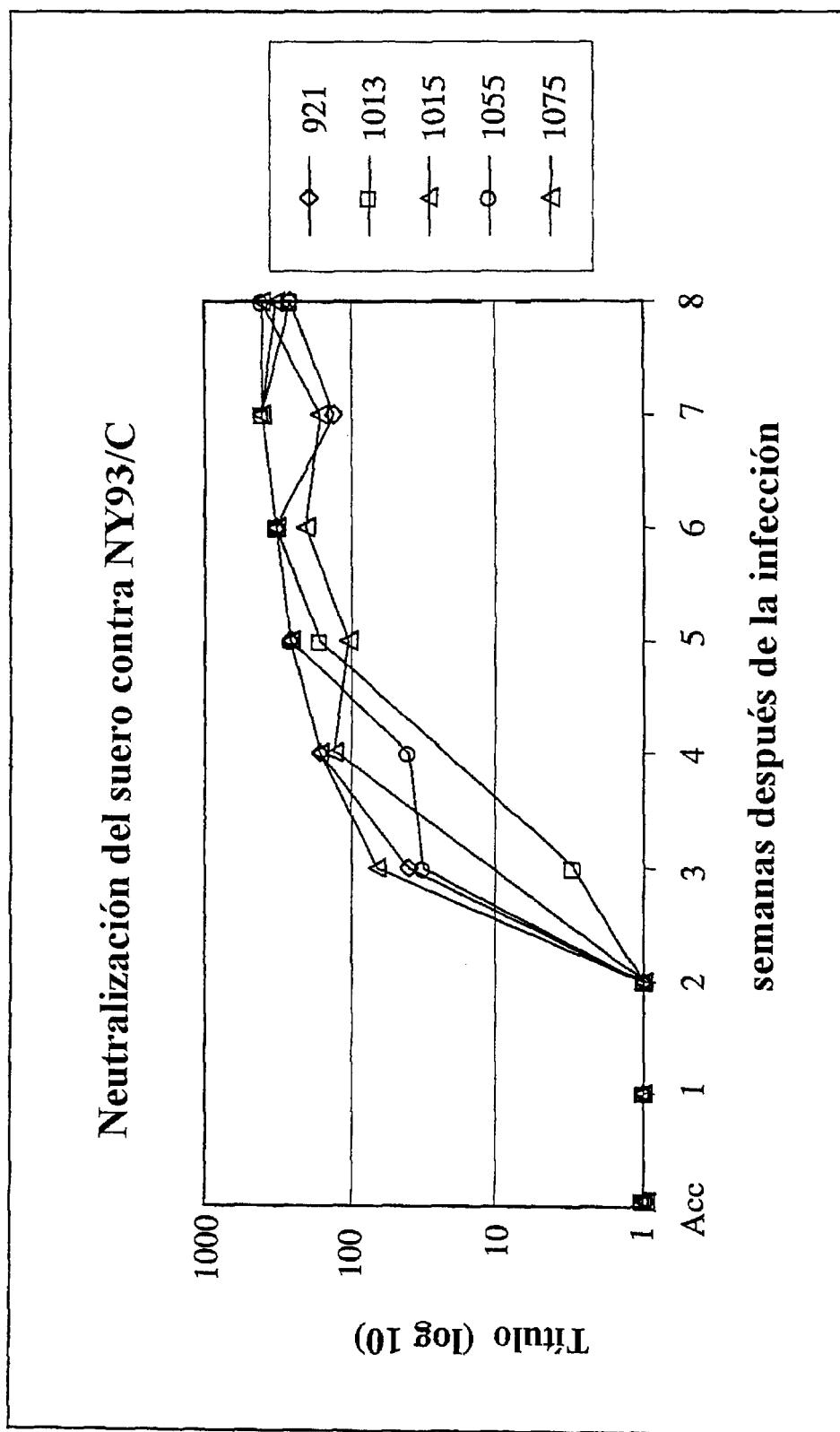
38. Uso de VDVB de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 25 o una composición de acuerdo con las reivindicaciones 26 a 29, para la fabricación de una vacuna para la reducción de síntomas de infección por VDVB, tal como viremia y leucopenia y/o pirexia y/o diarrea.

55

60

65

Figura 1:



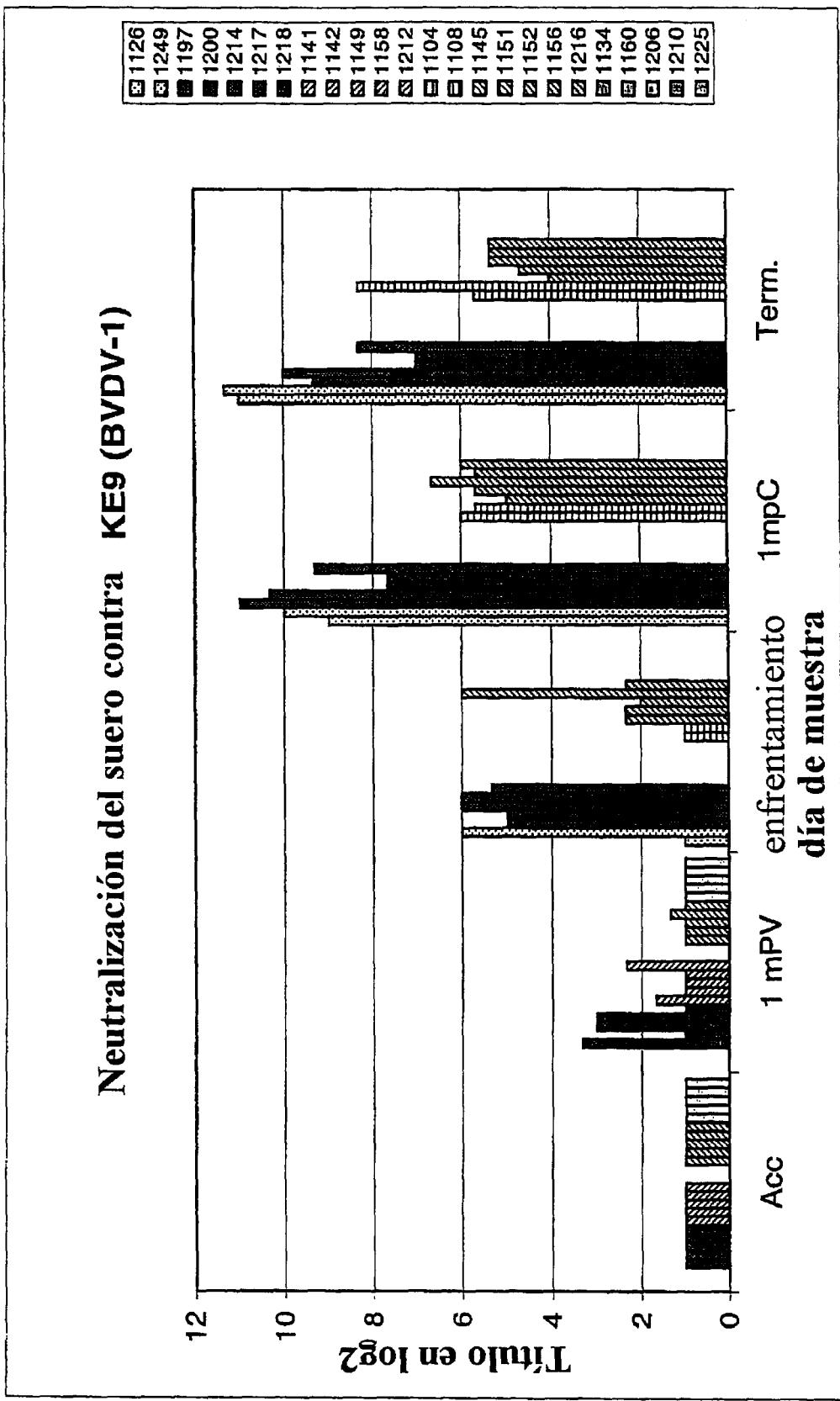
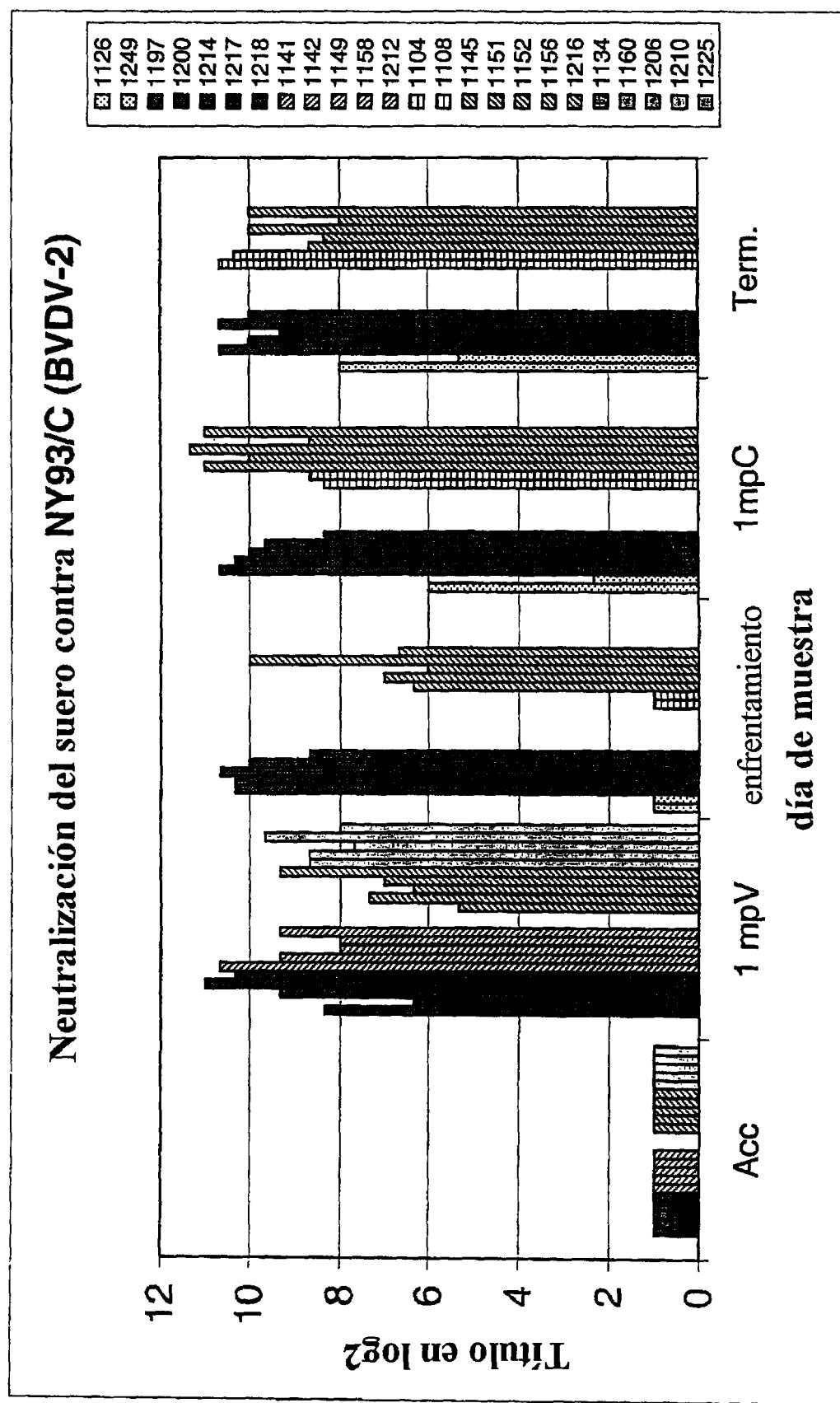
**Figura 2:**

Figura 3:



# ES 2 321 210 T3

## LISTA DE SECUENCIAS

<110> Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH  
<120> Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) atenuado  
5 <130> Case 1/1716  
<160> 12  
<170> PatentIn version 3.1  
10 <210> 1  
<211> 12332  
<212> ADN  
15 <213> VDVB de tipo salvaje: XIKE-A  
  
<400> 1  
  
20 gtatacgaga ttagctaaag aactcgtata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg 60  
caacgttaggg aacccccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag 120  
gactagcaaa agtagggggac tagcggttagc agtgagttcg ttggatggcc gaaccctgta 180  
gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtgc aggagtcgt agatgccatg 240  
tggacgaggg catccccacg gcacatctta acccatgcgg gggttgcgt ggtgaaagcg 300  
25 ctattcgtgg cgttatggac acagcctgat agggtagc agagacctgc tattccgcta 360  
gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgtttca aatgaactt tatacaaacc 420  
atataaacaa aaaccagcag gcgtcgtgga acctgtttac gacgtcaacg ggcccccact 480  
gtttggagag agcagtgtact tgcaccgcga gtcaacacta aaactaccac accaacgagg 540  
30 cagcgccaaac atcctgacca atgcttaggtc cctaccgcgg aaaggtgact gccggagagg 600  
taatgtgtat ggaccggta gtggcatcta tatcaaaccga ggaccgatct actaccagga 660  
ttatgtggc cccgtctatc atagagcccc actggaaacta tgttagggagg caagtatgt 720  
cgaaacaact aggagagttg gcagagtgcg cggtagtgat gggaaattat atcatatcta 780  
35 catctgcata gatgggtgtc tcctcctgaa gagggcgact aggaaccaac cagaagtcc 840  
gaaaatggta tacaacagat taaattgtcc tttatgggtc accagctgct ccgatgaagg 900  
gagcaagggt gctacaagta agaagcagcc taagccagat aggataaaaa aaggtaaagat 960  
gaaaatagcc ccaaaagaga cagaaaaaaga ttgcaaaacc agacccccc acgcaactat 1020  
40 agtagtagaa ggggttaagt accaggtgaa gaaaaaaggaa aaggtaaagg gaaaaaatac 1080  
tcaagatggg ttatatcaca acaagaataa gccccctgaa tcaagaaaaa aattggaaaa 1140  
ggcactgctg gcttgggcca tcttagcagc ggtcctgctt cagctggtaa caggagagaa 1200  
tatcacccag tggaaacttga tggacaacgg caccgaggaa atacagcaag cgatgttcc 1260  
aagagggtg aacaggagtc tacatggaaat ttggccagag aaaatttgcg ccggagtacc 1320  
45 aactcaactt gcaacagact atgagcttaa agagatagtg gggatgatgg acgcgagtga 1380  
gaagaccaac tacacgttt gcaggttgca aagacatgag tggaaaaaac atggttggtg 1440  
taactggttt catatagaac cgtggatatg gttgatgaac aaaacccaaa acaacctgac 1500  
agaagggcaa ccgcttaggg agtgtgtctg gacttgtagg tatgacaagg aaacagaatt 1560  
50 gaacatcggt acacaggctt gggacagacc tacaactctg acaggttgca agaaaggcaa 1620  
gaatttctt ttcgcagggt ttatactgga tggccctgt aactttaaag tatcggttga 1680  
agatgtgctg ttcaaggagc acgattgcgg caacatgctg caagagaccc cgatacagct 1740  
actcgatggg gcaaccaaca ccattgggg agcaaggta gggacggcca agttgacaac 1800  
ctggtaggg aagcaattag ggatccttgg taagaagttt gagaacaaaa gcaaagcatg 1860  
55 gtttgggtca catgcagcaa gtccatactg cggagtggag aggaagatcg gttacgtatg 1920  
gtataaaaaa aactgcactc cagcttgcct tccaagaaac actagaataa taggccccgg 1980  
gaaaattttagt accaaccggc aagatggaaa aataactccat gagatgggg ggcaccttc 2040  
agaatttgtc ctattgtctt tggtaggtct gtctgacttt gccccggaaa ccgcgagcgt 2100  
60 catctactt gttctacatt ttgcgatccc gcaaagccac gttgatgttag acacatgcga 2160  
caagaaccag ctgaatttaa cggtagcaac cacagtagca gaggtcatac cagggacagt 2220  
gtggAACCTT gggaaagtatg tctgcataag accagactgg tggccatatg agacgacgac 2280  
agtcttcgtc atagaggaag cagggcaagt aatcaaattt atgctaagg ccattcagaga 2340  
cttaacttagg atatggaaatg ctgcccactac cacagcttc ttaatcttt tagtaaaaagc 2400  
65 actgaggggaa caactaatcc aagggttatt gtggctgtatg ctaataacag gagcacaggg 2460  
cttccctgaa tgcaaagagg gtttccaata tgccatatct aaagacagga aaatgggtt 2520

# ES 2 321 210 T3

	atggggcca gagagcttaa ctacaacatg gcacccccc accaaaaaaaa tagtggattc	2580
5	catggtcat gtatggtg aaggaaaaga cttgaaaata taaaaatgt gcacaaagga	2640
	agagaggtat ctatggctg tgacagagag agccttatca accagtgccg agtttatgca	2700
	gatcagtat gggacaatag gcccagacgt gatagatatg cctgatgact ttgagtttg	2760
	actctgcct tttgactcaa aaccagtat aaaggcataa tttatgcca gcttactgaa	2820
	tggaccagct ttccagatgg tatgcccaca ggggtggact ggtacaatag aatgcacct	2880
10	agcgaacca gacaccccttgg acacaactgt cattagaca tatagaagaa ctacccatt	2940
	tcagggaga aatgggtta cctatggaaa aataatagg gaagatatct atgaatgcat	3000
	tcttaggtgaa aactggacat gcataaccgg tgaccatagc aggttggaaag acggacctat	3060
	caagaagtgt aagtggtg gccatgactt cgtcaactca gaggggctac cacactaccc	3120
15	aataggcaag tgcatactca tcaacgagag tgggtacagg tatgtatgt acacccttg	3180
	cgtatgggt ggttagcca tagttccatc tggcaccgt aagtgtagaa tagtaacgt	3240
	cacggtaaa gttatcgcta ctaacaatga tctgggaccc atgccttgca gcccagctga	3300
	agtgatacgca agtgaaggac cagtggaaaa gactgcattc acattcaact attcaaggac	3360
20	tctacctaatt aagtattatg agccaaggga ccggacttc caacaataca tgtaaaaagg	3420
	ggagtggcaa tattggttcg acctggattc tgttagaccac cacaagact acttctcaga	3480
	gttcataatc atagcagttc tcgccttgc gggtggtaag tacgtactgt ggctcttgat	3540
	aacatacaca atactgtctg agcagatggc tatgggtgct ggagtgaata ctgaagagat	3600
	agtcatgata ggcaatttgc tgacagacag tgatattgag ttgtgtgtt atttcctct	3660
25	tctgtactta atagttaaag aggaactggc gaggaaatgg attatactgg tataccacat	3720
	ccttgttagcc aaccctatga aaacaattgg ggtcgcttta ctaatgtctg ggggagttgt	3780
	gaaggccagc agaatcaatg ctgtatgacca aagtgtatg gacccatgt ttcttctcg	3840
	gacaggcgta gtggctgtt tgatgtatgc tagaagagaa cctgccccat taccactgt	3900
	tgttagatttgc ctatcaatggaa acatcaggatttgc attcctactg cccgcttagca ttgtatgtac	3960
30	tgttagcataa gtattaaatttgc tactttgtt ggcttagctac ataacagact acttttagata	4020
	taaaaagtgg cttcaactct tatttagtct gatagctggt atcttttatta taaggagctt	4080
	aaaacatatac aaccagatgg aggtaccaga aatatctatg ccaagttgga gacctctagc	4140
	tctggccctt ttctatataa catctacagc aataaccact aattgggaca ttgacttagc	4200
35	aggcttcctg ctgcaatggg cgccagcagt gatcatgtatg gctaccatgt gggcagactt	4260
	tttgactctg atcatagtcc tgcccgatc tgatgtatct aagctttact tcctaaagaa	4320
	cgtcaggaca gacgtggaaa agaactggct cggcaaatgt aaatacagac agatcagttc	4380
	agtttatgac atctgtgaca gtggaggaaatc agtgtaccta ttccatcaa ggcataagag	4440
40	tggaaaggcagg ccagatttca tattacctt ttgaaagcc gtgttaataa gctgcattc	4500
	cagccaatgg caagtggttt acatttctt cctaatactg gaaattacat actatatgca	4560
	caggaaaatc atagatgagg tgtcaggagg agcaaattttt ctatcaagac tcatacgac	4620
	catcatagaa ttaaatttggg ccatagatga tgaggaatgt aaaggactga agaaactgta	4680
	tctttgtca gggagagcga agaatttgc agttaaacat aaggtaagaa atgaagccgt	4740
45	ccacagatgg ttgggtgagg aggaaatata cggggcaccc aaggtgtatca ctatcataaa	4800
	agcttagtacc ctaagtaaaa acaggcactg cataatctgc acgtatctgt aaggaaaga	4860
	atggaaatggc gccaactgtcc caaatgtgg aagacaagga aagcccataa catgtggat	4920
	gacactcgca gactttgagg agaaacatttcaaaaagata ttataagag aagaatcttc	4980
50	ttgtccctgt ctttttgcatttgc ttgtatatt ttgcggccacg atgggcctt	5040
	cagggaaatgg tataagggtt acgttcaataa cacaatgtatc ttctgaggaa	5100
	ccttccattt ctatgtatgc agatgtatcttgcatttgc gggaaacctcg ggcacaaat	5160
	tggcgacccgtt gaaatctatgc gatgggtact gagaggccca ggcgtgtgc aaaaaattac	5220
55	caaccatgg aagtggccacg taaacatcat ggataagcta actgcatttt ttgaaatcat	5280
	gccttagaggc acgacccttgc gggcacctgt gaggttcccc acagcactac taaaagttag	5340
	aaggggcttca gagacggat gggcttacac gcaccaagga gggatcagct cggtagacca	5400
	tgtcacagcc gggaaaggatt tactgtgtc tgacagtatg ggcaggacca ggggttgc	5460
60	tcatatgtac aataagatgtc ctgtatgagac tgatgtatgc atcaagaccg actcagggt	5520
	tcccgaaagggtt gcgagggttt acgttcaaaa cccagaatgt gttaaatctt ctggcaca	5580
	aggagctatg gtacaccccttca agaaaacggg gggggagttc acatgtgtca ctgcctcagg	5640
	gaccggctt ttcttcgatc taaaatcttgc taaaaggctgg tccggccatc caattttgt	5700
65	agcatccatg ggcagggtgg ttggtaggtt gaaatgtggc aagaatgagg attccaagcc	5760
	caccaaaacta atgagcggaa tccagacatgt tctaaagaaac cagacagacc tagcggacat	5820
	cgtaaaaaaaa ttgacttagta tgaacagagg agatcataaa cagataacat tagccactgg	5880
	ggcaggaaaaa actacggaaac tgccaaaggc cgtcatagag gagataggaa ggcacaaaag	5940

# ES 2 321 210 T3

	ggtcttagtc ctgataccat tgagagcagc agcagagtca gtgtatcagt atatgagagt	6000
5	gaagtaccca agtatatatctt tcaatttgag aataggagat atgaaggaag gtgacatggc	6060
	cactggtatac acctacgcct catatggta cttttgtca gttcttcagc ccaaactgag	6120
	agctgccatg gtagagtact catatatatt cttagatgag taccactgtg ctacaccga	6180
	gcaatttagca ataattggaa agatacacag gtttgcgtaa aatcttagag tggtagcaat	6240
	gacagcaacc ccagctggaa cggtcacaac gactggtcag aaacacccta tagaggagtt	6300
10	catagccccca gaggtatgaa aaggtgaaga tcttaggtat gaataacttgg atattgcagg	6360
	gttgaagata ccgactgaag agatgaaagg caacatgctc gtgttcgcgc caactaggaa	6420
	catggcagta gaaacagcta agaaattgaa ggctaaggga tacaactctg gatactatta	6480
	cagtggggaa aaccagaga acttgagggt ggttaacctcg caatccccgt atgtggtagt	6540
	agccaccaat gccatagatg caggtgtgac attaccagac tttagacacag ttgttagacac	6600
15	tggactaaag tgtgagaaga gggtgaggat ttcttcaaaa atgccttca ttgtaacagg	6660
	acttaagaga atggcgtca caatcgaga gcaagcccag cgccagggtt gaggtaggaag	6720
	agtcaagcca ggttagtact ataggagtca agaaaacagct tcagggtcaa aagattacca	6780
	ttacgaccta ctgcaagccc agaggtacgg aatagaagat ggaattaatg taacaaagtc	6840
20	attcaggag atgaactatg attggagcct ttacgaagag gacagcttga tgataactca	6900
	actcgaggc ctttacaacc tccttatatac agaagacctg cctggccgc tgaagaacat	6960
	catggccccc accgatcacc cagaaccat acaactggcc tataacagtt atgaaaacca	7020
	aattccatgt ctgttccaa agatcaaaaa tggtgagggtt acagacagtt atgagaatta	7080
	cacatatctc aatgcaagaa aattaggaga ggacgtgccc gcataatgtgt acgccacaga	7140
25	ggatgaggat ctgcgttgg atcttctggg tatggattgg ccggaccagg gcaaccaaca	7200
	ggtgttagag acaggggaggg cattaaaaca agtaactggc ttatccacag cagaaaacgc	7260
	cctcttgata gcccttattcg gctacgtcgg gtaccagaca ctttcaaaaa ggcacatacc	7320
	catgattact gacatctata cacttgaaga ccacaggctt gaggacacaa cccacctcca	7380
30	gtttgccccca aacgtataa ggaccgacgg caaggactca gagttgaagg aattagctgt	7440
	gggagacctt gataaatatg tggacgcact gtagactac tccaaacaag ggtgaaatt	7500
	catcaaagtc caagctgaaa aggtcagaga ctcccagtct acgaaggaag gctgcaaac	7560
	cattaaggag tatgtgata agtttataca atcactaaca gagaataagg aggagatcat	7620
35	caggtatgaa ctatggggag ttcacacggc actctacaaa agcttggcag cgagactggg	7680
	gcatgaaaca gctttgcaa ctttaggtt aaaatggttt gctttgggg gcgaaacggt	7740
	atctgctcac atcaagcaag tagcaggta tctagtagta tattatata tcaacaaacc	7800
	atctttcct ggagatacag agaccaaca agaggggagg aagtttgtgg ctagtcttt	7860
	tatatactgca ctgcacat acacatataa aacctggaaat tacaacaatc tgcaacgggt	7920
40	tgtcgaacct gccttagctt acctccata tgcataactg gcctgaagt tggtcacacc	7980
	cacaagatta gagagtgtgg tcataactcg ttctacaatt tacaagacat acctcttat	8040
	aaggaagggt aagagtgacg gcttggtagg tacaggcata agtgcagcca tggagatctt	8100
	aaacccaaaac ccaatctcg taggtatatac tgcgtatgtg gggtaggtt ccatcgccgc	8160
45	ccataatgca atagaatcta gtgaacagaa aagaactttt ctgtatgaaagg tctttgtaaa	8220
	aaacttctta gaccaagcag caacagatga gctagtcaaa gagaaccctg aaaaataat	8280
	catggctcta tttgaagcag tccagaccat agggaaacccc ctaagactca tctaccatct	8340
	gtacgggggt tactataagg ggtggaaagc aaaagaactc gcagagaaaa ctgctggccg	8400
50	caacttattc acatgtatca tggggaggc ctttgagctt tttaggtatgg actcagaagg	8460
	aaagataaga aacttgtcag gcaactacat actggactta atcttcaact tgcataataa	8520
	attaaacaag gggctcaaaa aacttagtcct tgggtgggct cctgcacctt tgagctgtga	8580
	ttggacacca agtgcgttgc gataaagcct acctcataac aactacttaa gggtagaaac	8640
55	caggtgtct tgcgtatgt agatgaaaggc aataaaaaat gttgtgtt aattgacaaa	8700
	agttgaagaa aagggttcct tcctatgcag gaatagatta gggagaggac ctccaaactt	8760
	caaagtaaca aagtctatg atgataactt gatagaagtc aagccagtag ctaggctaga	8820
	aggccaggtt gaccttattt acaaggaggt aacagctaaat ttagactaca acaatggaa	8880
	agtactgtt gctaccaaca agtggggaggt ggaccacgct ttcctgacca gacttagaaa	8940
60	gaagcacacca gggataggtt taaaggtgc atatttgggt gaccgaccag accatcaaga	9000
	tcttgcgtt agagattgtg caactataac gaagaactca gtacagtcc taaaaatgaa	9060
	gaagggttgc gcttcacat atgacctaac aatctctaac cttgtcaggc ttattgaact	9120
	agtccataag aataatttac aagaaagaga gatccctacc gtgacagtaa ctacttggct	9180
65	tgcattattt tttgtcaatg aagacctggg gactatcaag cctgtattgg gggagaaagt	9240
	catccccagaa ccccccggagg agttgagtct ccaacccacc gtgagactag tcaccactga	9300
	aacagcaata accataacag gggaggctga agtgcgttgc acagggatca caccagtggt	9360

# ES 2 321 210 T3

	agagatgaaa gaagaacctc agctggacca ccagtcaact accctaaagg tagggttcaa 9420
	ggaagggaa tatccagggc caggagttaa ccctaaccat tttagcagagg tgatagatga 9480
5	gaaagatgac aggcccttttgc tcctaatacat cggttaacaaa gttctaccc cgaacagagc 9540
	aagaacggcc aagaataatac ggctgtacaa aggaacaaac ccaagagaga tcagggatct 9600
	gatgagccaa ggaagaataat tgacggttgc tctaaaagag ttggaccggg aattaaaaga 9660
	attagtagat tacaagggga ccttctcaa taggaaagct tttagaagccc taagcttagg 9720
	taagccaatc aagaggaaaa ccacaacagc aatgatcagg agttataag agccagaggt 9780
10	tgaggagggaa ctaccagatt gtttcaagc ggaagaaccc ctatTTTGG aagcaaaaat 9840
	acagaatgac ttataccacc taattggcag ttagatagt ataaaaagca aagcaaagga 9900
	attaggggcc acagataaca caaagatagt gaaggaagtt gggcttagga cctatacgat 9960
	gaaattggc agctggagca cacaagttac aaaaaaacag atgagtctag cccctctctt 10020
15	tgaagagctg ttattaaagt gccctccatg tagaaaaatt tcaaaggac atatgggtc 10080
	agcataccaa ctggctcaag gaaactggga acccctcggg tgggggtct atatgggaaac 10140
	cataccagct agcgctctca agatccaccc ttatgaggct taccttaaac tcaaagagct 10200
	ggtggaaagtt gaatcttcga gggccactgc aaaagaatcc atcataagag aacataacac 10260
20	ctggatcctg cggaaagggtga gacatgaagg gaacctaaga accaaatcaa tgatcaaccc 10320
	tggaaaaata tcagatcagc tatgcagaga tggacacaaa agaaacatata ataataagat 10380
	cataggctca acaatggcct ctgctggat taggctggag aaactgccc tagtccgagc 10440
	ccaaactgac acaaccaggta tccaccaagc cataagagaa aaaattgata aaacagaaaa 10500
25	caagcagacc cctgaattgc atgaagaact aatgaaggct ttcgactgct taaagatccc 10560
	agagctgaag gaatcgatgt atgaagttt atggaaacaa tttagaagccg ggataaaccg 10620
	taagggtgca gcaggctatc tagagagcaa gaacataggg gaagtccatc acacagagaa 10680
	acacatagta gacgactgtc tcaaggatct gggaaagggg aagaagatta ggtactatga 10740
	aacagccatc cccaagaatg agaagagaga cgtcagcgcac gactggaaag ccggagagtt 10800
30	cgtttagaa aagaaaccaa gagtaatcca gtacccggac gccaagggtg gactggccat 10860
	tacaaaatgt atgtacaaat gggtaaagca aaaaccatg tgataccgg gctatgaagg 10920
	taaaacaccc tattttgaca tattcaacaa agtgaagaag gaatggattt cattccagga 10980
	ccccgttagca gtgagctttg acaccaaagc gtggatatac caagtccacca gtagagacct 11040
35	aatgtttagaa aaggatatacc agaaatatta tttcaagaga agtatacaca aatttttaga 11100
	tacaataaca gaacacatgg tggaggtacc tgtagtacca gcaagcgggtg aagtttacat 11160
	aaggaatggt cagaggggtt gtggccaaacc cgacacaatg gctggtaata gtatgttcaa 11220
	tgtcctaacc atgatataatg cttctgtaa aagtacaggc atactttaca ggggatttcg 11280
40	cagagtggca agaatccatg tgggtggta gatattacat gaggccggg agccccagaa 11340
	gggactgaaa ttctctgaga agggatgtca gatattacat gaggccggg agccccagaa 11400
	aataactgaa ggggacaaaaa tgaaagtggc atacagattc gaggacatag agttttgtt 11460
	ccataactccc gtgccagtc gatggggcaga taacaccatg agtttacatg cagggaggag 11520
	cacagccact atactagcta agatggcaac caggctggat tccagcggag agaggggtag 11580
45	cacagcttat gagaaggccg tagccttcag cttccctttt atgtactcat ggaatccgt 11640
	agtttagaagg atctgcttac tgggtttgtc acagtttcca gaaatatccc catccaaaaa 11700
	cacaatatac tactaccaag gggatcccat agctgcgtac agagaagtg tagggaaaca 11760
	gctgtgtgaa ctgaaaagaa caggatttga gaagctggct ggtctgaatt tgatgttgc 11820
50	cactcttaggc atctggacaa aacatactag taaaagacta atccaaaggct gtttagaaat 11880
	aggttaagaga gaaggtaccc gtttagttaa tgctgacaga ctgattgcag gaaagactgg 11940
	gaagttttac atcccaagca ctgggtgtcac tctgttgggaa aacactatg aggaatattaa 12000
	cttaaagcaa aaggccggcac aaccggccat agaggggtt gacagatata agttggccccc 12060
55	catagttaat gtatcttgc gaaggctgag ggtgtatgtc atgacagttt ccagcggaaag 12120
	ctgggtgaaatc cgtccggagc gtcgtccct cactcaaggt tttaattgtt aaatattgt 12180
	aatagacagc taagatattt attgttagtt gatagtaatg cagtgtatgt aaatacccca 12240
	atttAACACT acctccaatg cactaagcac tttagctgt tgaggttaac tcgacgtcca 12300
	cggttggact aggaagacc tctaacagcc cc 12332

60

<210> 2

<211> 11840

65 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial: VDVB Mutado: XIKE-A-NdN

# ES 2 321 210 T3

<400> 2

	gtatacgaga tttagctaaag aactcgtata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg	60
5	caacgtaggg aacctcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag	120
	gactagcaa agtagggac tagcggtgc agtgagttcg ttggatggcc gaaccctga	180
	gtacagggga gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtcg aggagtctcg agatgccatg	240
	tggacgaggg catgccacg gcacatctt acccatgcgg gggttgcatg ggtgaaagcg	300
10	ctattcgtgg cgttatggac acagcctgtat agggtgttagc agagacctgc tattccgcta	360
	gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatgga gttgtttcc gatgaaggga gcaagggtgc	420
	tacaagtaag aagcagccta agccagatag gatagaaaaaa ggtaagatga aaatagcccc	480
	aaaagagaca gaaaaagatt gcaaaaaccag acccccccgc gcgactata tagtagaagg	540
15	ggttaagtac caggtgaaga aaaaaggaaa ggtaagggga aaaaatactc aagatggtt	600
	atatcacaac aagaataagc cccctgaatc aaaaaaaaaa ttggaaaagg cactgctggc	660
	ttgggccatc ttagcagcgg tcctgctca gctggtaaca ggagagaata tcacccagtg	720
	gaacttgcgt gacaacggca ccgagggaat acagcaagcg atgttctaa gaggggtgaa	780
20	caggagtcta catggaattt ggccagagaa aatttgcacc ggagtaccaa ctcacttagc	840
	aacagactat gagctaaag agatagtggg gatgatggac gcgagtgaga agaccaacta	900
	cacgtgtgc aggttgcata gacatgagtg gaataaacat ggttgggtgt aactggttca	960
	tatagaacctt tggatatggt tggatgaa aacccaaaac aacctgacag aaggccaacc	1020
	gcttagggag tggctgtga ctgttagta tgacaaggaa acagaattga acatcggtac	1080
25	acaggctagg gacagaccta caactctgac aggttgcag aaaggcaaga atttctttt	1140
	cgcagggttt atactggat ggcctgtaa cttaaagta tcgggtgaaat atgtgctgtt	1200
	caaggagcac gattgcggca acatcgctca agagaccgcg atacagctac tcgatgggc	1260
	aaccaacacc attgagggag caagggtagg gacggccaag ttgacaacct ggttagggaa	1320
30	gcaatttaggg atcctggta agaagttgga gaacaaaagc aaagcatggt ttggcaca	1380
	tgcagcaagt ccatactgcg gagttggagag gaagatcggt tacgtatggt atacaaaaaa	1440
	ctgcactcca gctgccttc caagaaacac tagaataata ggccccggaa aatttgat	1500
	caacgcccggaa gatggaaaaa tactccatga gatggggggg cacctctcag aatttgcct	1560
35	attgtcctt gttgtctgt ctgactttgc cccggaaacc gcgagcgtca tctacttggt	1620
	tctacattt gcgatcccgc aaagccacgt tgatgttagac acatcgac agaaccagct	1680
	gaatttaacg gtagcaacca cagtagcaga ggtcatacca gggacagtgt ggaacctagg	1740
	gaagtatgtc tgcataagac cagactggtg gccatatgag acgacacag tcttcgtcat	1800
	agaggaagca gggcaagtaa tcaaattgtat gctaaggggcc atcagagact taacttaggat	1860
40	atggaatgct gccactacca cagcttctt aatctttta gtaaaagcac tgaggggaca	1920
	actaatccaa gggctattgt ggctgtatgc aataacagga gcacaggct tccctgaatg	1980
	caaagagggc ttccaatatg ccatatctaa agacaggaaa atgggttat tggggccaga	2040
	gagcttaact acaacatggc acctccccac caaaaaaaaaa gtggattcca tgggtgcatt	2100
	atgggtgaa ggaaaagact tgaaaatatt aaaaatgtgc acaaaggaag agaggtatct	2160
45	agtggctgtg cacgagagag ccttatcaac cagtggcag tttatgcaga tcgtgtatgg	2220
	gacaataggc ccagacgtga tagatatgcc tgatgacttt gagttggac tctgccttg	2280
	tgactcaaaa ccagtataa agggcaatt taatgccagc ttactgaatg gaccagctt	2340
	ccagatggta tgcccacagg ggtggactgg tacaatagaa tgcaccctag cgaaccaaga	2400
50	cacctggac acaactgtca ttaggacata tagaagaact accccatttc agcggagaaa	2460
	atgggttacc tatggaaaaa taataggggaa agatatctat gaatgcattc taggtggaaa	2520
	ctggacatgc ataaccggtg accatagcag gttaaaagac ggacctatca agaagtgtaa	2580
	gtgggtggc catgacttcg tcaactcaga gggctacca cactaccaa taggcaagt	2640
55	catgctcatc aacgagagtg ggtacaggta tggatgtac acctcttgcg atagggtgg	2700
	tgttagccata gttccatctg gcaccgtaaa gtgtagaata ggtacgtca cggcgtca	2760
	tatcgctact aacaatgtac tgggaccat gccttgcagc ccagctgaag tgatagcaag	2820
	tgaaggacca gtggaaaaga ctgcatgcac attcaactat tcaaggactc tacctaataa	2880
60	gtattatgag ccaaggacc ggtacttca acaatacatg taaaagggg agtggcaata	2940
	ttgggtcgac ctggattctg tagaccacca caaagactac ttctcagatc tcataatcat	3000
	agcagtggtc gccttgggg gtggtaagta cgtactgtgg ctcttgataa catacacaat	3060
	actgtctgag cagatggcta tgggtgcgg agtgaataact gaagagatag tcataatcat	3120
65	caatttgctg acagacagtg atttggat tttttttat ttccttcttc tttttttat	3180
	agttaaagag gaactggcga gaaaatggat tatactggta taccacatcc ttgtggccaa	3240

# ES 2 321 210 T3

	ccctatgaaa acaattgggg tcgtcttact aatgcttaggg ggagtggta aggccagcag	3300
	aatcaatgct gatgaccaa gtgctatgga cccatgcctt cttctcgta caggcgtagt	3360
	ggctgtttt atgatcgcta gaagagaacc tgccacatta ccactgattt tagcattgtct	3420
5	agcaataaga acatcaggat tcctactgcc cgcttagcatt gatgtactg tagcagtagt	3480
	attaattgtt cttttgttgg ctatgtacat aacagactac ttttagatata aaaagtggct	3540
	tcaactctta ttttagtctga tagctggat ctttattata aggagctaa aacatataaa	3600
	ccagatggag gtaccagaaa tatctatgcc aagttggaga cctctagctc tggtccttt	3660
10	ctatataaca tctacagcaa taaccactaa ttggacatt gacttagcag gcttcctgct	3720
	gcaatggcg ccacgagtga tcatgtggc taccatgtgg gcagacttt tgactctgat	3780
	catagtcctg cccagttac agttatctaa gctttacttc ctaaagaacg tcaggacaga	3840
	cgtggaaaag aactggctcg gcaaaatgaa atacagacag atcagtttag tttatgacat	3900
15	ctgtgacagt gaggaaacg tgcatttattt tccatcaagg cataagatgt gaagcaggcc	3960
	agatttcata ttacctttt tgaaagccgt gttataaagc tgcattcagca gccaatggca	4020
	agtggtttac atttcttacc taataactgga aattacatac tataatgcaca ggaaaatcat	4080
	agatgagggtg tcaggaggag caaattttct atcaagactc atagcagccca tcatagaatt	4140
20	aaattggcc atagatgtat aggaatgtaa aggactgaag aaactgtatc tcttgcagg	4200
	gagagcgaag aatttgatag ttaaacataa ggtaaagaaat gaagccgtcc acagatggtt	4260
	tggtgaggag gaaatatacg gggcacccaa ggtgatcact atcataaaag ctagtaccct	4320
	aagtaaaaac aggcaactgca taatctgcac gatctgtgaa gggaaagaat ggaatggagc	4380
	caactgccc aagtgtggaa gacaaggaaa gcccataaca tggatgttgc cactcgcaga	4440
25	ctttgaggag aaacattaca aaaagatatt tataagagaa gaatcttctt gtcctgtgcc	4500
	ttttgatctt tcttgcatt gtaatttattt tcgccccat gggcctttca gggaaagagta	4560
	taagggttac gtccaaataca cagccagagg acaactctt ctgaggaaacc taccaattct	4620
	agcgacgaag atgaagctat taatgttggg aaacctcgcc gcagaaattt ggcacccgtt	4680
30	acatctagga tgggtactga gaggcccggc cgtgtcaaa aaaattacca accatgagaa	4740
	gtgccacgta aacatcatgg ataagctaac tgcattttt ggaatcatgc ctagaggcac	4800
	gacccttagg gcacccgtgaa gttccccac agcactacta aaagtggagaa gggggctaga	4860
	gacgggatgg gcttacacgc accaaggagg gatcagctcg gtagaccatg tcacagccgg	4920
35	aaaggattta ctatgtgtg acagtatggg caggaccagg gttgtctgtc atagtaacaa	4980
	taagatgact gatgagactg agtattggcat caagaccgac tcagggtgtc ccgaaggtgc	5040
	gaggtgttac gtgctaaacc cagaagctgt taacatttctt ggcacaaaag gagctatgg	5100
	acacctccag aaaacggggg gggagttcac atgtgtcact gcctcaggga ccccgcttt	5160
	cttcgatctg aaaaatctaa aaggctggc cggctacca atttttgaag catccagtgg	5220
40	cagggtgggtt ggttaggggtga aagtccggaa gaatgaggat tccaagccca ccaaactaat	5280
	gagcgggatc cagacagtgt ctaagaacca gacagacta gcccactggg cagaaaaac	5340
	gacttagtatg aacagaggag agttcaaaaca gataacatta gccactgggg cagaaaaac	5400
	tacggaaactg ccaagggtccg tcatagagga gatagggagg cacaaggatg tcttagtcct	5460
45	gataccattt agagcagcag cagactcagt gtatcgtat atgagagtga agtacccaaag	5520
	tatatcttc aatttgagaa taggatataa gaggaaatggt gacatggcca ctggatcac	5580
	ctacgcctca tatgggtact tttgtcagct tcctcagccc aaactgagag ctgccatggt	5640
	agagtagtca tatataattct tagatgatgtt ccactgtgtc acacccgagc aatttagcaat	5700
50	aattggaaag atacacaggat ttgctgaaaa tcttagatgt gtagcaatga cagcaacccc	5760
	agctggaaacg gtcacaacga ctggtcagaa acaccctata gaggagttca tagccccaga	5820
	ggtgatgaaa ggtgaagatc taggtatgtt atacttggat attgcagggt tgaagatacc	5880
	gactgaagag atgaaaggca acatgctcg tttcgccca actaggaaca tggcagtaga	5940
	aacagctaaag aaattgaagg ctaaggata caactctgg tactattaca gtggggaaaa	6000
55	cccaagagaac ttgagggtgg taacctcgca atccccgtt gtggtagtag ccaccaatgc	6060
	catagatgtca ggtgtgacat taccagactt agacacagtt gtagacactg gactaaagtg	6120
	tgagaagagg gtgaggattt cttcaaaaat gcccattt gtaacaggac ttaagagaat	6180
	ggcagtcaca atcggagagc aagcccgccg caggggttaga gtaggaagag tcaagccagg	6240
60	taggtactat aggagtcaag aaacagcttc agggtcaaaa gattaccatt acgacctact	6300
	gcaagccca aggtacggaa tagaagatgg aattaatgtt acaaagtcat tcaggagat	6360
	gaactatgtat tggagcctt acgaagaggaa cagcttgcgtt ataaactcaac tcgaggatcct	6420
	taacaacctc ctttatatcg aagacctgca tgccgcgtt aagaacatca tggcccgac	6480
65	cgatcaccca gaaccatac aactggccta taacagtat gaaaaccaa ttccagtgct	6540
	gttcccaaaatc atcaaaaatg gtgagggtgac agacagttat gagaattaca catatctcaa	6600
	tgcaagaaaaa ttaggagagg acgtgccggc atatgtgtac gccacagagg atgaggatct	6660

## ES 2 321 210 T3

	agcagtggat cttctggta tggattggcc ggaccaggc aaccaacagg tggtagagac	6720
	agggagggca taaaaacaag taactggctt atccacagca gaaaacgccc tcttgatagc	6780
	cctattcggc tacgtcggtt accagacact ttcaaaaagg cacataccca tgattactga	6840
5	catctataca cttgaagacc acaggctga ggacacaacc cacctccagt ttgccccaaa	6900
	cgttataagg accgacggca aggactcaga gtgtgaaggaa ttagctgtgg gagaccttga	6960
	taaatatgtg gacgactgg tagactactc caaacaaggg atgaaattca tcaaagtcca	7020
	agctgaaaag gtcagagact cccagtctac gaaggaaggc ttgcaaacc a ttaaggagta	7080
10	tgtggataag tttatacaat cactaacaga gaataaggag gagatcatca ggtatggact	7140
	atggggagtt cacacggcac tctacaaaag ctggcagcg agactgggc atgaaacagc	7200
	tttgcact ttagtgtt aatgggttgc tttgggggc gaaacggtat ctgctcacat	7260
	caagcaagta gcagttgatc tagtagtata ttatatcatc aacaaccat ctttcctgg	7320
15	agatacagag acccaacaag aggggaggaa gtttggct agtctttt a tatctgcact	7380
	agaacacatac acatataaaa cctggaatta caacaatctg caacgggtt tcgaacctgc	7440
	cttagttac ctcccatatg ctacaagtgc ctgtgaagtt ttcacaccca caagattaga	7500
	gagtgtggtc atactcagtt ctacaattt caagacatac ctctctataa ggaagggtaa	7560
20	gagtgcggc ttgttaggtt caggcataag tgtagccatg gagatctta accaaaaccc	7620
	aatctcagta ggtatatctg ttagtgcgtt ggttaggtgcc atgcgcgcataatgcaat	7680
	agaatctagt gaacagaaaaa gaactttgct gatgaagggtc tttgtaaaaa acttcttaga	7740
	ccaagcagca acagatgagc tagtcaaaga gaaccctgaa aaaataatca tggctctatt	7800
	tgaagcgtc cagaccatag gaaaccctt aagactcatc taccatctgt acgggggtta	7860
25	ctataagggg tggaaagcaa aagaactcgc agagaaaact gctggccca acttattcac	7920
	attgatcatg tttgaggcct tttagctttt aggtatggac tcagaaggaa agataagaaa	7980
	cttgcaggc aactacatac tggacttaat cttcaacttg cataataaat taaacaagg	8040
	gctcaaaaaaa ctatgcctt ggtgggctcc tgacacccctt agctgtgatt ggacaccaag	8100
30	tgtgagaga ataaggctac ctcataacaa ctacttaagg gtagaaacca ggtgtcctt	8160
	tggctatgat atgaaggcaa taaaaatgt tgctgttaaa ttgacaaaag ttgaagaaaa	8220
	ggggtccttc ctatgcagga atagattagg gagaggaccc ccaaacttca aagtaacaaa	8280
	gttctatgt gataacttga tagaagtcaa gccagtagct aggctagaag gccaggttga	8340
35	cctctattac aaggagttaa cagctaagtt agactacaac aatggaaag tactgttagc	8400
	taccaacaag tgggaggtgg accacgctt cctgaccaga ctatgaaaga agcacacagg	8460
	gataggttt aaagggtcat atttgggtga ccgaccagac catcaagatc ttgtcgatag	8520
	agattgtgca actataacga agaactcagt acagttccta aaaatgaaga agggttgcgc	8580
40	tttcacatata gacctaacaa tctctaaacct tgcaggctt attgaacttag tccataagaa	8640
	taatttacaa gaaagagaga tccctaccgt gacagtaact acttggctt catattctt	8700
	tgtcaatgaa gacctggggc tstatcaagcc tttattgggg gagaaggatca tcccagaacc	8760
	ccccgaggag ttgagtctcc aacccaccgt gagactagtc accactgaaa cagcaataac	8820
	cataacaggg gaggctgaag ttagtgcac agggatcaca ccaggttag agatgaaaga	8880
45	agaacctcag ctggaccacc agtcaactac cctaaaggta ggggttgaagg aaggggaaata	8940
	tccaggccca ggagttacc ctaaccattt agcagagggtg atagatgaga aagatgacag	9000
	gcctttgtc ctaatcatcg gtaacaaagg ttctacctcg aacagagcaa gaacggccaa	9060
	gaatatacgg ctgtacaaag gaaacaaccc aagagagatc agggatctga tgagccaagg	9120
50	aagaatattt acgggtgctc taaaagagtt ggaccggaa ttaaaagaat tagtagatta	9180
	caaggggacc tttctcaata gggaaagctt agaagcccta agcttaggtt agccaatcaa	9240
	gaggaaaaacc acaacagcaa ttagtgcaggat gttaatagag ccagagggtt aggaggaact	9300
	accagattgg ttccaagcgg aagaaccctt attttggaa gcaaaaatac agaatgactt	9360
	ataccaccta attggcagtg tagatagttt aaaaagcaaa gcaaaaggaa tagggccac	9420
55	agataacaca aagatagtga aggaagttgg ggcttaggacc tatacgatga aatttagcag	9480
	ctggagcaca caagttacaa aaaaacagat gagtcttagcc cctctctttt aagagcttt	9540
	ataaaagtgc cttccatgtt gtaaaaatttca aagggtacat atgggtgtcag cataccaaact	9600
	ggctcaaggg aactgggaac ccctcggtt tgggtctat atgggaacca taccagcttag	9660
60	gcgtctcaag atccaccctt atgaggctt cctttaaactc aaagagctgg tggaaagtta	9720
	atcttcgagg gccactgcaaa aagaatccat cataagagaa cataacaccc ggatcctgcgc	9780
	gaaggtgaga catgaaggaa acctaagaac caaatcaatg atcaaccctg ggaaaatatac	9840
	agatcagctt tgcagagatg gacacaaaag aaacatataat aataagatca taggctcaac	9900
65	aatggcctt gctggattt ggctggagaa actgcccagta gtccgagccc aaactgacac	9960
	aaccagtttcc caccacccca taagagaaaaa aattgataaa acagaaaaca agcagacccc	10020
	tgaatttgcattt gaaactaa tgaaggctt cgactgctt aagatcccag agctgaagga	10080

# ES 2 321 210 T3

	atcgtatgtat	gaagtttcat	gggaacaatt	agaagccggg	ataaaccgt	agggtgcagc	10140
5	aggctatcta	gagagcaaga	acatagggga	agtccctagac	acagagaaaac	acatagtata	10200
	gcagctgatc	aaggatctga	ggaagggaa	gaagattagg	tactatgaaa	cagccatccc	10260
	caagaatgag	aagagagacg	tcagcgacga	ctgggaagcc	ggagagttcg	ttgataaaaa	10320
	gaaaccaaga	gtaatccagt	accccgacgc	caaggtgaga	ctggccatta	caaagtgtat	10380
10	gtacaaaatgg	gtaaagcaaa	aaccagtgg	gataccccgc	tatgaaggta	aaacacctct	10440
	atttgacata	ttcaacaaag	tgaagaagga	atgggattca	ttccaggacc	ccgttagcagt	10500
	gagctttgac	accaaagcgt	gggatacaca	agtaccagt	agagacctaa	tgttgataaa	10560
	ggatatccag	aatattattt	tcaagagaag	tatacacaaa	tttttagata	caataacaga	10620
15	acacatggtg	gaggtacctg	tcattacagc	agacgggtgaa	gtttacataa	ggaatggtca	10680
	gaggggtagt	ggccaacccg	acacaagtgc	ttgtaatagt	atgttgaatg	tcctaaccat	10740
	gatatatgct	ttctgtaaaa	gtacaggcat	acttacagg	ggattcagca	gagtggcaag	10800
20	aatccatgtg	tgtggtgatg	atggctttt	gataacagag	agaggactgg	gactgaaatt	10860
	ctctgagaag	ggtatgcaga	tattacatga	ggccgggaag	ccccagaaaa	taactgaagg	10920
	ggacaaaatg	aaagtggcat	acagattcga	ggacatagag	ttttgttccc	atactccgt	10980
25	gccagtcaga	tggcagata	acaccatgt	ttacatggca	gggaggagca	cagccactat	11040
	actagctaag	atggcaacca	ggctggattc	cagcgagag	aggggtagca	cagcttatga	11100
	gaaggccgta	gccttcagct	tcctttgtat	gtactcatgg	aatccctgt	ttagaaggat	11160
	ctgcttactg	gtttgtcac	agtttccaga	aatatcccc	tccaaaaaca	caatatacta	11220
30	ctaccaaggg	gatccatag	ctgcgtacag	agaagtata	ggaaacacgc	tgtgtgaact	11280
	gaaaagaaca	ggatttgaga	agctggctgg	tctgaatttg	agatgtacca	ctcttaggcat	11340
	ctggacaaaa	catactagta	aaagactaat	ccaagcctgt	gtagaaatag	gtaagagaga	11400
	aggtacctgg	ttagttatg	ctgacagact	gattgcagga	aagactggg	agtttacat	11460
35	cccaagcact	ggtgtcactc	ttgtggaaa	acactatgt	gaaattaact	taaagaaaaa	11520
	ggcggcacaa	cccccgtat	aggggttga	cagatataag	ttggggccca	tagttatgt	11580
	tatcttgaga	aggctgaggg	tgatgtat	gacagttgcc	agcggaaagct	ggtgaatccg	11640
	tccggagcgt	cgtccctca	ctcaaggttt	ttaattgtaa	atattgtaaa	tagacagcta	11700
	agatatttat	tgttagttgga	tagtaatgca	gtgtatgtaa	ataccccaat	ttaacactac	11760
	ctccaaatgca	ctaagcactt	tagctgtgt	aggttaactc	gacgtccacg	gttggactag	11820
	ggaagaccc	taacagcccc					11840

<210> 3

<211> 12329

40 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial: VDVB Mutado: XIKE-B

45	<400> 3						
	gtatacggaga	ttagctaaag	aactcgata	tggattggac	gtcaacaaat	ttttaattgg	60
	caacgtaggg	aaccttcccc	tcagcgaagg	ccgaaaagag	gctagccat	cccttagtag	120
	gactagcaaa	agttagggac	tagcggtac	agttagtgc	ttggatggcc	gaaccctga	180
50	gtacagggga	gtcgtaatg	gttcgacact	ccattagtcg	aggagtctcg	agatgccat	240
	tggacgggg	catgcccacg	gcacatctt	accatgcgg	gggttgcat	ggtgaaagcg	300
	ctattcgtag	cgttatggac	acagcctgtat	agggtgtac	agagacctgc	tattccgcta	360
	gtaaaaactc	tgctgtacat	ggcacatgg	gttgtttca	aatgaactt	tataaaaaac	420
	atataaaca	aaaccagcag	gcgtcgat	acctgttac	gacgtcaacg	ggcgccact	480
55	gtttggagag	agcagtgtact	tgcacccgca	gtcaacacta	aaactaccac	accaacgagg	540
	cagcgccaa	atcctgacca	atgctagg	cctaccgcgg	aaaggtgact	gcccggagagg	600
	taatgtgtat	ggaccgggt	gtggcatct	tatcaaacc	ggaccgatct	actaccagg	660
	ttatgtggc	cccgcttata	atagagcccc	actggacta	tgttagggagg	caagtatgt	720
60	cgaaacaact	aggagagtt	gcagagtgc	cggttagtgc	gggaaattat	atcatatcta	780
	catctgcata	gatgggtgt	tcctcctgaa	gagggcact	aggaaccaac	cagaagtct	840
	gaaatggta	tacaacagat	taaattgtcc	tttatggtc	accagctgc	ccgatgaagg	900
	gagcaagggt	gctacaagta	agaacgagcc	taagccagat	aggatagaaa	aaggttaagat	960
65	gaaaatagcc	ccaaaagaga	cagaaaaaga	ttgcaaaacc	agacccccc	acgcgactat	1020
	agtagtagaa	ggggtaagt	accaggtgaa	gaaaaaaagga	aaggttaagg	aaaaaaatac	1080
	tcaagatgg	ttatatcaca	acaagaataa	gccccctgaa	tcaagaaaaa	aattggaaaa	1140

# ES 2 321 210 T3

	ggcactgctg	gcttgggccca	tcttagcagc	ggtcctgctt	cagctggtaa	caggagagaa	1200
	tatcaccagg	tggaacctga	tggacaacgg	caccgaggga	atacagcaag	cgtatttcct	1260
	aagaggggtg	aacaggagtc	tacatggaa	ttggccagag	aaaatttgc	ccggagtacc	1320
5	aactcactta	gcaacagact	atgagctaa	agagatagt	gggatgatgg	acgcgagtga	1380
	gaagaccaac	tacacgtgtt	cgagggtgca	aagacatgag	tggaataaag	gttggtgtaa	1440
	ctggttcat	atagaaccgt	ggatatggtt	gatgaacaaa	acccaaaaca	acctgacaga	1500
	aggcaaccg	cttagggagt	gtgctgtgac	tttaggtat	gacaaggaaa	cagaattgaa	1560
10	catcggtaca	caggcttaggg	acagacctac	aactctgaca	ggttgcaaga	aaggcaagaa	1620
	tttctcttcc	gcaggtgtt	tactggatgg	gccctgtaac	tttaaagtat	cggttgaaga	1680
	tgtgctgttc	aaggagcacg	attgcggcaa	catgctgca	gagaccgcga	tacagctact	1740
	cgtggggca	accaacacca	ttgagggagc	aagggttaggg	acggccaagt	tgacaacctg	1800
15	gttagggaaag	caattaggaa	tccttggaa	gaagttggag	aacaaaagca	aagcatgtt	1860
	tggtgcacat	gcagcaagtc	catactgcgg	agtggagagg	aagatcggtt	acgtatggta	1920
	tacaaaaaac	tgcactccag	cttgccttcc	aagaaacact	agaataatag	gccccggaa	1980
	atttgatacc	aacgcggaaag	atggaaaaat	actccatgag	atggggggc	acctctcaga	2040
20	atttgccta	ttgtccttgg	tggttctgtc	tgactttgcc	ccggaaaccg	cgagcgtcat	2100
	ctacttggtt	ctacattttgc	cgatcccgc	aagccacgtt	gatgtagaca	catgcgacaa	2160
	gaaccagctg	aatttaacgg	tagcaaccac	agtagcagag	gtcataccag	ggacagtgtg	2220
	gaacctaggg	aagtatgtct	gcataagacc	agactgggt	ccatatgaga	cgacgacagt	2280
25	cttcgtcata	gaggaagcag	ggcaagtaat	caaattgtat	ctaaggccca	tcagagactt	2340
	aactaggata	tggaatgctg	ccactaccac	agctttctta	atcttttag	taaaagcact	2400
	gaggggacaa	ctaattccaa	ggctattgtt	gctgtatgcta	ataacaggag	cacagggctt	2460
	ccctgaatgc	aaagagggct	tccaatatgc	catatctaaa	gacagaaaaa	tggggttatt	2520
	ggggccagag	agcttaacta	caacatgca	cctccccacc	aaaaaaatag	tggattccat	2580
30	ggtgcatgta	tgggtgtgaag	gaaaagactt	gaaaatatta	aaaatgtca	caaaggaaga	2640
	gaggtatcta	gtggctgtgc	acgagagagc	cttatcaacc	agtgcggagt	ttatgcagat	2700
	cagtgtggg	acaataggcc	cagacgtat	agatatgcct	gatgactttg	agtttgact	2760
	ctggcccttgc	gactcaaaac	cagtgataaa	gggcaaaattt	aatgcagct	tactgaatgg	2820
35	accagcttcc	cagatggtat	gcccacaggg	gtggactggt	acaatagaat	gcacccttagc	2880
	gaaccaagac	accttggaca	caactgtcat	taggacatat	agaagaacta	ccccatttca	2940
	gcggagaaaa	tgggtgtacct	atgaaaaaaat	aataggggaa	gatatctatg	aatgcattct	3000
	aggtggaaac	tggacatgca	taaccggta	ccatagcagg	ttgaaagacg	gacctatcaa	3060
40	gaagtgttaag	tgggtgtggcc	atgacttcgt	caactcagag	gggctaccac	actacccaaat	3120
	aggcaagtgc	atgctcatca	acgagagtttgc	gtacaggtat	gtagatgaca	cctcttgca	3180
	taggggtgtt	gtagccatag	ttccatctgg	caccgtaaag	tgtagaatag	gtaacgtcac	3240
	ggtgcaagtt	atcgctacta	acaatgtatc	gggacccatg	ccttgcagcc	cagctgaagt	3300
	gatagcaagt	gaaggaccag	tggaaaagac	tgcatgcaca	ttcaactatt	caaggactct	3360
45	acctaataag	tattatgagc	caagggaccg	gtacttccaa	caatacatgt	taaaagggaa	3420
	gtggcaatat	tggttcgacc	tggattctgt	agaccaccac	aaagactact	tctcagagtt	3480
	cataatcata	gcagtggtcg	ccttgggggg	tggtaagtac	gtactgtggc	tcttgataac	3540
	atacacaata	ctgtctgagc	agatggctat	gggtgctgg	gtgaataactg	aagagatagt	3600
50	catgataggc	aatttgcgt	cagacagtat	tattgaggat	gtggtttatt	tccttcttct	3660
	gtacttaata	gtttaaagagg	aactggcgag	gaaatggatt	atactggat	accacatcct	3720
	tgtagccaa	cctatgaaaa	caattgggg	cgtcttacta	atgcttaggg	gagtgggtaa	3780
	ggccagcaga	atcaatgctg	atgaccaaag	tgctatggac	ccatgcttcc	ttctcggtac	3840
55	aggcgtatgt	gctgtttga	tgatcgctag	aagagaacct	gccacattac	cactgatgt	3900
	agcattgctt	gcaataagaa	catcaggatt	cctactgccc	gctagcatttgc	atgtaactgt	3960
	agcagtagta	ttaattgtac	ttttgttggc	tagctacata	acagactact	ttagatataa	4020
	aaagtggctt	caactcttata	ttgtctgtat	agctggatc	tttattataa	ggagcttaaa	4080
60	acatatcaac	cagatggagg	taccagaaat	atctatgca	agttggagac	ctctagctct	4140
	ggtccttttc	tatataacat	ctacagcaat	aaccactaat	tgggacatttgc	acttagcagg	4200
	cttcctgctt	caatgggcgc	cagcagtat	catgatggct	accatgtgg	cagacttttt	4260
	gactctgatc	atagtcctgc	ccagttacga	gttatctaa	cttacttcc	taaagaacgt	4320
	caggacagac	gtggaaaaga	actggctcg	caaagtggaa	tacagacaga	tcagttcgt	4380
65	ttatgacatc	tgtgacatgt	aggaagcagt	gtacctattt	ccatcaaggc	ataagagtg	4440
	aagcaggcca	gatttcatat	taccttttt	gaaagccgt	ttaataagct	gcatcagcag	4500
	ccaatggcaa	gtggtttaca	tttcttacct	aatactggaa	attacataact	atatgcacag	4560

# ES 2 321 210 T3

	gaaaatcata gatgaggtgt caggaggagc aaattttcta tcaagactca tagcagccat	4620
	catagaatta aattggccca tagatgtga ggaatgtaaa ggactgaaga aactgtatct	4680
5	cttgtcaggg agagcgaaga atttgatagt taaacataag gtaagaaaatg aagccgtcca	4740
	cagatggttt ggtgaggagg aaatatacgg ggcacccaag gtgatcacta tcataaaagc	4800
	tagtacccta agtaaaaaca ggcactgcat aatctgcacg atctgtgaag ggaaagaatg	4860
	aatggagcc aactgcccua agtgtggaag acaaggaaag cccataacat gtggaatgac	4920
10	actcgcagac tttgaggaga aacattacaa aaagatattt ataagagaag aatcttctg	4980
	tcctgtgcct tttgatcctt ctgccattt taattatcc cgccacgatg ggccttcag	5040
	gaaagagtagt aagggttacg tccaaatacac agccagagga caactcttc tgaggaacct	5100
	accaattcta gcgacgaaga tgaagctatt aatggtgga aacctcgcc cagaatttg	5160
15	cgacctggaa catctaggat gggtaactgag agggccagcc gtgtcaaaa aaattaccaa	5220
	ccatgagaag tgccacgtaa acatcatgga taagctaact gcatttttg gaatcatgcc	5280
	tagaggcacg acccctaggg cacctgtgag gttccccaca gcactactaa aagtgagaag	5340
	ggggctagag acgggatggg cttacacgca ccaaggaggg atcagctcg tagaccatgt	5400
	cacagccgga aaggattac tagtgtgtga cagtatggc aggaccaggg ttgtctgtca	5460
20	tagtaacaat aagatgactg atgagactga gtatggcattc aagaccgact cagggtgtcc	5520
	cgaagggtcgc aggtgttacg tgctaaaccc agaagctgtt aacatttctg gcacaaaagg	5580
	agctatggta cacctccaga aaacgggggg ggagttcaca tggtaactg cctcaaggac	5640
	cccggtttt ttcgatctga aaaatctaaa aggctggcc gggctaccaa ttttgaagc	5700
25	atccagtgcc aggggtgttg gtagggtaa agtcggcaag aatgaggatt ccaagccac	5760
	caaactaatg agcggaatcc agacagtgtc taagaaccag acagacccat cggacatcgt	5820
	aaaaaaattt actagtatga acagaggaga gttcaaacag ataacattag ccactggggc	5880
	aggaaaaaact acggaactgc caaggtccgt catagaggag ataggaggc aaaaaagggt	5940
	cttagtcctg ataccattga gagcagcagc agagtcagtg tatcagtata tgagagtga	6000
30	gtacccaagt atatcttca atttgagaat aggagatatg aaggaaggtg acatggccac	6060
	tggtatcacc tacgcctcat atgggtactt ttgtcagtt cctcagccca aactgagac	6120
	tgccatggta gagaactcat atatattctt agatgagtag cactgtgcta caccggagca	6180
	attagcaata attggaaaga tacacagggt tgctgaaaat ctttagagtgg tagcaatgac	6240
35	agcaacccca gctggAACGG tcacaacgac tggtcagaaa caccctatac aggagttcat	6300
	agccccagag gtgtgaaag gtgaagatct aggttagtga tacttggata ttgcagggtt	6360
	gaagataccg actgaagaga tgaaaggcaa catgctcgat ttgcgccaa ctaggaacat	6420
	ggcagtagaa acagctaaga aattgaaggc taaggatac aactctggat actattacag	6480
	tggggaaaac ccagagaact tgaggggttg aacctcgca tccccgtatg tggtagtagc	6540
40	caccaatgcc atagagtcag gtgtgacatt accagactta gacacagtt tagacactgg	6600
	actaaagtgt gagaagaggg tgaggatttc ttcaaaaatg cccttcattt taacaggact	6660
	taagagaatg gcagtcacaa tcggagagca agcccagcgc agggtagag taggaagagt	6720
	caagccaggt aggtactata ggagtcaga aacagcttca ggtcaaaaatg attaccatta	6780
45	cgacctactg caagccaga ggtacgaaat agaagatgga attaatgtaa caaagtattt	6840
	cagggagatg aactatgatt ggagccttta cgaagaggac agcttgtatga taactcaact	6900
	cgaggtcctt aacaacctcc ttatatcaga agacctgcct gccgcagtga agaacatcat	6960
	ggcccgacc gatcaccagg aaccataca actggcctt aacagttatg aaaacccaaat	7020
50	tccagtgtt ttccaaaga tcaaaaatgg tgaggtgaca gacagttatg agaattacac	7080
	atatctcaat gcaagaaaat taggagagga cgtgccggca tatgtgtacg ccacagagga	7140
	tgaggatcta gcagtgatc ttctggat ggttggccg gaccaggca accaacaggt	7200
	ggttagagaca gggagggcat taaaacaagt aactggctt tccacagcag aaaacccct	7260
55	cttgatagcc ctattcggtt acgtcggtt ccagacactt tcaaaaaggc acataacccat	7320
	gattactgac atctatacac ttgaagacca caggctttag gacacaaccc acctccagtt	7380
	tgcccaaaac gctataagga ccgacggcaa ggactcagag ttgaaggaat tagctgtgg	7440
	agaccttgat aaatatgtgg acgcactgtt agactactcc aacaaggaa taaaattcat	7500
	caaagtccaa gctggaaaagg tcagagactc ccagtctacg aagaaggct tgcaacccat	7560
60	taaggatgt gtggataat ttatataatc actaacagag aataaggagg agatcatcag	7620
	gtatggacta tggggagttt acacggact ctacaaaagc ttggcagcga gactggggca	7680
	tgaacagct tttgcaactt tagtgtaaa atgggtggct tttggggcg aaacggatc	7740
	tgctcacatc aagcaagtag cagttgatct agtagtatat tatcatca acaaaccatc	7800
65	ttttcctgga gatacagaga cccaaacaaga ggggaggaag tttgtggcta gtcttttat	7860
	atctgcacta gcaacataca catataaaac ctggattac aacaatctgc aacgggttgc	7920
	cgaacctgcc ttagcttacc tcccatatgc tacaagtgcc ttgaagttgt tcacacccac	7980

# ES 2 321 210 T3

	aagatttagag agtgtggta tactcaggta tactcaggta aacaatttac aagacatacc tctctataag	8040
	gaagggttaag agtgacggct tgtaggtac aggcataga gcaaggcatgg agatcttaaa	8100
	ccaaaaccca atctcagtag gtatatctgt gatgctgggg gtaggtgcca tcggccccc	8160
5	taatgcataa gaatcttagt aacagaaaaa aactttgctg atgaaggctt ttgtaaaaaa	8220
	cttcttagac caagcagcaa cagatgagct agtcaaagaa aaccctgaaa aaataatcat	8280
	ggctctattt gaagcagtcc agaccatagg aaaccccccta agactcatct accatctgt	8340
	cgggggtgtac tataagggtt gggaaagcaaa agaactcgca gagaaaactg ctggcccaa	8400
10	cttattcaca ttgatcatgt ttgaggcctt tgagctttt ggtatggact cagaaggaaa	8460
	gataagaaac ttgtcaggca actacataact ggacttaatc ttcaacttgc ataataaatt	8520
	aaacaagggg ctcaaaaaac tagtccttgg gtgggctcct gcaccttga gctgtgattt	8580
	gacaccaagt gatgagagaa taagcctacc tcataacaac tacttaaggg tagaaaccag	8640
15	gtgtccttgc ggctatgaga tgaaggcaat aaaaaatgtt gctggtaat tgacaaaagt	8700
	tgaagaaaaa gggccttcc tatgcaggaa tagattaggg agaggacctc caaacttcaa	8760
	agtaacaaag ttctatgtt ataaacttgc agaagtcaag ccagtagcta ggctagaagg	8820
	ccaggtggac ctctattaca agggagtaac agctaagtta gactacaaca atgggaaagt	8880
20	actgttagct accaacaagt gggaggttga ccacgcttcc ctgaccagac tagtaaagaa	8940
	gcacacaggg ataggttta aaggtgcata tttgggtgac cgaccagacc atcaagatct	9000
	tgtcgataga gattgtgaa ctataacaa gaactcagta cagttcctaa aaatgaagaa	9060
	gggttgcgtt ttcacatatg acctaacaat ctctaaccctt gtcaggctt ttgaactagt	9120
25	ccataagaat aatttacaag aaagagagat ccctaccgtg acagtaacta cttggcttgc	9180
	atattctttt gtcaatgaag acctggggac tatcaagcct gtattgggg agaaagtcat	9240
	cccagaaccc cccgaggagt tgagtcttca acccaccgtg agactagtca ccactgaaac	9300
	agcaataacc ataacagggg aggctgaatg gatgacgaca gggatcacac cagtggtaga	9360
	gatgaaagaa gaacctcagc tggaccacca gtcaactacc ctaaaggtagt ggttgaagga	9420
30	aggggaatat ccagggccag gagttAACCC taaccattta gcagaggta tagatgagaa	9480
	agatgacagg cctttgtcc taatcatcg taacaaaggat tctacctcga acagagcaag	9540
	aacggccaag aatatacggc tgcataaagg aaacaaccca agagagatca gggatctgt	9600
	gagccaagga agaatattga cggttgcctt aaaagagttt gaccggaaat taaaagaatt	9660
35	agtagattac aaggggacct ttctcaatag ggaagctttt gaagccctaa gcttaggtaa	9720
	gccaatcaag agaaaaacca caacagcaat gatcaggagg ttaatagagc cagaggta	9780
	ggaggaacta ccagattgg tccaaaggca agaaccctta ttttggaaat caaaaataca	9840
	gaatgactta taccacctaa ttggcagtgt agatagtata aaaagcaag caaaggaaatt	9900
	agggggccaca gataacacaa agatagttaa ggaagttggg gcttaggacct atacgatgaa	9960
40	attgagcagc tggagcacac aagttacaaa aaaacagatg agtctagccc ctctcttgc	10020
	agagctgtt ttaaagtgcc ctccatgttga taaaatttca aaggacata tgggtcagc	10080
	ataccaactg gctcaaggaa actgggaacc cctcggtgt ggggtctata tgggaaccat	10140
	accagctagg cgtctcaaga tccaccctt tgaggcttac cttaaactca aagagcttgt	10200
45	ggaagttgaa tcttcgaggg ccactgcaaa agaatccatc ataagagaac ataacacctg	10260
	gatcctgcgg aaggtgagac atgaaggaa cctaagaacc aaatcaatga tcaaccctgg	10320
	gaaaatatca gatcaactt gcaagatgg acacaaaaga aacatatata ataagatcat	10380
	aggctcaaca atggcctctg ctgttattag gctggagaaa ctgcccagttag tccgagccca	10440
	aactgacaca accagttcc accaagccat aagagaaaaa attgataaaa cagaaaaacaa	10500
50	gcagaccctt gaattgcatt aagaactaat gaaggcttc gactgctta agatcccaga	10560
	gctgaaggaa tcgtatgtt aagtttcatg ggaacaatta gaagccggaa taaaccgtaa	10620
	gggtgcagca ggctatctgt agagcaagaa catagggaa gtccttagaca cagagaaaca	10680
	catagtagag cagctgatca aggatctgtt gaaaggaaag aagatgtt actatgaaac	10740
55	agccatcccc aagaatgaga agagagacgt cagcgacgac tgggaagccg gagagttcgt	10800
	tgtgaaaaaa aaaccaagag taatccatg cccggacgccc aaggtgagac tggccattac	10860
	aaaagtgtat tacaaatggg taaagcaaaa accagtgggtt ataccggct atgaaggtaa	10920
	aacacctcta tttgacatat tcaacaaagt gaagaaggaa tgggattcat tccaggaccc	10980
60	cgtacgttgc agcttgcata ccaaaggctt ggatacacaat gtcaccagta gagaccta	11040
	gttgataaaag gatattccaga aatattttt caagagaatg atacacaat ttttagatac	11100
	aataacagaa cacatgggg aggtacctgt cattacagca gacggtaag ttacataag	11160
	gaatggtcag aggggtatgt gccaacccga cacaagtgtt ggtatagta tggtaatgt	11220
	cctaaccatg atatatgtt tctgtaaaag tacaggcata cttacaggg gattcagcag	11280
65	agtggcaaga atccatgtt gttgtatgtt gggcttttataacagaga gaggactggg	11340
	actgaaattc tctgagaagg gtatgcagat attacatgag gccggaaagc cccagaaaat	11400

# ES 2 321 210 T3

aactgaaggg gacaaaatga aagtggcata cagattcgag gacatagagt tttgttccca 11460  
 tactcccgta ccagtcatg gggcagataa caccagtagt tacatggcag ggaggagcac 11520  
 5 agccactata ctagctaaga tggcaaccag gctggattcc agcggagaga ggggttagcac 11580  
 agcttatgag aaggccgtag cttcagctt cctttgatg tactcatgga atcccgtagt 11640  
 tagaaggatc tgcttactgg tggtgtcaca gtttccagaa atatccccat caaaaaacac 11700  
 aataatactac taccaggggg atcccatagc tgcgtacaga gaagtgatag ggaaacagct 11760  
 gtgtgaactg aaaagaacag gatttgagaa gctggctggt ctgaattga gtatgaccac 11820  
 10 tctaggcattc tggacaaaac atactagtaa aagactaattc caagcctgtg tagaaatagg 11880  
 taagagagaa ggtacctgg tagttaatgc tgacagactg attgcaggaa agactggaa 11940  
 gttttacatc ccaagcactg gtgtcactct gttggggaaa cactatgagg aaattaactt 12000  
 15 aaagcaaaag gcggcacaac cgccgataga gggggttgc agatataagt tggcccat 12060  
 agttaatgtt atcttgagaa ggctgagggt gatgctgatg acagttgcca gcggaagctg 12120  
 gtgaatccgt ccggagcgtc gtgcctcac tcaagggttt taattgtaaa tattgtaaat 12180  
 agacagctaa gatatttatt gtagtggat agtaatgcag tgatagtaaa taccctaatt 12240  
 taacactacc tccaatgcac taagcacttt agctgtgtga ggttaactcg acgtccacgg 12300  
 ttggactagg gaagacctct aacagcccc 12329  
 20

<210> 4

<211> 11837

25 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial: VDVB Mutated: XIKE-B-NdN

<400> 4

30 gtatacggaa ttagctaaag aactcgata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg 60  
 caacgttaggg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag 120  
 gactagcaaa agtaggggac tagcgttagc agttagttcg ttggatggcc gaaccctga 180  
 gtacaggggg gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtcg aggagtctcg agatgccatg 240  
 35 tggacgaggg catgcccacg gcacatctt acccatgcgg ggggtgcatt ggtgaaagcg 300  
 ctattcgtgg cggtatggac acagcctgat aggggtgtgc agagacctgc tattccgcta 360  
 gtaaaaaactc tgctgtacat ggcacatggc gttgtttcc gatgaaggaa gcaagggtgc 420  
 tacaagtaag aagcagccta agccagatag gatagaaaaaa ggtaagatga aaatagcccc 480  
 40 aaaagagaca gaaaaagatt gcaaaaccag acccccccgc gcgactatag tagtagaagg 540  
 ggttaagtac caggtgaaga aaaaaggaaa ggtaaggggaa aaaaatactc aagatgggtt 600  
 atatcacaac aagaataagc cccctgaatc aaaaaaaaaa ttgaaaaagg cactgctggc 660  
 ttggccatc ttagcagcgg tcctgctca gctggttaaca ggagagaata tcaccaggatg 720  
 45 gaacttgatg gacaacggca ccgaggaaat acagcaagcg atttcctaa gaggggtgaa 780  
 caggagtcta catggattt ggccagagaa aatttgcacc ggagtaccaa ctcacttagc 840  
 aacagactat gagcttaaag agatagtggg gatgatggac gcgagtgaga agaccaacta 900  
 cacgtgtgc aggttgcaaa gacatgatgc gatataaggt tgggttaact ggttcataat 960  
 50 agaaccgtgg atatggttga tgaacaaaac ccaaaacaac ctgacagaag ggcaaccgct 1020  
 tagggagtgt gctgtgactt gtaggtatga caaggaaaca gaattgaaca tcgtgacaca 1080  
 ggcttagggac agacctacaa ctctgacagg ttgcaagaaa ggcaagaatt tctcttcgc 1140  
 aggtgttata ctggatgggc cctgttaactt taaagtatcg gttgaagatg tgctgttcaa 1200  
 ggagcacatg tgcggcaaca tgctgcaaga gaccgcata cagctactcg atgggcaac 1260  
 55 caacaccatt gagggagcaa gggtagggac ggccaagttg acaacctggg tagggaaagca 1320  
 attagggatc ttggtaaga agttggagaa caaaagcaaa gcatggtttgcgtcacatgc 1380  
 agcaagtcca tactcgagg tggagaggaa gatcggttac gtatggtata caaaaaactg 1440  
 cactccagct tgcttccaa gaaacactag aataatagcc cccggaaat ttgataccaa 1500  
 60 cggcgaagat gaaaaataac tccatgagat gggggggcac ctctcagaat ttgtcctatt 1560  
 gtccttggtg gttctgtctg actttcccc ggaaaccgcg agcgtcatct acttggttct 1620  
 acattttgcg atcccgcaaa gccacgttga tgttagacaca tgcgacaaga accagctgaa 1680  
 ttaaacgta gcaaccacag tagcagaggt cataccaggg acagtgtgga acctagggaa 1740  
 gtatgtctgc ataagaccag actggggcc atatgagacg acgacagtct tcgtcataga 1800  
 65 ggaagcaggg caagtaatca aattgatgct aaggccatc agagacttaa ctaggatatg 1860  
 gaatgctgcc actaccacag ctttcttaat ctttttagta aaagcactga ggggacaact 1920  
 aatccaagggg ctattgtggc tgatgtaat aacaggagca caggcattcc ctgaatgcaa 1980

# ES 2 321 210 T3

	agagggcttc caatatgccca tatctaaaga caggaaaatg gggttattgg ggccagagag	2040
	cttaactaca acatggcacc tccccaccaa aaaaatagtg gattccatgg tgcatgtatg	2100
	gtgtgaagga aaagacttga aaatattaaa aatgtgcaca aaggaagaga ggtatctagt	2160
5	ggctgtcac gagagagcct tatcaaccag tgccgagttt atgcagatca gtatggac	2220
	aataggccca gacgtgatag atatgcctga tgacttttag tttggactct gcccttgtga	2280
	ctcaaaacca gtgataaagg gcaaatttaa tgccagctta ctgaatggac cagcttcca	2340
	gatggtatgc ccacagggtt ggactggta aatagaatgc accctagcga accaagacac	2400
10	cttggacaca actgtcatta ggacatatacg aagaactacc ccatttcagc ggagaaaatg	2460
	gtgtacctat gaaaaaataa taggggaaga tatctatgaa tgcattctag gtggaaactg	2520
	gacatgcata accggtgacc atagcaggtt gaaagacgga cctatcaaga agtctaagtg	2580
	gtgtggccat gacttcgtca actcagaggg gctaccacac tacccaatag gcaagtgcac	2640
15	gctcatcaac gagagtgggt acaggtatgt agatgacacc tcttgcgata ggggtgggt	2700
	agccatagtt ccatctggca ccgtaaatgt tagaataggt aacgtcacgg tgcaagttat	2760
	cgtctactaac aatgatctgg gaccatgcc ttgcagccca gctgaagtga tagcaagtg	2820
	aggaccagtg gaaaagactg catgcacatt caactattca aggactctac ctaataagta	2880
20	ttatgagcca agggacccgtt acttccaaca atacatgtta aaaggggagt ggcaatattg	2940
	gttcgacctg gattctgttag accaccacaa agactacttc tcagagttca taatcatagc	3000
	agtggcgcc ttgttgggtt gtaagtacgt actgtggctc ttgataacat acacaatact	3060
	gtctgagcag atggctatgg gtgctggagt gaatactgaa gagatagtca tgataggca	3120
	tttgctgaca gacagtgata ttgaggtgtt ggttatttc cttctctgt acttaatagt	3180
25	taaagagggaa ctggcgagga aatggattat actggtatac cacatcctt tagccaaccc	3240
	tatgaaaaca attggggctcg tcttactaat gctagggggaa gtgggtgaagg ccagcagaat	3300
	caatgctgat gaccaaaatgt ctatggaccc atgctttctt ctcgtgacag gcgtagttgc	3360
	tgttttgcgt atcgctagaa gagaacctgc cacattacca ctgattgttag cattgctagc	3420
30	aataagaaca tcaggattcc tactgcccgc tagcattgtat gtaactgttag cagtagtatt	3480
	aattgtactt ttgttggctta gctacataac agactactt agatataaaa agtggcttca	3540
	actcttattt agtctgatag ctggtatctt tattataagg agcttaaaac atatcaacca	3600
	gatggaggtt ccagaaatatt ctatgccaag ttggagacct ctatcttgc tccttgcata	3660
35	tataacatct acagaataa ccactaattt ggacatttgc tttagcaggct tcctgctgca	3720
	atggggccca gcagtgtatca tggatggctac catgtgggcata gacttttgc ctctgatcat	3780
	agtccctgccc agttacgagt tatctaagct ttacttccta aagaacgtca ggacagacgt	3840
	ggaaaagaac tggctcgca aagtgaataa cagacagatc agttcagttt atgacatctg	3900
	tgacagttagt gaagcagtgtt acctatttcc atcaaggcat aagagtggaa gcaggccaga	3960
40	tttcatattt cctttttgtt aagccgtgtt aataagctgc atcagcagcc aatggcaagt	4020
	ggtttacatt tcttacctaa tactggaaat tacatactat atgcacacgaa aaatcataga	4080
	tgaggtgtca ggaggagcaa attttctatc aagactcata gcagccatca tagaattaaa	4140
	ttggggccata gatgtatgagg aatgtaaagg actgaagaaa ctgtatctt tgcaggag	4200
45	agcgaagaat ttgatagttt aacataaggt aagaaatgaa gcccgtccaca gatggtttg	4260
	tgaggagggaa atatacgggg caccctaaatgtt gatcactatc ataaaagcta gtaccctaa	4320
	taaaaaacagg cactgcataa tctgcacat gtcgtggggaa aaagaatgga atggagccaa	4380
	ctgccccaaatgtt gtcgtggggaa aaggaaagcc cataacatgtt ggaatgacac tcgcagactt	4440
	tgaggagggaa cattacaaaaa agatattttt aagagaagaa tcttcttgc ctgtgcctt	4500
50	tgatccttct tgccattgtt attatttcg ccacatgggg cctttcagga aagagtataa	4560
	gggttacgtc caatacacatg ccacatggggacttcttctt gggaaatctac caattctagc	4620
	gacgaagatg aagcttatttggggggaa cctcggcgca gaaatggcg acctggacata	4680
	tcttaggtatgg gtactgttagt ggccagccgt gtgcggggggatttccaccatgatc atgagaagtg	4740
55	ccacgtaaac atcatggata agctaactgc attttttgtt atcatgccta gaggcacac	4800
	cccttagggca cctgtgaggt tccccacatg actactaaaaa gtgagaaggg ggcttagagac	4860
	gggatggggct tacacgcacc aaggaggat cagctcggtt gaccatgtca cagccggaaa	4920
	ggatttacta gtgtgtgaca gtatggccag gaccagggtt gtctgtcata gtaacaataa	4980
60	gatgactgtt gagactgtgtt atggcatca gaccgactca ggggttcccg aaggtgcag	5040
	gtgttacgtt ctaaaacccatg aagctgtttaa catttcttgc acatggatgtt cttatgttaca	5100
	cctccagaaa acgggggggggg agttcacatg tgcactgc ttggggaccc cggctttttt	5160
	cgtatctgaaa aatctaaaag gctggccgg gctaccaatt tttgaagcat ccagtggcag	5220
	ggtggttgggtt aggggttggaaatg tcggcaagaa tgaggattcc aagccacca aactaatgag	5280
65	cggaatccatg acagtgttca agaaccacatg agacatgttca gacatgttca aaaaatttgc	5340
	tagtatgaac agaggagagt tcaaaccatg aacatttgc actggggcag gaaaaactac	5400

# ES 2 321 210 T3

	ggaactgcc a ggtccgtca tagaggagat agggaggcac aaaagggtct tagtcctgat	5460
	accattgaga gcacgcacg agtcagtgtc tcagtatatg agagtgaagt acccaagtat	5520
	atctttcaat ttgagaataag gagatatgaa ggaaggtgac atggccactg gtatcaccta	5580
5	cgcctcatat gggtaactttt gtcagcttcc tcagccaaa ctgagagctg ccatggtaga	5640
	gtactcatat atattcttag atgagtagcca ctgtgctaca cccgagcaat tagcaataat	5700
	tggaaagata cacaggttt ctgaaaatct tagagtgtt gcaatgacag caaccccagc	5760
	tggAACGGTC acaacgactg gtcagaaaca ccctatacgag gagttcatag ccccagaggt	5820
10	gatgaaaggt gaagatctag gtagtgaata cttggatatt gcagggttga agataccgac	5880
	tgaagagatg aaaggcaaca tgctcgttgc cgcgccaact aggaacatgg cagtagaaac	5940
	agctaagaaa ttgaaggctt aaggatacaa ctctggatac tattacagtg gggaaaaccc	6000
	agagaactt agggtgtaa cctcgcaatc cccgtatgtg gtagtagcca ccaatgccc	6060
15	agagtcaggt gtgacattac cagacttaga cacagttgt gacactggac taaagtgtga	6120
	gaagagggtg aggatttctt caaaaatgcc cttcattgt acaaggactt agagaatggc	6180
	agtcacaatc ggagagcaag cccagcgcag gggtagagta ggaagagtca agccaggtag	6240
	gtactatagg agtcaagaaa cagcttcagg gtcaaaaatg taccattacg acctactgca	6300
20	agcccagagg tacggaatag aagatggat taatgtaaaca aagtcaattca gggagatgaa	6360
	ctatgattgg agcctttacg aagaggacag cttgatgata actcaactcg aggtccttaa	6420
	caacctcctt atatcagaag acctgcctgc cgcagtgtt aacatcatgg cccggaccga	6480
	tcacccagaa cccatacaac tggctataa cagttatgaa aaccaaattc cagtgtgtt	6540
	cccaaagatc aaaaatggtg aggtgacaga cagttatgag aattacacat atctcaatgc	6600
25	aagaaaatta ggagaggacg tgccggcata tggatgttgc acagaggatg aggtactagc	6660
	agtggatctt ctgggtatgg attggccga cccaggcaac caacagggtg tagagacagg	6720
	gagggcatta aaacaagtaa ctggcttatac cacagcagaa aacgcccctt tgatagccct	6780
	attcggctac gtcgggttacc agacactttc aaaaaggcac ataccatga ttactgacat	6840
30	ctatacaactt gaagaccaca ggcttgagga cacaaccac ctccagttt ccccaaacgc	6900
	tataaggacc gacggcaagg actcagagtt gaaggaatta gctgtggag accttgataa	6960
	atatgtggac gcactggtag actactccaa acaaggatg aaattcatca aagtccaagc	7020
	tgaaaaggc agagactccc agtctacgaa ggaaggctt caaaccattaa aggatgtatgt	7080
35	ggataagttt atacaatcac taacagagaa taaggagggat atcatcaggat atggactatg	7140
	ggggagttcac acggcactct aaaaaagctt ggcagcggaa ctggggcatg aaacagctt	7200
	tgcaacttta gtggtaaaat gttggcttt tggggcgaa acggtatctg ctcacatcaa	7260
	gcaagtagca gttgatctatg tagtatatta tatcatcaac aaaccatctt ttcctggaga	7320
	tacagagacc caacaagagg ggaggaagtt tggcttagt cttttatat ctgcactagc	7380
40	aacatacaca tataaaacctt ggaattacaa caatctgcaa cggttgc acaccacaa gattagagag	7440
	agcttacctc ccatatgcta caagtgcctt gaagttgttca acaccacaa gattagagag	7500
	tgtggtcata ctcagttcta caatttacaa gacatacctc tctataagga agggtaagag	7560
	tgacggctt ttaggtacag gcataagtgc agccatggag atcttaaacc aaaacccaat	7620
45	ctcagtaggt atatctgtgat gtcgggggt aggtgcacat gcccccata atgcaataga	7680
	atcttagtggaa cagaaaaaaa ctttgctgtat gaaggtcttt gtaaaaaact tcttagacca	7740
	agcagcaaca gatgagctag tcaaaagagaa ccctgaaaaataatcatgg ctctatttga	7800
	agcagtccag accataggaa accccctaag actcatctac catctgtac ggggtacta	7860
	taaggggtgg gaagcaaaaag aactcgcaga gaaaactgtt gggcgaact tattcacatt	7920
50	gatcatgtt gaggcctttt agcttttagg tatggactca gaaggaaaga taagaaactt	7980
	gtcaggcaac tacatactgg acttaatctt caacttgcata aataaattaa acaagggct	8040
	caaaaaacta gtccttgggt gggctcctgc acctttgagc tggatgttgc caccaggta	8100
	tgagagaata agcctacccata aacaacta ctttggat gaaaccaggat gtccttgtt	8160
55	ctatgagatg aaggcaataa aaaaatgttgc tggtaaattt gaaaaaggatg aaaaaagggg	8220
	gtccttccta tgcaggaaata gattaggag aggacctcca aacttcaaaatg taacaaagtt	8280
	ctatgatgtat aacttgcata aagtcaagcc agtagctagg cttagaggcc aggtggac	8340
	ctattacaag ggagtaacag ctaagtttgc ctacaacat gggaaaggatc tgtagctac	8400
60	caacaagtgg gaggtggacc acgcttcctt gaccagacta gtaaagaagc acacaggat	8460
	aggttttaaa ggtgcataatt tgggtgaccg accagaccat caagatctt tcgatagaga	8520
	tttgtaact ataacgaaga actcagttaca gttcctaaaa atgaagaagg gttgcgttt	8580
	cacatatgac ctaacaatctt ctaaccttgc caggcttattt gaaactgtcc ataagaataa	8640
65	tttacaagaa agagagatcc ctaccgtgac agtaactact tggcttgcatttctttgt	8700
	caatgaagac ctggggacta tcaaggctgtt attgggggag aaagtcatcc cagaaccccc	8760
	cgaggagttt agtctccaac ccaccgtgag actagtcacc actgaaacag caataaccat	8820

# ES 2 321 210 T3

	aacaggggag gctgaagtga tgacgacagg gatcacacca gtggtagaga taaaagaaga	8880
5	acctcagctg gaccaccagt caactaccct aaaggttaggg ttgaaggaag gggatatcc aggccagga gttaacccta accatttagc agaggtgata gatgagaaag atgacaggcc	8940 9000
10	tttgcctta atcatcgta acaaagggtc tacctcgaa acagcaagaa cggccaagaa tatacgctg tacaaggaa acaacccaag agagatcagg gatctgatga gccaaaggaa aatattgacg gttgcctaa aagagttgga cccggattaa aagaattag tagattacaa ggggacctt ctcaataggg aagctttaga agcctaagc ttaggtaaacg caatcaagag	9060 9120 9180 9240
15	gaaaaccaca acagcaatga tcaggaggaa aatagagcca gaggttgagg aggaactacc agattgggtc caagcggaaag aaccctatt tttggaaagca aaaatacaga atgacttata ccacctaatt ggcagtttag atagtataaa aagcaaagca aaggaattag gggccacaga taacacaaag atagtaagg aagttggggc taggacctat acgatgaaat tgagcagctg	9300 9360 9420 9480
20	gagcacacaa gttacaaaaa aacagatgag tctagccccct ctcttgaag agctgttatt aaagtgcct ccatgttagt aaatttcaaa gggacatatg gtgtcagcat accaactggc tcaaggaaac tgggaacccc tcgggtgtgg ggtctatatg ggaaccatac cagctaggcg	9540 9600 9660
25	tctcaagatc cacccttatg aggcttacct taaactcaaa gagctgggtgg aagttgaatc ttcgaggggcc actgcaaaag aatccatcat aagagaacat aacaccttggaa tcctgcggaa	9720 9780
30	ggtgagacat gaagggaaacc taagaaccaa atcaatgatc aaccctggaa aatatcaga tcagctatgc agagatggac acaaaaagaaa catatataat aagatcatag gctcaacaat ggcctctgct ggtatttagc tggagaaact gccagtagtc cgagccaaa ctgacacaac	9840 9900 9960
35	cagttccac caagccataa gaaaaaaat tgataaaaaca gaaaacaagc agacccctga attgcatgaa gaactaatga aggtcttcga ctgcttaaag atcccagagc tgaaggaatc gtatgatgaa gttcatggg aacaattaga agccggata aaccgttaagg gtgcagcagg	10020 10080 10140
40	ctatctagag agcaagaaca tagggaaatg cctagacaca gagaaacaca tagtagagca gctgatcaag gatctgagga aggggaagaa gattaggtac tatgaaacag ccatccccaa	10200 10260
45	gaatgagaag agagacgtca gcgacgactg ggaagccgga gagttcggtt ataaaaagaa accaagagta atccagtacc cggacgccaa ggtgagactg gccattacaa aagtgtatgt caaatggta aagcaaaaac cagttgtat acccgctat gaaggtaaaa cacctctatt	10320 10380 10440
50	tgacatattc aacaaggta agaaggaatg ggattcattt caggaccccg tagcagttag ctttgacacc aaagcgtggg atacacaatg caccatgtt gacctaattgt tgataaagga tatccagaaa tattattca agagaagttt acacaaattt ttagatacaa taacagaaca	10500 10560 10620
55	catggtgtagt gtagtgcata ttacagcaga cggtaagtt tacataagga atggtcagag ggtagtggc caaccgaca caagtgctgg taatagtatg ttgaatgtcc taaccatgt atatgcttc tgtaaaaatg caggcatacc ttacaggggat ttcagcagag tggcaagaat	10680 10740 10800
60	ccatgtgtgt ggtgatgtg gctttttgtt aacagagaga ggactgggac tgaaatttgc tgagaagggt atgcagatatt tacatgaggc cggaaagccc cagaaaaataa ctgaagggg agtcagatgg gcagataaca ccagtagttt catggcagg aggacacag ccactataact agctaagatg gcaaccaggc tggattccag cggagagagg ggtagcacag cttatgagaa ggccgtagcc tttagtgcata tttagtgcata ctcattttttt cccgtatgtt gaaggatctg cttactgggt ttgtcacatg ttccagaaat atccccatcc aaaaacacaa tataactacta ccaaagggtt cccatagctg cgtacagaga agttagatggg aaacagctgt gtgaactgaa aagaacagga ttgtgagaagc tggctggctt gaatttgatgt atgaccactc taggcattctg gacaaaacat acttagaaaaa gactaatcca agctgtgtt gaaataggtt agagagaagg tacccgttta gttaatgtcg acagactgtt tgcaggaaag actggaaatg tttacatccc aagcaactgtt gtcactctgt tggaaaaaca ctatgaggaa attaacttaa agcaaaaaggc ggcacacaaccg ccgatagagg gggttgacag atataagttt ggccccatag ttaatgttat cttgagaagg ctgagggttga tgctgtatgtt agttgccacg ggaagctggt gaatccgtcc ggagcgttgtt gcccctactc aaggtttttt attgttaataa ttgttaataatg acagctaaag tattttttttt agttggatag taatgtcgtt atagtaataa ccccaattta acactaccc caatgcacta agcactttttt ctgtgtgagg ttaactcgac gtccacgggtt ggacttaggg agacccctaa cagcccc	11160 11220 11280 11340 11400 11460 11520 11580 11640 11700 11760 11820 11837

<210> 5

<211> 3913

<212> PRT

<213> VDVB de tipo salvaje: XIKE-A

# ES 2 321 210 T3

<400> 5

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

# ES 2 321 210 T3

	Ala Met Phe Leu Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu His Gly Ile Trp Pro			
	290	295	300	
5	Glu Lys Ile Cys Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu			
	305	310	315	320
10	Leu Lys Glu Ile Val Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr			
	325	330	335	
	Thr Cys Cys Arg Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys His Gly Trp Cys			
	340	345	350	
15	Asn Trp Phe His Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln			
	355	360	365	
20	Asn Asn Leu Thr Glu Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys			
	370	375	380	
25	Arg Tyr Asp Lys Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp			
	385	390	395	400
	Arg Pro Thr Thr Leu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe			
	405	410	415	
30	Ala Gly Val Ile Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu			
	420	425	430	
	Asp Val Leu Phe Lys Glu His Asp Cys Gly Asn Met Leu Gln Glu Thr			
35	435	440	445	
	Ala Ile Gln Leu Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg			
	450	455	460	
40	Val Gly Thr Ala Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile			
	465	470	475	480
45	Leu Gly Lys Lys Leu Glu Asn Lys Ser Lys Ala Trp Phe Gly Ala His			
	485	490	495	
	Ala Ala Ser Pro Tyr Cys Gly Val Glu Arg Lys Ile Gly Tyr Val Trp			
	500	505	510	
50	Tyr Thr Lys Asn Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg Ile			
	515	520	525	
55	Ile Gly Pro Gly Lys Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu			
	530	535	540	
	His Glu Met Gly Gly His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val			
60	545	550	555	560
	Val Leu Ser Asp Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val			
	565	570	575	
65	Leu His Phe Ala Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp			
	580	585	590	

# ES 2 321 210 T3

	Lys Asn Gln Leu Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile			
	595	600	605	
5	Pro Gly Thr Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp			
	610	615	620	
10	Trp Trp Pro Tyr Glu Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly			
	625	630	635	640
	Gln Val Ile Lys Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile			
	645	650	655	
15	Trp Asn Ala Ala Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala			
	660	665	670	
20	Leu Arg Gly Gln Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr			
	675	680	685	
	Gly Ala Gln Gly Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile			
	690	695	700	
25	Ser Lys Asp Arg Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr			
	705	710	715	720
30	Thr Trp His Leu Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val			
	725	730	735	
	Trp Cys Glu Gly Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu			
	740	745	750	
35	Glu Arg Tyr Leu Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala			
	755	760	765	
40	Glu Phe Met Gln Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp			
	770	775	780	
	Met Pro Asp Asp Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro			
45	785	790	795	800
	Val Ile Lys Gly Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe			
	805	810	815	
50	Gln Met Val Cys Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu			
	820	825	830	
	Ala Asn Gln Asp Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg			
55	835	840	845	
	Thr Thr Pro Phe Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile			
	850	855	860	
60	Gly Glu Asp Ile Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile			
	865	870	875	880
	Thr Gly Asp His Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys			
65	885	890	895	

# ES 2 321 210 T3

	Trp Cys Gly His Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro			
	900	905	910	
5	Ile Gly Lys Cys Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp			
	915	920	925	
10	Asp Thr Ser Cys Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr			
	930	935	940	
	Val Lys Cys Arg Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn			
	945	950	955	960
15	Asn Asp Leu Gly Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser			
	965	970	975	
20	Glu Gly Pro Val Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr			
	980	985	990	
	Leu Pro Asn Lys Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr			
	995	1000	1005	
25	Met Leu Lys Gly Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val			
	1010	1015	1020	
30	Asp His His Lys Asp Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ala Val			
	1025	1030	1035	
	Val Ala Leu Leu Gly Gly Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr			
35	1040	1045	1050	
	Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn			
	1055	1060	1065	
40	Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp			
	1070	1075	1080	
	Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu Leu Tyr Leu Ile Val Lys			
45	1085	1090	1095	
	Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu Val Tyr His Ile Leu			
	1100	1105	1110	
50	Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val Leu Leu Met Leu			
	1115	1120	1125	
	Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp Asp Gln Ser			
55	1130	1135	1140	
	Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val Ala Val			
	1145	1150	1155	
60	Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile Val			
	1160	1165	1170	
65	Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala Ser			
	1175	1180	1185	

### ES 2 321 210 T3

	Ile	Asp	Val	Thr	Val	Ala	Val	Val	Leu	Ile	Val	Leu	Leu	Leu	Ala
	1190							1195							1200
5	Ser	Tyr	Ile	Thr	Asp	Tyr	Phe	Arg	Tyr	Lys	Lys	Trp	Leu	Gln	Leu
	1205						1210								1215
10	Leu	Phe	Ser	Leu	Ile	Ala	Gly	Ile	Phe	Ile	Ile	Arg	Ser	Leu	Lys
	1220						1225								1230
15	His	Ile	Asn	Gln	Met	Glu	Val	Pro	Glu	Ile	Ser	Met	Pro	Ser	Trp
	1235						1240								1245
20	Arg	Pro	Leu	Ala	Leu	Val	Leu	Phe	Tyr	Ile	Thr	Ser	Thr	Ala	Ile
	1250						1255								1260
25	Thr	Thr	Asn	Trp	Asp	Ile	Asp	Leu	Ala	Gly	Phe	Leu	Leu	Gln	Trp
	1265						1270								1275
30	Ala	Pro	Ala	Val	Ile	Met	Met	Ala	Thr	Met	Trp	Ala	Asp	Phe	Leu
	1280						1285								1290
35	Thr	Leu	Ile	Ile	Val	Leu	Pro	Ser	Tyr	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Tyr
	1295						1300								1305
40	Phe	Leu	Lys	Asn	Val	Arg	Thr	Asp	Val	Glu	Lys	Asn	Trp	Leu	Gly
	1310						1315								1320
45	Lys	Val	Lys	Tyr	Arg	Gln	Ile	Ser	Ser	Val	Tyr	Asp	Ile	Cys	Asp
	1325						1330								1335
50	Ser	Glu	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Phe	Pro	Ser	Arg	His	Lys	Ser	Gly
	1340						1345								1350
55	Ser	Arg	Pro	Asp	Phe	Ile	Leu	Pro	Phe	Leu	Lys	Ala	Val	Leu	Ile
	1355						1360								1365
60	Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Gln	Trp	Gln	Val	Val	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Leu
	1370						1375								1380
65	Ile	Leu	Glu	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Met	His	Arg	Lys	Ile	Ile	Asp	Glu
	1385						1390								1395
70	Val	Ser	Gly	Gly	Ala	Asn	Phe	Leu	Ser	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Ile
	1400						1405								1410
75	Ile	Glu	Leu	Asn	Trp	Ala	Ile	Asp	Asp	Glu	Glu	Cys	Lys	Gly	Leu
	1415						1420								1425
80	Lys	Lys	Leu	Tyr	Leu	Leu	Ser	Gly	Arg	Ala	Lys	Asn	Leu	Ile	Val
	1430						1435								1440
85	Lys	His	Lys	Val	Arg	Asn	Glu	Ala	Val	His	Arg	Trp	Phe	Gly	Glu
	1445						1450								1455
90	Glu	Glu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Pro	Lys	Val	Ile	Thr	Ile	Ile	Lys	Ala
	1460						1465								1470

### ES 2 321 210 T3

	Ser	Thr	Leu	Ser	Lys	Asn	Arg	His	Cys	Ile	Ile	Cys	Thr	Ile	Cys
	1475							1480					1485		
5	Glu	Gly	Lys	Glu	Trp	Asn	Gly	Ala	Asn	Cys	Pro	Lys	Cys	Gly	Arg
	1490							1495					1500		
10	Gln	Gly	Lys	Pro	Ile	Thr	Cys	Gly	Met	Thr	Leu	Ala	Asp	Phe	Glu
	1505							1510					1515		
15	Glu	Lys	His	Tyr	Lys	Lys	Ile	Phe	Ile	Arg	Glu	Glu	Ser	Ser	Cys
	1520							1525					1530		
20	Pro	Val	Pro	Phe	Asp	Pro	Ser	Cys	His	Cys	Asn	Tyr	Phe	Arg	His
	1535							1540					1545		
25	Asp	Gly	Pro	Phe	Arg	Lys	Glu	Tyr	Lys	Gly	Tyr	Val	Gln	Tyr	Thr
	1550							1555					1560		
30	Ala	Arg	Gly	Gln	Leu	Phe	Leu	Arg	Asn	Leu	Pro	Ile	Leu	Ala	Thr
	1565							1570					1575		
35	Lys	Met	Lys	Leu	Leu	Met	Val	Gly	Asn	Leu	Gly	Ala	Glu	Ile	Gly
	1580							1585					1590		
40	Asp	Leu	Glu	His	Leu	Gly	Trp	Val	Leu	Arg	Gly	Pro	Ala	Val	Cys
	1595							1600					1605		
45	Lys	Lys	Ile	Thr	Asn	His	Glu	Lys	Cys	His	Val	Asn	Ile	Met	Asp
	1610							1615					1620		
50	Lys	Leu	Thr	Ala	Phe	Phe	Gly	Ile	Met	Pro	Arg	Gly	Thr	Thr	Pro
	1625							1630					1635		
55	Arg	Ala	Pro	Val	Arg	Phe	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Arg	Arg
	1640							1645					1650		
60	Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Trp	Ala	Tyr	Thr	His	Gln	Gly	Gly	Ile	Ser
	1655							1660					1665		
65	Ser	Val	Asp	His	Val	Thr	Ala	Gly	Lys	Asp	Leu	Leu	Val	Cys	Asp
	1670							1675					1680		
70	Ser	Met	Gly	Arg	Thr	Arg	Val	Val	Cys	His	Ser	Asn	Asn	Lys	Met
	1685							1690					1695		
75	Thr	Asp	Glu	Thr	Glu	Tyr	Gly	Ile	Lys	Thr	Asp	Ser	Gly	Cys	Pro
	1700							1705					1710		
80	Glu	Gly	Ala	Arg	Cys	Tyr	Val	Leu	Asn	Pro	Glu	Ala	Val	Asn	Ile
	1715							1720					1725		
85	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Ala	Met	Val	His	Leu	Gln	Lys	Thr	Gly	Gly
	1730							1735					1740		
90	Glu	Phe	Thr	Cys	Val	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Ala	Phe	Phe	Asp
	1745							1750					1755		

### ES 2 321 210 T3

	Leu	Lys	Asn	Leu	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Leu	Pro	Ile	Phe	Glu	Ala
	1760						1765						1770		
5	Ser	Ser	Gly	Arg	Val	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Val	Gly	Lys	Asn	Glu
	1775						1780					1785			
10	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Lys	Leu	Met	Ser	Gly	Ile	Gln	Thr	Val	Ser
	1790						1795					1800			
15	Lys	Asn	Gln	Thr	Asp	Leu	Ala	Asp	Ile	Val	Lys	Lys	Leu	Thr	Ser
	1805						1810					1815			
20	Met	Asn	Arg	Gly	Glu	Phe	Lys	Gln	Ile	Thr	Leu	Ala	Thr	Gly	Ala
	1820						1825					1830			
25	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Leu	Pro	Arg	Ser	Val	Ile	Glu	Glu	Ile	Gly
	1835						1840					1845			
30	Arg	His	Lys	Arg	Val	Leu	Val	Leu	Ile	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Ala
	1850						1855					1860			
35	Glu	Ser	Val	Tyr	Gln	Tyr	Met	Arg	Val	Lys	Tyr	Pro	Ser	Ile	Ser
	1865						1870					1875			
40	Phe	Asn	Leu	Arg	Ile	Gly	Asp	Met	Lys	Glu	Gly	Asp	Met	Ala	Thr
	1880						1885					1890			
45	Gly	Ile	Thr	Tyr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Cys	Gln	Leu	Pro	Gln
	1895						1900					1905			
50	Pro	Lys	Leu	Arg	Ala	Ala	Met	Val	Glu	Tyr	Ser	Tyr	Ile	Phe	Leu
	1910						1915					1920			
55	Asp	Glu	Tyr	His	Cys	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Leu	Ala	Ile	Ile	Gly
	1925						1930					1935			
60	Lys	Ile	His	Arg	Phe	Ala	Glu	Asn	Leu	Arg	Val	Val	Ala	Met	Thr
	1940						1945					1950			
65	Ala	Thr	Pro	Ala	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Thr	Gly	Gln	Lys	His	Pro
	1955						1960					1965			
70	Ile	Glu	Glu	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu	Val	Met	Lys	Gly	Glu	Asp	Leu
	1970						1975					1980			
75	Gly	Ser	Glu	Tyr	Leu	Asp	Ile	Ala	Gly	Leu	Lys	Ile	Pro	Thr	Glu
	1985						1990					1995			
80	Glu	Met	Lys	Gly	Asn	Met	Leu	Val	Phe	Ala	Pro	Thr	Arg	Asn	Met
	2000						2005					2010			
85	Ala	Val	Glu	Thr	Ala	Lys	Lys	Leu	Lys	Ala	Lys	Gly	Tyr	Asn	Ser
	2015						2020					2025			
90	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Glu	Asn	Pro	Glu	Asn	Leu	Arg	Val	Val
	2030						2035					2040			

# ES 2 321 210 T3

	Thr	Ser	Gln	Ser	Pro	Tyr	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asn	Ala	Ile	Glu
	2045						2050					2055			
5	Ser	Gly	Val	Thr	Leu	Pro	Asp	Leu	Asp	Thr	Val	Val	Asp	Thr	Gly
	2060						2065					2070			
10	Leu	Lys	Cys	Glu	Lys	Arg	Val	Arg	Ile	Ser	Ser	Lys	Met	Pro	Phe
	2075						2080					2085			
15	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Lys	Arg	Met	Ala	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Gln
	2090						2095					2100			
20	Ala	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Pro	Gly	Arg	Tyr
	2105						2110					2115			
25	Tyr	Arg	Ser	Gln	Glu	Thr	Ala	Ser	Gly	Ser	Lys	Asp	Tyr	His	Tyr
	2120						2125					2130			
30	Asp	Leu	Leu	Gln	Ala	Gln	Arg	Tyr	Gly	Ile	Glu	Asp	Gly	Ile	Asn
	2135						2140					2145			
35	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Arg	Glu	Met	Asn	Tyr	Asp	Trp	Ser	Leu	Tyr
	2150						2155					2160			
40	Glu	Glu	Asp	Ser	Leu	Met	Ile	Thr	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Asn	Asn
	2165						2170					2175			
45	Leu	Leu	Ile	Ser	Glu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ala	Val	Lys	Asn	Ile	Met
	2180						2185					2190			
50	Ala	Arg	Thr	Asp	His	Pro	Glu	Pro	Ile	Gln	Leu	Ala	Tyr	Asn	Ser
	2195						2200					2205			
55	Tyr	Glu	Asn	Gln	Ile	Pro	Val	Leu	Phe	Pro	Lys	Ile	Lys	Asn	Gly
	2210						2215					2220			
60	Glu	Val	Thr	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asn	Tyr	Thr	Tyr	Leu	Asn	Ala	Arg
	2225						2230					2235			
65	Lys	Leu	Gly	Glu	Asp	Val	Pro	Ala	Tyr	Val	Tyr	Ala	Thr	Glu	Asp
	2240						2245					2250			
70	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Met	Asp	Trp	Pro	Asp	Pro
	2255						2260					2265			
75	Gly	Asn	Gln	Gln	Val	Val	Glu	Thr	Gly	Arg	Ala	Leu	Lys	Gln	Val
	2270						2275					2280			
80	Thr	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Glu	Asn	Ala	Leu	Leu	Ile	Ala	Leu	Phe
	2285						2290					2295			
85	Gly	Tyr	Val	Gly	Tyr	Gln	Thr	Leu	Ser	Lys	Arg	His	Ile	Pro	Met
	2300						2305					2310			
90	Ile	Thr	Asp	Ile	Tyr	Thr	Leu	Glu	Asp	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Thr
	2315						2320					2325			

### ES 2 321 210 T3

	Thr His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly Lys		
	2330	2335	2340
5	Asp Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala Val Gly Asp Leu Asp Lys Tyr		
	2345	2350	2355
10	Val Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser Lys Gln Gly Met Lys Phe Ile		
	2360	2365	2370
	Lys Val Gln Ala Glu Lys Val Arg Asp Ser Gln Ser Thr Lys Glu		
	2375	2380	2385
15	Gly Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr Val Asp Lys Phe Ile Gln Ser		
	2390	2395	2400
20	Leu Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp Gly		
	2405	2410	2415
	Val His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly His		
	2420	2425	2430
25	Glu Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe Gly		
	2435	2440	2445
30	Gly Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp Leu		
	2450	2455	2460
	Val Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp Thr		
	2465	2470	2475
35	Glu Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe Ile		
	2480	2485	2490
40	Ser Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn Asn		
	2495	2500	2505
	Leu Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr Ala		
	2510	2515	2520
	Thr Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser Val		
	2525	2530	2535
45	Val Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile Arg		
	2540	2545	2550
	Lys Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala Ala		
	2555	2560	2565
50	Met Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser Val		
	2570	2575	2580
	Met Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu Ser		
	2585	2590	2595
55	Ser Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys Asn		
	2600	2605	2610

### ES 2 321 210 T3

	Phe	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	Thr	Asp	Glu	Leu	Val	Lys	Glu	Asn	Pro
	2615						2620					2625			
5	Glu	Lys	Ile	Ile	Met	Ala	Leu	Phe	Glu	Ala	Val	Gln	Thr	Ile	Gly
	2630						2635					2640			
10	Asn	Pro	Leu	Arg	Leu	Ile	Tyr	His	Leu	Tyr	Gly	Val	Tyr	Tyr	Lys
	2645						2650					2655			
	Gly	Trp	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Ala	Glu	Lys	Thr	Ala	Gly	Arg	Asn
	2660						2665					2670			
15	Leu	Phe	Thr	Leu	Ile	Met	Phe	Glu	Ala	Phe	Glu	Leu	Leu	Gly	Met
	2675						2680					2685			
20	Asp	Ser	Glu	Gly	Lys	Ile	Arg	Asn	Leu	Ser	Gly	Asn	Tyr	Ile	Leu
	2690						2695					2700			
	Asp	Leu	Ile	Phe	Asn	Leu	His	Asn	Lys	Leu	Asn	Lys	Gly	Leu	Lys
	2705						2710					2715			
25	Lys	Leu	Val	Leu	Gly	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Leu	Ser	Cys	Asp	Trp
	2720						2725					2730			
30	Thr	Pro	Ser	Asp	Glu	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	His	Asn	Asn	Tyr	Leu
	2735						2740					2745			
	Arg	Val	Glu	Thr	Arg	Cys	Pro	Cys	Gly	Tyr	Glu	Met	Lys	Ala	Ile
	2750						2755					2760			
35	Lys	Asn	Val	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Lys	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser
	2765						2770					2775			
40	Phe	Leu	Cys	Arg	Asn	Arg	Leu	Gly	Arg	Gly	Pro	Pro	Asn	Phe	Lys
	2780						2785					2790			
	Val	Thr	Lys	Phe	Tyr	Asp	Asp	Asn	Leu	Ile	Glu	Val	Lys	Pro	Val
45	2795						2800					2805			
	Ala	Arg	Leu	Glu	Gly	Gln	Val	Asp	Leu	Tyr	Tyr	Lys	Gly	Val	Thr
	2810						2815					2820			
50	Ala	Lys	Leu	Asp	Tyr	Asn	Asn	Gly	Lys	Val	Leu	Leu	Ala	Thr	Asn
	2825						2830					2835			
	Lys	Trp	Glu	Val	Asp	His	Ala	Phe	Leu	Thr	Arg	Leu	Val	Lys	Lys
55	2840						2845					2850			
	His	Thr	Gly	Ile	Gly	Phe	Lys	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gly	Asp	Arg	Pro
	2855						2860					2865			
60	Asp	His	Gln	Asp	Leu	Val	Asp	Arg	Asp	Cys	Ala	Thr	Ile	Thr	Lys
	2870						2875					2880			
	Asn	Ser	Val	Gln	Phe	Leu	Lys	Met	Lys	Lys	Gly	Cys	Ala	Phe	Thr
65	2885						2890					2895			

### ES 2 321 210 T3

	Tyr	Asp	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Val	Arg	Leu	Ile	Glu	Leu	Val
	2900						2905						2910		
5	His	Lys	Asn	Asn	Leu	Gln	Glu	Arg	Glu	Ile	Pro	Thr	Val	Thr	Val
	2915						2920						2925		
10	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	Tyr	Ser	Phe	Val	Asn	Glu	Asp	Leu	Gly	Thr
	2930						2935						2940		
15	Ile	Lys	Pro	Val	Leu	Gly	Glu	Lys	Val	Ile	Pro	Glu	Pro	Pro	Glu
	2945						2950						2955		
20	Glu	Leu	Ser	Leu	Gln	Pro	Thr	Val	Arg	Leu	Val	Thr	Thr	Glu	Thr
	2960						2965						2970		
25	Ala	Ile	Thr	Ile	Thr	Gly	Glu	Ala	Glu	Val	Met	Thr	Thr	Gly	Ile
	2975						2980						2985		
30	Thr	Pro	Val	Val	Glu	Met	Lys	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Asp	His	Gln
	2990						2995						3000		
35	Ser	Thr	Thr	Leu	Lys	Val	Gly	Leu	Lys	Glu	Gly	Glu	Tyr	Pro	Gly
	3005						3010						3015		
40	Pro	Gly	Val	Asn	Pro	Asn	His	Leu	Ala	Glu	Val	Ile	Asp	Glu	Lys
	3020						3025						3030		
45	Asp	Asp	Arg	Pro	Phe	Val	Leu	Ile	Ile	Gly	Asn	Lys	Gly	Ser	Thr
	3035						3040						3045		
50	Ser	Asn	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asn	Ile	Arg	Leu	Tyr	Lys	Gly
	3050						3055						3060		
55	Asn	Asn	Pro	Arg	Glu	Ile	Arg	Asp	Leu	Met	Ser	Gln	Gly	Arg	Ile
	3065						3070						3075		
60	Leu	Thr	Val	Ala	Leu	Lys	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Leu	Lys	Glu	Leu
	3080						3085						3090		
65	Val	Asp	Tyr	Lys	Gly	Thr	Phe	Leu	Asn	Arg	Glu	Ala	Leu	Glu	Ala
	3095						3100						3105		
70	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Pro	Ile	Lys	Arg	Lys	Thr	Thr	Thr	Ala	Met
	3110						3115						3120		
75	Ile	Arg	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Leu	Pro	Asp
	3125						3130						3135		
80	Trp	Phe	Gln	Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Ala	Lys	Ile	Gln
	3140						3145						3150		
85	Asn	Asp	Leu	Tyr	His	Leu	Ile	Gly	Ser	Val	Asp	Ser	Ile	Lys	Ser
	3155						3160						3165		
90	Lys	Ala	Lys	Glu	Leu	Gly	Ala	Thr	Asp	Asn	Thr	Lys	Ile	Val	Lys
	3170						3175						3180		

### ES 2 321 210 T3

	Glu	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Tyr	Thr	Met	Lys	Leu	Ser	Ser	Trp	Ser
	3185							3190				3195			
5	Thr	Gln	Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Met	Ser	Leu	Ala	Pro	Leu	Phe	Glu
	3200						3205					3210			
10	Glu	Leu	Leu	Leu	Lys	Cys	Pro	Pro	Cys	Ser	Lys	Ile	Ser	Lys	Gly
	3215					3220					3225				
15	His	Met	Val	Ser	Ala	Tyr	Gln	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Trp	Glu	Pro
	3230						3235					3240			
20	Leu	Gly	Cys	Gly	Val	Tyr	Met	Gly	Thr	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Leu
	3245						3250					3255			
25	Lys	Ile	His	Pro	Tyr	Glu	Ala	Tyr	Leu	Lys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val
	3260						3265					3270			
30	Glu	Val	Glu	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Ala	Lys	Glu	Ser	Ile	Ile	Arg
	3275						3280					3285			
35	Glu	His	Asn	Thr	Trp	Ile	Leu	Arg	Lys	Val	Arg	His	Glu	Gly	Asn
	3290						3295					3300			
40	Leu	Arg	Thr	Lys	Ser	Met	Ile	Asn	Pro	Gly	Lys	Ile	Ser	Asp	Gln
	3305						3310					3315			
45	Leu	Cys	Arg	Asp	Gly	His	Lys	Arg	Asn	Ile	Tyr	Asn	Lys	Ile	Ile
	3320						3325					3330			
50	Gly	Ser	Thr	Met	Ala	Ser	Ala	Gly	Ile	Arg	Leu	Glu	Lys	Leu	Pro
	3335							3340					3345		
55	Val	Val	Arg	Ala	Gln	Thr	Asp	Thr	Thr	Ser	Phe	His	Gln	Ala	Ile
	3350						3355					3360			
60	Arg	Glu	Lys	Ile	Asp	Lys	Thr	Glu	Asn	Lys	Gln	Thr	Pro	Glu	Leu
	3365						3370					3375			
65	His	Glu	Glu	Leu	Met	Lys	Val	Phe	Asp	Cys	Leu	Lys	Ile	Pro	Glu
	3380						3385					3390			
70	Leu	Lys	Glu	Ser	Tyr	Asp	Glu	Val	Ser	Trp	Glu	Gln	Leu	Glu	Ala
	3395							3400					3405		
75	Gly	Ile	Asn	Arg	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Tyr	Leu	Glu	Ser	Lys	Asn
	3410							3415					3420		
80	Ile	Gly	Glu	Val	Leu	Asp	Thr	Glu	Lys	His	Ile	Val	Glu	Gln	Leu
	3425							3430					3435		
85	Ile	Lys	Asp	Leu	Arg	Lys	Gly	Lys	Lys	Ile	Arg	Tyr	Tyr	Glu	Thr
	3440							3445					3450		
90	Ala	Ile	Pro	Lys	Asn	Glu	Lys	Arg	Asp	Val	Ser	Asp	Asp	Trp	Glu
	3455							3460					3465		

### ES 2 321 210 T3

	Ala	Gly	Glu	Phe	Val	Asp	Glu	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Ile	Gln	Tyr
	3470		3475									3480			
5	Pro	Asp	Ala	Lys	Val	Arg	Leu	Ala	Ile	Thr	Lys	Val	Met	Tyr	Lys
	3485						3490						3495		
10	Trp	Val	Lys	Gln	Lys	Pro	Val	Val	Ile	Pro	Gly	Tyr	Glu	Gly	Lys
	3500						3505						3510		
15	Thr	Pro	Leu	Phe	Asp	Ile	Phe	Asn	Lys	Val	Lys	Lys	Glu	Trp	Asp
	3515						3520						3525		
20	Ser	Phe	Gln	Asp	Pro	Val	Ala	Val	Ser	Phe	Asp	Thr	Lys	Ala	Trp
	3530						3535						3540		
25	Asp	Thr	Gln	Val	Thr	Ser	Arg	Asp	Leu	Met	Leu	Ile	Lys	Asp	Ile
	3545						3550						3555		
30	Gln	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Lys	Arg	Ser	Ile	His	Lys	Phe	Leu	Asp	Thr
	3560						3565						3570		
35	Ile	Thr	Glu	His	Met	Val	Glu	Val	Pro	Val	Ile	Thr	Ala	Asp	Gly
	3575						3580						3585		
40	Glu	Val	Tyr	Ile	Arg	Asn	Gly	Gln	Arg	Gly	Ser	Gly	Gln	Pro	Asp
	3590						3595						3600		
45	Thr	Ser	Ala	Gly	Asn	Ser	Met	Leu	Asn	Val	Leu	Thr	Met	Ile	Tyr
	3605						3610						3615		
50	Ala	Phe	Cys	Lys	Ser	Thr	Gly	Ile	Pro	Tyr	Arg	Gly	Phe	Ser	Arg
	3620						3625						3630		
55	Val	Ala	Arg	Ile	His	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Gly	Phe	Leu	Ile	Thr
	3635						3640						3645		
60	Glu	Arg	Gly	Leu	Gly	Leu	Lys	Phe	Ser	Glu	Lys	Gly	Met	Gln	Ile
	3650						3655						3660		
65	Leu	His	Glu	Ala	Gly	Lys	Pro	Gln	Lys	Ile	Thr	Glu	Gly	Asp	Lys
	3665						3670						3675		
70	Met	Lys	Val	Ala	Tyr	Arg	Phe	Glu	Asp	Ile	Glu	Phe	Cys	Ser	His
	3680						3685						3690		
75	Thr	Pro	Val	Pro	Val	Arg	Trp	Ala	Asp	Asn	Thr	Ser	Ser	Tyr	Met
	3695						3700						3705		
80	Ala	Gly	Arg	Ser	Thr	Ala	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys	Met	Ala	Thr	Arg
	3710						3715						3720		
85	Leu	Asp	Ser	Ser	Gly	Glu	Arg	Gly	Ser	Thr	Ala	Tyr	Glu	Lys	Ala
	3725						3730						3735		
90	Val	Ala	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Met	Tyr	Ser	Trp	Asn	Pro	Val	Val
	3740						3745						3750		

# ES 2 321 210 T3

	Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Phe Pro Glu Ile Ser		
	3755	3760	3765
5	Pro Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr Tyr Gln Gly Asp Pro Ile Ala		
	3770	3775	3780
10	Ala Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys Gln Leu Cys Glu Leu Lys Arg		
	3785	3790	3795
	Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr Thr		
	3800	3805	3810
15	Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln Ala		
	3815	3820	3825
20	Cys Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn Ala		
	3830	3835	3840
	Asp Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro Ser		
	3845	3850	3855
25	Thr Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn Leu		
	3860	3865	3870
30	Lys Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg Tyr		
	3875	3880	3885
35	Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg Val		
	3890	3895	3900
	Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp		
	3905	3910	
40	<210> 6		
	<211> 3749		
	<212> PRT		
45	<213> Secuencia Artificial: VDVB Mutado: XIKE-A-NdN		
	<400> 6		
50	Met Glu Leu Phe Ser Asp Glu Gly Ser Lys Gly Ala Thr Ser Lys Lys		
	1 5 10 15		
55	Gln Pro Lys Pro Asp Arg Ile Glu Lys Gly Lys Met Lys Ile Ala Pro		
	20 25 30		
	Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro Asp Ala Thr Ile		
	35 40 45		
60	Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys Gly Lys Val Arg		
	50 55 60		
65	Gly Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys Asn Lys Pro Pro		
	65 70 75 80		

### ES 2 321 210 T3

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

# ES 2 321 210 T3

	Gly His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val Val Leu Ser Asp			
385	390	395	400	
5	Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val Leu His Phe Ala			
	405	410	415	
10	Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp Lys Asn Gln Leu			
	420	425	430	
	Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile Pro Gly Thr Val			
	435	440	445	
15	Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp Trp Trp Pro Tyr			
	450	455	460	
20	Glu Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly Gln Val Ile Lys			
	465	470	475	480
	Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile Trp Asn Ala Ala			
	485	490	495	
25	Thr Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala Leu Arg Gly Gln			
	500	505	510	
30	Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr Gly Ala Gln Gly			
	515	520	525	
	Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Arg			
35	530	535	540	
	Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr Thr Trp His Leu			
	545	550	555	560
40	Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val Trp Cys Glu Gly			
	565	570	575	
	Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu Glu Arg Tyr Leu			
45	580	585	590	
	Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala Glu Phe Met Gln			
	595	600	605	
50	Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp Met Pro Asp Asp			
	610	615	620	
	Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro Val Ile Lys Gly			
55	625	630	635	640
	Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln Met Val Cys			
	645	650	655	
60	Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu Ala Asn Gln Asp			
	660	665	670	
65	Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg Thr Thr Pro Phe			
	675	680	685	

# ES 2 321 210 T3

	Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile Gly Glu Asp Ile			
	690	695	700	
5	Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile Thr Gly Asp His			
	705	710	715	720
10	Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys Trp Cys Gly His			
	725	730	735	
	Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile Gly Lys Cys			
	740	745	750	
15	Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp Asp Thr Ser Cys			
	755	760	765	
20	Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val Lys Cys Arg			
	770	775	780	
	Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn Asp Leu Gly			
	785	790	795	800
25	Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu Gly Pro Val			
	805	810	815	
30	Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu Pro Asn Lys			
	820	825	830	
	Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly			
	835	840	845	
35	Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val Asp His His Lys Asp			
	850	855	860	
40	Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ala Val Val Ala Leu Leu Gly Gly			
	865	870	875	880
	Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln			
45	885	890	895	
	Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly			
	900	905	910	
50	Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu			
	915	920	925	
55	Leu Tyr Leu Ile Val Lys Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu			
	930	935	940	
	Val Tyr His Ile Leu Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val			
60	945	950	955	960
	Leu Leu Met Leu Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp			
	965	970	975	
65	Asp Gln Ser Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val			
	980	985	990	

# ES 2 321 210 T3

	Ala	Val	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Arg	Glu	Pro	Ala	Thr	Leu	Pro	Leu	Ile
																1005
995																
	Val	Ala	Leu	Leu	Ala	Ile	Arg	Thr	Ser	Gly	Phe	Leu	Leu	Pro	Ala	
5																1020
																1010
																1015
10	Ser	Ile	Asp	Val	Thr	Val	Ala	Val	Val	Leu	Ile	Val	Leu	Leu	Leu	1035
																1025
																1030
15	Ala	Ser	Tyr	Ile	Thr	Asp	Tyr	Phe	Arg	Tyr	Lys	Lys	Trp	Leu	Gln	
																1040
																1045
20	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Ile	Ala	Gly	Ile	Phe	Ile	Ile	Arg	Ser	Leu	
																1055
																1060
25	Lys	His	Ile	Asn	Gln	Met	Glu	Val	Pro	Glu	Ile	Ser	Met	Pro	Ser	
																1070
																1075
30	Trp	Arg	Pro	Leu	Ala	Leu	Val	Leu	Phe	Tyr	Ile	Thr	Ser	Thr	Ala	
																1085
																1090
35	Ile	Thr	Thr	Asn	Trp	Asp	Ile	Asp	Leu	Ala	Gly	Phe	Leu	Leu	Gln	
																1100
																1105
40	Trp	Ala	Pro	Ala	Val	Ile	Met	Met	Ala	Thr	Met	Trp	Ala	Asp	Phe	
																1115
																1120
45	Leu	Thr	Leu	Ile	Ile	Val	Leu	Pro	Ser	Tyr	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	
																1130
																1135
50	Tyr	Phe	Leu	Lys	Asn	Val	Arg	Thr	Asp	Val	Glu	Lys	Asn	Trp	Leu	
																1145
																1150
55	Gly	Lys	Val	Lys	Tyr	Arg	Gln	Ile	Ser	Ser	Val	Tyr	Asp	Ile	Cys	
																1160
																1165
60	Asp	Ser	Glu	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Phe	Pro	Ser	Arg	His	Lys	Ser	
																1175
																1180
65	Gly	Ser	Arg	Pro	Asp	Phe	Ile	Leu	Pro	Phe	Leu	Lys	Ala	Val	Leu	
																1190
																1195
																1200
70	Ile	Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Gln	Trp	Gln	Val	Val	Tyr	Ile	Ser	Tyr	
																1205
																1210
75	Leu	Ile	Leu	Glu	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Met	His	Arg	Lys	Ile	Ile	Asp	
																1220
																1225
80	Glu	Val	Ser	Gly	Gly	Ala	Asn	Phe	Leu	Ser	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	
																1235
																1240
85	Ile	Ile	Glu	Leu	Asn	Trp	Ala	Ile	Asp	Asp	Glu	Glu	Cys	Lys	Gly	
																1250
																1255
90	Leu	Lys	Lys	Leu	Tyr	Leu	Leu	Ser	Gly	Arg	Ala	Lys	Asn	Leu	Ile	
																1265
																1270
																1275

### ES 2 321 210 T3

	Val	Lys	His	Lys	Val	Arg	Asn	Glu	Ala	Val	His	Arg	Trp	Phe	Gly
	1280							1285					1290		
5	Glu	Glu	Glu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Pro	Lys	Val	Ile	Thr	Ile	Ile	Lys
	1295						1300					1305			
10	Ala	Ser	Thr	Leu	Ser	Lys	Asn	Arg	His	Cys	Ile	Ile	Cys	Thr	Ile
	1310						1315					1320			
15	Cys	Glu	Gly	Lys	Glu	Trp	Asn	Gly	Ala	Asn	Cys	Pro	Lys	Cys	Gly
	1325						1330					1335			
20	Arg	Gln	Gly	Lys	Pro	Ile	Thr	Cys	Gly	Met	Thr	Leu	Ala	Asp	Phe
	1340						1345					1350			
25	Glu	Glu	Lys	His	Tyr	Lys	Lys	Ile	Phe	Ile	Arg	Glu	Glu	Ser	Ser
	1355						1360					1365			
30	Cys	Pro	Val	Pro	Phe	Asp	Pro	Ser	Cys	His	Cys	Asn	Tyr	Phe	Arg
	1370						1375					1380			
35	His	Asp	Gly	Pro	Phe	Arg	Lys	Glu	Tyr	Lys	Gly	Tyr	Val	Gln	Tyr
	1385						1390					1395			
40	Thr	Ala	Arg	Gly	Gln	Leu	Phe	Leu	Arg	Asn	Leu	Pro	Ile	Leu	Ala
	1400						1405					1410			
45	Thr	Lys	Met	Lys	Leu	Leu	Met	Val	Gly	Asn	Leu	Gly	Ala	Glu	Ile
	1415						1420					1425			
50	Gly	Asp	Leu	Glu	His	Leu	Gly	Trp	Val	Leu	Arg	Gly	Pro	Ala	Val
	1430						1435					1440			
55	Cys	Lys	Lys	Ile	Thr	Asn	His	Glu	Lys	Cys	His	Val	Asn	Ile	Met
	1445						1450					1455			
60	Asp	Lys	Leu	Thr	Ala	Phe	Phe	Gly	Ile	Met	Pro	Arg	Gly	Thr	Thr
	1460						1465					1470			
65	Pro	Arg	Ala	Pro	Val	Arg	Phe	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Arg
	1475						1480					1485			
70	Arg	Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Trp	Ala	Tyr	Thr	His	Gln	Gly	Gly	Ile
	1490						1495					1500			
75	Ser	Ser	Val	Asp	His	Val	Thr	Ala	Gly	Lys	Asp	Leu	Leu	Val	Cys
	1505						1510					1515			
80	Asp	Ser	Met	Gly	Arg	Thr	Arg	Val	Val	Cys	His	Ser	Asn	Asn	Lys
	1520						1525					1530			
85	Met	Thr	Asp	Glu	Thr	Glu	Tyr	Gly	Ile	Lys	Thr	Asp	Ser	Gly	Cys
	1535						1540					1545			
90	Pro	Glu	Gly	Ala	Arg	Cys	Tyr	Val	Leu	Asn	Pro	Glu	Ala	Val	Asn
	1550						1555					1560			

# ES 2 321 210 T3

	Ile	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Ala	Met	Val	His	Leu	Gln	Lys	Thr	Gly
	1565						1570					1575			
5	Gly	Glu	Phe	Thr	Cys	Val	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Ala	Phe	Phe
	1580					1585						1590			
10	Asp	Leu	Lys	Asn	Leu	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Leu	Pro	Ile	Phe	Glu
	1595					1600						1605			
15	Ala	Ser	Ser	Gly	Arg	Val	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Val	Gly	Lys	Asn
	1610					1615						1620			
20	Glu	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Lys	Leu	Met	Ser	Gly	Ile	Gln	Thr	Val
	1625					1630						1635			
25	Ser	Lys	Asn	Gln	Thr	Asp	Leu	Ala	Asp	Ile	Val	Lys	Lys	Leu	Thr
	1640					1645						1650			
30	Ser	Met	Asn	Arg	Gly	Glu	Phe	Lys	Gln	Ile	Thr	Leu	Ala	Thr	Gly
	1655					1660						1665			
35	Ala	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Leu	Pro	Arg	Ser	Val	Ile	Glu	Glu	Ile
	1670					1675						1680			
40	Gly	Arg	His	Lys	Arg	Val	Leu	Val	Leu	Ile	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala
	1685					1690						1695			
45	Ala	Glu	Ser	Val	Tyr	Gln	Tyr	Met	Arg	Val	Lys	Tyr	Pro	Ser	Ile
	1700					1705						1710			
50	Ser	Phe	Asn	Leu	Arg	Ile	Gly	Asp	Met	Lys	Glu	Gly	Asp	Met	Ala
	1715					1720						1725			
55	Thr	Gly	Ile	Thr	Tyr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Cys	Gln	Leu	Pro
	1730					1735						1740			
60	Gln	Pro	Lys	Leu	Arg	Ala	Ala	Met	Val	Glu	Tyr	Ser	Tyr	Ile	Phe
	1745					1750						1755			
65	Leu	Asp	Glu	Tyr	His	Cys	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Leu	Ala	Ile	Ile
	1760					1765						1770			
70	Gly	Lys	Ile	His	Arg	Phe	Ala	Glu	Asn	Leu	Arg	Val	Val	Ala	Met
	1775					1780						1785			
75	Thr	Ala	Thr	Pro	Ala	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Thr	Gly	Gln	Lys	His
	1790					1795						1800			
80	Pro	Ile	Glu	Glu	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu	Val	Met	Lys	Gly	Glu	Asp
	1805					1810						1815			
85	Leu	Gly	Ser	Glu	Tyr	Leu	Asp	Ile	Ala	Gly	Leu	Lys	Ile	Pro	Thr
	1820					1825						1830			
90	Glu	Glu	Met	Lys	Gly	Asn	Met	Leu	Val	Phe	Ala	Pro	Thr	Arg	Asn
	1835					1840						1845			

### ES 2 321 210 T3

	Met Ala Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn		
	1850	1855	1860
5	Ser Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val		
	1865	1870	1875
10	Val Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile		
	1880	1885	1890
	Glu Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr		
	1895	1900	1905
15	Gly Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Ile Ser Ser Lys Met Pro		
	1910	1915	1920
20	Phe Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Ile Gly Glu		
	1925	1930	1935
	Gln Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg		
	1940	1945	1950
25	Tyr Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser Gly Ser Lys Asp Tyr His		
	1955	1960	1965
30	Tyr Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile		
	1970	1975	1980
	Asn Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu		
35	1985	1990	1995
	Tyr Glu Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr Gln Leu Glu Val Leu Asn		
	2000	2005	2010
40	Asn Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile		
	2015	2020	2025
45	Met Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn		
	2030	2035	2040
	Ser Tyr Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Lys Asn		
	2045	2050	2055
50	Gly Glu Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala		
	2060	2065	2070
	Arg Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu		
55	2075	2080	2085
	Asp Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp		
	2090	2095	2100
60	Pro Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln		
	2105	2110	2115
65	Val Thr Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu		
	2120	2125	2130

### ES 2 321 210 T3

	Phe	Gly	Tyr	Val	Gly	Tyr	Gln	Thr	Leu	Ser	Lys	Arg	His	Ile	Pro
	2135						2140					2145			
5	Met	Ile	Thr	Asp	Ile	Tyr	Thr	Leu	Glu	Asp	His	Arg	Leu	Glu	Asp
	2150						2155					2160			
10	Thr	Thr	His	Leu	Gln	Phe	Ala	Pro	Asn	Ala	Ile	Arg	Thr	Asp	Gly
	2165						2170					2175			
	Lys	Asp	Ser	Glu	Leu	Lys	Glu	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Leu	Asp	Lys
	2180						2185					2190			
15	Tyr	Val	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Tyr	Ser	Lys	Gln	Gly	Met	Lys	Phe
	2195						2200					2205			
20	Ile	Lys	Val	Gln	Ala	Glu	Lys	Val	Arg	Asp	Ser	Gln	Ser	Thr	Lys
	2210						2215					2220			
	Glu	Gly	Leu	Gln	Thr	Ile	Lys	Glu	Tyr	Val	Asp	Lys	Phe	Ile	Gln
	2225						2230					2235			
25	Ser	Leu	Thr	Glu	Asn	Lys	Glu	Glu	Ile	Ile	Arg	Tyr	Gly	Leu	Trp
	2240						2245					2250			
30	Gly	Val	His	Thr	Ala	Leu	Tyr	Lys	Ser	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Gly
	2255						2260					2265			
35	His	Glu	Thr	Ala	Phe	Ala	Thr	Leu	Val	Val	Lys	Trp	Leu	Ala	Phe
	2270						2275					2280			
	Gly	Gly	Glu	Thr	Val	Ser	Ala	His	Ile	Lys	Gln	Val	Ala	Val	Asp
	2285						2290					2295			
40	Leu	Val	Val	Tyr	Tyr	Ile	Ile	Asn	Lys	Pro	Ser	Phe	Pro	Gly	Asp
	2300						2305					2310			
45	Thr	Glu	Thr	Gln	Gln	Glu	Gly	Arg	Arg	Phe	Val	Ala	Ser	Leu	Phe
	2315						2320					2325			
	Ile	Ser	Ala	Leu	Ala	Thr	Tyr	Thr	Tyr	Lys	Thr	Trp	Asn	Tyr	Asn
	2330						2335					2340			
50	Asn	Leu	Gln	Arg	Val	Val	Glu	Pro	Ala	Leu	Ala	Tyr	Leu	Pro	Tyr
	2345						2350					2355			
55	Ala	Thr	Ser	Ala	Leu	Lys	Leu	Phe	Thr	Pro	Thr	Arg	Leu	Glu	Ser
	2360						2365					2370			
60	Val	Val	Ile	Leu	Ser	Ser	Thr	Ile	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Leu	Ser	Ile
	2375						2380					2385			
	Arg	Lys	Gly	Lys	Ser	Asp	Gly	Leu	Leu	Gly	Thr	Gly	Ile	Ser	Ala
	2390						2395					2400			
65	Ala	Met	Glu	Ile	Leu	Asn	Gln	Asn	Pro	Ile	Ser	Val	Gly	Ile	Ser
	2405						2410					2415			

### ES 2 321 210 T3

	Val	Met	Leu	Gly	Val	Gly	Ala	Ile	Ala	Ala	His	Asn	Ala	Ile	Glu
	2420						2425					2430			
5	Ser	Ser	Glu	Gln	Lys	Arg	Thr	Leu	Leu	Met	Lys	Val	Phe	Val	Lys
	2435						2440					2445			
10	Asn	Phe	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	Thr	Asp	Glu	Leu	Val	Lys	Glu	Asn
	2450						2455					2460			
15	Pro	Glu	Lys	Ile	Ile	Met	Ala	Leu	Phe	Glu	Ala	Val	Gln	Thr	Ile
	2465						2470					2475			
20	Gly	Asn	Pro	Leu	Arg	Leu	Ile	Tyr	His	Leu	Tyr	Gly	Val	Tyr	Tyr
	2480						2485					2490			
25	Lys	Gly	Trp	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Ala	Glu	Lys	Thr	Ala	Gly	Arg
	2495						2500					2505			
30	Asn	Leu	Phe	Thr	Leu	Ile	Met	Phe	Glu	Ala	Phe	Glu	Leu	Leu	Gly
	2510						2515					2520			
35	Met	Asp	Ser	Glu	Gly	Lys	Ile	Arg	Asn	Leu	Ser	Gly	Asn	Tyr	Ile
	2525						2530					2535			
40	Leu	Asp	Leu	Ile	Phe	Asn	Leu	His	Asn	Lys	Leu	Asn	Lys	Gly	Leu
	2540						2545					2550			
45	Lys	Lys	Leu	Val	Leu	Gly	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Leu	Ser	Cys	Asp
	2555						2560					2565			
50	Trp	Thr	Pro	Ser	Asp	Glu	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	His	Asn	Asn	Tyr
	2570						2575					2580			
55	Leu	Arg	Val	Glu	Thr	Arg	Cys	Pro	Cys	Gly	Tyr	Glu	Met	Lys	Ala
	2585						2590					2595			
60	Ile	Lys	Asn	Val	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Lys	Val	Glu	Glu	Lys	Gly
	2600						2605					2610			
65	Ser	Phe	Leu	Cys	Arg	Asn	Arg	Leu	Gly	Arg	Gly	Pro	Pro	Asn	Phe
	2615						2620					2625			
70	Lys	Val	Thr	Lys	Phe	Tyr	Asp	Asp	Asn	Leu	Ile	Glu	Val	Lys	Pro
	2630						2635					2640			
75	Val	Ala	Arg	Leu	Glu	Gly	Gln	Val	Asp	Leu	Tyr	Tyr	Lys	Gly	Val
	2645						2650					2655			
80	Thr	Ala	Lys	Leu	Asp	Tyr	Asn	Asn	Gly	Lys	Val	Leu	Leu	Ala	Thr
	2660						2665					2670			
85	Asn	Lys	Trp	Glu	Val	Asp	His	Ala	Phe	Leu	Thr	Arg	Leu	Val	Lys
	2675						2680					2685			
90	Lys	His	Thr	Gly	Ile	Gly	Phe	Lys	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gly	Asp	Arg
	2690						2695					2700			

### ES 2 321 210 T3

	Pro	Asp	His	Gln	Asp	Leu	Val	Asp	Arg	Asp	Cys	Ala	Thr	Ile	Thr
	2705							2710					2715		
5	Lys	Asn	Ser	Val	Gln	Phe	Leu	Lys	Met	Lys	Lys	Gly	Cys	Ala	Phe
	2720							2725					2730		
10	Thr	Tyr	Asp	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Val	Arg	Leu	Ile	Glu	Leu
	2735							2740					2745		
15	Val	His	Lys	Asn	Asn	Leu	Gln	Glu	Arg	Glu	Ile	Pro	Thr	Val	Thr
	2750							2755					2760		
20	Val	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	Tyr	Ser	Phe	Val	Asn	Glu	Asp	Leu	Gly
	2765							2770					2775		
25	Thr	Ile	Lys	Pro	Val	Leu	Gly	Glu	Lys	Val	Ile	Pro	Glu	Pro	Pro
	2780							2785					2790		
30	Glu	Glu	Leu	Ser	Leu	Gln	Pro	Thr	Val	Arg	Leu	Val	Thr	Thr	Glu
	2795							2800					2805		
35	Thr	Ala	Ile	Thr	Ile	Thr	Gly	Glu	Ala	Glu	Val	Met	Thr	Thr	Gly
	2810							2815					2820		
40	Ile	Thr	Pro	Val	Val	Glu	Met	Lys	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Asp	His
	2825							2830					2835		
45	Gln	Ser	Thr	Thr	Leu	Lys	Val	Gly	Leu	Lys	Glu	Gly	Glu	Tyr	Pro
	2840							2845					2850		
50	Gly	Pro	Gly	Val	Asn	Pro	Asn	His	Leu	Ala	Glu	Val	Ile	Asp	Glu
	2855							2860					2865		
55	Lys	Asp	Asp	Arg	Pro	Phe	Val	Leu	Ile	Ile	Gly	Asn	Lys	Gly	Ser
	2870							2875					2880		
60	Thr	Ser	Asn	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asn	Ile	Arg	Leu	Tyr	Lys
	2885							2890					2895		
65	Gly	Asn	Asn	Pro	Arg	Glu	Ile	Arg	Asp	Leu	Met	Ser	Gln	Gly	Arg
	2900							2905					2910		
70	Ile	Leu	Thr	Val	Ala	Leu	Lys	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Leu	Lys	Glu
	2915							2920					2925		
75	Leu	Val	Asp	Tyr	Lys	Gly	Thr	Phe	Leu	Asn	Arg	Glu	Ala	Leu	Glu
	2930							2935					2940		
80	Ala	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Pro	Ile	Lys	Arg	Lys	Thr	Thr	Thr	Ala
	2945							2950					2955		
85	Met	Ile	Arg	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Leu	Pro
	2960							2965					2970		
90	Asp	Trp	Phe	Gln	Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Ala	Lys	Ile
	2975							2980					2985		

### ES 2 321 210 T3

	Gln	Asn	Asp	Leu	Tyr	His	Leu	Ile	Gly	Ser	Val	Asp	Ser	Ile	Lys
	2990						2995					3000			
5	Ser	Lys	Ala	Lys	Glu	Leu	Gly	Ala	Thr	Asp	Asn	Thr	Lys	Ile	Val
	3005						3010					3015			
10	Lys	Glu	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Tyr	Thr	Met	Lys	Leu	Ser	Ser	Trp
	3020						3025					3030			
15	Ser	Thr	Gln	Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Met	Ser	Leu	Ala	Pro	Leu	Phe
	3035						3040					3045			
20	Glu	Glu	Leu	Leu	Leu	Lys	Cys	Pro	Pro	Cys	Ser	Lys	Ile	Ser	Lys
	3050						3055					3060			
25	Gly	His	Met	Val	Ser	Ala	Tyr	Gln	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Trp	Glu
	3065						3070					3075			
30	Pro	Leu	Gly	Cys	Gly	Val	Tyr	Met	Gly	Thr	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg
	3080						3085					3090			
35	Leu	Lys	Ile	His	Pro	Tyr	Glu	Ala	Tyr	Leu	Lys	Leu	Lys	Glu	Leu
	3095						3100					3105			
40	Val	Glu	Val	Glu	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Ala	Lys	Glu	Ser	Ile	Ile
	3110						3115					3120			
45	Arg	Glu	His	Asn	Thr	Trp	Ile	Leu	Arg	Lys	Val	Arg	His	Glu	Gly
	3125						3130					3135			
50	Asn	Leu	Arg	Thr	Lys	Ser	Met	Ile	Asn	Pro	Gly	Lys	Ile	Ser	Asp
	3140						3145					3150			
55	Gln	Leu	Cys	Arg	Asp	Gly	His	Lys	Arg	Asn	Ile	Tyr	Asn	Lys	Ile
	3155						3160					3165			
60	Ile	Gly	Ser	Thr	Met	Ala	Ser	Ala	Gly	Ile	Arg	Leu	Glu	Lys	Leu
	3170						3175					3180			
65	Pro	Val	Val	Arg	Ala	Gln	Thr	Asp	Thr	Thr	Ser	Phe	His	Gln	Ala
	3185						3190					3195			
70	Ile	Arg	Glu	Lys	Ile	Asp	Lys	Thr	Glu	Asn	Lys	Gln	Thr	Pro	Glu
	3200						3205					3210			
75	Leu	His	Glu	Glu	Leu	Met	Lys	Val	Phe	Asp	Cys	Leu	Lys	Ile	Pro
	3215						3220					3225			
80	Glu	Leu	Lys	Glu	Ser	Tyr	Asp	Glu	Val	Ser	Trp	Glu	Gln	Leu	Glu
	3230						3235					3240			
85	Ala	Gly	Ile	Asn	Arg	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Tyr	Leu	Glu	Ser	Lys
	3245						3250					3255			
90	Asn	Ile	Gly	Glu	Val	Leu	Asp	Thr	Glu	Lys	His	Ile	Val	Glu	Gln
	3260						3265					3270			

### ES 2 321 210 T3

	Leu	Ile	Lys	Asp	Leu	Arg	Lys	Gly	Lys	Lys	Ile	Arg	Tyr	Tyr	Glu
	3275						3280						3285		
5	Thr	Ala	Ile	Pro	Lys	Asn	Glu	Lys	Arg	Asp	Val	Ser	Asp	Asp	Trp
	3290						3295						3300		
10	Glu	Ala	Gly	Glu	Phe	Val	Asp	Glu	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Ile	Gln
	3305						3310						3315		
15	Tyr	Pro	Asp	Ala	Lys	Val	Arg	Leu	Ala	Ile	Thr	Lys	Val	Met	Tyr
	3320						3325						3330		
20	Lys	Trp	Val	Lys	Gln	Lys	Pro	Val	Val	Ile	Pro	Gly	Tyr	Glu	Gly
	3335						3340						3345		
25	Lys	Thr	Pro	Leu	Phe	Asp	Ile	Phe	Asn	Lys	Val	Lys	Lys	Glu	Trp
	3350						3355						3360		
30	Asp	Ser	Phe	Gln	Asp	Pro	Val	Ala	Val	Ser	Phe	Asp	Thr	Lys	Ala
	3365						3370						3375		
35	Trp	Asp	Thr	Gln	Val	Thr	Ser	Arg	Asp	Leu	Met	Leu	Ile	Lys	Asp
	3380						3385						3390		
40	Ile	Gln	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Lys	Arg	Ser	Ile	His	Lys	Phe	Leu	Asp
	3395						3400						3405		
45	Thr	Ile	Thr	Glu	His	Met	Val	Glu	Val	Pro	Val	Ile	Thr	Ala	Asp
	3410						3415						3420		
50	Gly	Glu	Val	Tyr	Ile	Arg	Asn	Gly	Gln	Arg	Gly	Ser	Gly	Gln	Pro
	3425						3430						3435		
55	Asp	Thr	Ser	Ala	Gly	Asn	Ser	Met	Leu	Asn	Val	Leu	Thr	Met	Ile
	3440						3445						3450		
60	Tyr	Ala	Phe	Cys	Lys	Ser	Thr	Gly	Ile	Pro	Tyr	Arg	Gly	Phe	Ser
	3455						3460						3465		
65	Arg	Val	Ala	Arg	Ile	His	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Gly	Phe	Leu	Ile
	3470						3475						3480		
70	Thr	Glu	Arg	Gly	Leu	Gly	Leu	Lys	Phe	Ser	Glu	Lys	Gly	Met	Gln
	3485						3490						3495		
75	Ile	Leu	His	Glu	Ala	Gly	Lys	Pro	Gln	Lys	Ile	Thr	Glu	Gly	Asp
	3500						3505						3510		
80	Lys	Met	Lys	Val	Ala	Tyr	Arg	Phe	Glu	Asp	Ile	Glu	Phe	Cys	Ser
	3515						3520						3525		
85	His	Thr	Pro	Val	Pro	Val	Arg	Trp	Ala	Asp	Asn	Thr	Ser	Ser	Tyr
	3530						3535						3540		
90	Met	Ala	Gly	Arg	Ser	Thr	Ala	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys	Met	Ala	Thr
	3545						3550						3555		

# ES 2 321 210 T3

	Arg	Leu	Asp	Ser	Ser	Gly	Glu	Arg	Gly	Ser	Thr	Ala	Tyr	Glu	Lys	
	3560					3565						3570				
5	Ala	Val	Ala	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Met	Tyr	Ser	Trp	Asn	Pro	Val	
	3575					3580						3585				
10	Val	Arg	Arg	Ile	Cys	Leu	Leu	Val	Leu	Ser	Gln	Phe	Pro	Glu	Ile	
	3590					3595						3600				
15	Ser	Pro	Ser	Lys	Asn	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Tyr	Gln	Gly	Asp	Pro	Ile	
	3605					3610						3615				
20	Ala	Ala	Tyr	Arg	Glu	Val	Ile	Gly	Lys	Gln	Leu	Cys	Glu	Leu	Lys	
	3620					3625						3630				
25	Arg	Thr	Gly	Phe	Glu	Lys	Leu	Ala	Gly	Leu	Asn	Leu	Ser	Met	Thr	
	3635					3640						3645				
30	Thr	Leu	Gly	Ile	Trp	Thr	Lys	His	Thr	Ser	Lys	Arg	Leu	Ile	Gln	
	3650					3655						3660				
35	Ala	Cys	Val	Glu	Ile	Gly	Lys	Arg	Glu	Gly	Thr	Trp	Leu	Val	Asn	
	3665					3670						3675				
40	Ala	Asp	Arg	Leu	Ile	Ala	Gly	Lys	Thr	Gly	Lys	Phe	Tyr	Ile	Pro	
	3680					3685						3690				
45	Ser	Thr	Gly	Val	Thr	Leu	Leu	Gly	Lys	His	Tyr	Glu	Glu	Ile	Asn	
	3695					3700						3705				
50	Leu	Lys	Gln	Lys	Ala	Ala	Gln	Pro	Pro	Ile	Glu	Gly	Val	Asp	Arg	
	3710					3715						3720				
55	Tyr	Lys	Leu	Gly	Pro	Ile	Val	Asn	Val	Ile	Leu	Arg	Arg	Leu	Arg	
	3725					3730						3735				
60	Val	Met	Leu	Met	Thr	Val	Ala	Ser	Gly	Ser	Trp					
	3740					3745										
	<210> 7															
	<211> 3912															
	<212> PRT															
50	<213> Secuencia Artificial: VDVB Mutado: XIKE-B															
	<400> 7															
55	Met	Glu	Leu	Phe	Ser	Asn	Glu	Leu	Leu	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Lys	Gln	Lys
	1			5						10				15		
60	Pro	Ala	Gly	Val	Val	Glu	Pro	Val	Tyr	Asp	Val	Asn	Gly	Arg	Pro	Leu
	20			25									30			
65	Phe	Gly	Glu	Ser	Ser	Asp	Leu	His	Pro	Gln	Ser	Thr	Leu	Lys	Leu	Pro
	35			40									45			
	His	Gln	Arg	Gly	Ser	Ala	Asn	Ile	Leu	Thr	Asn	Ala	Arg	Ser	Leu	Pro

# ES 2 321 210 T3

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

## ES 2 321 210 T3

	355	360	365
5	Asn Leu Thr Glu Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys Arg 370	375	380
	Tyr Asp Lys Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp Arg 385	390	395
10	Pro Thr Thr Leu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe Ala 405	410	415
	Gly Val Ile Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu Asp 420	425	430
15	Val Leu Phe Lys Glu His Asp Cys Gly Asn Met Leu Gln Glu Thr Ala 435	440	445
20	Ile Gln Leu Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg Val 450	455	460
25	Gly Thr Ala Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile Leu 465	470	475
	Gly Lys Lys Leu Glu Asn Lys Ser Lys Ala Trp Phe Gly Ala His Ala 485	490	495
30	Ala Ser Pro Tyr Cys Gly Val Glu Arg Lys Ile Gly Tyr Val Trp Tyr 500	505	510
35	Thr Lys Asn Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg Ile Ile 515	520	525
	Gly Pro Gly Lys Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu His 530	535	540
40	Glu Met Gly Gly His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val Val 545	550	555
	Leu Ser Asp Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val Leu 565	570	575
45	His Phe Ala Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp Lys 580	585	590
	Asn Gln Leu Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile Pro 595	600	605
55	Gly Thr Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp Trp 610	615	620
	Trp Pro Tyr Glu Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly Gln 625	630	635
60	Val Ile Lys Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile Trp 645	650	655
	Asn Ala Ala Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala Leu		

## ES 2 321 210 T3

	660	665	670
5	Arg Gly Gln Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr Gly 675	680	685
	Ala Gln Gly Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile Ser 690	695	700
10	Lys Asp Arg Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr Thr 705	710	715
	Trp His Leu Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val Trp 725	730	735
15	Cys Glu Gly Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu Glu 740	745	750
20	Arg Tyr Leu Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala Glu 755	760	765
	Phe Met Gln Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp Met 770	775	780
25	Pro Asp Asp Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro Val 785	790	795
30	Ile Lys Gly Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln 805	810	815
	Met Val Cys Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu Ala 820	825	830
35	Asn Gln Asp Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg Thr 835	840	845
40	Thr Pro Phe Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile Gly 850	855	860
	Glu Asp Ile Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile Thr 865	870	875
45	Gly Asp His Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys Trp 885	890	895
	Cys Gly His Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile 900	905	910
50	Gly Lys Cys Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp Asp 915	920	925
	Thr Ser Cys Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val 930	935	940
55	Lys Cys Arg Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn 945	950	955
	Asp Leu Gly Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu		

## ES 2 321 210 T3

	965	970	975
5	Gly Pro Val Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu 980	985	990
10	Pro Asn Lys Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met 995 1000 1005		
15	Leu Lys Gly Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val Asp 1010 1015 1020		
20	His His Lys Asp Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ile Ala Val Val 1025 1030 1035		
25	Ala Leu Leu Gly Gly Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr Tyr 1040 1045 1050		
30	Thr Ile Leu Ser Glu Gln Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn Thr 1055 1060 1065		
35	Glu Glu Ile Val Met Ile Gly Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp Ile 1070 1075 1080		
40	Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu Leu Tyr Leu Ile Val Lys Glu 1085 1090 1095		
45	Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu Val Tyr His Ile Leu Val 1100 1105 1110		
50	Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val Leu Leu Met Leu Gly 1115 1120 1125		
55	Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp Asp Gln Ser Ala 1130 1135 1140		
60	Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val Ala Val Leu 1145 1150 1155		
65	Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala Ser Ile 1175 1180 1185		
	Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu Ala Ser 1190 1195 1200		
	Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln Leu Leu 1205 1210 1215		
	Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu Lys His 1220 1225 1230		
	Ile Asn Gln Met Glu Val Pro Glu Ile Ser Met Pro Ser Trp Arg 1235 1240 1245		
	Pro Leu Ala Leu Val Leu Phe Tyr Ile Thr Ser Thr Ala Ile Thr		

### ES 2 321 210 T3

	1250	1255	1260
5	Thr Asn Trp Asp Ile Asp Leu Ala Gly Phe Leu Leu Gln Trp Ala		
	1265	1270	1275
	Pro Ala Val Ile Met Met Ala Thr Met Trp Ala Asp Phe Leu Thr		
10	1280	1285	1290
	Leu Ile Ile Val Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Ser Lys Leu Tyr Phe		
	1295	1300	1305
15	Leu Lys Asn Val Arg Thr Asp Val Glu Lys Asn Trp Leu Gly Lys		
	1310	1315	1320
	Val Lys Tyr Arg Gln Ile Ser Ser Val Tyr Asp Ile Cys Asp Ser		
	1325	1330	1335
20	Glu Glu Ala Val Tyr Leu Phe Pro Ser Arg His Lys Ser Gly Ser		
	1340	1345	1350
25	Arg Pro Asp Phe Ile Leu Pro Phe Leu Lys Ala Val Leu Ile Ser		
	1355	1360	1365
	Cys Ile Ser Ser Gln Trp Gln Val Val Tyr Ile Ser Tyr Leu Ile		
30	1370	1375	1380
	Leu Glu Ile Thr Tyr Tyr Met His Arg Lys Ile Ile Asp Glu Val		
	1385	1390	1395
35	Ser Gly Gly Ala Asn Phe Leu Ser Arg Leu Ile Ala Ala Ile Ile		
	1400	1405	1410
40	Glu Leu Asn Trp Ala Ile Asp Asp Glu Glu Cys Lys Gly Leu Lys		
	1415	1420	1425
	Lys Leu Tyr Leu Leu Ser Gly Arg Ala Lys Asn Leu Ile Val Lys		
	1430	1435	1440
45	His Lys Val Arg Asn Glu Ala Val His Arg Trp Phe Gly Glu Glu		
	1445	1450	1455
50	Glu Ile Tyr Gly Ala Pro Lys Val Ile Thr Ile Ile Lys Ala Ser		
	1460	1465	1470
	Thr Leu Ser Lys Asn Arg His Cys Ile Ile Cys Thr Ile Cys Glu		
	1475	1480	1485
55	Tyr Lys Glu Trp Asn Gly Ala Asn Cys Pro Lys Cys Gly Arg Gln		
	1490	1495	1500
60	Gly Lys Pro Ile Thr Cys Gly Met Thr Leu Ala Asp Phe Glu Glu		
	1505	1510	1515
	Lys His Tyr Lys Lys Ile Phe Ile Arg Glu Glu Ser Ser Cys Pro		
65	1520	1525	1530
	Val Pro Phe Asp Pro Ser Cys His Cys Asn Tyr Phe Arg His Asp		

# ES 2 321 210 T3

	1535	1540	1545
5	Gly Pro Phe Arg Lys Glu Tyr Lys Gly Tyr Val Gln Tyr Thr Ala 1550 1555 1560		
10	Arg Gly Gln Leu Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ile Leu Ala Thr Lys 1565 1570 1575		
15	Met Lys Leu Leu Met Val Gly Asn Leu Gly Ala Glu Ile Gly Asp 1580 1585 1590		
20	Leu Glu His Leu Gly Trp Val Leu Arg Gly Pro Ala Val Cys Lys 1595 1600 1605		
25	Lys Ile Thr Asn His Glu Lys Cys His Val Asn Ile Met Asp Lys 1610 1615 1620		
30	Leu Thr Ala Phe Phe Gly Ile Met Pro Arg Gly Thr Thr Pro Arg 1625 1630 1635		
35	Ala Pro Val Arg Phe Pro Thr Ala Leu Leu Lys Val Arg Arg Gly 1640 1645 1650		
40	Leu Glu Thr Gly Trp Ala Tyr Thr His Gln Gly Gly Ile Ser Ser 1655 1660 1665		
45	Val Asp His Val Thr Ala Gly Lys Asp Leu Leu Val Cys Asp Ser 1670 1675 1680		
50	Met Gly Arg Thr Arg Val Val Cys His Ser Asn Asn Lys Met Thr 1685 1690 1695		
55	Asp Glu Thr Glu Tyr Gly Ile Lys Thr Asp Ser Gly Cys Pro Glu 1700 1705 1710		
60	Gly Ala Arg Cys Tyr Val Leu Asn Pro Glu Ala Val Asn Ile Ser 1715 1720 1725		
65	Gly Thr Lys Gly Ala Met Val His Leu Gln Lys Thr Gly Gly Glu 1730 1735 1740		
	Phe Thr Cys Val Thr Ala Ser Gly Thr Pro Ala Phe Phe Asp Leu 1745 1750 1755		
	Lys Asn Leu Lys Gly Trp Ser Gly Leu Pro Ile Phe Glu Ala Ser 1760 1765 1770		
	Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn Glu Asp 1775 1780 1785		
	Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val Ser Lys 1790 1795 1800		
	Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr Ser Met 1805 1810 1815		
	Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly Ala Gly		

# ES 2 321 210 T3

	1820	1825	1830	
5	Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg	Ser Val Ile Glu Glu	Ile Gly Arg	
	1835	1840	1845	
10	His Lys Arg Val Leu Val Leu	Ile Pro Leu Arg Ala	Ala Ala Ala Glu	
	1850	1855	1860	
15	Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg	Val Lys Tyr Pro Ser	Ile Ser Phe	
	1865	1870	1875	
20	Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met	Lys Glu Gly Asp Met	Ala Thr Gly	
	1880	1885	1890	
25	Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly	Tyr Phe Cys Gln Leu	Pro Gln Pro	
	1895	1900	1905	
30	Lys Leu Arg Ala Ala Met Val	Glu Tyr Ser Tyr Ile	Phe Leu Asp	
	1910	1915	1920	
35	Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro	Glu Gln Leu Ala Ile	Ile Gly Lys	
	1925	1930	1935	
40	Ile His Arg Phe Ala Glu Asn	Leu Arg Val Val Ala	Met Thr Ala	
	1940	1945	1950	
45	Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr	Thr Thr Gly Gln Lys	His Pro Ile	
	1955	1960	1965	
50	Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu	Val Met Lys Gly Glu	Asp Leu Gly	
	1970	1975	1980	
55	Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala	Gly Leu Lys Ile Pro	Thr Glu Glu	
	1985	1990	1995	
60	Met Lys Gly Asn Met Leu Val	Phe Ala Pro Thr Arg	Asn Met Ala	
	2000	2005	2010	
65	Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu	Lys Ala Lys Gly Tyr	Asn Ser Gly	
	2015	2020	2025	
70	Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn	Pro Glu Asn Leu Arg	Val Val Thr	
	2030	2035	2040	
75	Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val	Val Ala Thr Asn Ala	Ile Glu Ser	
	2045	2050	2055	
80	Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu	Asp Thr Val Val Asp	Thr Gly Leu	
	2060	2065	2070	
85	Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg	Ile Ser Ser Lys Met	Pro Phe Ile	
	2075	2080	2085	
90	Val Thr Gly Leu Lys Arg Met	Ala Val Thr Ile Gly	Glu Gln Ala	
	2090	2095	2100	
95	Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly	Arg Val Lys Pro Gly	Arg Tyr Tyr	

# ES 2 321 210 T3

	2105	2110	2115
5	Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser	Gly Ser Lys Asp Tyr His Tyr Asp	
	2120	2125	2130
	Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr	Gly Ile Glu Asp Gly Ile Asn Val	
10	2135	2140	2145
	Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met	Asn Tyr Asp Trp Ser Leu Tyr Glu	
	2150	2155	2160
15	Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr	Gln Leu Glu Val Leu Asn Asn Leu	
	2165	2170	2175
	Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro	Ala Ala Val Lys Asn Ile Met Ala	
20	2180	2185	2190
	Arg Thr Asp His Pro Glu Pro	Ile Gln Leu Ala Tyr Asn Ser Tyr	
	2195	2200	2205
25	Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu	Phe Pro Lys Ile Lys Asn Gly Glu	
	2210	2215	2220
	Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn	Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala Arg Lys	
30	2225	2230	2235
	Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala	Tyr Val Tyr Ala Thr Glu Asp Glu	
	2240	2245	2250
35	Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu	Gly Met Asp Trp Pro Asp Pro Gly	
	2255	2260	2265
	Asn Gln Gln Val Val Glu Thr	Gly Arg Ala Leu Lys Gln Val Thr	
40	2270	2275	2280
	Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn	Ala Leu Leu Ile Ala Leu Phe Gly	
	2285	2290	2295
45	Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu	Ser Lys Arg His Ile Pro Met Ile	
	2300	2305	2310
	Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu	Asp His Arg Leu Glu Asp Thr Thr	
50	2315	2320	2325
	His Leu Gln Phe Ala Pro Asn	Ala Ile Arg Thr Asp Gly Lys Asp	
	2330	2335	2340
55	Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ala	Val Gly Asp Leu Asp Lys Tyr Val	
	2345	2350	2355
	Asp Ala Leu Val Asp Tyr Ser	Lys Gln Gly Met Lys Phe Ile Lys	
60	2360	2365	2370
	Val Gln Ala Glu Lys Val Arg	Asp Ser Gln Ser Thr Lys Glu Gly	
65	2375	2380	2385
	Leu Gln Thr Ile Lys Glu Tyr	Val Asp Lys Phe Ile Gln Ser Leu	

# ES 2 321 210 T3

	2390	2395	2400
5	Thr Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Arg Tyr Gly Leu Trp Gly Val		
	2405	2410	2415
	His Thr Ala Leu Tyr Lys Ser Leu Ala Ala Arg Leu Gly His Glu		
10	2420	2425	2430
	Thr Ala Phe Ala Thr Leu Val Val Lys Trp Leu Ala Phe Gly Gly		
15	2435	2440	2445
	Glu Thr Val Ser Ala His Ile Lys Gln Val Ala Val Asp Leu Val		
	2450	2455	2460
	Val Tyr Tyr Ile Ile Asn Lys Pro Ser Phe Pro Gly Asp Thr Glu		
20	2465	2470	2475
	Thr Gln Gln Glu Gly Arg Arg Phe Val Ala Ser Leu Phe Ile Ser		
	2480	2485	2490
25	Ala Leu Ala Thr Tyr Thr Tyr Lys Thr Trp Asn Tyr Asn Asn Leu		
	2495	2500	2505
	Gln Arg Val Val Glu Pro Ala Leu Ala Tyr Leu Pro Tyr Ala Thr		
30	2510	2515	2520
	Ser Ala Leu Lys Leu Phe Thr Pro Thr Arg Leu Glu Ser Val Val		
	2525	2530	2535
35	Ile Leu Ser Ser Thr Ile Tyr Lys Thr Tyr Leu Ser Ile Arg Lys		
	2540	2545	2550
	Gly Lys Ser Asp Gly Leu Leu Gly Thr Gly Ile Ser Ala Ala Met		
40	2555	2560	2565
	Glu Ile Leu Asn Gln Asn Pro Ile Ser Val Gly Ile Ser Val Met		
	2570	2575	2580
45	Leu Gly Val Gly Ala Ile Ala Ala His Asn Ala Ile Glu Ser Ser		
	2585	2590	2595
	Glu Gln Lys Arg Thr Leu Leu Met Lys Val Phe Val Lys Asn Phe		
50	2600	2605	2610
	Leu Asp Gln Ala Ala Thr Asp Glu Leu Val Lys Glu Asn Pro Glu		
55	2615	2620	2625
	Lys Ile Ile Met Ala Leu Phe Glu Ala Val Gln Thr Ile Gly Asn		
	2630	2635	2640
60	Pro Leu Arg Leu Ile Tyr His Leu Tyr Gly Val Tyr Tyr Lys Gly		
	2645	2650	2655
	Trp Glu Ala Lys Glu Leu Ala Glu Lys Thr Ala Gly Arg Asn Leu		
65	2660	2665	2670
	Phe Thr Leu Ile Met Phe Glu Ala Phe Glu Leu Leu Gly Met Asp		

# ES 2 321 210 T3

	2675	2680	2685
5	Ser Glu Gly Lys Ile Arg Asn	Leu Ser Gly Asn Tyr	Ile Leu Asp
	2690	2695	2700
	Leu Ile Phe Asn Leu His Asn	Lys Leu Asn Lys Gly	Leu Lys Lys
	2705	2710	2715
10	Leu Val Leu Gly Trp Ala Pro	Ala Pro Leu Ser Cys	Asp Trp Thr
	2720	2725	2730
15	Pro Ser Asp Glu Arg Ile Ser	Leu Pro His Asn Asn	Tyr Leu Arg
	2735	2740	2745
	Val Glu Thr Arg Cys Pro Cys	Gly Tyr Glu Met Lys	Ala Ile Lys
	2750	2755	2760
20	Asn Val Ala Gly Lys Leu Thr	Lys Val Glu Glu Lys	Gly Ser Phe
	2765	2770	2775
25	Leu Cys Arg Asn Arg Leu Gly	Arg Gly Pro Pro Asn	Phe Lys Val
	2780	2785	2790
	Thr Lys Phe Tyr Asp Asp Asn	Leu Ile Glu Val Lys	Pro Val Ala
	2795	2800	2805
30	Arg Leu Glu Gly Gln Val Asp	Leu Tyr Tyr Lys Gly	Val Thr Ala
	2810	2815	2820
35	Lys Leu Asp Tyr Asn Asn Gly	Lys Val Leu Leu Ala	Thr Asn Lys
	2825	2830	2835
40	Trp Glu Val Asp His Ala Phe	Leu Thr Arg Leu Val	Lys Lys His
	2840	2845	2850
	Thr Gly Ile Gly Phe Lys Gly	Ala Tyr Leu Gly Asp	Arg Pro Asp
	2855	2860	2865
45	His Gln Asp Leu Val Asp Arg	Asp Cys Ala Thr Ile	Thr Lys Asn
	2870	2875	2880
50	Ser Val Gln Phe Leu Lys Met	Lys Lys Gly Cys Ala	Phe Thr Tyr
	2885	2890	2895
	Asp Leu Thr Ile Ser Asn Leu	Val Arg Leu Ile Glu	Leu Val His
	2900	2905	2910
55	Lys Asn Asn Leu Gln Glu Arg	Glu Ile Pro Thr Val	Thr Val Thr
	2915	2920	2925
60	Thr Trp Leu Ala Tyr Ser Phe	Val Asn Glu Asp Leu	Gly Thr Ile
	2930	2935	2940
	Lys Pro Val Leu Gly Glu Lys	Val Ile Pro Glu Pro	Pro Glu Glu
	2945	2950	2955
65	Leu Ser Leu Gln Pro Thr Val	Arg Leu Val Thr Thr	Glu Thr Ala

## ES 2 321 210 T3

	2960	2965	2970
5	Ile Thr Ile Thr Gly Glu Ala	Glu Val Met Thr Thr	Gly Ile Thr
	2975	2980	2985
10	Pro Val Val Glu Met Lys Glu	Glu Pro Gln Leu Asp	His Gln Ser
	2990	2995	3000
15	Thr Thr Leu Lys Val Gly Leu	Lys Glu Gly Glu Tyr	Pro Gly Pro
	3005	3010	3015
20	Gly Val Asn Pro Asn His Leu	Ala Glu Val Ile Asp	Glu Lys Asp
	3020	3025	3030
25	Asp Arg Pro Phe Val Leu Ile	Ile Gly Asn Lys Gly	Ser Thr Ser
	3035	3040	3045
30	Asn Arg Ala Arg Thr Ala Lys	Asn Ile Arg Leu Tyr	Lys Gly Asn
	3050	3055	3060
35	Asn Pro Arg Glu Ile Arg Asp	Leu Met Ser Gln Gly	Arg Ile Leu
	3065	3070	3075
40	Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu	Asp Pro Glu Leu Lys	Glu Leu Val
	3080	3085	3090
45	Asp Tyr Lys Gly Thr Phe Leu	Asn Arg Glu Ala Leu	Glu Ala Leu
	3095	3100	3105
50	Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys	Arg Lys Thr Thr Thr	Ala Met Ile
	3110	3115	3120
55	Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu	Val Glu Glu Glu Leu	Pro Asp Trp
	3125	3130	3135
60	Phe Gln Ala Glu Glu Pro Leu	Phe Leu Glu Ala Lys	Ile Gln Asn
	3140	3145	3150
65	Asp Leu Tyr His Leu Ile Gly	Ser Val Asp Ser Ile	Lys Ser Lys
	3155	3160	3165
	Ala Lys Glu Leu Gly Ala Thr	Asp Asn Thr Lys Ile	Val Lys Glu
	3170	3175	3180
	Val Gly Ala Arg Thr Tyr Thr	Met Lys Leu Ser Ser	Trp Ser Thr
	3185	3190	3195
	Gln Val Thr Lys Lys Gln Met	Ser Leu Ala Pro Leu	Phe Glu Glu
	3200	3205	3210
	Leu Leu Leu Lys Cys Pro Pro	Cys Ser Lys Ile Ser	Lys Gly His
	3215	3220	3225
	Met Val Ser Ala Tyr Gln Leu	Ala Gln Gly Asn Trp	Glu Pro Leu
	3230	3235	3240
	Gly Cys Gly Val Tyr Met Gly	Thr Ile Pro Ala Arg	Arg Leu Lys

## ES 2 321 210 T3

	3245	3250	3255
5	Ile His Pro Tyr Glu Ala Tyr	Leu Lys Leu Lys Glu	Leu Val Glu
	3260	3265	3270
	Val Glu Ser Ser Arg Ala Thr	Ala Lys Glu Ser Ile	Ile Arg Glu
	3275	3280	3285
10	His Asn Thr Trp Ile Leu Arg	Lys Val Arg His Glu	Gly Asn Leu
	3290	3295	3300
15	Arg Thr Lys Ser Met Ile Asn	Pro Gly Lys Ile Ser	Asp Gln Leu
	3305	3310	3315
20	Cys Arg Asp Gly His Lys Arg	Asn Ile Tyr Asn Lys	Ile Ile Gly
	3320	3325	3330
	Ser Thr Met Ala Ser Ala Gly	Ile Arg Leu Glu Lys	Leu Pro Val
	3335	3340	3345
25	Val Arg Ala Gln Thr Asp	Thr Thr Ser Phe His Gln	Ala Ile Arg
	3350	3355	3360
	Glu Lys Ile Asp Lys Thr	Glu Asn Lys Gln Thr Pro	Glu Leu His
	3365	3370	3375
30	Glu Glu Leu Met Lys Val Phe	Asp Cys Leu Lys Ile	Pro Glu Leu
	3380	3385	3390
35	Lys Glu Ser Tyr Asp Glu Val	Ser Trp Glu Gln Leu	Glu Ala Gly
	3395	3400	3405
40	Ile Asn Arg Lys Gly Ala Ala	Gly Tyr Leu Glu Ser	Lys Asn Ile
	3410	3415	3420
	Gly Glu Val Leu Asp Thr	Glu Lys His Ile Val Glu	Gln Leu Ile
	3425	3430	3435
45	Lys Asp Leu Arg Lys Gly Lys	Lys Ile Arg Tyr Tyr	Glu Thr Ala
	3440	3445	3450
50	Ile Pro Lys Asn Glu Lys Arg	Asp Val Ser Asp Asp	Trp Glu Ala
	3455	3460	3465
	Gly Glu Phe Val Asp Glu Lys	Lys Pro Arg Val Ile	Gln Tyr Pro
	3470	3475	3480
55	Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala	Ile Thr Lys Val Met	Tyr Lys Trp
	3485	3490	3495
60	Val Lys Gln Lys Pro Val Val	Ile Pro Gly Tyr Glu	Gly Lys Thr
	3500	3505	3510
	Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn	Lys Val Lys Lys Glu	Trp Asp Ser
	3515	3520	3525
65	Phe Gln Asp Pro Val Ala Val	Ser Phe Asp Thr Lys	Ala Trp Asp

## ES 2 321 210 T3

	3530	3535	3540
5	Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp	Leu Met Leu Ile Lys	Asp Ile Gln
	3545	3550	3555
	Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser	Ile His Lys Phe Leu	Asp Thr Ile
	3560	3565	3570
10	Thr Glu His Met Val Glu Val	Pro Val Ile Thr Ala	Asp Gly Glu
	3575	3580	3585
15	Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln	Arg Gly Ser Gly Gln	Pro Asp Thr
	3590	3595	3600
20	Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu	Asn Val Leu Thr Met	Ile Tyr Ala
	3605	3610	3615
	Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile	Pro Tyr Arg Gly Phe	Ser Arg Val
	3620	3625	3630
25	Ala Arg Ile His Val Cys Gly	Asp Asp Gly Phe Leu	Ile Thr Glu
	3635	3640	3645
30	Arg Gly Leu Gly Leu Lys Phe	Ser Glu Lys Gly Met	Gln Ile Leu
	3650	3655	3660
	His Glu Ala Gly Lys Pro Gln	Lys Ile Thr Glu Gly	Asp Lys Met
	3665	3670	3675
35	Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu	Asp Ile Glu Phe Cys	Ser His Thr
	3680	3685	3690
40	Pro Val Pro Val Arg Trp Ala	Asp Asn Thr Ser Ser	Tyr Met Ala
	3695	3700	3705
	Gly Arg Ser Thr Ala Thr Ile	Leu Ala Lys Met Ala	Thr Arg Leu
	3710	3715	3720
45	Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly	Ser Thr Ala Tyr Glu	Lys Ala Val
	3725	3730	3735
50	Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met	Tyr Ser Trp Asn Pro	Val Val Arg
	3740	3745	3750
	Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu	Ser Gln Phe Pro Glu	Ile Ser Pro
	3755	3760	3765
55	Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr	Tyr Gln Gly Asp Pro	Ile Ala Ala
	3770	3775	3780
60	Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys	Gln Leu Cys Glu Leu	Lys Arg Thr
	3785	3790	3795
	Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly	Leu Asn Leu Ser Met	Thr Thr Leu
	3800	3805	3810
65	Gly Ile Trp Thr Lys His Thr	Ser Lys Arg Leu Ile	Gln Ala Cys

# ES 2 321 210 T3

	3815	3820	3825
	Val Glu Ile Gly Lys Arg	Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn Ala Asp	
5	3830	3835	3840
	Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr	Gly Lys Phe Tyr Ile Pro Ser Thr	
	3845	3850	3855
10	Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn Leu Lys		
	3860	3865	3870
15	Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg Tyr Lys		
	3875	3880	3885
	Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg Val Met		
	3890	3895	3900
20	Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp		
	3905	3910	
25	<210> 8		
	<211> 3748		
	<212> PRT		
	<213> Secuencia Artificial: VDVB Mutado: XIKE-B-NdN		
30	<400> 8		
	Met Glu Leu Phe Ser Asp Glu Gly Ser Lys Gly Ala Thr Ser Lys Lys		
	1 5 10 15		
35	Gln Pro Lys Pro Asp Arg Ile Glu Lys Gly Lys Met Lys Ile Ala Pro		
	20 25 30		
40	Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro Asp Ala Thr Ile		
	35 40 45		
	Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys Gly Lys Val Arg		
45	50 55 60		
	Gly Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys Asn Lys Pro Pro		
	65 70 75 80		
50	Glu Ser Arg Lys Lys Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala Trp Ala Ile Leu		
	85 90 95		
55	Ala Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn Ile Thr Gln Trp		
	100 105 110		
	Asn Leu Met Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Gln Ala Met Phe Leu		
	115 120 125		
60	Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu His Gly Ile Trp Pro Glu Lys Ile Cys		
	130 135 140 140		
65	Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu Leu Lys Glu Ile		
	145 150 155 160		

# ES 2 321 210 T3

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

# ES 2 321 210 T3

	Thr	Thr	Thr	Val	Phe	Val	Ile	Glu	Glu	Ala	Gly	Gln	Val	Ile	Lys	Leu
465							470					475				480
5	Met	Leu	Arg	Ala	Ile	Arg	Asp	Leu	Thr	Arg	Ile	Trp	Asn	Ala	Ala	Thr
							485					490				495
10	Thr	Thr	Ala	Phe	Leu	Ile	Phe	Leu	Val	Lys	Ala	Leu	Arg	Gly	Gln	Leu
							500					505				510
15	Ile	Gln	Gly	Leu	Leu	Trp	Leu	Met	Leu	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Gly	Phe
							515					520				525
20	Pro	Glu	Cys	Lys	Glu	Gly	Phe	Gln	Tyr	Ala	Ile	Ser	Lys	Asp	Arg	Lys
							530					535				540
25	Met	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Glu	Ser	Leu	Thr	Thr	Thr	Trp	His	Leu	Pro
							545					555				560
30	Thr	Lys	Lys	Ile	Val	Asp	Ser	Met	Val	His	Val	Trp	Cys	Glu	Gly	Lys
							565					570				575
35	Asp	Leu	Lys	Ile	Leu	Lys	Met	Cys	Thr	Lys	Glu	Glu	Arg	Tyr	Leu	Val
							580					585				590
40	Ala	Val	His	Glu	Arg	Ala	Leu	Ser	Thr	Ser	Ala	Glu	Phe	Met	Gln	Ile
							595					600				605
45	Ser	Asp	Gly	Thr	Ile	Gly	Pro	Asp	Val	Ile	Asp	Met	Pro	Asp	Asp	Phe
							610					615				620
50	Glu	Phe	Gly	Leu	Cys	Pro	Cys	Asp	Ser	Lys	Pro	Val	Ile	Lys	Gly	Lys
							625					630				640
55	Phe	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Asn	Gly	Pro	Ala	Phe	Gln	Met	Val	Cys	Pro
							645					650				655
60	Gln	Gly	Trp	Thr	Gly	Thr	Ile	Glu	Cys	Thr	Leu	Ala	Asn	Gln	Asp	Thr
							660					665				670
65	Leu	Asp	Thr	Thr	Val	Ile	Arg	Thr	Tyr	Arg	Arg	Thr	Thr	Pro	Phe	Gln
							675					680				685
70	Arg	Arg	Lys	Trp	Cys	Thr	Tyr	Glu	Lys	Ile	Ile	Gly	Glu	Asp	Ile	Tyr
							690					695				700
75	Glu	Cys	Ile	Leu	Gly	Gly	Asn	Trp	Thr	Cys	Ile	Thr	Gly	Asp	His	Ser
							705					710				720
80	Arg	Leu	Lys	Asp	Gly	Pro	Ile	Lys	Cys	Lys	Trp	Cys	Gly	His	Asp	
							725					730				735
85	Phe	Val	Asn	Ser	Glu	Gly	Leu	Pro	His	Tyr	Pro	Ile	Gly	Lys	Cys	Met
							740					745				750
90	Leu	Ile	Asn	Glu	Ser	Gly	Tyr	Arg	Tyr	Val	Asp	Asp	Thr	Ser	Cys	Asp
							755					760				765

# ES 2 321 210 T3

	Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val Lys Cys Arg Ile			
	770	775	780	
5	Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn Asp Leu Gly Pro			
	785	790	795	800
10	Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu Gly Pro Val Glu			
	805	810	815	
	Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu Pro Asn Lys Tyr			
	820	825	830	
15	Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly Glu			
	835	840	845	
20	Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val Asp His His Lys Asp Tyr			
	850	855	860	
	Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ala Val Val Ala Leu Leu Gly Gly Lys			
	865	870	875	880
25	Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln Met			
	885	890	895	
30	Ala Met Gly Ala Gly Val Asn Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly Asn			
	900	905	910	
	Leu Leu Thr Asp Ser Asp Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu Leu			
	915	920	925	
35	Tyr Leu Ile Val Lys Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu Val			
	930	935	940	
40	Tyr His Ile Leu Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val Leu			
	945	950	955	960
	Leu Met Leu Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp Asp			
45	965	970	975	
	Gln Ser Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val Ala			
	980	985	990	
50	Val Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile Val			
	995	1000	1005	
	Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala Ser			
55	1010	1015	1020	
	Ile Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu Ala			
	1025	1030	1035	
60	Ser Tyr Ile Thr Asp Tyr Phe Arg Tyr Lys Lys Trp Leu Gln Leu			
	1040	1045	1050	
65	Leu Phe Ser Leu Ile Ala Gly Ile Phe Ile Ile Arg Ser Leu Lys			
	1055	1060	1065	

# ES 2 321 210 T3

	His	Ile	Asn	Gln	Met	Glu	Val	Pro	Glu	Ile	Ser	Met	Pro	Ser	Trp
	1070					1075						1080			
5	Arg	Pro	Leu	Ala	Leu	Val	Leu	Phe	Tyr	Ile	Thr	Ser	Thr	Ala	Ile
	1085					1090						1095			
10	Thr	Thr	Asn	Trp	Asp	Ile	Asp	Leu	Ala	Gly	Phe	Leu	Leu	Gln	Trp
	1100					1105						1110			
	Ala	Pro	Ala	Val	Ile	Met	Met	Ala	Thr	Met	Trp	Ala	Asp	Phe	Leu
	1115					1120						1125			
15	Thr	Leu	Ile	Ile	Val	Leu	Pro	Ser	Tyr	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Tyr
	1130					1135						1140			
20	Phe	Leu	Lys	Asn	Val	Arg	Thr	Asp	Val	Glu	Lys	Asn	Trp	Leu	Gly
	1145					1150						1155			
	Lys	Val	Lys	Tyr	Arg	Gln	Ile	Ser	Ser	Val	Tyr	Asp	Ile	Cys	Asp
	1160					1165						1170			
25	Ser	Glu	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Phe	Pro	Ser	Arg	His	Lys	Ser	Gly
	1175					1180						1185			
30	Ser	Arg	Pro	Asp	Phe	Ile	Leu	Pro	Phe	Leu	Lys	Ala	Val	Leu	Ile
	1190					1195						1200			
	Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Gln	Trp	Gln	Val	Val	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Leu
	1205					1210						1215			
35	Ile	Leu	Glu	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Met	His	Arg	Lys	Ile	Ile	Asp	Glu
	1220					1225						1230			
40	Val	Ser	Gly	Gly	Ala	Asn	Phe	Leu	Ser	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Ile
	1235					1240						1245			
	Ile	Glu	Leu	Asn	Trp	Ala	Ile	Asp	Asp	Glu	Glu	Cys	Lys	Gly	Leu
	1250					1255						1260			
45	Lys	Lys	Leu	Tyr	Leu	Leu	Ser	Gly	Arg	Ala	Lys	Asn	Leu	Ile	Val
	1265					1270						1275			
50	Lys	His	Lys	Val	Arg	Asn	Glu	Ala	Val	His	Arg	Trp	Phe	Gly	Glu
	1280					1285						1290			
	Glu	Glu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Pro	Lys	Val	Ile	Thr	Ile	Ile	Lys	Ala
	1295					1300						1305			
55	Ser	Thr	Leu	Ser	Lys	Asn	Arg	His	Cys	Ile	Ile	Cys	Thr	Ile	Cys
	1310					1315						1320			
60	Glu	Gly	Lys	Glu	Trp	Asn	Gly	Ala	Asn	Cys	Pro	Lys	Cys	Gly	Arg
	1325					1330						1335			
65	Gln	Gly	Lys	Pro	Ile	Thr	Cys	Gly	Met	Thr	Leu	Ala	Asp	Phe	Glu
	1340					1345						1350			

# ES 2 321 210 T3

	Glu	Lys	His	Tyr	Lys	Lys	Ile	Phe	Ile	Arg	Glu	Glu	Ser	Ser	Cys
	1355						1360				1365				
5	Pro	Val	Pro	Phe	Asp	Pro	Ser	Cys	His	Cys	Asn	Tyr	Phe	Arg	His
	1370						1375					1380			
10	Asp	Gly	Pro	Phe	Arg	Lys	Glu	Tyr	Lys	Gly	Tyr	Val	Gln	Tyr	Thr
	1385						1390					1395			
15	Ala	Arg	Gly	Gln	Leu	Phe	Leu	Arg	Asn	Leu	Pro	Ile	Leu	Ala	Thr
	1400						1405					1410			
20	Lys	Met	Lys	Leu	Leu	Met	Val	Gly	Asn	Leu	Gly	Ala	Glu	Ile	Gly
	1415						1420					1425			
25	Asp	Leu	Glu	His	Leu	Gly	Trp	Val	Leu	Arg	Gly	Pro	Ala	Val	Cys
	1430						1435					1440			
30	Lys	Lys	Ile	Thr	Asn	His	Glu	Lys	Cys	His	Val	Asn	Ile	Met	Asp
	1445						1450					1455			
35	Lys	Leu	Thr	Ala	Phe	Phe	Gly	Ile	Met	Pro	Arg	Gly	Thr	Thr	Pro
	1460						1465					1470			
40	Arg	Ala	Pro	Val	Arg	Phe	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Arg	Arg
	1475						1480					1485			
45	Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Trp	Ala	Tyr	Thr	His	Gln	Gly	Gly	Ile	Ser
	1490						1495					1500			
50	Ser	Val	Asp	His	Val	Thr	Ala	Gly	Lys	Asp	Leu	Leu	Val	Cys	Asp
	1505						1510					1515			
55	Ser	Met	Gly	Arg	Thr	Arg	Val	Val	Cys	His	Ser	Asn	Asn	Lys	Met
	1520						1525					1530			
60	Thr	Asp	Glu	Thr	Glu	Tyr	Gly	Ile	Lys	Thr	Asp	Ser	Gly	Cys	Pro
	1535						1540					1545			
65	Glu	Gly	Ala	Arg	Cys	Tyr	Val	Leu	Asn	Pro	Glu	Ala	Val	Asn	Ile
	1550						1555					1560			
70	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Ala	Met	Val	His	Leu	Gln	Lys	Thr	Gly	Gly
	1565						1570					1575			
75	Glu	Phe	Thr	Cys	Val	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Ala	Phe	Phe	Asp
	1580						1585					1590			
80	Leu	Lys	Asn	Leu	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Leu	Pro	Ile	Phe	Glu	Ala
	1595						1600					1605			
85	Ser	Ser	Gly	Arg	Val	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Val	Gly	Lys	Asn	Glu
	1610						1615					1620			
90	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Lys	Leu	Met	Ser	Gly	Ile	Gln	Thr	Val	Ser
	1625						1630					1635			

# ES 2 321 210 T3

	Lys	Asn	Gln	Thr	Asp	Leu	Ala	Asp	Ile	Val	Lys	Lys	Leu	Thr	Ser
	1640					1645					1650				
5	Met	Asn	Arg	Gly	Glu	Phe	Lys	Gln	Ile	Thr	Leu	Ala	Thr	Gly	Ala
	1655						1660					1665			
10	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Leu	Pro	Arg	Ser	Val	Ile	Glu	Glu	Ile	Gly
	1670						1675					1680			
15	Arg	His	Lys	Arg	Val	Leu	Val	Leu	Ile	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Ala
	1685						1690					1695			
20	Glu	Ser	Val	Tyr	Gln	Tyr	Met	Arg	Val	Lys	Tyr	Pro	Ser	Ile	Ser
	1700						1705					1710			
25	Phe	Asn	Leu	Arg	Ile	Gly	Asp	Met	Lys	Glu	Gly	Asp	Met	Ala	Thr
	1715						1720					1725			
30	Gly	Ile	Thr	Tyr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Cys	Gln	Leu	Pro	Gln
	1730						1735					1740			
35	Pro	Lys	Leu	Arg	Ala	Ala	Met	Val	Glu	Tyr	Ser	Tyr	Ile	Phe	Leu
	1745						1750					1755			
40	Asp	Glu	Tyr	His	Cys	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Leu	Ala	Ile	Ile	Gly
	1760						1765					1770			
45	Lys	Ile	His	Arg	Phe	Ala	Glu	Asn	Leu	Arg	Val	Val	Ala	Met	Thr
	1775						1780					1785			
50	Ala	Thr	Pro	Ala	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Thr	Gly	Gln	Lys	His	Pro
	1790						1795					1800			
55	Ile	Glu	Glu	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu	Val	Met	Lys	Gly	Glu	Asp	Leu
	1805						1810					1815			
60	Gly	Ser	Glu	Tyr	Leu	Asp	Ile	Ala	Gly	Leu	Lys	Ile	Pro	Thr	Glu
	1820						1825					1830			
65	Glu	Met	Lys	Gly	Asn	Met	Leu	Val	Phe	Ala	Pro	Thr	Arg	Asn	Met
	1835						1840					1845			
70	Ala	Val	Glu	Thr	Ala	Lys	Lys	Leu	Lys	Ala	Lys	Gly	Tyr	Asn	Ser
	1850						1855					1860			
75	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Glu	Asn	Pro	Glu	Asn	Leu	Arg	Val	Val
	1865						1870					1875			
80	Thr	Ser	Gln	Ser	Pro	Tyr	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asn	Ala	Ile	Glu
	1880						1885					1890			
85	Ser	Gly	Val	Thr	Leu	Pro	Asp	Leu	Asp	Thr	Val	Val	Asp	Thr	Gly
	1895						1900					1905			
90	Leu	Lys	Cys	Glu	Lys	Arg	Val	Arg	Ile	Ser	Ser	Lys	Met	Pro	Phe
	1910						1915					1920			

### ES 2 321 210 T3

	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Lys	Arg	Met	Ala	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Gln
	1925						1930					1935			
5	Ala	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Pro	Gly	Arg	Tyr
	1940						1945					1950			
10	Tyr	Arg	Ser	Gln	Glu	Thr	Ala	Ser	Gly	Ser	Lys	Asp	Tyr	His	Tyr
	1955						1960					1965			
15	Asp	Leu	Leu	Gln	Ala	Gln	Arg	Tyr	Gly	Ile	Glu	Asp	Gly	Ile	Asn
	1970						1975					1980			
20	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Arg	Glu	Met	Asn	Tyr	Asp	Trp	Ser	Leu	Tyr
	1985						1990					1995			
25	Glu	Glu	Asp	Ser	Leu	Met	Ile	Thr	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Asn	Asn
	2000						2005					2010			
30	Leu	Leu	Ile	Ser	Glu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ala	Val	Lys	Asn	Ile	Met
	2015						2020					2025			
35	Ala	Arg	Thr	Asp	His	Pro	Glu	Pro	Ile	Gln	Leu	Ala	Tyr	Asn	Ser
	2030						2035					2040			
40	Tyr	Glu	Asn	Gln	Ile	Pro	Val	Leu	Phe	Pro	Lys	Ile	Lys	Asn	Gly
	2045						2050					2055			
45	Glu	Val	Thr	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asn	Tyr	Thr	Tyr	Leu	Asn	Ala	Arg
	2060						2065					2070			
50	Lys	Leu	Gly	Glu	Asp	Val	Pro	Ala	Tyr	Val	Tyr	Ala	Thr	Glu	Asp
	2075						2080					2085			
55	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Met	Asp	Trp	Pro	Asp	Pro
	2090						2095					2100			
60	Gly	Asn	Gln	Gln	Val	Val	Glu	Thr	Gly	Arg	Ala	Leu	Lys	Gln	Val
	2105						2110					2115			
65	Thr	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Glu	Asn	Ala	Leu	Leu	Ile	Ala	Leu	Phe
	2120						2125					2130			
70	Gly	Tyr	Val	Gly	Tyr	Gln	Thr	Leu	Ser	Lys	Arg	His	Ile	Pro	Met
	2135						2140					2145			
75	Ile	Thr	Asp	Ile	Tyr	Thr	Leu	Glu	Asp	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Thr
	2150						2155					2160			
80	Thr	His	Leu	Gln	Phe	Ala	Pro	Asn	Ala	Ile	Arg	Thr	Asp	Gly	Lys
	2165						2170					2175			
85	Asp	Ser	Glu	Leu	Lys	Glu	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Leu	Asp	Lys	Tyr
	2180						2185					2190			
90	Val	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Tyr	Ser	Lys	Gln	Gly	Met	Lys	Phe	Ile
	2195						2200					2205			

# ES 2 321 210 T3

	Lys	Val	Gln	Ala	Glu	Lys	Val	Arg	Asp	Ser	Gln	Ser	Thr	Lys	Glu
	2210					2215						2220			
5	Gly	Leu	Gln	Thr	Ile	Lys	Glu	Tyr	Val	Asp	Lys	Phe	Ile	Gln	Ser
	2225					2230						2235			
10	Leu	Thr	Glu	Asn	Lys	Glu	Glu	Ile	Ile	Arg	Tyr	Gly	Leu	Trp	Gly
	2240					2245						2250			
15	Val	His	Thr	Ala	Leu	Tyr	Lys	Ser	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Gly	His
	2255					2260						2265			
20	Glu	Thr	Ala	Phe	Ala	Thr	Leu	Val	Val	Lys	Trp	Leu	Ala	Phe	Gly
	2270					2275						2280			
25	Gly	Glu	Thr	Val	Ser	Ala	His	Ile	Lys	Gln	Val	Ala	Val	Asp	Leu
	2285					2290						2295			
30	Val	Val	Tyr	Tyr	Ile	Ile	Asn	Lys	Pro	Ser	Phe	Pro	Gly	Asp	Thr
	2300					2305						2310			
35	Glu	Thr	Gln	Gln	Glu	Gly	Arg	Arg	Phe	Val	Ala	Ser	Leu	Phe	Ile
	2315					2320						2325			
40	Ser	Ala	Leu	Ala	Thr	Tyr	Thr	Tyr	Lys	Thr	Trp	Asn	Tyr	Asn	Asn
	2330					2335						2340			
45	Leu	Gln	Arg	Val	Val	Glu	Pro	Ala	Leu	Ala	Tyr	Leu	Pro	Tyr	Ala
	2345					2350						2355			
50	Thr	Ser	Ala	Leu	Lys	Leu	Phe	Thr	Pro	Thr	Arg	Leu	Glu	Ser	Val
	2360					2365						2370			
55	Val	Ile	Leu	Ser	Ser	Thr	Ile	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Leu	Ser	Ile	Arg
	2375					2380						2385			
60	Lys	Gly	Lys	Ser	Asp	Gly	Leu	Leu	Gly	Thr	Gly	Ile	Ser	Ala	Ala
	2390					2395						2400			
65	Met	Glu	Ile	Leu	Asn	Gln	Asn	Pro	Ile	Ser	Val	Gly	Ile	Ser	Val
	2405					2410						2415			
70	Met	Leu	Gly	Val	Gly	Ala	Ile	Ala	Ala	His	Asn	Ala	Ile	Glu	Ser
	2420					2425						2430			
75	Ser	Glu	Gln	Lys	Arg	Thr	Leu	Leu	Met	Lys	Val	Phe	Val	Lys	Asn
	2435					2440						2445			
80	Phe	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	Thr	Asp	Glu	Leu	Val	Lys	Glu	Asn	Pro
	2450					2455						2460			
85	Glu	Lys	Ile	Ile	Met	Ala	Leu	Phe	Glu	Ala	Val	Gln	Thr	Ile	Gly
	2465					2470						2475			
90	Asn	Pro	Leu	Arg	Leu	Ile	Tyr	His	Leu	Tyr	Gly	Val	Tyr	Tyr	Lys
	2480					2485						2490			

### ES 2 321 210 T3

	Gly	Trp	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Ala	Glu	Lys	Thr	Ala	Gly	Arg	Asn
	2495					2500						2505			
5	Leu	Phe	Thr	Leu	Ile	Met	Phe	Glu	Ala	Phe	Glu	Leu	Leu	Gly	Met
	2510						2515					2520			
10	Asp	Ser	Glu	Gly	Lys	Ile	Arg	Asn	Leu	Ser	Gly	Asn	Tyr	Ile	Leu
	2525						2530					2535			
15	Asp	Leu	Ile	Phe	Asn	Leu	His	Asn	Lys	Leu	Asn	Lys	Gly	Leu	Lys
	2540						2545					2550			
20	Lys	Leu	Val	Leu	Gly	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Leu	Ser	Cys	Asp	Trp
	2555						2560					2565			
25	Thr	Pro	Ser	Asp	Glu	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	His	Asn	Asn	Tyr	Leu
	2570						2575					2580			
30	Arg	Val	Glu	Thr	Arg	Cys	Pro	Cys	Gly	Tyr	Glu	Met	Lys	Ala	Ile
	2585						2590					2595			
35	Lys	Asn	Val	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Lys	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser
	2600						2605					2610			
40	Phe	Leu	Cys	Arg	Asn	Arg	Leu	Gly	Arg	Gly	Pro	Pro	Asn	Phe	Lys
	2615						2620					2625			
45	Val	Thr	Lys	Phe	Tyr	Asp	Asp	Asn	Leu	Ile	Glu	Val	Lys	Pro	Val
	2630						2635					2640			
50	Ala	Arg	Leu	Glu	Gly	Gln	Val	Asp	Leu	Tyr	Tyr	Lys	Gly	Val	Thr
	2645						2650					2655			
55	Ala	Lys	Leu	Asp	Tyr	Asn	Asn	Gly	Lys	Val	Leu	Leu	Ala	Thr	Asn
	2660						2665					2670			
60	Lys	Trp	Glu	Val	Asp	His	Ala	Phe	Leu	Thr	Arg	Leu	Val	Lys	Lys
	2675						2680					2685			
65	His	Thr	Gly	Ile	Gly	Phe	Lys	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gly	Asp	Arg	Pro
	2690						2695					2700			
70	Asp	His	Gln	Asp	Leu	Val	Asp	Arg	Asp	Cys	Ala	Thr	Ile	Thr	Lys
	2705						2710					2715			
75	Asn	Ser	Val	Gln	Phe	Leu	Lys	Met	Lys	Lys	Gly	Cys	Ala	Phe	Thr
	2720						2725					2730			
80	Tyr	Asp	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Val	Arg	Leu	Ile	Glu	Leu	Val
	2735						2740					2745			
85	His	Lys	Asn	Asn	Leu	Gln	Glu	Arg	Glu	Ile	Pro	Thr	Val	Thr	Val
	2750						2755					2760			
90	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	Tyr	Ser	Phe	Val	Asn	Glu	Asp	Leu	Gly	Thr
	2765						2770					2775			

### ES 2 321 210 T3

	Ile	Lys	Pro	Val	Leu	Gly	Glu	Lys	Val	Ile	Pro	Glu	Pro	Pro	Glu
	2780						2785					2790			
5	Glu	Leu	Ser	Leu	Gln	Pro	Thr	Val	Arg	Leu	Val	Thr	Thr	Glu	Thr
	2795						2800					2805			
10	Ala	Ile	Thr	Ile	Thr	Gly	Glu	Ala	Glu	Val	Met	Thr	Thr	Gly	Ile
	2810						2815					2820			
15	Thr	Pro	Val	Val	Glu	Met	Lys	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Asp	His	Gln
	2825						2830					2835			
20	Ser	Thr	Thr	Leu	Lys	Val	Gly	Leu	Lys	Glu	Gly	Glu	Tyr	Pro	Gly
	2840						2845					2850			
25	Pro	Gly	Val	Asn	Pro	Asn	His	Leu	Ala	Glu	Val	Ile	Asp	Glu	Lys
	2855						2860					2865			
30	Asp	Asp	Arg	Pro	Phe	Val	Leu	Ile	Ile	Gly	Asn	Lys	Gly	Ser	Thr
	2870						2875					2880			
35	Ser	Asn	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asn	Ile	Arg	Leu	Tyr	Lys	Gly
	2885						2890					2895			
40	Asn	Asn	Pro	Arg	Glu	Ile	Arg	Asp	Leu	Met	Ser	Gln	Gly	Arg	Ile
	2900						2905					2910			
45	Leu	Thr	Val	Ala	Leu	Lys	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Leu	Lys	Glu	Leu
	2915						2920					2925			
50	Val	Asp	Tyr	Lys	Gly	Thr	Phe	Leu	Asn	Arg	Glu	Ala	Leu	Glu	Ala
	2930						2935					2940			
55	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Pro	Ile	Lys	Arg	Lys	Thr	Thr	Ala	Met	
	2945						2950					2955			
60	Ile	Arg	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Leu	Pro	Asp
	2960						2965					2970			
65	Trp	Phe	Gln	Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Ala	Lys	Ile	Gln
	2975						2980					2985			
70	Asn	Asp	Leu	Tyr	His	Leu	Ile	Gly	Ser	Val	Asp	Ser	Ile	Lys	Ser
	2990						2995					3000			
75	Lys	Ala	Lys	Glu	Leu	Gly	Ala	Thr	Asp	Asn	Thr	Lys	Ile	Val	Lys
	3005						3010					3015			
80	Glu	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Tyr	Thr	Met	Lys	Leu	Ser	Ser	Trp	Ser
	3020						3025					3030			
85	Thr	Gln	Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Met	Ser	Leu	Ala	Pro	Leu	Phe	Glu
	3035						3040					3045			
90	Glu	Leu	Leu	Leu	Lys	Cys	Pro	Pro	Cys	Ser	Lys	Ile	Ser	Lys	Gly
	3050						3055					3060			

### ES 2 321 210 T3

	His	Met	Val	Ser	Ala	Tyr	Gln	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Trp	Glu	Pro
	3065						3070						3075		
5	Leu	Gly	Cys	Gly	Val	Tyr	Met	Gly	Thr	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Leu
	3080						3085						3090		
10	Lys	Ile	His	Pro	Tyr	Glu	Ala	Tyr	Leu	Lys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val
	3095						3100						3105		
	Glu	Val	Glu	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Ala	Lys	Glu	Ser	Ile	Ile	Arg
	3110						3115						3120		
15	Glu	His	Asn	Thr	Trp	Ile	Leu	Arg	Lys	Val	Arg	His	Glu	Gly	Asn
	3125						3130						3135		
20	Leu	Arg	Thr	Lys	Ser	Met	Ile	Asn	Pro	Gly	Lys	Ile	Ser	Asp	Gln
	3140						3145						3150		
	Leu	Cys	Arg	Asp	Gly	His	Lys	Arg	Asn	Ile	Tyr	Asn	Lys	Ile	Ile
	3155						3160						3165		
25	Gly	Ser	Thr	Met	Ala	Ser	Ala	Gly	Ile	Arg	Leu	Glu	Lys	Leu	Pro
	3170						3175						3180		
30	Val	Val	Arg	Ala	Gln	Thr	Asp	Thr	Thr	Ser	Phe	His	Gln	Ala	Ile
	3185						3190						3195		
	Arg	Glu	Lys	Ile	Asp	Lys	Thr	Glu	Asn	Lys	Gln	Thr	Pro	Glu	Leu
	3200						3205						3210		
35	His	Glu	Glu	Leu	Met	Lys	Val	Phe	Asp	Cys	Leu	Lys	Ile	Pro	Glu
	3215						3220						3225		
40	Leu	Lys	Glu	Ser	Tyr	Asp	Glu	Val	Ser	Trp	Glu	Gln	Leu	Glu	Ala
	3230						3235						3240		
	Gly	Ile	Asn	Arg	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Tyr	Leu	Glu	Ser	Lys	Asn
	3245						3250						3255		
45	Ile	Gly	Glu	Val	Leu	Asp	Thr	Glu	Lys	His	Ile	Val	Glu	Gln	Leu
	3260						3265						3270		
50	Ile	Lys	Asp	Leu	Arg	Lys	Gly	Lys	Lys	Ile	Arg	Tyr	Tyr	Glu	Thr
	3275						3280						3285		
55	Ala	Ile	Pro	Lys	Asn	Glu	Lys	Arg	Asp	Val	Ser	Asp	Asp	Trp	Glu
	3290						3295						3300		
60	Ala	Gly	Glu	Phe	Val	Asp	Glu	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Ile	Gln	Tyr
	3305						3310						3315		
	Pro	Asp	Ala	Lys	Val	Arg	Leu	Ala	Ile	Thr	Lys	Val	Met	Tyr	Lys
	3320						3325						3330		
65	Trp	Val	Lys	Gln	Lys	Pro	Val	Val	Ile	Pro	Gly	Tyr	Glu	Gly	Lys
	3335						3340						3345		

### ES 2 321 210 T3

	Thr	Pro	Leu	Phe	Asp	Ile	Phe	Asn	Lys	Val	Lys	Lys	Glu	Trp	Asp
	3350						3355					3360			
5	Ser	Phe	Gln	Asp	Pro	Val	Ala	Val	Ser	Phe	Asp	Thr	Lys	Ala	Trp
	3365						3370					3375			
10	Asp	Thr	Gln	Val	Thr	Ser	Arg	Asp	Leu	Met	Leu	Ile	Lys	Asp	Ile
	3380						3385					3390			
15	Gln	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Lys	Arg	Ser	Ile	His	Lys	Phe	Leu	Asp	Thr
	3395						3400					3405			
20	Ile	Thr	Glu	His	Met	Val	Glu	Val	Pro	Val	Ile	Thr	Ala	Asp	Gly
	3410						3415					3420			
25	Glu	Val	Tyr	Ile	Arg	Asn	Gly	Gln	Arg	Gly	Ser	Gly	Gln	Pro	Asp
	3425						3430					3435			
30	Thr	Ser	Ala	Gly	Asn	Ser	Met	Leu	Asn	Val	Leu	Thr	Met	Ile	Tyr
	3440						3445					3450			
35	Ala	Phe	Cys	Lys	Ser	Thr	Gly	Ile	Pro	Tyr	Arg	Gly	Phe	Ser	Arg
	3455						3460					3465			
40	Val	Ala	Arg	Ile	His	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Gly	Phe	Leu	Ile	Thr
	3470						3475					3480			
45	Glu	Arg	Gly	Leu	Gly	Leu	Lys	Phe	Ser	Glu	Lys	Gly	Met	Gln	Ile
	3485						3490					3495			
50	Leu	His	Glu	Ala	Gly	Lys	Pro	Gln	Lys	Ile	Thr	Glu	Gly	Asp	Lys
	3500						3505					3510			
55	Met	Lys	Val	Ala	Tyr	Arg	Phe	Glu	Asp	Ile	Glu	Phe	Cys	Ser	His
	3515						3520					3525			
60	Thr	Pro	Val	Pro	Val	Arg	Trp	Ala	Asp	Asn	Thr	Ser	Ser	Tyr	Met
	3530						3535					3540			
65	Ala	Gly	Arg	Ser	Thr	Ala	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys	Met	Ala	Thr	Arg
	3545						3550					3555			
70	Leu	Asp	Ser	Ser	Gly	Glu	Arg	Gly	Ser	Thr	Ala	Tyr	Glu	Lys	Ala
	3560						3565					3570			
75	Val	Ala	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Met	Tyr	Ser	Trp	Asn	Pro	Val	Val
	3575						3580					3585			
80	Arg	Arg	Ile	Cys	Leu	Leu	Val	Leu	Ser	Gln	Phe	Pro	Glu	Ile	Ser
	3590						3595					3600			
85	Pro	Ser	Lys	Asn	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Tyr	Gln	Gly	Asp	Pro	Ile	Ala
	3605						3610					3615			
90	Ala	Tyr	Arg	Glu	Val	Ile	Gly	Lys	Gln	Leu	Cys	Glu	Leu	Lys	Arg
	3620						3625					3630			

# ES 2 321 210 T3

	Thr	Gly	Phe	Glu	Lys	Leu	Ala	Gly	Leu	Asn	Leu	Ser	Met	Thr	Thr	
	3635					3640							3645			
5	Leu	Gly	Ile	Trp	Thr	Lys	His	Thr	Ser	Lys	Arg	Leu	Ile	Gln	Ala	
	3650					3655						3660				
10	Cys	Val	Glu	Ile	Gly	Lys	Arg	Glu	Gly	Thr	Trp	Leu	Val	Asn	Ala	
	3665					3670						3675				
15	Asp	Arg	Leu	Ile	Ala	Gly	Lys	Thr	Gly	Lys	Phe	Tyr	Ile	Pro	Ser	
	3680					3685						3690				
20	Thr	Gly	Val	Thr	Leu	Leu	Gly	Lys	His	Tyr	Glu	Glu	Ile	Asn	Leu	
	3695					3700						3705				
25	Lys	Gln	Lys	Ala	Ala	Gln	Pro	Pro	Ile	Glu	Gly	Val	Asp	Arg	Tyr	
	3710					3715						3720				
	Lys	Leu	Gly	Pro	Ile	Val	Asn	Val	Ile	Leu	Arg	Arg	Leu	Arg	Val	
	3725					3730						3735				
30	Met	Leu	Met	Thr	Val	Ala	Ser	Gly	Ser	Trp						
	3740					3745										
	<210> 9															
	<211> 3913															
	<212> PRT															
	<213> Secuencia Artificial: Secuencia XIKE-C de BVDV															
35	<400> 9															
	Met	Glu	Leu	Phe	Ser	Asn	Glu	Leu	Leu	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Lys	Gln	Lys
40	1			5						10				15		
	Pro	Ala	Gly	Val	Val	Glu	Pro	Val	Tyr	Asp	Val	Asn	Gly	Arg	Pro	Leu
	20					25							30			
45	Phe	Gly	Glu	Ser	Ser	Asp	Leu	His	Pro	Gln	Ser	Thr	Leu	Lys	Leu	Pro
	35					40							45			
50	His	Gln	Arg	Gly	Ser	Ala	Asn	Ile	Leu	Thr	Asn	Ala	Arg	Ser	Leu	Pro
	50					55						60				
	Arg	Lys	Gly	Asp	Cys	Arg	Arg	Gly	Asn	Val	Tyr	Gly	Pro	Val	Ser	Gly
	65					70					75			80		
55	Ile	Tyr	Ile	Lys	Pro	Gly	Pro	Ile	Tyr	Tyr	Gln	Asp	Tyr	Val	Gly	Pro
	85							90					95			
60	Val	Tyr	His	Arg	Ala	Pro	Leu	Glu	Leu	Cys	Arg	Glu	Ala	Ser	Met	Cys
	100						105						110			
	Glu	Thr	Thr	Arg	Arg	Val	Gly	Arg	Val	Thr	Gly	Ser	Asp	Gly	Lys	Leu
	115					120						125				

### ES 2 321 210 T3

	Tyr His Ile Tyr Ile Cys Ile Asp Gly Cys Ile Leu Leu Lys Arg Ala			
	130	135	140	
5	Thr Arg Asn Gln Pro Glu Val Leu Lys Trp Val Tyr Asn Arg Leu Asn			
	145	150	155	160
10	Cys Pro Leu Trp Val Thr Ser Cys Ser Asp Glu Gly Ser Lys Gly Ala			
	165	170	175	
	Thr Ser Lys Lys Gln Pro Lys Pro Asp Arg Ile Glu Lys Gly Lys Met			
	180	185	190	
15	Lys Ile Ala Pro Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys Lys Thr Arg Pro Pro			
	195	200	205	
20	Asp Ala Thr Ile Val Val Glu Gly Val Lys Tyr Gln Val Lys Lys Lys			
	210	215	220	
	Gly Lys Val Arg Gly Lys Asn Thr Gln Asp Gly Leu Tyr His Asn Lys			
25	225	230	235	240
	Asn Lys Pro Pro Glu Ser Arg Lys Lys Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala			
	245	250	255	
30	Trp Ala Ile Leu Ala Ala Val Leu Leu Gln Leu Val Thr Gly Glu Asn			
	260	265	270	
	Ile Thr Gln Trp Asn Leu Met Asp Asn Gly Thr Glu Gly Ile Gln Gln			
35	275	280	285	
	Ala Met Phe Leu Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu Leu Gly Ile Trp Pro			
	290	295	300	
40	Glu Lys Ile Cys Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu			
	305	310	315	320
	Leu Lys Glu Ile Val Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr			
45	325	330	335	
	Thr Cys Cys Arg Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys His Gly Trp Cys			
	340	345	350	
50	Asn Trp Phe His Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln			
	355	360	365	
	Asn Asn Leu Thr Glu Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys			
55	370	375	380	
	Arg Tyr Asp Lys Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp			
60	385	390	395	400
	Arg Pro Thr Thr Leu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe			
	405	410	415	
65	Ala Gly Val Ile Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu			
	420	425	430	

# ES 2 321 210 T3

	Asp Val Leu Phe Lys Glu His Asp Cys Gly Asn Met Leu Gln Glu Thr			
	435	440	445	
5	Ala Ile Gln Leu Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg			
	450	455	460	
10	Val Gly Thr Ala Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile			
	465	470	475	480
	Leu Gly Lys Lys Leu Glu Asn Lys Ser Lys Ala Trp Phe Gly Ala His			
	485	490	495	
15	Ala Ala Ser Pro Tyr Cys Gly Val Glu Arg Lys Ile Gly Tyr Val Trp			
	500	505	510	
20	Tyr Thr Lys Asn Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg Ile			
	515	520	525	
	Ile Gly Pro Gly Lys Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu			
	530	535	540	
25	His Glu Met Gly Gly His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val			
	545	550	555	560
30	Val Leu Ser Asp Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val			
	565	570	575	
	Leu His Phe Ala Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp			
	580	585	590	
35	Lys Asn Gln Leu Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile			
	595	600	605	
40	Pro Gly Thr Val Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp			
	610	615	620	
45	Trp Trp Pro Tyr Glu Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly			
	625	630	635	640
	Gln Val Ile Lys Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile			
	645	650	655	
50	Trp Asn Ala Ala Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala			
	660	665	670	
55	Leu Arg Gly Gln Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr			
	675	680	685	
	Gly Ala Gln Gly Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile			
	690	695	700	
60	Ser Lys Asp Arg Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr			
	705	710	715	720
65	Thr Trp His Leu Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val			
	725	730	735	

# ES 2 321 210 T3

	Trp Cys Glu Gly Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu			
	740	745	750	
5	Glu Arg Tyr Leu Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala			
	755	760	765	
10	Glu Phe Met Gln Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp			
	770	775	780	
	Met Pro Asp Asp Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro			
	785	790	795	800
15	Val Ile Lys Gly Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe			
	805	810	815	
20	Gln Met Val Cys Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu			
	820	825	830	
	Ala Asn Gln Asp Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg			
	835	840	845	
25	Thr Thr Pro Phe Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile			
	850	855	860	
30	Gly Glu Asp Ile Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile			
	865	870	875	880
	Thr Gly Asp His Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys			
	885	890	895	
35	Trp Cys Gly His Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro			
	900	905	910	
40	Ile Gly Lys Cys Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp			
	915	920	925	
	Asp Thr Ser Cys Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr			
45	930	935	940	
	Val Lys Cys Arg Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn			
	945	950	955	960
50	Asn Asp Leu Gly Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser			
	965	970	975	
55	Glu Gly Pro Val Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr			
	980	985	990	
	Leu Pro Asn Lys Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr			
	995	1000	1005	
60	Met Leu Lys Gly Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val			
	1010	1015	1020	
65	Asp His His Lys Asp Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ile Ala Val			
	1025	1030	1035	

### ES 2 321 210 T3

	Val	Ala	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Tyr	Val	Leu	Trp	Leu	Leu	Ile	Thr
	1040						1045					1050			
5	Tyr	Thr	Ile	Leu	Ser	Glu	Gln	Met	Ala	Met	Gly	Ala	Gly	Val	Asn
	1055						1060					1065			
10	Thr	Glu	Glu	Ile	Val	Met	Ile	Gly	Asn	Leu	Leu	Thr	Asp	Ser	Asp
	1070						1075					1080			
15	Ile	Glu	Val	Val	Val	Tyr	Phe	Leu	Leu	Leu	Tyr	Leu	Ile	Val	Lys
	1085						1090					1095			
20	Glu	Glu	Leu	Ala	Arg	Lys	Trp	Ile	Ile	Leu	Val	Tyr	His	Ile	Leu
	1100						1105					1110			
25	Val	Ala	Asn	Pro	Met	Lys	Thr	Ile	Gly	Val	Val	Leu	Leu	Met	Leu
	1115						1120					1125			
30	Gly	Gly	Val	Val	Lys	Ala	Ser	Arg	Ile	Asn	Ala	Asp	Asp	Gln	Ser
	1130						1135					1140			
35	Ala	Met	Asp	Pro	Cys	Phe	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Val	Val	Ala	Val
	1145						1150					1155			
40	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Arg	Glu	Pro	Ala	Thr	Leu	Pro	Leu	Ile	Val
	1160						1165					1170			
45	Ala	Leu	Leu	Ala	Ile	Arg	Thr	Ser	Gly	Phe	Leu	Leu	Pro	Ala	Ser
	1175						1180					1185			
50	Ile	Asp	Val	Thr	Val	Ala	Val	Val	Leu	Ile	Val	Leu	Leu	Leu	Ala
	1190						1195					1200			
55	Ser	Tyr	Ile	Thr	Asp	Tyr	Phe	Arg	Tyr	Lys	Lys	Trp	Leu	Gln	Leu
	1205						1210					1215			
60	Leu	Phe	Ser	Leu	Ile	Ala	Gly	Ile	Phe	Ile	Ile	Arg	Ser	Leu	Lys
	1220						1225					1230			
65	His	Ile	Asn	Gln	Met	Glu	Val	Pro	Glu	Ile	Ser	Met	Pro	Ser	Trp
	1235						1240					1245			
70	Arg	Pro	Leu	Ala	Leu	Val	Leu	Phe	Tyr	Ile	Thr	Ser	Thr	Ala	Ile
	1250						1255					1260			
75	Thr	Thr	Asn	Trp	Asp	Ile	Asp	Leu	Ala	Gly	Phe	Leu	Leu	Gln	Trp
	1265						1270					1275			
80	Ala	Pro	Ala	Val	Ile	Met	Met	Ala	Thr	Met	Trp	Ala	Asp	Phe	Leu
	1280						1285					1290			
85	Thr	Leu	Ile	Ile	Val	Leu	Pro	Ser	Tyr	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Tyr
	1295						1300					1305			
90	Phe	Leu	Lys	Asn	Val	Arg	Thr	Asp	Val	Glu	Lys	Asn	Trp	Leu	Gly
	1310						1315					1320			

# ES 2 321 210 T3

	Lys	Val	Lys	Tyr	Arg	Gln	Ile	Ser	Ser	Val	Tyr	Asp	Ile	Cys	Asp
		1325					1330					1335			
5	Ser	Glu	Glu	Ala	Val	Tyr	Leu	Phe	Pro	Ser	Arg	His	Lys	Ser	Gly
		1340					1345					1350			
10	Ser	Arg	Pro	Asp	Phe	Ile	Leu	Pro	Phe	Leu	Lys	Ala	Val	Leu	Ile
		1355					1360					1365			
15	Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Gln	Trp	Gln	Val	Val	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Leu
		1370					1375					1380			
20	Ile	Leu	Glu	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Met	His	Arg	Lys	Ile	Ile	Asp	Glu
		1385					1390					1395			
25	Val	Ser	Gly	Gly	Ala	Asn	Phe	Leu	Ser	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Ile
		1400					1405					1410			
30	Ile	Glu	Leu	Asn	Trp	Ala	Ile	Asp	Asp	Glu	Glu	Cys	Lys	Gly	Leu
		1415					1420					1425			
35	Lys	Lys	Leu	Tyr	Leu	Leu	Ser	Gly	Arg	Ala	Lys	Asn	Leu	Ile	Val
		1430					1435					1440			
40	Lys	His	Lys	Val	Arg	Asn	Glu	Ala	Val	His	Arg	Trp	Phe	Gly	Glu
		1445					1450					1455			
45	Glu	Glu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Pro	Lys	Val	Ile	Thr	Ile	Ile	Lys	Ala
		1460					1465					1470			
50	Ser	Thr	Leu	Ser	Lys	Asn	Arg	His	Cys	Ile	Ile	Cys	Thr	Ile	Cys
		1475					1480					1485			
55	Glu	Gly	Lys	Pro	Ile	Thr	Cys	Gly	Met	Thr	Leu	Ala	Asp	Phe	Glu
		1505					1510					1515			
60	Glu	Lys	His	Tyr	Lys	Lys	Ile	Phe	Ile	Arg	Glu	Glu	Ser	Ser	Cys
		1520					1525					1530			
65	Pro	Val	Pro	Phe	Asp	Pro	Ser	Cys	His	Cys	Asn	Tyr	Phe	Arg	His
		1535					1540					1545			
70	Asp	Gly	Pro	Phe	Arg	Lys	Glu	Tyr	Lys	Gly	Tyr	Val	Gln	Tyr	Thr
		1550					1555					1560			
75	Ala	Arg	Gly	Gln	Leu	Phe	Leu	Arg	Asn	Leu	Pro	Ile	Leu	Ala	Thr
		1565					1570					1575			
80	Lys	Met	Lys	Leu	Leu	Met	Val	Gly	Asn	Leu	Gly	Ala	Glu	Ile	Gly
		1580					1585					1590			
85	Asp	Leu	Glu	His	Leu	Gly	Trp	Val	Leu	Arg	Gly	Pro	Ala	Val	Cys
		1595					1600					1605			

# ES 2 321 210 T3

	Lys	Lys	Ile	Thr	Asn	His	Glu	Lys	Cys	His	Val	Asn	Ile	Met	Asp	
5							1610		1615					1620		
	Lys	Leu	Thr	Ala	Phe	Phe	Gly	Ile	Met	Pro	Arg	Gly	Thr	Thr	Pro	
10		1625						1630				1635				
	Arg	Ala	Pro	Val	Arg	Phe	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Lys	Val	Arg	Arg	
15		1640						1645				1650				
	Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Trp	Ala	Tyr	Thr	His	Gln	Gly	Gly	Ile	Ser	
20		1655						1660				1665				
25		Ser	Val	Asp	His	Val	Thr	Ala	Gly	Lys	Asp	Leu	Leu	Val	Cys	Asp
		1670						1675					1680			
	Ser	Met	Gly	Arg	Thr	Arg	Val	Val	Cys	His	Ser	Asn	Asn	Lys	Met	
30		1685					1690					1695				
	Thr	Asp	Glu	Thr	Glu	Tyr	Gly	Ile	Lys	Thr	Asp	Ser	Gly	Cys	Pro	
35		1700					1705					1710				
	Glu	Gly	Ala	Arg	Cys	Tyr	Val	Leu	Asn	Pro	Glu	Ala	Val	Asn	Ile	
40		1715					1720					1725				
	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Ala	Met	Val	His	Leu	Gln	Lys	Thr	Gly	Gly	
45		1730					1735					1740				
	Glu	Phe	Thr	Cys	Val	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Ala	Phe	Phe	Asp	
50		1745					1750					1755				
	Leu	Lys	Asn	Leu	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Leu	Pro	Ile	Phe	Glu	Ala	
55		1760					1765					1770				
	Ser	Ser	Gly	Arg	Val	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Val	Gly	Lys	Asn	Glu	
60		1775					1780					1785				
	Asp	Ser	Lys	Pro	Thr	Lys	Leu	Met	Ser	Gly	Ile	Gln	Thr	Val	Ser	
65		1790					1795					1800				
	Lys	Asn	Gln	Thr	Asp	Leu	Ala	Asp	Ile	Val	Lys	Lys	Leu	Thr	Ser	
		1805					1810					1815				
	Met	Asn	Arg	Gly	Glu	Phe	Lys	Gln	Ile	Thr	Leu	Ala	Thr	Gly	Ala	
		1820					1825					1830				
	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Leu	Pro	Arg	Ser	Val	Ile	Glu	Glu	Ile	Gly	
		1835					1840					1845				
	Arg	His	Lys	Arg	Val	Leu	Val	Leu	Ile	Pro	Leu	Arg	Ala	Ala	Ala	
		1850					1855					1860				
	Glu	Ser	Val	Tyr	Gln	Tyr	Met	Arg	Val	Lys	Tyr	Pro	Ser	Ile	Ser	
		1865					1870					1875				
	Phe	Asn	Leu	Arg	Ile	Gly	Asp	Met	Lys	Glu	Gly	Asp	Met	Ala	Thr	
		1880					1885					1890				

### ES 2 321 210 T3

	Gly	Ile	Thr	Tyr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Phe	Cys	Gln	Leu	Pro	Gln
	1895						1900					1905			
5	Pro	Lys	Leu	Arg	Ala	Ala	Met	Val	Glu	Tyr	Ser	Tyr	Ile	Phe	Leu
	1910						1915					1920			
10	Asp	Glu	Tyr	His	Cys	Ala	Thr	Pro	Glu	Gln	Leu	Ala	Ile	Ile	Gly
	1925						1930					1935			
15	Lys	Ile	His	Arg	Phe	Ala	Glu	Asn	Leu	Arg	Val	Val	Ala	Met	Thr
	1940						1945					1950			
20	Ala	Thr	Pro	Ala	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Thr	Gly	Gln	Lys	His	Pro
	1955						1960					1965			
25	Ile	Glu	Glu	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu	Val	Met	Lys	Gly	Glu	Asp	Leu
	1970						1975					1980			
30	Gly	Ser	Glu	Tyr	Leu	Asp	Ile	Ala	Gly	Leu	Lys	Ile	Pro	Thr	Glu
	1985						1990					1995			
35	Glu	Met	Lys	Gly	Asn	Met	Leu	Val	Phe	Ala	Pro	Thr	Arg	Asn	Met
	2000						2005					2010			
40	Ala	Val	Glu	Thr	Ala	Lys	Lys	Leu	Lys	Ala	Lys	Gly	Tyr	Asn	Ser
	2015						2020					2025			
45	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Glu	Asn	Pro	Glu	Asn	Leu	Arg	Val	Val
	2030						2035					2040			
50	Thr	Ser	Gln	Ser	Pro	Tyr	Val	Val	Val	Ala	Thr	Asn	Ala	Ile	Glu
	2045						2050					2055			
55	Ser	Gly	Val	Thr	Leu	Pro	Asp	Leu	Asp	Thr	Val	Val	Asp	Thr	Gly
	2060						2065					2070			
60	Leu	Lys	Cys	Glu	Lys	Arg	Val	Arg	Ile	Ser	Ser	Lys	Met	Pro	Phe
	2075						2080					2085			
65	Ile	Val	Thr	Gly	Leu	Lys	Arg	Met	Ala	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Gln
	2090						2095					2100			
70	Ala	Gln	Arg	Arg	Gly	Arg	Val	Gly	Arg	Val	Lys	Pro	Gly	Arg	Tyr
	2105						2110					2115			
75	Tyr	Arg	Ser	Gln	Glu	Thr	Ala	Ser	Gly	Ser	Lys	Asp	Tyr	His	Tyr
	2120						2125					2130			
80	Asp	Leu	Leu	Gln	Ala	Gln	Arg	Tyr	Gly	Ile	Glu	Asp	Gly	Ile	Asn
	2135						2140					2145			
85	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Arg	Glu	Met	Asn	Tyr	Asp	Trp	Ser	Leu	Tyr
	2150						2155					2160			
90	Glu	Glu	Asp	Ser	Leu	Met	Ile	Thr	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Asn	Asn
	2165						2170					2175			

### ES 2 321 210 T3

	Leu	Leu	Ile	Ser	Glu	Asp	Leu	Pro	Ala	Ala	Val	Lys	Asn	Ile	Met
	2180						2185					2190			
5	Ala	Arg	Thr	Asp	His	Pro	Glu	Pro	Ile	Gln	Leu	Ala	Tyr	Asn	Ser
	2195						2200					2205			
10	Tyr	Glu	Asn	Gln	Ile	Pro	Val	Leu	Phe	Pro	Lys	Ile	Lys	Asn	Gly
	2210						2215					2220			
15	Glu	Val	Thr	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asn	Tyr	Thr	Tyr	Leu	Asn	Ala	Arg
	2225						2230					2235			
20	Lys	Leu	Gly	Glu	Asp	Val	Pro	Ala	Tyr	Val	Tyr	Ala	Thr	Glu	Asp
	2240						2245					2250			
25	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Asp	Leu	Leu	Gly	Met	Asp	Trp	Pro	Asp	Pro
	2255						2260					2265			
30	Gly	Asn	Gln	Gln	Val	Val	Glu	Thr	Gly	Arg	Ala	Leu	Lys	Gln	Val
	2270						2275					2280			
35	Thr	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Glu	Asn	Ala	Leu	Leu	Ile	Ala	Leu	Phe
	2285						2290					2295			
40	Gly	Tyr	Val	Gly	Tyr	Gln	Thr	Leu	Ser	Lys	Arg	His	Ile	Pro	Met
	2300						2305					2310			
45	Ile	Thr	Asp	Ile	Tyr	Thr	Leu	Glu	Asp	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Thr
	2315						2320					2325			
50	Thr	His	Leu	Gln	Phe	Ala	Pro	Asn	Ala	Ile	Arg	Thr	Asp	Gly	Lys
	2330						2335					2340			
55	Asp	Ser	Glu	Leu	Lys	Glu	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Leu	Asp	Lys	Tyr
	2345						2350					2355			
60	Val	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Tyr	Ser	Lys	Gln	Gly	Met	Lys	Phe	Ile
	2360						2365					2370			
65	Lys	Val	Gln	Ala	Glu	Lys	Val	Arg	Asp	Ser	Gln	Ser	Thr	Lys	Glu
	2375						2380					2385			
70	Gly	Leu	Gln	Thr	Ile	Lys	Glu	Tyr	Val	Asp	Lys	Phe	Ile	Gln	Ser
	2390						2395					2400			
75	Leu	Thr	Glu	Asn	Lys	Glu	Glu	Ile	Ile	Arg	Tyr	Gly	Leu	Trp	Gly
	2405						2410					2415			
80	Val	His	Thr	Ala	Leu	Tyr	Lys	Ser	Leu	Ala	Ala	Arg	Leu	Gly	His
	2420						2425					2430			
85	Glu	Thr	Ala	Phe	Ala	Thr	Leu	Val	Val	Lys	Trp	Leu	Ala	Phe	Gly
	2435						2440					2445			
90	Gly	Glu	Thr	Val	Ser	Ala	His	Ile	Lys	Gln	Val	Ala	Val	Asp	Leu
	2450						2455					2460			

### ES 2 321 210 T3

	Val	Val	Tyr	Tyr	Ile	Ile	Asn	Lys	Pro	Ser	Phe	Pro	Gly	Asp	Thr
	2465						2470					2475			
5	Glu	Thr	Gln	Gln	Glu	Gly	Arg	Arg	Phe	Val	Ala	Ser	Leu	Phe	Ile
	2480						2485					2490			
10	Ser	Ala	Leu	Ala	Thr	Tyr	Thr	Tyr	Lys	Thr	Trp	Asn	Tyr	Asn	Asn
	2495						2500					2505			
15	Leu	Gln	Arg	Val	Val	Glu	Pro	Ala	Leu	Ala	Tyr	Leu	Pro	Tyr	Ala
	2510						2515					2520			
20	Thr	Ser	Ala	Leu	Lys	Leu	Phe	Thr	Pro	Thr	Arg	Leu	Glu	Ser	Val
	2525						2530					2535			
25	Val	Ile	Leu	Ser	Ser	Thr	Ile	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Leu	Ser	Ile	Arg
	2540						2545					2550			
30	Lys	Gly	Lys	Ser	Asp	Gly	Leu	Leu	Gly	Thr	Gly	Ile	Ser	Ala	Ala
	2555						2560					2565			
35	Met	Glu	Ile	Leu	Asn	Gln	Asn	Pro	Ile	Ser	Val	Gly	Ile	Ser	Val
	2570						2575					2580			
40	Met	Leu	Gly	Val	Gly	Ala	Ile	Ala	Ala	His	Asn	Ala	Ile	Glu	Ser
	2585						2590					2595			
45	Ser	Glu	Gln	Lys	Arg	Thr	Leu	Leu	Met	Lys	Val	Phe	Val	Lys	Asn
	2600						2605					2610			
50	Phe	Leu	Asp	Gln	Ala	Ala	Thr	Asp	Glu	Leu	Val	Lys	Glu	Asn	Pro
	2615						2620					2625			
55	Glu	Lys	Ile	Ile	Met	Ala	Leu	Phe	Glu	Ala	Val	Gln	Thr	Ile	Gly
	2630						2635					2640			
60	Asn	Pro	Leu	Arg	Leu	Ile	Tyr	His	Leu	Tyr	Gly	Val	Tyr	Tyr	Lys
	2645						2650					2655			
65	Gly	Trp	Glu	Ala	Lys	Glu	Leu	Ala	Glu	Lys	Thr	Ala	Gly	Arg	Asn
	2660						2665					2670			
70	Leu	Phe	Thr	Leu	Ile	Met	Phe	Glu	Ala	Phe	Glu	Leu	Leu	Gly	Met
	2675						2680					2685			
75	Asp	Ser	Glu	Gly	Lys	Ile	Arg	Asn	Leu	Ser	Gly	Asn	Tyr	Ile	Leu
	2690						2695					2700			
80	Asp	Leu	Ile	Phe	Asn	Leu	His	Asn	Lys	Leu	Asn	Lys	Gly	Leu	Lys
	2705						2710					2715			
85	Lys	Leu	Val	Leu	Gly	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Leu	Ser	Cys	Asp	Trp
	2720						2725					2730			
90	Thr	Pro	Ser	Asp	Glu	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	His	Asn	Asn	Tyr	Leu
	2735						2740					2745			

### ES 2 321 210 T3

	Arg	Val	Glu	Thr	Arg	Cys	Pro	Cys	Gly	Tyr	Glu	Met	Lys	Ala	Ile
	2750						2755					2760			
5	Lys	Asn	Val	Ala	Gly	Lys	Leu	Thr	Lys	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Ser
	2765						2770					2775			
10	Phe	Leu	Cys	Arg	Asn	Arg	Leu	Gly	Arg	Gly	Pro	Pro	Asn	Phe	Lys
	2780						2785					2790			
	Val	Thr	Lys	Phe	Tyr	Asp	Asp	Asn	Leu	Ile	Glu	Val	Lys	Pro	Val
	2795						2800					2805			
15	Ala	Arg	Leu	Glu	Gly	Gln	Val	Asp	Leu	Tyr	Tyr	Lys	Gly	Val	Thr
	2810						2815					2820			
20	Ala	Lys	Leu	Asp	Tyr	Asn	Asn	Gly	Lys	Val	Leu	Leu	Ala	Thr	Asn
	2825						2830					2835			
	Lys	Trp	Glu	Val	Asp	His	Ala	Phe	Leu	Thr	Arg	Leu	Val	Lys	Lys
	2840						2845					2850			
25	His	Thr	Gly	Ile	Gly	Phe	Lys	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gly	Asp	Arg	Pro
	2855						2860					2865			
30	Asp	His	Gln	Asp	Leu	Val	Asp	Arg	Asp	Cys	Ala	Thr	Ile	Thr	Lys
	2870						2875					2880			
	Asn	Ser	Val	Gln	Phe	Leu	Lys	Met	Lys	Gly	Cys	Ala	Phe	Thr	
35		2885					2890					2895			
	Tyr	Asp	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Val	Arg	Leu	Ile	Glu	Leu	Val
	2900						2905					2910			
40	His	Lys	Asn	Asn	Leu	Gln	Glu	Arg	Glu	Ile	Pro	Thr	Val	Thr	Val
	2915						2920					2925			
45	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	Tyr	Ser	Phe	Val	Asn	Glu	Asp	Leu	Gly	Thr
	2930						2935					2940			
	Ile	Lys	Pro	Val	Leu	Gly	Glu	Lys	Val	Ile	Pro	Glu	Pro	Pro	Glu
	2945						2950					2955			
50	Glu	Leu	Ser	Leu	Gln	Pro	Thr	Val	Arg	Leu	Val	Thr	Thr	Glu	Thr
	2960						2965					2970			
	Ala	Ile	Thr	Ile	Thr	Gly	Glu	Ala	Glu	Val	Met	Thr	Thr	Gly	Ile
55		2975					2980					2985			
	Thr	Pro	Val	Val	Glu	Met	Lys	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Asp	His	Gln
	2990						2995					3000			
60	Ser	Thr	Thr	Leu	Lys	Val	Gly	Leu	Lys	Glu	Gly	Glu	Tyr	Pro	Gly
	3005						3010					3015			
65	Pro	Gly	Val	Asn	Pro	Asn	His	Leu	Ala	Glu	Val	Ile	Asp	Glu	Lys
	3020						3025					3030			

### ES 2 321 210 T3

	Asp	Asp	Arg	Pro	Phe	Val	Leu	Ile	Ile	Gly	Asn	Lys	Gly	Ser	Thr
	3035						3040					3045			
5	Ser	Asn	Arg	Ala	Arg	Thr	Ala	Lys	Asn	Ile	Arg	Leu	Tyr	Lys	Gly
	3050						3055					3060			
10	Asn	Asn	Pro	Arg	Glu	Ile	Arg	Asp	Leu	Met	Ser	Gln	Gly	Arg	Ile
	3065						3070					3075			
	Leu	Thr	Val	Ala	Leu	Lys	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Leu	Lys	Glu	Leu
	3080						3085					3090			
15	Val	Asp	Tyr	Lys	Gly	Thr	Phe	Leu	Asn	Arg	Glu	Ala	Leu	Glu	Ala
	3095						3100					3105			
20	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Pro	Ile	Lys	Arg	Lys	Thr	Thr	Thr	Ala	Met
	3110						3115					3120			
	Ile	Arg	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Leu	Pro	Asp
	3125						3130					3135			
25	Trp	Phe	Gln	Ala	Glu	Glu	Pro	Leu	Phe	Leu	Glu	Ala	Lys	Ile	Gln
	3140						3145					3150			
30	Asn	Asp	Leu	Tyr	His	Leu	Ile	Gly	Ser	Val	Asp	Ser	Ile	Lys	Ser
	3155						3160					3165			
	Lys	Ala	Lys	Glu	Leu	Gly	Ala	Thr	Asp	Asn	Thr	Lys	Ile	Val	Lys
	3170						3175					3180			
35	Glu	Val	Gly	Ala	Arg	Thr	Tyr	Thr	Met	Lys	Leu	Ser	Ser	Trp	Ser
	3185						3190					3195			
40	Thr	Gln	Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Met	Ser	Leu	Ala	Pro	Leu	Phe	Glu
	3200						3205					3210			
45	Glu	Leu	Leu	Leu	Lys	Cys	Pro	Pro	Cys	Ser	Lys	Ile	Ser	Lys	Gly
	3215						3220					3225			
	His	Met	Val	Ser	Ala	Tyr	Gln	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Trp	Glu	Pro
	3230						3235					3240			
50	Leu	Gly	Cys	Gly	Val	Tyr	Met	Gly	Thr	Ile	Pro	Ala	Arg	Arg	Leu
	3245						3250					3255			
55	Lys	Ile	His	Pro	Tyr	Glu	Ala	Tyr	Leu	Lys	Leu	Lys	Glu	Leu	Val
	3260						3265					3270			
	Glu	Val	Glu	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Ala	Lys	Glu	Ser	Ile	Ile	Arg
	3275						3280					3285			
60	Glu	His	Asn	Thr	Trp	Ile	Leu	Arg	Lys	Val	Arg	His	Glu	Gly	Asn
	3290						3295					3300			
65	Leu	Arg	Thr	Lys	Ser	Met	Ile	Asn	Pro	Gly	Lys	Ile	Ser	Asp	Gln
	3305						3310					3315			

### ES 2 321 210 T3

	Leu	Cys	Arg	Asp	Gly	His	Lys	Arg	Asn	Ile	Tyr	Asn	Lys	Ile	Ile
	3320						3325						3330		
5	Gly	Ser	Thr	Met	Ala	Ser	Ala	Gly	Ile	Arg	Leu	Glu	Lys	Leu	Pro
	3335						3340						3345		
10	Val	Val	Arg	Ala	Gln	Thr	Asp	Thr	Thr	Ser	Phe	His	Gln	Ala	Ile
	3350						3355						3360		
15	Arg	Glu	Lys	Ile	Asp	Lys	Thr	Glu	Asn	Lys	Gln	Thr	Pro	Glu	Leu
	3365						3370						3375		
20	His	Glu	Glu	Leu	Met	Lys	Val	Phe	Asp	Cys	Leu	Lys	Ile	Pro	Glu
	3380						3385						3390		
25	Leu	Lys	Glu	Ser	Tyr	Asp	Glu	Val	Ser	Trp	Glu	Gln	Leu	Glu	Ala
	3395						3400						3405		
30	Gly	Ile	Asn	Arg	Lys	Gly	Ala	Ala	Gly	Tyr	Leu	Glu	Ser	Lys	Asn
	3410						3415						3420		
35	Ile	Gly	Glu	Val	Leu	Asp	Thr	Glu	Lys	His	Ile	Val	Glu	Gln	Leu
	3425						3430						3435		
40	Ile	Lys	Asp	Leu	Arg	Lys	Gly	Lys	Lys	Ile	Arg	Tyr	Tyr	Glu	Thr
	3440						3445						3450		
45	Ala	Ile	Pro	Lys	Asn	Glu	Lys	Arg	Asp	Val	Ser	Asp	Asp	Trp	Glu
	3455						3460						3465		
50	Ala	Gly	Glu	Phe	Val	Asp	Glu	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Ile	Gln	Tyr
	3470						3475						3480		
55	Pro	Asp	Ala	Lys	Val	Arg	Leu	Ala	Ile	Thr	Lys	Val	Met	Tyr	Lys
	3485						3490						3495		
60	Trp	Val	Lys	Gln	Lys	Pro	Val	Val	Ile	Pro	Gly	Tyr	Glu	Gly	Lys
	3500						3505						3510		
65	Thr	Pro	Leu	Phe	Asp	Ile	Phe	Asn	Lys	Val	Lys	Lys	Glu	Trp	Asp
	3515						3520						3525		
70	Ser	Phe	Gln	Asp	Pro	Val	Ala	Val	Ser	Phe	Asp	Thr	Lys	Ala	Trp
	3530						3535						3540		
75	Asp	Thr	Gln	Val	Thr	Ser	Arg	Asp	Leu	Met	Leu	Ile	Lys	Asp	Ile
	3545						3550						3555		
80	Gln	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Lys	Arg	Ser	Ile	His	Lys	Phe	Leu	Asp	Thr
	3560						3565						3570		
85	Ile	Thr	Glu	His	Met	Val	Glu	Val	Pro	Val	Ile	Thr	Ala	Asp	Gly
	3575						3580						3585		
90	Glu	Val	Tyr	Ile	Arg	Asn	Gly	Gln	Arg	Gly	Ser	Gly	Gln	Pro	Asp
	3590						3595						3600		

### ES 2 321 210 T3

	Thr	Ser	Ala	Gly	Asn	Ser	Met	Leu	Asn	Val	Leu	Thr	Met	Ile	Tyr
	3605						3610					3615			
5	Ala	Phe	Cys	Lys	Ser	Thr	Gly	Ile	Pro	Tyr	Arg	Gly	Phe	Ser	Arg
	3620						3625					3630			
10	Val	Ala	Arg	Ile	His	Val	Cys	Gly	Asp	Asp	Gly	Phe	Leu	Ile	Thr
	3635						3640					3645			
	Glu	Arg	Gly	Leu	Gly	Leu	Lys	Phe	Ser	Glu	Lys	Gly	Met	Gln	Ile
	3650						3655					3660			
15	Leu	His	Glu	Ala	Gly	Lys	Pro	Gln	Lys	Ile	Thr	Glu	Gly	Asp	Lys
	3665						3670					3675			
20	Met	Lys	Val	Ala	Tyr	Arg	Phe	Glu	Asp	Ile	Glu	Phe	Cys	Ser	His
	3680						3685					3690			
	Thr	Pro	Val	Pro	Val	Arg	Trp	Ala	Asp	Asn	Thr	Ser	Ser	Tyr	Met
	3695						3700					3705			
25	Ala	Gly	Arg	Ser	Thr	Ala	Thr	Ile	Leu	Ala	Lys	Met	Ala	Thr	Arg
	3710						3715					3720			
30	Leu	Asp	Ser	Ser	Gly	Glu	Arg	Gly	Ser	Thr	Ala	Tyr	Glu	Lys	Ala
	3725						3730					3735			
	Val	Ala	Phe	Ser	Phe	Leu	Leu	Met	Tyr	Ser	Trp	Asn	Pro	Val	Val
	3740						3745					3750			
35	Arg	Arg	Ile	Cys	Leu	Leu	Val	Leu	Ser	Gln	Phe	Pro	Glu	Ile	Ser
	3755						3760					3765			
40	Pro	Ser	Lys	Asn	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Tyr	Gln	Gly	Asp	Pro	Ile	Ala
	3770						3775					3780			
	Ala	Tyr	Arg	Glu	Val	Ile	Gly	Lys	Gln	Leu	Cys	Glu	Leu	Lys	Arg
	3785						3790					3795			
	Thr	Gly	Phe	Glu	Lys	Leu	Ala	Gly	Leu	Asn	Leu	Ser	Met	Thr	Thr
	3800						3805					3810			
50	Leu	Gly	Ile	Trp	Thr	Lys	His	Thr	Ser	Lys	Arg	Leu	Ile	Gln	Ala
	3815						3820					3825			
	Cys	Val	Glu	Ile	Gly	Lys	Arg	Glu	Gly	Thr	Trp	Leu	Val	Asn	Ala
	3830						3835					3840			
55	Asp	Arg	Leu	Ile	Ala	Gly	Lys	Thr	Gly	Lys	Phe	Tyr	Ile	Pro	Ser
	3845						3850					3855			
60	Thr	Gly	Val	Thr	Leu	Leu	Gly	Lys	His	Tyr	Glu	Glu	Ile	Asn	Leu
	3860						3865					3870			
65	Lys	Gln	Lys	Ala	Ala	Gln	Pro	Pro	Ile	Glu	Gly	Val	Asp	Arg	Tyr
	3875						3880					3885			

# ES 2 321 210 T3

Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg Val  
 3890                            3895                            3900

5                Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp  
 3905                            3910

<210> 10  
 <211> 12332  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial:Secuencia XIKE-C de VDVB

15 <400> 10

gtatacgaga	ttagctaaag	aactcgata	tggattggac	gtcaacaaat	ttttaattgg	60
caacgttaggg	aacctccccc	tcagcgaagg	ccgaaaagag	gctagccatg	cccttagtag	120
gactagcaaa	agttagggac	tagcgttagc	agttagttcg	ttggatggcc	gaacccctga	180
20 gtacagggg	gtcgtcaatg	gttcgacact	ccattagtcg	aggagtctcg	agatgccatg	240
tggacgaggg	catgcccacg	gcacatctt	accatgcgg	gggttgcatt	ggtgaaagcg	300
ctattcgtgg	cgttatggac	acagcctgtat	agggtgttagc	agagacctgc	tattccgcta	360
25 gtaaaaaactc	tgctgtacat	ggcacatgga	gttgtttca	aatgaacttt	tataaaaaac	420
atataaaacaa	aaaccagcag	gcgtcggtt	acctgtttac	gacgtcaacg	ggcgccccact	480
30 gtttggagag	agcagtgact	tgcacccgca	gtcaacacta	aaactaccac	accaacgagg	540
cagcgccaaac	atcctgacca	atgcttagtc	cctaccgcgg	aaaggtgact	gccggagagg	600
taatgtgtat	ggaccgggt	gtggcatctt	tatcaaacc	ggaccgatct	actaccagg	660
35 ttatgtggc	cccgcttata	atagagcccc	actggaacta	tgttagggagg	caagtatgt	720
cgaaacaact	aggagagtt	gcagagtgc	cggttagtgc	gggaaattat	atcatatcta	780
catctgcata	gatgggtgt	tcctcctgaa	gagggcgact	aggaaccaac	cagaagtct	840
40 gaaatgggt	tacaacagat	taaattgtcc	tttatgggtc	accagctgt	ccgatgaagg	900
gagcaagggt	gctacaagta	agaagcagcc	taagccagat	aggatagaaa	aaggttaagat	960
55 gaaaatagcc	ccaaaagaga	cagaaaaaga	ttgcaaaacc	agacccccc	acgcgactat	1020
agtagtagaa	ggggttaagt	accaggtgaa	gaaaaaagga	aaggttaaggg	aaaaaaatac	1080
tcaagatggg	ttatatacaca	acaagaataa	gccccctgaa	tcaaaaaaaa	aattggaaaa	1140
ggcactgctg	gcttgggcca	tcttagcagc	ggtcctgctt	cagctgtt	caggagagaa	1200
60 ttcacccag	ttgaaacttga	tggacaacgg	caccgagg	atacagcaag	cgatgttct	1260
aagagggtt	aacaggagtc	tattagaat	ttggccagag	aaaatttgc	ccggagtacc	1320
aactcaactt	gcaacagact	atgagcttaa	agagatagt	gggatgatgg	acgcgagt	1380
gaagaccaac	tacacgtgtt	gcaggttgc	aagacatgag	tggataaaac	atgggttgt	1440
65 taactggtt	catatagaac	cgtggatatg	gttgcata	aaaacccaaa	acaacctgac	1500
agaagggcaa	ccgcttaggg	agtgtgtgt	gacttgcatt	tatgacaagg	aaacagaatt	1560
gaacatcg	acacaggcta	gggacagacc	tacaactctg	acaggttgc	agaaaggcaa	1620
gtttgtgtca	catgcagcaa	gtccatactg	cgagttggag	aggaagatcg	gttacgtat	1680
gtatacaaaa	aactgcactc	cagcttgctt	tccaaagaaac	actagaataa	tagcccccc	1740
actcgatggg	gcaaccaaca	ccattgaggg	agcaagggt	gggacggcca	agttgacaac	1800
ctggtaggg	aagcaattag	ggatccttgg	taagaagtt	gagaacaaaa	gcaaaagcat	1860
gtttgtgtca	catgcagcaa	gtccatactg	cgagttggag	aggaagatcg	gttacgtat	1920
gtatacaaaa	aactgcactc	cagcttgctt	tccaaagaaac	actagaataa	tagcccccc	1980
55 gaaatttgc	accaacgccc	aagatggaaa	aataactccat	gagatggggg	ggcacctctc	2040
agaatttgc	ctattgtcct	ttgtgtttct	gtctgactt	gccccggaaa	ccgcgagcgt	2100
catctacttgc	tttctacatt	ttgcgtatccc	gcaaaagccac	gttgcata	acacatgcga	2160
caagaaccag	ctgaatttac	cggttagcaac	cacagtagca	gaggcatac	cagggacagt	2220
gtggaaacct	ggaaagtatg	tctgcata	accagactgg	tggccat	agacgacgac	2280
60 agtcttcgtc	atagaggaag	cagggcaat	aatcaaattt	atgctaagg	ccatcagaga	2340
cttaacttagg	atatggat	ctgcccactac	cacagctt	ttaatcttt	tagaaaaac	2400
actgagggga	caactaatcc	aagggttatt	gtggctgtat	ctaataacag	gagcacaggg	2460
cttcctgaa	tgcaaagagg	gcttccaata	tgccat	aaagacagga	aatgggggt	2520
attggggcca	gagagcttac	ctacaacat	gcacccccc	accaaaaaaa	tagtgatc	2580
catggtgcat	gtatgggtgt	aaggaaaaga	cttggaaaata	ttaaaaaatgt	gcacaaagga	2640

# ES 2 321 210 T3

	agagaggat	ctagtggctg	tgcacgagag	agccttatca	accagtgccg	agtttatgca	2700
	gatcagtgtat	gggacaatacg	gcccgacgt	gatagatatg	cctgtatgact	tttaggtttgg	2760
5	actctgcctt	tgtgactcaa	aaccagtgtat	aaaggggcaaa	tttaatgcca	gcttactgaa	2820
	tggaccagct	ttccagatgg	tatgcccaca	gggggtggact	ggtacaatacg	aatgcaccct	2880
	agcgaaccaa	gacacccctgg	acacaactgt	cattaggaca	tatagaagaa	ctacccatt	2940
	tcagcggaga	aaatgggtgt	cctatgaaaaa	aataataggg	gaagatatct	atgaatgcat	3000
10	tcttaggtgaa	aactggacat	gcataaccgg	tgaccatagc	aggtgaaag	acggacctat	3060
	caagaagtgt	aagtgggtgt	gccatgactt	cgtcaactca	gaggggctac	cacactaccc	3120
	aataggcaag	tgcatgctca	tcaacgagag	ttgggtacagg	tatgtatgt	acaccccttg	3180
	cgatagggggt	ggtgttagcca	tagttccatc	ttggcaccgta	aagtgtagaa	tagtaacgt	3240
15	cacgggtgcaa	gttatcgcta	ctaacaatga	tctgggaccc	atgccttgca	gcccagctga	3300
	agtgatagca	agtaaggac	cagtggaaaaa	gactgcatgc	acattcaact	attcaaggac	3360
	tctacctaata	aagtattatg	agccaaggga	ccggctacttc	caacaataca	tgtaaaagg	3420
	ggagtggcaa	tattggttcg	acctggattt	tgttagaccac	cacaaagact	acttctcaga	3480
	gttcataatc	atagcagtgg	tcgccttgtt	gggtggtaag	tacgtactgt	ggcttcttgat	3540
20	aacatacaca	atactgtctg	agcagatggc	tatgggtgct	ggagtgaata	ctgaagagat	3600
	agtcatgata	ggcaatttgc	tgacagacag	tgatattgag	tttgggtttt	atttccttct	3660
	tctgtactta	atagttaaag	aggaactggc	gaggaaatgg	attatactgg	tataccacat	3720
	cctttagcc	aaccctatga	aaacaattgg	ggtcgctta	ctaatgctag	ggggagtggt	3780
25	gaaggccagc	agaatcaatg	ctgatgacca	aagtgtatg	gaccatgct	tttcttcgt	3840
	gacaggcgta	gtggctgttt	tgatgatcgc	tagaagagaa	cctgcccacat	taccaactgtat	3900
	tgttagcattt	ctagcaataa	gaacatcagg	attcctactt	cccgcgtac	ttgatgtaac	3960
	tgttagcagta	gtattaattt	tacttttgtt	ggcttagctac	ataacagact	acttttagata	4020
30	taaaaaagtgg	cttcaactct	tathtagtct	gatagtgtt	atcttttata	taaggagctt	4080
	aaaacatatc	aaccagatgg	aggtaccaga	aatatctatg	ccaagttgga	gacctctagc	4140
	tctggccctt	ttctatataa	catctacagc	aataaccact	aattgggaca	ttgacttagc	4200
	aggcttcctg	ctgcaatggg	cgccagcagt	gatcatgatg	gctaccatgt	gggcagactt	4260
35	tttgactctg	atcatagtcc	tgcccagttt	cgagttatct	aagctttact	tcctaaagaa	4320
	cgtcaggaca	gacgtggaaa	agaactggct	cgccaaagtg	aaatacagac	agatcgttc	4380
	agtttatgac	atctgtgaca	gtgaggaagc	agtgtaccta	tttccatcaa	ggcataagag	4440
	tggaagcagg	ccagatttca	tattacctt	tttgaaagcc	gtgttaataa	gctgcatacg	4500
40	cagccaatgg	caagtggttt	acatttctt	cctaatactg	gaaattacat	actatatgca	4560
	caggaaaatc	atagatgagg	tgtcaggagg	agcaaaattt	ctatcaagac	tcatagcagc	4620
	catcatagaa	ttaaattggg	ccatagatga	tgaggaatgt	aaaggactga	agaaactgt	4680
	tctcttgc	gggagagcga	agaatttgtat	agttaaacat	aagtaagaa	atgaagccgt	4740
45	ccacagatgg	tttggtgagg	aggaaatata	cggggcaccc	aaggtgatca	ctatcataaa	4800
	agctagtacc	ctaagtaaaa	acaggcactg	cataatctgc	acgatctgt	aaggaaaaga	4860
	atggaatgg	gccaactgcc	caaagtgtgg	aagacaagga	aagccataaa	catgtggat	4920
	gacactcgca	gactttgagg	agaaacatta	aaaaaagata	tttataagag	aagaatcttc	4980
50	ttgtcctgtt	cctttgatc	cttcttgcca	ttgtatatt	tttcgtccacg	atgggccttt	5040
	cagggaaagag	tataagggtt	acgtccaata	cacagccaga	ggacaactct	ttctgaggaa	5100
	cctaccaatt	ctagcgacga	agatgaagct	attatggtg	ggaaacctcg	gcgcagaaat	5160
	tggcgacctt	gaacatctag	gatgggtact	gagagggcca	gccgtgtgca	aaaaaattac	5220
55	caaccatgag	aagtgccacg	taaacatcat	ggataagcta	actgcatttt	ttggaatcat	5280
	gcctagaggc	acgaccctta	gggcacctgt	gaggtcccc	acagcactac	taaaagttag	5340
	aagggggctt	gagacgggat	gggcttacac	gcaccaagga	gggatcagct	cggtagacca	5400
	tgtcacagcc	ggaaaggatt	tactagtgtt	tgacagtatg	ggcaggacca	gggttgtctg	5460
60	tcatagttaac	aataagatga	ctgatgagac	tgagtatggc	atcaagacgg	actcagggtt	5520
	tcccgaaagg	gctgggtt	acgtctaaa	cccagaagct	gttaacattt	ctggcacaaaa	5580
	aggagctatg	gtacacctcc	agaaaacggg	ggggggagttc	acatgtgtca	ctgcctcagg	5640
	gaccccggtt	ttcttcgatc	tgaaaaatct	aaaaggctgg	tccggctac	caatttttga	5700
65	agcatccagt	ggcagggtgg	ttggtagggt	gaaagtccgc	aagaatgagg	attccaagcc	5760
	caccaaacta	atgagcggaa	tccagacagt	gtctaagaac	cagacagacc	tagcggacat	5820
	cgtaaaaaaaaa	ttgacttagta	tgaacagagg	agagttcaaa	cagataacat	tagccactgg	5880
	ggcaggaaaaaa	actacggAAC	tgccaaggTC	cgtcatagag	gagataggga	ggcacaaaaag	5940
	ggtcttagtc	ctgataccat	tgagagcagc	agcagagtc	gtgtatcagt	atatgagagt	6000
	gaagtaccca	agtatatctt	tcaattttag	aataggagat	atgaaggaag	gtgacatggc	6060

## ES 2 321 210 T3

	cactggtatac acctacgcct catatggta ctttgtcag cttccctcagc ccaaactgag	6120
5	agctgccatg gtagagtact catatatatt cttagatgag taccactgtg ctacaccga	6180
	gcaattagca ataattggaa agatacacag gttgctgaa aatcttagag tggtagaat	6240
	gacagcaacc ccagctggaa cggtcacaac gactggtcag aaacacccta tagaggagtt	6300
	catagccccca gaggtgatga aaggtgaaga tctaggtatg gaatacttg atattgcagg	6360
	gttgaagata ccgactgaag agatgaaagg caacatgctc gtgttcgcgc caactagaa	6420
10	catggcagta gaaacagcta agaaattgaa ggctaaggga tacaactctg gatactatta	6480
	cagtgggaa aaccagaga acttgaggt ggttaacctcg caatccccgt atgtgttagt	6540
	agccaccaat gccatagagt caggtgtgac attaccagac tttagacacag tttagacac	6600
	tggactaaag tgtgagaaga gggtgaggat ttcttcaaaa atgcccctca ttgtAACAGG	6660
	acttaagaga atggcagtca caatcgaga gcaagcccag cgccagggtt gaggtaggaag	6720
15	agtcaagcca ggtaggtact ataggagtc agaaacagct tcagggtcaa aagattacca	6780
	ttacgaccta ctgcaagccc agaggtacgg aatagaagat ggaattaatg taacaaagtc	6840
	attcaggggag atgaactatg attggagcct ttacgaagag gacagcttga tgataactca	6900
	actcgaggc cttacaacc tccttatatc agaagacctg cctgcccgc tgaagaacat	6960
20	catggcccgg accgatcacc cagaaccat acaactggcc tataacagtt ataaaaacca	7020
	aattccagtg ctgttccaa agatcaaaaa tggtgaggta acagacagtt atgagaatta	7080
	cacatatctc aatgcaagaa aattaggaga ggacgtcccg gcatatgtgt acgccacaga	7140
	ggatgaggat ctagcagtgg atcttctggg tatggattgg ccggacccag gcaaccaaca	7200
25	ggttggtagag acaggggagg cattaaaaca agtaactggc ttatccacag cagaaaacgc	7260
	cctcttgcata gcccatttcg gctacgtcgg gtaccagaca ctttcaaaaa ggcacatacc	7320
	catgattact gacatctata cacttgaaga ccacaggctt gaggacacaa cccacctcca	7380
	gtttggccca aacgcataa ggaccgacgg caaggactca gagttgaagg aattagctgt	7440
	gggagacctt gataaatatg tggacgcact ggtagactac tccaaacaag ggtgaaatt	7500
30	catcaaagtc caagctgaaa aggtcagaga ctcccagtct acgaaggaag gcttgcaaac	7560
	cattaaggag tatgtggata agtttataca atcaactaaca gagaataagg aggagatcat	7620
	caggtatgga ctatggggag ttcacacggc actctacaaa agcttggcag cgagactgg	7680
	gcatgaaaca gctttgcaa ctttagtgg aaaaatggtg gctttgggg gcgaaacggt	7740
35	atctgctcac atcaagcaag tagcagtta tctagtagta tattatatca tcaacaaacc	7800
	atctttccct ggagatacag agaccaaca agagggggagg aagttgtgg ctatcttt	7860
	tatatctgca ctagcaacat acacatataa aacctggaaat tacaacaatc tgcaacgggt	7920
	tgtcgAACCT gccttagctt acctccata tgctacaagt gccttgaagt tggtcacacc	7980
	cacaagatta gagagtgtgg tcataactcg ttctacaatt tacaagacat acctctctat	8040
40	aaggaagggt aagagtgcg gcttggtagg tacaggcata agtgcagcca tggagatctt	8100
	aaaccaaaaac ccaatctcg taggtatatc tggatgtctt gggtaggtt ccatgcccgc	8160
	ccataatgca atagaatcta gtgaacagaa aagaactttt ctgatgaagg tctttgtaaa	8220
	aaacttctta gaccaagcag caacagatga gctagtcaaa gagaaccctg aaaaaataat	8280
45	catggctcta tttgaagcag tccagaccat agggaaacccc ctaagactca tctaccatct	8340
	gtacgggtg tactataagg ggtggaaagc aaaagaactc gcagaaaaaa ctgctggccg	8400
	caacttattc acattgatca tggggatggc ctttgagctt ttaggtatgg actcagaagg	8460
	aaagataaga aacttgcag gcaactacat actggactta atcttcaact tgcataataa	8520
50	attaaacaag gggctcaaaa aactgtcct tgggtggct cctgcacctt tgagctgtga	8580
	ttggacacca agtgatgaga gaataaggct acctcataac aactactaa gggtagaaac	8640
	caggtgtcct tgggtctatg agatgaaggc aataaaaaat gttgctggta aattgacaaa	8700
	agttgaagaa aagggtcct tcctatgcag gaatagatta gggagaggac ctccaaactt	8760
55	caaagtaaca aagtctatg atgataactt gatagaagtc aagccagtag ctggctaga	8820
	aggccaggtg gaccttattt acaagggagt aacagctaaat ttagactaca acaatggaa	8880
	agtactgtta gctaccaaca agtggggaggt ggaccacgct ttcctgacca gactgtaaa	8940
	gaagcacaaca gggataggtt taaagggtgc atatttgggt gaccgaccag accatcaaga	9000
60	tctgtcgat agagattgtg caactataac gaagaactca gtacagtcc taaaaatgaa	9060
	gaagggtgc gcttcacat atgacctaactt aatctctaactt cttgtcaggc ttattgaact	9120
	agtccataag aataatttac aagaaagaga gatccctacc gtgacagtaa ctacttggct	9180
	tgcataattct tttgtcaatg aagacctggg gactatcaag cctgtattgg gggagaaagt	9240
65	catcccagaa ccccccggagg agttgagttt ccaacccacc gtgagactag tcaccactga	9300
	aacagcaata accataacag gggaggctga agtgcgtacg acaggatca caccgttgtt	9360
	agagatgaaa gaagaacctc agtggacca ccagtcaact accctaaagg tagggttggaa	9420
	ggaagggaa tatccaggc caggagttaa ccctaaccat ttagcagagg tgatagatga	9480

# ES 2 321 210 T3

	gaaagatgac aggcctttg tcctaattcat cggttaacaaa ggttctacct cgaacagac	9540
	aagaacggcc aagaatatac ggctgtacaa aggaaacaaac ccaagagaga tcagggatct	9600
	gatgagccaa ggaagaatat tgacggttgc tctaaaagag ttggaccgg aattaaaaga	9660
5	attagtagat tacaagggga ccttctcaa taggaaagct ttagaagccc taagcttagg	9720
	taagccaatc aagagaaaaa ccacaacagc aatgatcagg aggttaatag agccagaggt	9780
	tgaggaggaa ctaccagatt ggttccaagc ggaagaaccc ctattttgg aagcaaaaat	9840
10	acagaatgac ttataccacc taattggcag tgtagatagt ataaaaagca aagcaagga	9900
	attagggcc acagataaca caaagatagt gaaggaagtt gggcttagga cctatacgat	9960
	gaaattgagc agctggagca cacaagttac aaaaaaacag atagatctag cccctctt	10020
	tgaagagctg ttattaaagt gccctccatg tagtaaaatt tcaaaggac atatgggtc	10080
15	agcataccaa ctggctcaag gaaactggg acccctcggg tgggggtct atatggAAC	10140
	cataccagct aggcgtctca agatccaccc ttatgagct taccttaaac tcaaagagct	10200
	ggtggaaagt gaatcttcga gggccactgc aaaagaatcc atcataagag aacataacac	10260
	ctggatctg cggaagggtga gacatgaagg gacatctaaga accaaatcaa tcatcaaccc	10320
	tggaaaata tcagatcagc tatgcagaga tggcacacaaa agaaacatat ataataagat	10380
20	cataggctca acaatggcct ctgctgttat taggctggag aaactgcccag tagtccgagc	10440
	ccaaactgac acaaccagt tccaccaagc cataagagaa aaaattgata aaacagaaaa	10500
	caagcagacc cctgaattgc atgaagaact aatgaaggc ttcgactgct taaagatccc	10560
	agagctgaag gaatcgtatg atgaagttc atggAACAA ttagaagccg ggataaaccg	10620
	taagggtgca gcaggctatc tagagagcaa gaacataggg gaagtcctag acacagagaa	10680
25	acacatacta gagcagctga tcaaggatct gaggaagggg aagaagatta ggtactatga	10740
	aacagccatc cccaaagaatg agaagagaga cgtcagcgc gactgggaag ccggagagtt	10800
	cgttcatgaa aagaaaccaa gagtaatcca gtaccggac gccaagggtga gactggccat	10860
	tacaaaaatg atgtacaaat gggtaaagca aaaaccagtgt gtgataacccg gctatgaagg	10920
30	taaaacacct ctatgtaca tattcaacaa agtgaagaag gaatgggatt cattccagga	10980
	ccccgttagca gtgagcttt acaccaaagc gtgggataca caagtccacca gtagagacct	11040
	aatgttgata aaggatatcc agaaatatta tttcaagaga agtatacaca aatttttaga	11100
	tacaataaca gaacacatgg tggaggtacc tgcattaca gcaacgggtg aagtttacat	11160
35	aaggaatgtt cagagggta gtggccaaacc cgacacaagt gctggtaata gtatgttcaa	11220
	tgtcctaacc atgatatacg cttctgtaa aagtacaggc atacccatca ggggatttcag	11280
	cagagtggca agaatccatg tgcgttgta tgatggctt ttgataacag agagaggact	11340
	gggactgaaa ttctctgaga agggtatgca gatattacat gaggccggg agccccagaa	11400
	aataactgaa gggcacaaaa taaaagtggc atacagattc gaggacatag agtttttttc	11460
40	ccatactccc gtgccagtca gatggcaga taacaccagt agttacatgg cagggaggag	11520
	cacagccact atactagcta agatgcaac caggctggat tccagcggag agaggggttag	11580
	cacagcttat gagaaggccg tagccttcag cttcctttt atgtactcat ggaatcccg	11640
	agtttagaagg atctgcttac tggtgttgc acagtttcca gaaatatccc catccaaaaa	11700
45	cacaatatac tactaccaag gggatccat agctgcgtac agagaagtga tagggaaaca	11760
	gctgtgtgaa ctgaaaagaa caggatttgaa gaaatgtggct ggtctgaatt tgagtatgac	11820
	cactcttaggc atctggacaa aacatactag taaaagacta atccaaaggct gtgtagaaat	11880
	aggttaagaga gaaggtacct gtttagttaa tgctgacaga ctgattgcag gaaagactgg	11940
	gaagtttac atccaaagca ctgggttgcac tctgttgggaa aacactatg aggaaattaa	12000
50	cttaaagcaa aaggcggcac aaccggcgat agagggggtt gacagatata agttggcc	12060
	catagttat gttatcttga gaaggctgag ggtatgtct atgacagttt ccagcggaa	12120
	ctggtaatc cgtccggagc gtcgtccct cactcaaggt tttaattgt aaatattgt	12180
	aatagacacg taagatattt attgtatgg gatagtaatg cagtgatagt aaataccca	12240
55	atttaacact acctccatg cactaagcac tttagctgt tgaggttaac tcgacgtcca	12300
	cggttggact aggaagacc tctaacagcc cc	12332

<210> 11

60 <211> 11840

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial:secuencia XIKE-C-NdN de VDVB

# ES 2 321 210 T3

<400> 11

	gtatacgaga ttagctaaag aactcgtata tggattggac gtcaacaaat ttttaattgg	60
	caacgtagg aaccttcccc tcagcgaagg ccgaaaagag gctagccatg cccttagtag	120
5	gactagcaa agtagggac tagcggtagc agtgagttcg ttggatggcc gaacccctga	180
	gtacagggg gtcgtcaatg gttcgacact ccattagtcg aggagtctcg agatgccatg	240
	tggacgaggg catgcccacg gcacatctt acccatgcgg gggttgcatt ggtgaaagcg	300
	ctattcgtgg cgttatggac acagcctgtat aggtgttagc agagacctgc tattccgcta	360
	gtaaaaactc tgctgtacat ggcacatggta gttgtttcc gatgaaggga gcaagggtgc	420
10	tacaagttaag aagcagccta agccagatag gataaaaaaa ggttaagatga aaatagcccc	480
	aaaagagaca gaaaaagatt gcaaaaccag acccccccac gcgactatacg tagtagaagg	540
	ggttaagttac caggtgaaga aaaaagggaa ggttaaggggaaa aaaaatactc aagatgggtt	600
	atatcacaac aagaataagc cccctgaatc aaaaaaaa ttggaaaagg cactgctggc	660
15	ttgggccatc ttagcagcgg tcctgcttca gctggtaaca ggagagaata tcacccagtg	720
	gaacttgtat gacaacggca ccgagggaaat acagcaagcg atgttcccaa gaggggtgaa	780
	caggagtcta ttaggaattt ggccagagaa aatttgcacc ggagtaccaa ctcacttagc	840
	aacagactat gagcttaaag agatagtggg gatgatggac gcgagtgaga agaccaacta	900
	cacgtgtgc aggttgc当地 gacatgagtg gaataaacat ggttgggtgta actgggttca	960
20	tatagaaccc tggatatggt tgatgaacaa aacccaaaac aacctgacag aagggcaacc	1020
	gcttagggag ttgtctgtga ctgttagta tgacaaggaa acagaattga acatcgtgac	1080
	acaggctagg gacagaccta caactctgac aggttgc当地 aaaggcaaga atttctctt	1140
	cgcaagggtt atactggatg gcccctgtaa cttaaagta tcggttgaag atgtgctgtt	1200
25	caaggagcac gattgc当地 acatgctgca agagaccgc当地 atacagctac tcgatgggc	1260
	aaccaacacc attgagggag caagggttagg gacggccaag ttgacaacct ggttagggaa	1320
	gcaatttaggg atccctggta agaagttgga gaacaaaagc aaagcatggt ttggcaca	1380
	tgtagcaagt ccatactgca gtagggagag gaagatcggt tacgtatggt atacaaaaaaa	1440
30	ctgcactcca gcttccttc caagaaacac tagaataata ggccccggaa aatttgcatac	1500
	caacgc当地 gatggaaaaa tactccatga gatggggggg cacctctc当地 aatttgc当地	1560
	attgtccttg gtggctctgt ctgactttgc cccggaaacc gcgagcgtca tctacttgc当地	1620
	tctacatttt gcgatccc当地 aaagccacgt tgatgttagac acatgc当地 agaaccagct	1680
	gaatttaacg gtagcaacca cagtagcaga ggtcatacca gggacagtgt ggaacctagg	1740
35	gaagtatgtc tgcataagac cagactggg gccatatgag acgacgacag tcttc当地	1800
	agaggaagca gggcaagtaa tcaaattgtat gctaaggggcc atcagagact taactaggat	1860
	atggaatgct gccactacca cagctttctt aatctttta gtaaaagcac tgaggggaca	1920
	actaatccaa gggctattgt ggctgatgct aataacagga gcacagggtt tccctgatg	1980
40	caaagaggc ttccaaatatg ccatactaa agacaggaaa atggggttat tggggccaga	2040
	gagcttaact acaacatggc acctccccc当地 caaaaaataa gtggattcca tggc当地	2100
	atgggtgaa ggaaaagact tggaaatatt aaaaatgtgc acaaaggaaag agaggtatct	2160
	atggc当地 cagagagag ccttatac当地 cagtgccgag tttatgc当地 tcaatgtgg	2220
	gacaataggc ccagacgtga tagatatgcc tgatgactt gagttggac tctgc当地	2280
45	tgactcaaaa ccagtgataa agggcaatt taatgccagc ttactgaatg gaccagctt	2340
	ccagatggta tgccc当地 cagg ggtggactgg tacaatagaa tgcaccctag cgaaccaaga	2400
	caccttggac acaactgtca ttaggacata tagaagaact accccatttc agcggagaaa	2460
	atgggttacc tatggaaaaa taataggggg agatatctat gaatgc当地 taggtggaaa	2520
50	ctggacatgc ataaccggg accatagcag gttgaaagac ggacctatca agaagtgtaa	2580
	gtgggtggc catgacttc当地 tcaactc当地 gggctacca cactacccaa taggcaatgt	2640
	catgctcatc aacgagagtg ggtacaggta tgtagatgac acctcttgc当地 ataggggtgg	2700
	tgtagccata gttccatctg gcaccgtaaa gtgtagaata ggtAACGTCA cggc当地	2760
55	tatcgctact aacaatgatc tggaccat gccttgc当地 ccagctgaaat tgatgcaag	2820
	tgaaggacca gtggaaaaa gtc当地 gac attcaactat tcaaggactc tacctaataa	2880
	gtattatgat ccaaggggacc ggtacttccaa acaatacatg ttaaaagggg agtggc当地	2940
	ttgggttgc当地 ctggattctg tagaccacca caaagactac ttctc当地 agtataatcat	3000
60	agcagtggtc gccttggg gttgtaagta cgtactgtgg ctctt当地 catacacaat	3060
	actgtctgag cagatggc当地 tgggtgctgg agtgaatact gaagagatag tcatgatagg	3120
	caatttgc当地 acagacagtg atattgaggt tgggtttat ttc当地 ttccctt当地 tggacttaat	3180
	agttaaagag gaactggc当地 gggaaatggat tataactggta taccacatcc ttgtagccaa	3240
	ccctatgaaa acaattgggg tcgtcttact aatgctgatgg gggttgc当地 aggccagcag	3300
	aatcaatgct gatgaccaaa gtgctatggta cccatgctt cttctgatc当地 caggc当地	3360
65	ggctgtttt当地 atgatcgctgta gaagagaacc tgccacatta ccactgattt tagcattgt	3420
	agcaataaga acatcaggat tcctactgcc cgctagcatt gatgtaactg tagcaggatg	3480

# ES 2 321 210 T3

	attaattgtatctttgttgccat	aacagactac	tttagatata	aaaagtggct	3540
	tcaactcttatcttgcat	tagctggat	ctttattata	aggagcttaa	3600
	ccagatggatgtaccagaaa	tatctatgccat	aagttggaga	cctctagctc	3660
5	ctatataaca	tctacagcaa	taaccactaa	ttgggacatt	3720
	gcaatggcgccagcgtat	tcatgtatggc	taccatgtgg	gcagactttt	3780
	catatgcctgcctat	cccagttacg	agttatctaa	gctttacttc	3840
	cgtggaaaag	aactggctcg	gcaaaagtga	atacagacag	3900
10	ctgtgacagt	gaggaagcag	tgtacctatt	tccatcaagg	3960
	agatttcata	ttacctttt	tgaaagccgt	gttaataagc	4020
	agtggtttac	atttcttacc	taatactggaa	aattacatac	4080
	agatgaggtg	tcaggaggag	caaattttct	atcaagactc	4140
15	aaattggggccat	atagatgtat	aggaatgtaa	aggactgaag	4200
	gagagcgaag	aatttgatag	ttaaacataa	ggtaagaaat	4260
	tggtgaggag	gaaatatacg	gggcacccaa	ggtgatcact	4320
	aagtaaaaac	aggcactgca	taatctgcac	gatctgtgaa	4380
20	caactgccccat	aagtgtggaa	gacaaggaaa	gcccataaca	4440
	ctttgaggag	aaacattaca	aaaagatatt	tataagagaa	4500
	ttttgatcct	tcttgcatt	gttaattattt	tcgcccacat	4560
	taagggttac	gtccaataaca	cagccagagg	acaactctt	4620
	agcgacgaag	atgaagctat	taatgggtgg	aaacctcgcc	4680
25	acatcttagat	tgggtactga	gaggggccagc	cgtgtcaaa	4740
	gtgccacgtat	aacatcatgg	ataagctaact	tgcattttt	4800
	gacccttaggcac	gtcacatgtat	gttcccccac	agcactacta	4860
	gacgggatggat	gcttacacgc	accaaggagg	gatcagctcg	4920
30	aaaggatttat	ctagtgtgt	acagtatggg	caggaccagg	4980
	taagatgact	gtgagactg	agtatggcat	caagaccgac	5040
	gaggtgttac	gtgctaaacc	cagaagctgt	taacatttct	5100
	acacctccat	aaaacggggg	gggagttcac	atgtgtcaat	5160
35	cttcgatctgat	aaaaatctaa	aaggctggc	cgggctacca	5220
	caggggtgtt	ggttaggggtat	aagtccgca	aatgagggat	5280
	gagcggaaatc	cagacagtgt	ctaagaacca	gacagaccta	5340
	gactagtatg	aacagaggag	agttccaaaca	gataacatta	5400
	tacggaaactg	ccaaggctccg	tcatagagga	gataggggagg	5460
40	gataccatttat	agagcagcag	cagagtcaat	gtatcagat	5520
	tatatcttcaat	atttgagaa	taggagatat	gaagggaaat	5580
	ctacgcctcat	tatgggtact	tttgcagct	tcctcagccc	5640
	agagtactcat	tatataattct	tagatgat	ccactgtgt	5700
45	aattggaaat	atacacaggat	ttgctgaaaa	tcttagagtg	5760
	agctggaaatc	gtcacaacga	ctggtcagaa	acaccctata	5820
	ggtgatgaaa	ggtgaagatc	taggtatgtat	atacttggat	5880
	gactgaagag	atgaaaggca	acatgctgt	gttcgcggca	5940
50	aacagctaata	aaattgaagg	ctaaggata	caactctggat	6000
	cccagagaac	ttgagggtgg	taacctcgca	atccccgtat	6060
	catagagtcat	ggtgtgacat	taccagactt	agacacagtt	6120
	tgagaagagg	gtgaggattt	cttcaaaaat	gcccttcatt	6180
	ggcagtcaca	atcggagagc	aagcccgagc	caggggtaga	6240
55	taggtactat	aggagtcaat	aaacagcttc	agggtcaaaa	6300
	gcaagcccaat	aggtaatggat	tagaaatgtat	acaaaagtcat	6360
	gaactatgtat	tggagcctt	acgaagagga	cagcttgcgt	6420
	taacaacctcat	cttatatctat	aagacactgca	tgccgcgt	6480
60	cgatcacccaat	gaaccatac	aactggccta	taacagttat	6540
	gttcccaaaat	atcaaaaat	gtgaggtgac	agacagttat	6600
	tgcaagaaaaat	ttaggagagg	acgtggccggc	atatgtgtac	6660
	agcagtggat	cttctgggtat	tggatggcc	ggaccacaggc	6720
	agggaggggca	ttaaaaacaag	taactggctt	atccacagca	6780
65	cctattcgat	tacgtcggtt	accagacact	ttcaaaaagg	6840
	catctataaca	tttgaagacc	acaggcttga	ggacacaacc	6900

ES 2 321 210 T3

	cgctataagg accgacggca	aggactcaga gttgaaggaa	ttagctgtgg gagacccgt	6960
5	taaatatgtg gacgcactgg	tagactactc caaacaaggg	atgaaattca tcaaagtcca	7020
	agctgaaaag gtcagagact	cccagtctac gaaggaaggc	ttgcaaacca ttaaggagta	7080
	tgtggataag tttatacat	cactaacaga gaataaggag	gagatcatca ggtatggact	7140
	atggggagtt cacacggcac	tctacaaaag cttggcagcg	agactggggc atgaaacacg	7200
10	tttgcaact tttagtggta	aatggttgc tttgggggc	gaaacggtat ctgctcacat	7260
	caagcaagta gcagttgatc	tagtagtata ttatatcatc	aacaaaccat ctttcctgg	7320
	agatacagag acccaacaag	aggggaggaa gtttggct	agtctttta tatctgcact	7380
	agcaacatac acatataaaa	cctggattt caacaatctg	caacgggtt tcgaacctgc	7440
15	cttagcttac ctccccatag	ctacaagtgc cttgaagtt	ttcacaccca caagattaga	7500
	gagtgtggc atactcagtt	ctacaattt caagacatac	ctctctataa ggaaggtaa	7560
	gagtgacggc ttgttagta	caggcataag tgccatg	gagatcttaa accaaaaccc	7620
	aatctcagta ggtatatctg	tgatgctgg ggtaggtgcc	atcgccgccc ataatgcaat	7680
	agaatctagt gaacagaaaa	gaactttgt gatgaaggc	tttgtaaaaa acttcttga	7740
20	ccaaggcagca acagatgagc	tagtcaaaga gaaccctgaa	aaaataatca tggctctatt	7800
	tgaaggcagtc cagaccatag	gaaaccccct aagactcatc	taccatctgt acgggggtga	7860
	ctataagggg tgggaagcaa	aagaactcgc agagaaaact	gctggccgca acttattcac	7920
	attgatcatg tttgaggcct	ttgagcttt aggtatggac	tcagaaggaa agataagaaa	7980
25	cttgcaggg aactacatac	tggacttaat cttcaactt	cataataat taaacaaggg	8040
	gctcaaaaaa ctatgcctt	ggtggctcc tgccatctt	agctgtgatt ggacaccaag	8100
	tgatgagaga ataagcctac	ctcataacaa ctacttaagg	gtagaaacca ggtgtcctt	8160
	tggctatgag atgaaggca	taaaaaatgt tgctggtaaa	ttgacaaaag ttgaagaaaa	8220
	ggggtccttc ctatgcagga	atagattagg gagaggac	ccaaacttca aagtaacaaa	8280
	gttctatgat gataacttga	tagaagtcaa gccagtagt	aggctagaag gccaggtgga	8340
30	cctctattac aaggagttaa	cagctaagtt agactacaac	aatggaaaag tactgttagc	8400
	taccaacaag tgggaggtgg	accacgctt cctgaccaga	ctagaaaga agcacacagg	8460
	gatagtttt aaaggtgcat	atttgggtga ccgaccagac	catcaagatc ttgtcgatag	8520
	agattgtgca actataacga	agaactcagt acagttccta	aaaatgaaga agggttgcgc	8580
35	tttcacatgat gacctaacaa	tctctaacct tgcaggctt	attgaactag tccataagaa	8640
	taatttacaa gaaagagaga	tccctaccgt gacagtaact	acttggctt catattttt	8700
	tgtcaatgaa gacctgggg	ctatcaagcc ttttgggg	gagaaagtca tcccagaacc	8760
	cccccgaggag tttagtctcc	aaccaccgt gagactagtc	accactgaaa cagcaataac	8820
	cataacaggg gaggtctgaag	tgatgacgac agggatcaca	ccagtggtag agatgaaaaga	8880
40	agaacctcag ctggaccacc	agtcaactac cttaaaggta	gggttgaagg aagggaaata	8940
	tccagggcca ggagttAAC	ctaaccattt agcagaggtt	atagatgaga aagatgacag	9000
	gcctttgtc ctaatcatcg	gtaacaaagg ttctacctcg	aacagagcaa gaacggccaa	9060
	gaatatacgg ctgtacaaag	gaaacaaccc aagagagatc	aggatctga tgagccagg	9120
45	aagaatattt acgggtgctc	taaaagagtt ggacccggaa	ttaaaagaat tagtagatta	9180
	caaggggacc tttctcaata	ggaaagctt agaagcccta	agcttagta agccaatcaa	9240
	gaggaaaacc acaacagcaa	tgatcaggag gtaatagag	ccagaggtt aggaggaact	9300
	accagattgg ttccaagcgg	aagaacccct attttggaa	gcaaaaatac agaatgactt	9360
50	ataccaccta attggcagtg	tagatagtat aaaaagcaa	gcaaaaggaat tagggccac	9420
	agataacaca aagatagtga	aggaagttgg ggcttaggacc	tatacgatga aattgagcag	9480
	ctggagcaca caagttacaa	aaaaacagat gagtctagcc	cctctctttt aagagctgtt	9540
	attaaagtgc cctccatgt	gtaaaatttca aagggacat	atgggtgtcag cataccaact	9600
55	ggctcaagga aactgggaac	ccctcgggtg tgggtctat	atgggaacca taccagctag	9660
	gctgtctcaag atccaccctt	atgaggctt cttaaactc	aaagagctgg tggaatgta	9720
	atcttcgagg gccactgcaa	aagaatccat cataagagaa	cataacacct ggatcctgcg	9780
	gaaggtgaga catgaaggga	acctaagaac caaatcaatg	atcaaccctg gaaaaatatc	9840
	agatcagcta tgcagagatg	gacacaaaag aaacatataat	aataagatca taggctcaac	9900
60	aatggcctct gctgttata	ggctggagaa actgccat	gtccgagccc aaactgacac	9960
	aaccagtttcc caccaagcca	taagagaaaa aattgataaa	acagaaaaca agcagacccc	10020
	tgaattgcat gaagaactaa	tgaaggctt cgactgctt	aagatcccag agctgaagga	10080
	atcgatgtatgat gaagttcat	ggaaacaattt agaagccggg	ataaaccgtt agggtgcagc	10140
65	aggctatcta gagagcaaga	acatagggga agtcctagac	acagagaaaac acatagtaga	10200
	gcagctgatc aaggatctga	ggaagggaa gaagattagg	tactatgaaa cagccatccc	10260
	caagaatgag aagagagacg	tcagcgacga ctggaaagcc	ggagagttcg ttgatgaaaa	10320

# ES 2 321 210 T3

	gaaaccaaga gtaatccagt acccggacgc caaggtgaga ctggccatta caaaagtgtat	10380
	gtacaatgg gtaaagcaaa aaccagtggt gatacccgac tatgaaggta aaacacctct	10440
5	atttgacata ttcaacaaag tgaagaagga atgggattca ttccaggacc ccgttagcagt	10500
	gagcttgc accaaagcgt gggatacaca agtcaccagt agagacctaa tggtgataaa	10560
	ggatatccag aaatattatt tcaagagaag tatacacaaa ttttagata caataacaga	10620
10	acacatggtg gaggtacctg tcattacagc agacggtgaa gtttacataa ggaatggtca	10680
	gaggggtagt ggccaacccg acacaagtgc tggtaatagt atgttgaatg tcctaaccat	10740
	gatatatgtcttctgtaaaa gtacaggcat accttacagg ggattcagca gagtgccaa	10800
15	aatccatgtg tgggtgtatg atggctttt gataacagag agaggactgg gactgaaatt	10860
	ctctgagaag ggtatgcaga tattacatga ggccggaaag ccccagaaaa taactgaagg	10920
	ggacaaaatg aaagtggcat acagattcga gacatagag tttgttccc atactccgt	10980
20	gccagtcaga tggcagata acaccatgttacatggca gggaggagca cagccactat	11040
	actagctaag atgcaacca ggctggattc cagcggagag aggggtagca cagtttatga	11100
	gaaggccgtgc cttcagct tcctttgtat gtaactatgg aatccctgtat ttagaaggat	11160
25	ctgcttactgttgggtcaca gtttccaga aatatccccca tccaaaaaca caatatacta	11220
	ctaccaagggg gatccatag ctgcgtacag agaagtgata gggaaacagc tgtgtgaact	11280
30	gaaaagaaca ggatttgaga agctggctgg tctgaatttg agtatgacca ctctaggcat	11340
	ctggacaaaa catactagta aaagactaat ccaagcctgt gtagaaatag gtaagagaga	11400
	aggtacctgg ttagttaatg ctgacagact gattgcagga aagactggg agttttacat	11460
	cccaagcact ggtgtcactc tggggaaa acactatgag gaaattaact taaagaaaa	11520
35	ggcggcacaaccccgatag agggggttga cagatataag ttggggccca tagttatgt	11580
	tatcttgaga aggctgaggg ttagtgcgtat gacagttgcc agcggaaagct ggtgaatccg	11640
	tccggagcgt cgtccctca ctcaaggttt ttaattgtaa atattgtaaa tagacagcta	11700
	agatattttat ttagtttggaa tagtaatgca gtgatagtaa ataccccaat ttaacactac	11760
	ctccaatgca ctaagcactt tagctgtgtg aggttaactc gacgtccacg gttggactag	11820
	ggaagaccc tcacagcccc	11840

<210> 12

<211> 3749

35 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial:XIKE-C-NdN

<400> 12

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

# ES 2 321 210 T3

	115	120	125
5	Arg Gly Val Asn Arg Ser Leu Leu Gly Ile Trp Pro Glu Lys Ile Cys 130	135	140
	Thr Gly Val Pro Thr His Leu Ala Thr Asp Tyr Glu Leu Lys Glu Ile 145	150	155
10	Val Gly Met Met Asp Ala Ser Glu Lys Thr Asn Tyr Thr Cys Cys Arg 165	170	175
	Leu Gln Arg His Glu Trp Asn Lys His Gly Trp Cys Asn Trp Phe His 180	185	190
	Ile Glu Pro Trp Ile Trp Leu Met Asn Lys Thr Gln Asn Asn Leu Thr 195	200	205
20	Glu Gly Gln Pro Leu Arg Glu Cys Ala Val Thr Cys Arg Tyr Asp Lys 210	215	220
	Glu Thr Glu Leu Asn Ile Val Thr Gln Ala Arg Asp Arg Pro Thr Thr 225	230	235
	Glu Thr Gly Cys Lys Lys Gly Lys Asn Phe Ser Phe Ala Gly Val Ile 245	250	255
30	Leu Asp Gly Pro Cys Asn Phe Lys Val Ser Val Glu Asp Val Leu Phe 260	265	270
	Lys Glu His Asp Cys Gly Asn Met Leu Gln Glu Thr Ala Ile Gln Leu 275	280	285
35	Leu Asp Gly Ala Thr Asn Thr Ile Glu Gly Ala Arg Val Gly Thr Ala 290	295	300
	Lys Leu Thr Thr Trp Leu Gly Lys Gln Leu Gly Ile Leu Gly Lys Lys 305	310	315
	320		
40	Leu Glu Asn Lys Ser Lys Ala Trp Phe Gly Ala His Ala Ala Ser Pro 325	330	335
	Tyr Cys Gly Val Glu Arg Lys Ile Gly Tyr Val Trp Tyr Thr Lys Asn 340	345	350
45	Cys Thr Pro Ala Cys Leu Pro Arg Asn Thr Arg Ile Ile Gly Pro Gly 355	360	365
	Lys Phe Asp Thr Asn Ala Glu Asp Gly Lys Ile Leu His Glu Met Gly 370	375	380
50	Gly His Leu Ser Glu Phe Val Leu Leu Ser Leu Val Val Leu Ser Asp 385	390	395
	400		
55	Phe Ala Pro Glu Thr Ala Ser Val Ile Tyr Leu Val Leu His Phe Ala 405	410	415
	Ile Pro Gln Ser His Val Asp Val Asp Thr Cys Asp Lys Asn Gln Leu		

## ES 2 321 210 T3

	420	425	430
5	Asn Leu Thr Val Ala Thr Thr Val Ala Glu Val Ile Pro Gly Thr Val 435	440	445
	Trp Asn Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ile Arg Pro Asp Trp Trp Pro Tyr 450	455	460
10	Glu Thr Thr Thr Val Phe Val Ile Glu Glu Ala Gly Gln Val Ile Lys 465	470	475
	Leu Met Leu Arg Ala Ile Arg Asp Leu Thr Arg Ile Trp Asn Ala Ala 485	490	495
	Thr Thr Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Val Lys Ala Leu Arg Gly Gln 500	505	510
20	Leu Ile Gln Gly Leu Leu Trp Leu Met Leu Ile Thr Gly Ala Gln Gly 515	520	525
	Phe Pro Glu Cys Lys Glu Gly Phe Gln Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Arg 530	535	540
25	Lys Met Gly Leu Leu Gly Pro Glu Ser Leu Thr Thr Trp His Leu 545	550	555
	Pro Thr Lys Lys Ile Val Asp Ser Met Val His Val Trp Cys Glu Gly 565	570	575
30	Lys Asp Leu Lys Ile Leu Lys Met Cys Thr Lys Glu Glu Arg Tyr Leu 580	585	590
	Val Ala Val His Glu Arg Ala Leu Ser Thr Ser Ala Glu Phe Met Gln 595	600	605
35	Ile Ser Asp Gly Thr Ile Gly Pro Asp Val Ile Asp Met Pro Asp Asp 610	615	620
	Phe Glu Phe Gly Leu Cys Pro Cys Asp Ser Lys Pro Val Ile Lys Gly 625	630	635
40	Lys Phe Asn Ala Ser Leu Leu Asn Gly Pro Ala Phe Gln Met Val Cys 645	650	655
	Pro Gln Gly Trp Thr Gly Thr Ile Glu Cys Thr Leu Ala Asn Gln Asp 660	665	670
45	Thr Leu Asp Thr Thr Val Ile Arg Thr Tyr Arg Arg Thr Thr Pro Phe 675	680	685
	Gln Arg Arg Lys Trp Cys Thr Tyr Glu Lys Ile Ile Gly Glu Asp Ile 690	695	700
50	Tyr Glu Cys Ile Leu Gly Gly Asn Trp Thr Cys Ile Thr Gly Asp His 705	710	715
	Ser Arg Leu Lys Asp Gly Pro Ile Lys Lys Cys Lys Trp Cys Gly His 720		

ES 2 321 210 T3

	725	730	735
5	Asp Phe Val Asn Ser Glu Gly Leu Pro His Tyr Pro Ile Gly Lys Cys 740	745	750
10	Met Leu Ile Asn Glu Ser Gly Tyr Arg Tyr Val Asp Asp Thr Ser Cys 755	760	765
15	Asp Arg Gly Gly Val Ala Ile Val Pro Ser Gly Thr Val Lys Cys Arg 770	775	780
20	Ile Gly Asn Val Thr Val Gln Val Ile Ala Thr Asn Asn Asp Leu Gly 785	790	795
25	Pro Met Pro Cys Ser Pro Ala Glu Val Ile Ala Ser Glu Gly Pro Val 805	810	815
30	Glu Lys Thr Ala Cys Thr Phe Asn Tyr Ser Arg Thr Leu Pro Asn Lys 820	825	830
35	Tyr Tyr Glu Pro Arg Asp Arg Tyr Phe Gln Gln Tyr Met Leu Lys Gly 835	840	845
40	Glu Trp Gln Tyr Trp Phe Asp Leu Asp Ser Val Asp His His Lys Asp 850	855	860
45	Tyr Phe Ser Glu Phe Ile Ile Ala Val Val Ala Leu Leu Gly Gly 865	870	875
50	Lys Tyr Val Leu Trp Leu Leu Ile Thr Tyr Thr Ile Leu Ser Glu Gln 885	890	895
55	Met Ala Met Gly Ala Gly Val Asn Thr Glu Glu Ile Val Met Ile Gly 900	905	910
60	Asn Leu Leu Thr Asp Ser Asp Ile Glu Val Val Val Tyr Phe Leu Leu 915	920	925
65	Leu Tyr Leu Ile Val Lys Glu Glu Leu Ala Arg Lys Trp Ile Ile Leu 930	935	940
70	Val Tyr His Ile Leu Val Ala Asn Pro Met Lys Thr Ile Gly Val Val 945	950	955
75	Leu Leu Met Leu Gly Gly Val Val Lys Ala Ser Arg Ile Asn Ala Asp 965	970	975
80	Asp Gln Ser Ala Met Asp Pro Cys Phe Leu Leu Val Thr Gly Val Val 980	985	990
85	Ala Val Leu Met Ile Ala Arg Arg Glu Pro Ala Thr Leu Pro Leu Ile 995	1000	1005
90	Val Ala Leu Leu Ala Ile Arg Thr Ser Gly Phe Leu Leu Pro Ala 1010	1015	1020
95	Ser Ile Asp Val Thr Val Ala Val Val Leu Ile Val Leu Leu Leu		

# ES 2 321 210 T3

	1025	1030	1035
5	Ala Ser Tyr Ile Thr Asp Tyr	Phe Arg Tyr Lys Lys	Trp Leu Gln
	1040	1045	1050
10	Leu Leu Phe Ser Leu Ile Ala	Gly Ile Phe Ile Ile	Arg Ser Leu
	1055	1060	1065
15	Lys His Ile Asn Gln Met Glu	Val Pro Glu Ile Ser	Met Pro Ser
	1070	1075	1080
20	Trp Arg Pro Leu Ala Leu Val	Leu Phe Tyr Ile Thr	Ser Thr Ala
	1085	1090	1095
25	Ile Thr Thr Asn Trp Asp Ile	Asp Leu Ala Gly Phe	Leu Leu Gln
	1100	1105	1110
30	Trp Ala Pro Ala Val Ile Met	Met Ala Thr Met Trp	Ala Asp Phe
	1115	1120	1125
35	Leu Thr Leu Ile Ile Val Leu	Pro Ser Tyr Glu Leu	Ser Lys Leu
	1130	1135	1140
40	Tyr Phe Leu Lys Asn Val Arg	Thr Asp Val Glu Lys	Asn Trp Leu
	1145	1150	1155
45	Gly Lys Val Lys Tyr Arg Gln	Ile Ser Ser Val Tyr	Asp Ile Cys
	1160	1165	1170
50	Asp Ser Glu Glu Ala Val Tyr	Leu Phe Pro Ser Arg	His Lys Ser
	1175	1180	1185
55	Gly Ser Arg Pro Asp Phe Ile	Leu Pro Phe Leu Lys	Ala Val Leu
	1190	1195	1200
60	Ile Ser Cys Ile Ser Ser Gln	Trp Gln Val Val Tyr	Ile Ser Tyr
	1205	1210	1215
65	Leu Ile Leu Glu Ile Thr Tyr	Tyr Met His Arg Lys	Ile Ile Asp
	1220	1225	1230
70	Glu Val Ser Gly Gly Ala Asn	Phe Leu Ser Arg Leu	Ile Ala Ala
	1235	1240	1245
75	Ile Ile Glu Leu Asn Trp Ala	Ile Asp Asp Glu Glu	Cys Lys Gly
	1250	1255	1260
80	Leu Lys Lys Leu Tyr Leu Leu	Ser Gly Arg Ala Lys	Asn Leu Ile
	1265	1270	1275
85	Val Lys His Lys Val Arg Asn	Glu Ala Val His Arg	Trp Phe Gly
	1280	1285	1290
90	Glu Glu Glu Ile Tyr Gly Ala	Pro Lys Val Ile Thr	Ile Ile Lys
	1295	1300	1305
95	Ala Ser Thr Leu Ser Lys Asn	Arg His Cys Ile Ile	Cys Thr Ile

# ES 2 321 210 T3

	1310	1315	1320
5	Cys Glu Gly Lys Glu Trp Asn	Gly Ala Asn Cys Pro	Lys Cys Gly
	1325	1330	1335
	Arg Gln Gly Lys Pro Ile Thr	Cys Gly Met Thr Leu	Ala Asp Phe
10	1340	1345	1350
	Glu Glu Lys His Tyr Lys Lys	Ile Phe Ile Arg Glu	Glu Ser Ser
	1355	1360	1365
15	Cys Pro Val Pro Phe Asp Pro	Ser Cys His Cys Asn	Tyr Phe Arg
	1370	1375	1380
	His Asp Gly Pro Phe Arg Lys	Glu Tyr Lys Gly Tyr	Val Gln Tyr
20	1385	1390	1395
	Thr Ala Arg Gly Gln Leu Phe	Leu Arg Asn Leu Pro	Ile Leu Ala
	1400	1405	1410
25	Thr Lys Met Lys Leu Leu Met	Val Gly Asn Leu Gly	Ala Glu Ile
	1415	1420	1425
	Gly Asp Leu Glu His Leu Gly	Trp Val Leu Arg Gly	Pro Ala Val
30	1430	1435	1440
	Cys Lys Lys Ile Thr Asn His	Glu Lys Cys His Val	Asn Ile Met
	1445	1450	1455
35	Asp Lys Leu Thr Ala Phe Phe	Gly Ile Met Pro Arg	Gly Thr Thr
	1460	1465	1470
40	Pro Arg Ala Pro Val Arg Phe	Pro Thr Ala Leu Leu	Lys Val Arg
	1475	1480	1485
	Arg Gly Leu Glu Thr Gly Trp	Ala Tyr Thr His Gln	Gly Gly Ile
	1490	1495	1500
45	Ser Ser Val Asp His Val Thr	Ala Gly Lys Asp Leu	Leu Val Cys
	1505	1510	1515
50	Asp Ser Met Gly Arg Thr Arg	Val Val Cys His Ser	Asn Asn Lys
	1520	1525	1530
	Met Thr Asp Glu Thr Glu Tyr	Gly Ile Lys Thr Asp	Ser Gly Cys
55	1535	1540	1545
	Pro Glu Gly Ala Arg Cys Tyr	Val Leu Asn Pro Glu	Ala Val Asn
	1550	1555	1560
60	Ile Ser Gly Thr Lys Gly Ala	Met Val His Leu Gln	Lys Thr Gly
	1565	1570	1575
	Gly Glu Phe Thr Cys Val Thr	Ala Ser Gly Thr Pro	Ala Phe Phe
65	1580	1585	1590
	Asp Leu Lys Asn Leu Lys Gly	Trp Ser Gly Leu Pro	Ile Phe Glu

# ES 2 321 210 T3

	1595	1600	1605
5	Ala Ser Ser Gly Arg Val Val Gly Arg Val Lys Val Gly Lys Asn 1610 1615 1620		
10	Glu Asp Ser Lys Pro Thr Lys Leu Met Ser Gly Ile Gln Thr Val 1625 1630 1635		
15	Ser Lys Asn Gln Thr Asp Leu Ala Asp Ile Val Lys Lys Leu Thr 1640 1645 1650		
20	Ser Met Asn Arg Gly Glu Phe Lys Gln Ile Thr Leu Ala Thr Gly 1655 1660 1665		
25	Ala Gly Lys Thr Thr Glu Leu Pro Arg Ser Val Ile Glu Glu Ile 1670 1675 1680		
30	Gly Arg His Lys Arg Val Leu Val Leu Ile Pro Leu Arg Ala Ala 1685 1690 1695		
35	Ala Glu Ser Val Tyr Gln Tyr Met Arg Val Lys Tyr Pro Ser Ile 1700 1705 1710		
40	Ser Phe Asn Leu Arg Ile Gly Asp Met Lys Glu Gly Asp Met Ala 1715 1720 1725		
45	Thr Gly Ile Thr Tyr Ala Ser Tyr Gly Tyr Phe Cys Gln Leu Pro 1730 1735 1740		
50	Gln Pro Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Glu Tyr Ser Tyr Ile Phe 1745 1750 1755		
55	Leu Asp Glu Tyr His Cys Ala Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile Ile 1760 1765 1770		
60	Gly Lys Ile His Arg Phe Ala Glu Asn Leu Arg Val Val Ala Met 1775 1780 1785		
65	Thr Ala Thr Pro Ala Gly Thr Val Thr Thr Gly Gln Lys His 1790 1795 1800		
	Pro Ile Glu Glu Phe Ile Ala Pro Glu Val Met Lys Gly Glu Asp 1805 1810 1815		
	Leu Gly Ser Glu Tyr Leu Asp Ile Ala Gly Leu Lys Ile Pro Thr 1820 1825 1830		
	Glu Glu Met Lys Gly Asn Met Leu Val Phe Ala Pro Thr Arg Asn 1835 1840 1845		
	Met Ala Val Glu Thr Ala Lys Lys Leu Lys Ala Lys Gly Tyr Asn 1850 1855 1860		
	Ser Gly Tyr Tyr Tyr Ser Gly Glu Asn Pro Glu Asn Leu Arg Val 1865 1870 1875		
	Val Thr Ser Gln Ser Pro Tyr Val Val Val Ala Thr Asn Ala Ile		

# ES 2 321 210 T3

	1880	1885	1890
5	Glu Ser Gly Val Thr Leu Pro Asp Leu Asp Thr Val Val Asp Thr 1895 1900 1905		
10	Gly Leu Lys Cys Glu Lys Arg Val Arg Ile Ser Ser Lys Met Pro 1910 1915 1920		
15	Phe Ile Val Thr Gly Leu Lys Arg Met Ala Val Thr Ile Gly Glu 1925 1930 1935		
20	Gln Ala Gln Arg Arg Gly Arg Val Gly Arg Val Lys Pro Gly Arg 1940 1945 1950		
25	Tyr Tyr Arg Ser Gln Glu Thr Ala Ser Gly Ser Lys Asp Tyr His 1955 1960 1965		
30	Tyr Asp Leu Leu Gln Ala Gln Arg Tyr Gly Ile Glu Asp Gly Ile 1970 1975 1980		
35	Asn Val Thr Lys Ser Phe Arg Glu Met Asn Tyr Asp Trp Ser Leu 1985 1990 1995		
40	Tyr Glu Glu Asp Ser Leu Met Ile Thr Gln Leu Glu Val Leu Asn 2000 2005 2010		
45	Asn Leu Leu Ile Ser Glu Asp Leu Pro Ala Ala Val Lys Asn Ile 2015 2020 2025		
50	Met Ala Arg Thr Asp His Pro Glu Pro Ile Gln Leu Ala Tyr Asn 2030 2035 2040		
55	Ser Tyr Glu Asn Gln Ile Pro Val Leu Phe Pro Lys Ile Lys Asn 2045 2050 2055		
60	Gly Glu Val Thr Asp Ser Tyr Glu Asn Tyr Thr Tyr Leu Asn Ala 2060 2065 2070		
65	Arg Lys Leu Gly Glu Asp Val Pro Ala Tyr Val Tyr Ala Thr Glu 2075 2080 2085		
	Asp Glu Asp Leu Ala Val Asp Leu Leu Gly Met Asp Trp Pro Asp 2090 2095 2100		
	Pro Gly Asn Gln Gln Val Val Glu Thr Gly Arg Ala Leu Lys Gln 2105 2110 2115		
	Val Thr Gly Leu Ser Thr Ala Glu Asn Ala Leu Leu Ile Ala Leu 2120 2125 2130		
	Phe Gly Tyr Val Gly Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Arg His Ile Pro 2135 2140 2145		
	Met Ile Thr Asp Ile Tyr Thr Leu Glu Asp His Arg Leu Glu Asp 2150 2155 2160		
	Thr Thr His Leu Gln Phe Ala Pro Asn Ala Ile Arg Thr Asp Gly		

### ES 2 321 210 T3

	2165	2170	2175
5	Lys Asp Ser Glu Leu Lys Glu	Leu Ala Val Gly Asp	Leu Asp Lys
	2180	2185	2190
	Tyr Val Asp Ala Leu Val Asp	Tyr Ser Lys Gln Gly	Met Lys Phe
10	2195	2200	2205
	Ile Lys Val Gln Ala Glu Lys	Val Arg Asp Ser Gln	Ser Thr Lys
	2210	2215	2220
15	Glu Gly Leu Gln Thr Ile Lys	Glu Tyr Val Asp Lys	Phe Ile Gln
	2225	2230	2235
	Ser Leu Thr Glu Asn Lys Glu	Glu Ile Ile Arg Tyr	Gly Leu Trp
20	2240	2245	2250
	Gly Val His Thr Ala Leu Tyr	Lys Ser Leu Ala Ala	Arg Leu Gly
	2255	2260	2265
25	His Glu Thr Ala Phe Ala Thr	Leu Val Val Lys Trp	Leu Ala Phe
	2270	2275	2280
	Gly Gly Glu Thr Val Ser Ala	His Ile Lys Gln Val	Ala Val Asp
30	2285	2290	2295
	Leu Val Val Tyr Tyr Ile Ile	Asn Lys Pro Ser Phe	Pro Gly Asp
	2300	2305	2310
35	Thr Glu Thr Gln Gln Glu Gly	Arg Arg Phe Val Ala	Ser Leu Phe
	2315	2320	2325
	Ile Ser Ala Leu Ala Thr Tyr	Thr Tyr Lys Thr Trp	Asn Tyr Asn
40	2330	2335	2340
	Asn Leu Gln Arg Val Val Glu	Pro Ala Leu Ala Tyr	Leu Pro Tyr
	2345	2350	2355
45	Ala Thr Ser Ala Leu Lys Leu	Phe Thr Pro Thr Arg	Leu Glu Ser
	2360	2365	2370
	Val Val Ile Leu Ser Ser Thr	Ile Tyr Lys Thr Tyr	Leu Ser Ile
50	2375	2380	2385
	Arg Lys Gly Lys Ser Asp Gly	Leu Leu Gly Thr Gly	Ile Ser Ala
	2390	2395	2400
55	Ala Met Glu Ile Leu Asn Gln	Asn Pro Ile Ser Val	Gly Ile Ser
	2405	2410	2415
	Val Met Leu Gly Val Gly Ala	Ile Ala Ala His Asn	Ala Ile Glu
60	2420	2425	2430
	Ser Ser Glu Gln Lys Arg Thr	Leu Leu Met Lys Val	Phe Val Lys
	2435	2440	2445
65	Asn Phe Leu Asp Gln Ala Ala	Thr Asp Glu Leu Val	Lys Glu Asn

## ES 2 321 210 T3

	2450	2455	2460
5	Pro Glu Lys Ile Ile Met Ala	Leu Phe Glu Ala Val	Gln Thr Ile
	2465	2470	2475
	Gly Asn Pro Leu Arg Leu Ile	Tyr His Leu Tyr Gly	Val Tyr Tyr
10	2480	2485	2490
	Lys Gly Trp Glu Ala Lys Glu	Leu Ala Glu Lys Thr	Ala Gly Arg
	2495	2500	2505
15	Asn Leu Phe Thr Leu Ile Met	Phe Glu Ala Phe Glu	Leu Leu Gly
	2510	2515	2520
20	Met Asp Ser Glu Gly Lys Ile	Arg Asn Leu Ser Gly	Asn Tyr Ile
	2525	2530	2535
	Leu Asp Leu Ile Phe Asn Leu	His Asn Lys Leu Asn	Lys Gly Leu
	2540	2545	2550
25	Lys Lys Leu Val Leu Gly Trp	Ala Pro Ala Pro Leu	Ser Cys Asp
	2555	2560	2565
30	Trp Thr Pro Ser Asp Glu Arg	Ile Ser Leu Pro His	Asn Asn Tyr
	2570	2575	2580
	Leu Arg Val Glu Thr Arg Cys	Pro Cys Gly Tyr Glu	Met Lys Ala
	2585	2590	2595
35	Ile Lys Asn Val Ala Gly Lys	Leu Thr Lys Val Glu	Glu Lys Gly
	2600	2605	2610
40	Ser Phe Leu Cys Arg Asn Arg	Leu Gly Arg Gly Pro	Pro Asn Phe
	2615	2620	2625
	Lys Val Thr Lys Phe Tyr Asp	Asp Asn Leu Ile Glu	Val Lys Pro
	2630	2635	2640
45	Val Ala Arg Leu Glu Gly Gln	Val Asp Leu Tyr Tyr	Lys Gly Val
	2645	2650	2655
50	Thr Ala Lys Leu Asp Tyr Asn	Asn Gly Lys Val Leu	Leu Ala Thr
	2660	2665	2670
	Asn Lys Trp Glu Val Asp His	Ala Phe Leu Thr Arg	Leu Val Lys
55	2675	2680	2685
	Lys His Thr Gly Ile Gly Phe	Lys Gly Ala Tyr Leu	Gly Asp Arg
	2690	2695	2700
60	Pro Asp His Gln Asp Leu Val	Asp Arg Asp Cys Ala	Thr Ile Thr
	2705	2710	2715
65	Lys Asn Ser Val Gln Phe Leu	Lys Met Lys Lys Gly	Cys Ala Phe
	2720	2725	2730
	Thr Tyr Asp Leu Thr Ile Ser	Asn Leu Val Arg Leu	Ile Glu Leu

## ES 2 321 210 T3

	2735	2740	2745
5	Val His Lys Asn Asn Leu Gln Glu Arg Glu Ile Pro Thr Val Thr 2750 2755 2760		
10	Val Thr Thr Trp Leu Ala Tyr Ser Phe Val Asn Glu Asp Leu Gly 2765 2770 2775		
15	Thr Ile Lys Pro Val Leu Gly Glu Lys Val Ile Pro Glu Pro Pro 2780 2785 2790		
20	Glu Glu Leu Ser Leu Gln Pro Thr Val Arg Leu Val Thr Thr Glu 2795 2800 2805		
25	Thr Ala Ile Thr Ile Thr Gly Glu Ala Glu Val Met Thr Thr Gly 2810 2815 2820		
30	Ile Thr Pro Val Val Glu Met Lys Glu Glu Pro Gln Leu Asp His 2825 2830 2835		
35	Gln Ser Thr Thr Leu Lys Val Gly Leu Lys Glu Gly Glu Tyr Pro 2840 2845 2850		
40	Gly Pro Gly Val Asn Pro Asn His Leu Ala Glu Val Ile Asp Glu 2855 2860 2865		
45	Lys Asp Asp Arg Pro Phe Val Leu Ile Ile Gly Asn Lys Gly Ser 2870 2875 2880		
50	Thr Ser Asn Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asn Ile Arg Leu Tyr Lys 2885 2890 2895		
55	Gly Asn Asn Pro Arg Glu Ile Arg Asp Leu Met Ser Gln Gly Arg 2900 2905 2910		
60	Ile Leu Thr Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Pro Glu Leu Lys Glu 2915 2920 2925		
65	Leu Val Asp Tyr Lys Gly Thr Phe Leu Asn Arg Glu Ala Leu Glu 2930 2935 2940		
	Ala Leu Ser Leu Gly Lys Pro Ile Lys Arg Lys Thr Thr Thr Ala 2945 2950 2955		
	Met Ile Arg Arg Leu Ile Glu Pro Glu Val Glu Glu Leu Pro 2960 2965 2970		
	Asp Trp Phe Gln Ala Glu Glu Pro Leu Phe Leu Glu Ala Lys Ile 2975 2980 2985		
	Gln Asn Asp Leu Tyr His Leu Ile Gly Ser Val Asp Ser Ile Lys 2990 2995 3000		
	Ser Lys Ala Lys Glu Leu Gly Ala Thr Asp Asn Thr Lys Ile Val 3005 3010 3015		
	Lys Glu Val Gly Ala Arg Thr Tyr Thr Met Lys Leu Ser Ser Trp		

## ES 2 321 210 T3

	3020	3025	3030
5	Ser Thr Gln Val Thr Lys Lys	Gln Met Ser Leu Ala	Pro Leu Phe
	3035	3040	3045
	Glu Glu Leu Leu Leu Lys Cys	Pro Pro Cys Ser Lys	Ile Ser Lys
10	3050	3055	3060
	Gly His Met Val Ser Ala Tyr	Gln Leu Ala Gln Gly	Asn Trp Glu
	3065	3070	3075
15	Pro Leu Gly Cys Gly Val Tyr	Met Gly Thr Ile Pro	Ala Arg Arg
	3080	3085	3090
20	Leu Lys Ile His Pro Tyr Glu	Ala Tyr Leu Lys Leu	Lys Glu Leu
	3095	3100	3105
	Val Glu Val Glu Ser Ser Arg	Ala Thr Ala Lys Glu	Ser Ile Ile
	3110	3115	3120
25	Arg Glu His Asn Thr Trp Ile	Leu Arg Lys Val Arg	His Glu Gly
	3125	3130	3135
30	Asn Leu Arg Thr Lys Ser Met	Ile Asn Pro Gly Lys	Ile Ser Asp
	3140	3145	3150
	Gln Leu Cys Arg Asp Gly His	Lys Arg Asn Ile Tyr	Asn Lys Ile
	3155	3160	3165
35	Ile Gly Ser Thr Met Ala Ser	Ala Gly Ile Arg Leu	Glu Lys Leu
	3170	3175	3180
40	Pro Val Val Arg Ala Gln Thr	Asp Thr Thr Ser Phe	His Gln Ala
	3185	3190	3195
	Ile Arg Glu Lys Ile Asp Lys	Thr Glu Asn Lys Gln	Thr Pro Glu
	3200	3205	3210
45	Leu His Glu Glu Leu Met Lys	Val Phe Asp Cys Leu	Lys Ile Pro
	3215	3220	3225
50	Glu Leu Lys Glu Ser Tyr Asp	Glu Val Ser Trp Glu	Gln Leu Glu
	3230	3235	3240
	Ala Gly Ile Asn Arg Lys Gly	Ala Ala Gly Tyr Leu	Glu Ser Lys
	3245	3250	3255
55	Asn Ile Gly Glu Val Leu Asp	Thr Glu Lys His Ile	Val Glu Gln
	3260	3265	3270
60	Leu Ile Lys Asp Leu Arg Lys	Gly Lys Lys Ile Arg	Tyr Tyr Glu
	3275	3280	3285
65	Thr Ala Ile Pro Lys Asn Glu	Lys Arg Asp Val Ser	Asp Asp Trp
	3290	3295	3300
	Glu Ala Gly Glu Phe Val Asp	Glu Lys Lys Pro Arg	Val Ile Gln

## ES 2 321 210 T3

	3305	3310	3315
5	Tyr Pro Asp Ala Lys Val Arg Leu Ala Ile Thr Lys Val Met Tyr 3320	3325	3330
10	Lys Trp Val Lys Gln Lys Pro Val Val Ile Pro Gly Tyr Glu Gly 3335	3340	3345
15	Lys Thr Pro Leu Phe Asp Ile Phe Asn Lys Val Lys Lys Glu Trp 3350	3355	3360
20	Asp Ser Phe Gln Asp Pro Val Ala Val Ser Phe Asp Thr Lys Ala 3365	3370	3375
25	Trp Asp Thr Gln Val Thr Ser Arg Asp Leu Met Leu Ile Lys Asp 3380	3385	3390
30	Ile Gln Lys Tyr Tyr Phe Lys Arg Ser Ile His Lys Phe Leu Asp 3395	3400	3405
35	Thr Ile Thr Glu His Met Val Glu Val Pro Val Ile Thr Ala Asp 3410	3415	3420
40	Gly Glu Val Tyr Ile Arg Asn Gly Gln Arg Gly Ser Gly Gln Pro 3425	3430	3435
45	Asp Thr Ser Ala Gly Asn Ser Met Leu Asn Val Leu Thr Met Ile 3440	3445	3450
50	Tyr Ala Phe Cys Lys Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Arg Gly Phe Ser 3455	3460	3465
55	Arg Val Ala Arg Ile His Val Cys Gly Asp Asp Gly Phe Leu Ile 3470	3475	3480
60	Thr Glu Arg Gly Leu Gly Leu Lys Phe Ser Glu Lys Gly Met Gln 3485	3490	3495
65	Ile Leu His Glu Ala Gly Lys Pro Gln Lys Ile Thr Glu Gly Asp 3500	3505	3510
	Lys Met Lys Val Ala Tyr Arg Phe Glu Asp Ile Glu Phe Cys Ser 3515	3520	3525
	His Thr Pro Val Pro Val Arg Trp Ala Asp Asn Thr Ser Ser Tyr 3530	3535	3540
	Met Ala Gly Arg Ser Thr Ala Thr Ile Leu Ala Lys Met Ala Thr 3545	3550	3555
	Arg Leu Asp Ser Ser Gly Glu Arg Gly Ser Thr Ala Tyr Glu Lys 3560	3565	3570
	Ala Val Ala Phe Ser Phe Leu Leu Met Tyr Ser Trp Asn Pro Val 3575	3580	3585
	Val Arg Arg Ile Cys Leu Leu Val Leu Ser Gln Phe Pro Glu Ile		

## ES 2 321 210 T3

	3590	3595	3600
5	Ser Pro Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Tyr Tyr Gln Gly Asp Pro Ile		
	3605	3610	3615
	Ala Ala Tyr Arg Glu Val Ile Gly Lys Gln Leu Cys Glu Leu Lys		
	3620	3625	3630
10	Arg Thr Gly Phe Glu Lys Leu Ala Gly Leu Asn Leu Ser Met Thr		
	3635	3640	3645
15	Thr Leu Gly Ile Trp Thr Lys His Thr Ser Lys Arg Leu Ile Gln		
	3650	3655	3660
	Ala Cys Val Glu Ile Gly Lys Arg Glu Gly Thr Trp Leu Val Asn		
	3665	3670	3675
20	Ala Asp Arg Leu Ile Ala Gly Lys Thr Gly Lys Phe Tyr Ile Pro		
	3680	3685	3690
25	Ser Thr Gly Val Thr Leu Leu Gly Lys His Tyr Glu Glu Ile Asn		
	3695	3700	3705
	Leu Lys Gln Lys Ala Ala Gln Pro Pro Ile Glu Gly Val Asp Arg		
30	3710	3715	3720
	Tyr Lys Leu Gly Pro Ile Val Asn Val Ile Leu Arg Arg Leu Arg		
	3725	3730	3735
35	Val Met Leu Met Thr Val Ala Ser Gly Ser Trp		
	3740	3745	

40

45

50

55

60

65