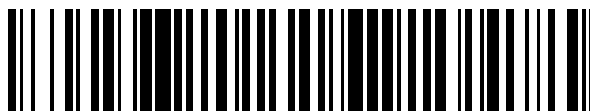


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 531 288**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2011** **E 11727457 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.12.2014** **EP 2585480**

54 Título: **Proteína de fusión anticancerígena**

30 Prioridad:

25.06.2010 PL 39162710

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

12.03.2015

73 Titular/es:

**ADAMED SP. Z O.O. (100.0%)
Pienków 149
05-152 Czosnów k/Warszawy, PL**

72 Inventor/es:

**PIECZYKOLAN, JERZY SZCZEPAN;
PAWLAK, SEBASTIAN DOMINIK;
ZEREK, BARTLOMIEJ MACIEJ y
LEMKE, KRZYSZTOF KAZIMIERZ**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 531 288 T3

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

DESCRIPCIÓN

Proteína de fusión anticancerígena

La invención se refiere al campo de las proteínas de fusión terapéuticas, en particular a proteínas de fusión recombinantes. Más particularmente, la invención se refiere a proteínas de fusión que contienen el fragmento de una secuencia de la proteína soluble humana TRAIL, en combinación con la secuencia de un péptido proapoptótico corto, y a composiciones farmacéuticas que las contienen que tienen uso en terapia, en particular como agentes anticancerígenos.

La apoptosis (muerte celular programada) es un proceso que tiene un papel importante en la prevención del cáncer y en el tratamiento del cáncer mediante el uso de agentes que inducen la apoptosis de células cancerígenas anormales.

La señalización de la apoptosis se puede iniciar desde fuera de una célula (ruta extrínseca o ruta de receptores de muerte) o desde el interior de una célula (ruta intrínseca o mitocondrial).

La activación de las rutas extrínsecas de la apoptosis en células cancerígenas humanas requiere la unión de un ligando a los receptores de muerte celulares para activar los receptores. Después de la unión de un ligando, los receptores activados inducen señales de apoptosis.

La iniciación de la apoptosis intrínseca dentro de una célula a través de la ruta mitocondrial puede comenzar en diferentes niveles de la cascada apoptótica, para causar finalmente la inducción o el restablecimiento de funciones de proteínas proapoptogénicas (citocromo c, SmacDiablo, AIF, p53, proteínas de la familia Bcl2 que incluyen la familia del dominio BH3), la degradación de ácidos nucleicos o la activación de caspasas.

La proteína TRAIL que pertenece a la familia de las citocinas (ligando inductor de la apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral, del inglés "Tumor necrosis factor-Related Apoptosis Inducing Ligand"), también conocida como Apo2L (ligando de Apo2), es un potente activador de la apoptosis en células tumorales y en células infectadas por virus. TRAIL es un ligando de origen natural en el organismo. La proteína TRAIL, su secuencia de aminoácidos, las secuencias que codifican el ADN y los sistemas de expresión de proteínas se describieron por primera vez en el documento EP0835305A1.

La proteína TRAIL ejerce su actividad anticancerígena uniéndose a los receptores de superficie proapoptóticos 1 y 2 de TRAIL (TRAIL-R1/R2) y activando posteriormente estos receptores. Estos receptores, también conocidos como DR4 y DR5 (receptor de muerte 4 y receptor de muerte 5), pertenecen a la familia de receptores de TNF y se hiperexpresan en diferentes tipos de células cancerígenas. La activación de los receptores puede inducir la ruta de señalización externa de la apoptosis, independiente del gen supresor p53 que, con la caspasa-8 activada, conduce a la activación de las caspasas efectoras y de ese modo se produce la degradación de los ácidos nucleicos. La caspasa-8 liberada después de la activación con TRAIL, también puede causar la liberación de la proteína Bid y activar de ese modo de forma indirecta la ruta mitocondrial, en donde la proteína Bid se trasloca a la mitocondria, y allí estimula la liberación de citocromo c, amplificando así indirectamente la señal apoptótica de los receptores de muerte.

TRAIL actúa selectivamente sobre las células tumorales, esencialmente sin inducir la apoptosis en las células sanas, que son resistentes a esta proteína. Por lo tanto, el enorme potencial de TRAIL ha sido reconocido como agente anticancerígeno que actúa sobre una amplia gama de diferentes tipos de células tumorales, incluyendo neoplasias hematológicas y tumores sólidos, y al mismo tiempo sin influir en las células normales y ejerciendo efectos secundarios que son potencialmente relativamente irrelevantes.

La proteína TRAIL es una proteína de membrana de tipo II que tiene una longitud de 281 aminoácidos y su región extracelular, que comprende los residuos de aminoácidos 114-281 después de la escisión con proteasas, forma la molécula sTRAIL soluble de 20 kDa de tamaño que también es biológicamente activa. Ambas formas TRAIL y sTRAIL son capaces de desencadenar la apoptosis a través de la interacción con receptores de TRAIL presentes en las células diana. Se ha demostrado una actividad antitumoral fuerte y muy baja toxicidad sistémica de la parte soluble de la molécula de TRAIL mediante pruebas con líneas celulares. Además, estudios clínicos en humanos con TRAIL humana recombinante soluble (rhTRAIL) que tiene la secuencia de aminoácidos correspondiente a los aminoácidos 114-281 de hTRAIL, conocida con el INN dulanermina, mostraron su buena tolerancia y la ausencia de toxicidad limitante de la dosis.

Estudios recientes muestran que la proteína TRAIL puede tener una forma más corta que los aminoácidos 114-281, y que también en esa forma es capaz de unirse a los receptores de membrana de la familia DR (*receptores de muerte*, DR1, DR2, DcR1, DcR2 y OPG) e inducir la ruta de la apoptosis a través de estos receptores (F., FANG, A., WANG, S., F., YANG, Antitumor activity of a novel recombinant mutant human tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, Acta Pharmacologica Sinica 2005 Nov; 26 (11): 1373-1381).

Los efectos tóxicos de la proteína TRAIL recombinante sobre células hepáticas descritos en la actualidad parece que están asociados con la presencia de una modificación, es decir, marcadores de polihistidina, TRAIL sin marcar no muestra toxicidad sistémica.

Sin embargo, en el curso de una investigación y el desarrollo posterior, parece que muchas células cancerígenas también muestran resistencia primaria o adquirida a TRAIL (véase, por ejemplo el documento WO2007/02221). Aunque el mecanismo de resistencia a TRAIL no se entiende completamente, se cree que se puede manifestar en diferentes niveles de la ruta de la apoptosis inducida por TRAIL, que se extienden desde el nivel de receptores en la superficie celular, a las caspasas efectoras dentro de la ruta de señalización. Esta resistencia limita la utilidad de TRAIL como agente anticancerígeno.

Además, en ensayos clínicos con pacientes, se mostró que la eficacia real de TRAIL como monoterapia era baja. Para superar esta eficacia baja y la resistencia de tumores a TRAIL, se han diseñado diversas terapias combinadas con agentes radioterapéuticos y quimioterapéuticos, lo que dio como resultado un efecto apoptótico sinérgico. (Documento WO2009/002947; A. Almasan y A. Ashkenazi, Cytokine Growth Factor Reviews 14 (2003) 337-348; RK Srivastava, Neoplasia, vol. 3, nº 6, 2001, 535-546, Soria JC et al., J. Clin. Oncology, vol. 28, nº 9 (2010), págs. 1527-1533). El uso de rhTRAIL para el tratamiento del cáncer en combinación con agentes quimioterapéuticos convencionales, seleccionados (paclitaxel, carboplatino) y anticuerpos monoclonales anti-VEGF, se describe en el documento WO2009/140469. Sin embargo, una combinación de este tipo implica necesariamente insuficiencias bien conocidas en la quimioterapia o radioterapia convencional.

Una proteína de fusión artificial que contiene secuencias de una vasostatina inhibidora de la angiogénesis y TRAIL unida con un enlazador con sitio de escisión para la metaloproteasa, ha sido descrita por tener un efecto inductor de la apoptosis en células tumorales, por A.I. Guo et al en Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology 2008, vol. 24(10), 925-930.

En la proteína de fusión artificial que contiene las secuencias tumstatina183-230 de una tumstatina inhibidora de la angiogénesis y TRAIL114-281, se ha descrito que muestra una inducción de la apoptosis de células de cáncer pancreático, en N. Ren et al en Academic Journal of Second Military Medical University 2008, vol. 28(5), 676-478.

El documento US2005/244370 y el documento correspondiente WO2004/035794 dan a conocer la estructura artificial de TRAIL95-281 como un dominio efector unido por un enlazador peptídico con la parte extracelular de otro miembro de la familia TNF de ligandos CD40, como un dominio que se une a la superficie celular. Se indica que la activación de la estructura artificial es a través de la unión de su parte CD40.

El documento WO2010/00551 D7 describe una proteína de fusión que comprende el dominio extracelular de TRAIL y un polipéptido que se une a TWEAK, específicamente a Fn14 soluble, que es un receptor cognado de TWEAK. La proteína de fusión tiene actividad destructora frente a células cancerígenas debido a la unión del dominio TRAIL a sus receptores de muerte de la membrana. El dominio Fn14 de la proteína de fusión, debido a la actividad de unión a TWEAK, bloquea el eje celular Fn14/TWEAK y produce efectos celulares de TWEAK, que incluyen sus efectos protumorigénicos y proapoptóticos, que dependen de la unión de TWEAK al receptor Fn14 no soluble de la membrana.

Además, se ha mostrado que el problema relacionado con la terapia de TRAIL es su baja estabilidad y la rápida eliminación desde el organismo después de la administración.

Aunque muchas terapias clínicas contra el cáncer están disponibles actualmente, con frecuencia no son suficientemente eficaces y tienen muchas desventajas bien conocidas, de las cuales una de las más preocupantes y que limitan más el tratamiento es la falta de selectividad frente a las células cancerígenas, efectos secundarios graves y resistencia - primaria o adquirida durante el tratamiento. Actualmente, se conoce un número limitado de agentes anticancerígenos que son a la vez eficaces y selectivos frente a las células cancerígenas. Por lo tanto, sigue existiendo una necesidad urgente y no satisfecha de nuevos agentes anticancerígenos que permitan tanto ampliar la gama de agentes disponibles, como encontrar agentes que sean más eficaces (citotóxicos) y selectivos. También existe una necesidad de nuevos agentes selectivos con una mayor estabilidad y farmacocinéticas mejoradas.

La presente invención propone una solución a este problema proporcionando nuevas proteínas de fusión que contienen un dominio obtenido a partir de TRAIL y un dominio peptídico efector corto que no incluye fragmentos de TRAIL que tengan actividad proapoptótica intrínseca (intracelular) o extrínseca (extracelular), que potencia o complementa la acción de TRAIL. Además, resultó que en muchos casos las proteínas de fusión de la invención muestran una actividad más potente que TRAIL soluble y sus variantes, incluyendo un fragmento de la secuencia, y en muchos casos también superan la resistencia a TRAIL. Por otra parte, la adición de un péptido efector da como resultado una semivida prolongada y una mayor tiempo de retención de la proteína en el tumor y, por último, aumenta su eficacia.

Descripción de las Figuras

La invención se describirá ahora en detalle haciendo referencia a las Figuras de los dibujos.

La Fig. 1 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 1, Ej. 2, Ej. 3, Ej. 4 y Ej. 5.

La Fig. 2 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 6, Ej.

7, Ej. 8, Ej. 9 y Ej. 10.

La Fig. 3 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 11, Ej. 12, Ej. 13, Ej. 14 y Ej. 15.

5 La Fig. 4 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 16, Ej. 17, Ej. 18, Ej. 19 y Ej. 20.

La Fig. 5 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 21, Ej. 22 y Ej. 23, así como de las proteínas de fusión comparativas del Ej. 24, Ej. 25 y Ej. 26.

La Fig. 6 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 27, Ej. 28, Ej. 29, Ej. 30 y Ej. 31.

10 La Fig. 7 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 32, Ej. 33, Ej. 34, Ej. 35 y Ej. 36.

La Fig. 8 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 37, Ej. 38, Ej. 39, Ej. 40 y Ej. 41.

15 La Fig. 9 presenta una estructura esquemática de las proteínas de fusión de la invención de acuerdo con el Ej. 42, Ej. 43, Ej. 44, Ej. 45 y Ej. 46.

La Fig. 10 presenta una estructura esquemática de proteínas de fusión de la invención de acuerdo el Ej. 47, Ej. 48, Ej. 49, Ej. 50 y Ej. 51.

La Fig. 11 presenta una estructura esquemática de proteínas de fusión de la invención de acuerdo el Ej. 52, Ej. 53, Ej. 54 y Ej. 55.

20 La Fig. 12 presenta los cambios en el volumen del tumor con el tiempo, en ratones SCID/NOD con cáncer de colon causado por Colo205, tratados con proteínas de fusión de la invención, en comparación con hTRAIL114-281.

La Fig. 13 presenta los valores de la inhibición del crecimiento tumoral en ratones con cáncer de colon causado por Colo205, tratados con proteínas de fusión de la invención el día 29 del experimento, en comparación con hTRAIL114-281.

25 La Fig. 14 presenta los cambios en el volumen del tumor con el tiempo, en ratones CrI:SHO-PrkdcscidHrhr con cáncer de pulmón humano causado por NCI-H460, tratados con proteínas de fusión de la invención, en comparación con hTRAIL114-281.

La Fig. 15 presenta la inhibición del crecimiento tumoral en ratones con cáncer de pulmón humano causado por NCI-H460, tratados con proteínas de fusión de la invención el día 29 del experimento, en comparación con hTRAIL114-281.

30 La Fig. 16 presenta los cambios en el volumen del tumor con el tiempo, en ratones CrI:SHO-PrkdcscidHrhr con cáncer de pulmón humano de células pequeñas causado por A549, tratados con proteínas de fusión de la invención, en comparación con hTRAIL114-281.

35 La Fig. 17 presenta la inhibición del crecimiento tumoral en ratones con cáncer de pulmón humano de células pequeñas causado por A549, tratados con proteínas de fusión de la invención el día 34 del experimento, en comparación con hTRAIL114-281

La Fig. 18 presenta los cambios en el volumen tumoral con el tiempo, en ratones CrI:SHO-PrkdcscidHrhr con carcinoma pancreático humano, causado por la línea celular de tipo epitelial PANC-1, tratados con proteínas de fusión de la invención, en comparación con hTRAIL114-281.

40 La Fig. 19 presenta la inhibición del crecimiento tumoral en ratones con carcinoma pancreático humano, causado por la línea celular de tipo epitelial PANC-1, tratados con proteínas de fusión de la invención el día 43 del experimento, en comparación con hTRAIL114-281.

La Fig. 20 muestra los espectros de diámetro circular de las proteínas de fusión del Ej. 1, Ej. 2, Ej. 14, Ej. 24, Ej. 51 y Ej. 42 y para rhTRAIL114-281 expresados en elipticidad específica.

45 **Descripción detallada de la invención**

La invención se refiere a una proteína de fusión que comprende:

un dominio (a) que es el fragmento funcional de una secuencia de la proteína hTRAIL soluble, en donde dicho fragmento es capaz de inducir una señal apoptótica y comienza con un aminoácido en una posición no inferior a hTRAIL95, o una secuencia que tiene al menos 70% de homología con la misma, y

un dominio (b) que es la secuencia de un péptido efector proapoptótico, que efectúa su acción proapoptótica a través de la ruta intrínseca de la apoptosis, en donde la secuencia del dominio (b) está fijada al extremo C-terminal y/o N-terminal del dominio (a).

5 La expresión "el fragmento funcional de una secuencia de hTRAIL soluble" debe entenderse que indica cualquier fragmento de este tipo de hTRAIL soluble que es capaz de inducir una señal apoptótica.

También será valorado por un experto en la materia que la existencia de una homología del 70% de TRAIL, se conoce en la técnica.

10 La expresión "un péptido" de acuerdo con la invención debe entenderse como una molécula construida a partir de una pluralidad de aminoácidos, unidos entre sí a través de un enlace peptídico. Por lo tanto, el término "péptido" de acuerdo con la invención, incluye oligopéptidos, polipéptidos y proteínas.

Se debe entender que el dominio (b) del péptido efector en la proteína de fusión de la invención no es ni la proteína hTRAIL ni una parte de la proteína hTRAIL.

15 En la presente invención las secuencias de aminoácidos de los péptidos se presentarán en una manera convencional aceptada en la técnica, en la dirección desde el extremo N-terminal (extremo N) del péptido hacia su extremo C-terminal (extremo C). Cualquier secuencia tendrá así su extremo N-terminal en el lado izquierdo y su extremo C-terminal en el lado derecho.

La proteína de fusión de la invención puede comprender un único dominio (b) del péptido efector, que se fija al extremo C-terminal o N-terminal del dominio (a).

20 La proteína de fusión de la invención también puede contener dos dominios (b) del péptido efector, en cuyo caso uno de los dominios (b) está fijado al extremo C-terminal de dominio (a) y el otro está fijado al extremo N-terminal del dominio (a).

Cuando la proteína de fusión de la invención comprende dos dominios (b) del péptido efector, estos dominios pueden ser iguales o diferentes. En este caso, preferiblemente, los dominios (b) son diferentes.

25 En una realización particular, el dominio (a) es un fragmento de la secuencia de hTRAIL, que comienza con un aminoácido desde el intervalo de hTRAIL114 a hTRAIL121, ambos incluidos, y termina en el aminoácido hTRAIL281, u otros fragmentos funcionales de la secuencia de hTRAIL publicada en GenBank con el número de orden P50591.

En particular, el dominio (a) se puede seleccionar entre el grupo que consiste en secuencias que se corresponden a hTRAIL114-281 (SEQ. No. 27), hTRAIL119-281 (SEQ. No. 28) y hTRAIL121-281 (SEQ. No. 29), hTRAIL116-281 y hTRAIL120-281.

30 En otra realización, el dominio (a) puede ser la secuencia hTRAIL95-281.

El péptido efector proapoptótico del dominio (b), que ejerce su actividad apoptótica a través de la ruta intrínseca de la apoptosis (de forma intracelular), puede inducir apoptosis directamente mediante la activación de componentes de la cascada de señalización de la ruta mitocondrial de la apoptosis, o mediante inducción directa de la apoptosis mitocondrial en las células .

35 En una realización de la proteína de fusión de la invención, el péptido efector es un péptido que actúa a través de la ruta intrínseca de la apoptosis, seleccionado a partir del grupo que consiste en SEQ. No. 30, SEQ. No. 31, SEQ. No. 32, SEQ. No. 33, SEQ. No. 34, SEQ. No. 35, SEQ. No. 36, SEQ. No. 37, SEQ. No. 38, SEQ. No. 39, SEQ. No. 40, SEQ. No. 41, SEQ. No. 42, SEQ. No. 43, SEQ. No. 44, SEQ. No. 45, SEQ. No. 46 y SEQ. No. 47, o SEQ. No. 151, SEQ. No. 152, SEQ. No. 153, SEQ. No. 154, SEQ. No. 155, SEQ. No. 156, SEQ. No. 157, SEQ. No. 158, SEQ. No. 159, SEQ. No. 160, SEQ. No. 161, SEQ. No. 162, SEQ. No. 163, SEQ. No. 164, SEQ. No. 165 y SEQ. No. 166.

El péptido efector de SEQ. No. 30 del grupo anterior, es el péptido obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bax que inhibe los factores antiapoptóticos, y específicamente el péptido de 16 aminoácidos presentado por:

KKLSECLKRI GDELDS (SEQ. No. 30).

45 Se cree que los péptidos basados en secuencias de los dominios BH3 de la proteína Bax son capaces de unirse eficazmente a las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y Bcl-XL. La actividad antiapoptótica de la proteína Bcl-2 y Bcl-XL se basa en su interacción con dominios BH3 presentes en factores responsables de la iniciación de la apoptosis (Bax, Bak, Bad). La unión del dominio BH3 da como resultado evitar la interacción de las proteínas Bcl-2 y Bcl-XL con sus ligandos naturales y la inhibición de su actividad, y contribuye de este modo al inicio del desarrollo de la apoptosis.

50 El péptido efector de SEQ. No. 31 del grupo anterior es el péptido de 15 aminoácidos que comprende el dominio BH3 de la proteína Bid, presentado por:

RNIARHLAQV GDSMD (SEQ. No. 31).

La proteína Bid pertenece a una familia de Bcl-2 y es responsable, entre otros, de la activación del factor proapoptótico Bax. Se cree que el péptido de 16 aminoácidos que comprende el dominio BH3 de la proteína Bid incorporado dentro la proteína de fusión de la invención, inducirá la apoptosis de forma eficaz.

5 El péptido efector de SEQ. No. 32 del grupo anterior es un homólogo del péptido de la ribonucleasa A (ARNasa A), presentado por:

KETA AKFERQHMDS STSAASSNY CNQMMKSRNL TKDRCKPVNT FVHESLADVQ

AVCSQKNVAC KNGQTNCYQS YSTMSITDCR ETGSSKYPNC AYKTTQANKH

IIVACEGNPY VPVHFDASV (SEQ. No. 32).

10 Las ribonucleasas son proteínas pequeñas con propiedades antineoplásicas potenciales, que después de la unión a membranas celulares cargadas negativamente, entran en la célula a través de endocitosis, y luego pasan al citosol, en donde actúan como una enzima para provocar la degradación del ARN. Partiendo de una concentración de 10 nM, detienen el ciclo celular y causan apoptosis.

El péptido efector de SEQ. No. 33, del grupo descrito anteriormente es la molécula de citocromo C presentada por:

GDVEK GKKIFIMKCS QCHTVEKGGK HKTGPNLHGL FGRKTGQAPG YSYTAANKNK

GIIWGEDTLM EYLENPKKYI PGTKMIFVGI KKKEERADLI AYLKATNE (SEQ. No.

33).

15 La liberación del citocromo C desde la mitocondria al citoplasma es una de las principales señales que inducen la apoptosis a través de la ruta denominada mitocondrial. La proteína forma parte del complejo apoptosoma, que activa la caspasa 9.

El péptido efector de SEQ. No. 34, del grupo descrito anteriormente es granzima B, presentado por:

IIGGHVAKPH SRPYMAYLMI WDQKSLKRCG GFLIRDDFVL TAAHCWGSSINVTLGAHNIK

EQEPTQQFIP VKRAIPHPAY NPKNFSNDIM LLQLERKAKR

TRAVQPLRLP SNKAQVKPGQ TCSVAGWGQT APLGKHSHTL QEVKMTVQED

RKCESDLRHY YDSTIELCVG DPEIKKTSFK GDSGGPLVCN KVAQGIVSYG

RNNGMPPRAC TKVSSFVHWI KTKMKRY (SEQ. No. 34).

20 Las granzimas, también denominadas fragmentinas en la bibliografía, son proteasas de serina típicas de la granularidad celular de los linfocitos Tc y las células NK. En humanos, se han identificado actualmente 5 granzimas diferentes: A, B, H, K (triptasa) y M (metioninasa). Unos estudios han confirmado que estas enzimas son los elementos de la reacción citotóxica ejercida por los linfocitos contra las células diana. Se ha mostrado que estas enzimas activan la perforina - una proteína que genera poros en las membranas celulares y de ese modo es mediadora en la respuesta citotóxica. Además, se cree que estas enzimas están implicadas directamente en la inducción de la apoptosis en las células diana. La granzima B activa procaspasas seleccionadas en sus formas activas (por ejemplo, la caspasa 3), y también libera a través de la proteólisis, la forma activa de la proteína Bid (una proteína que pertenece a la familia de proteínas Bcl-2), que inicia la ruta intracelular de la apoptosis mediante incorporación en las membranas mitocondriales y generación de poros en las membranas, seguida por la liberación de factores inductores de la apoptosis (citocromo C, caspasa 9, Apaf). Mediante la unión a las histonas, la granzima B también puede participar en la relajación de la estructura de la cromatina, lo que provoca su relajación y aumenta el acceso de las endonucleasas al ADN.

El péptido efector de SEQ. No. 35 del grupo anterior es el fragmento de la proteína Nur77 presentado por:

FSRSLHSL (SEQ. No. 35).

35 El receptor nuclear Nur77 es un inductor muy potente de la apoptosis. Uno de los mecanismos de su acción es la capacidad para unirse a la proteína Bcl-2, un factor antiapoptótico importante. Esta interacción provoca cambios conformacionales en la estructura de Bcl-2, que se convierte en un inductor de la apoptosis. El fragmento presentado anteriormente es una región de 9 aminoácidos procedente de la secuencia de Nur77, identificado como responsable de la unión y la conversión de Bcl-2 y la inducción de la apoptosis en las células. (Kolluri et al, Cancer Cell 14: 285-298, 2008).

El péptido efector de SEQ. No. 36 del grupo anterior es un péptido de 15 aminoácidos que comprende el dominio BH3 de la proteína Bak, presentado por

GQVGRQLAII GDDIN (SEQ. No. 36).

5 Se cree que este péptido corto incorporado en la proteína de fusión de la invención inducirá eficazmente la señal apoptótica.

El péptido efector de SEQ. No. 37 del grupo anterior es el dominio BH3 de la proteína PUMA/BBC3, presentado por

EEQWAREIGA QLRRMADDLN AQYE (SEQ. No. 37).

10 PUMA/BBC3 (modulador de la apoptosis hiperregulado con p53/componente 3 que se une a Bcl-2), es un miembro de una familia de proteínas Bcl-2 (subfamilia solo BH3). Es un mediador de la apoptosis de la manera dependiente e independiente sobre p53. Las interacciones directas de PUMA/BBC3 con todas las proteínas conocidas Bcl-2 pro-supervivencia, causan su inactivación, disfunción mitocondrial y, por lo tanto, la activación de las caspasas y la muerte celular. PUMA también afecta indirectamente al restablecimiento de la actividad proapoptótica de moléculas tales como Bak y Bax. El dominio BH3 es responsable de la unión de PUMA con proteínas pro-supervivencia.

El péptido efector de SEQ. No. 38 del grupo anterior es una proteína PUMA/BBC3, presentada por

ARAR QEGSSPEPVE GLARDGPRPF PLGRLVPSAV SCGLCEPGLA AAPAAPTLLP

AAYLCAPTAP PAVTAALGGS RWPGGPRSRP RGPRPDGPQP SLSLAEQHLE

SPVPSAPGAL AGGPTQAAPG VRGEEEQWAR EIGAQLRRMA DDLNAQYERR

15 RQEEQQRHRP SPWRVLYNLI MGLLPLPRGH RAPEMEPN (SEQ. No. 38).

Se cree que tanto la proteína PUMA/BBC3 como su dominio BH3, cuando se incorporan en la proteína de fusión de la invención, inducirán eficazmente las señales de la apoptosis.

El péptido efector de SEQ. No. 39 del grupo anterior es un fragmento de 8 aminoácidos de la proteína SMAC/Diablo, presentado por

20 AVPIAQKP (SEQ. No. 39).

SMAC/Diablo (segundo activador obtenido a partir de mitocondrias, de caspasa/proteína de unión directa a IAP con bajo pI) es un activador de las caspasas liberado desde las mitocondrias. Su motivo N-terminal se une competitivamente a las proteínas IAP, evitando que sus dominios BIR 2 y BIR 3 se inactiven con caspasas. Se cree que este péptido corto cuando se incorpora en la proteína de fusión de la invención, inducirá eficazmente la señal apoptótica.

25 El péptido efector de SEQ. No. 40 del grupo anterior es el péptido buforina IIb presentado por

RAGLQFPVGR LLRRLLRLL (SEQ. No. 40).

30 Buforina IIb es un péptido obtenido a partir de la histona H2A, que es capaz de penetrar de forma independiente a través de la membrana celular y tiene propiedades antibacterianas (Park et al, Biochem Biophys. Res. Commun., 244: 253-257, 1998). Estudios sobre su utilidad como agente anticancerígeno mostraron que es capaz de unirse selectivamente a numerosas células cancerígenas, penetrar en las células y acumularse en el núcleo, induciendo la apoptosis a través de la ruta mitocondrial (Lee et al, Cancer Letters, 271: 47-55, 2008).

El péptido efector de SEQ. No. 41 del grupo anterior es el péptido onconasa presentado por

QDWLT FQKKHITNTR DVDCDNIMST NLFHCKDKNT FIYSRPEPVK AICKGIASK

NVLTTFSEFYL SDCNVTSRPC KYKLLKSTNK FCVTCENQAP VHFVGVGSC (SEQ. No.

41).

35 La onconasa o P-30 es la proteína obtenida originalmente a partir de lisados de ovocitos de la rana *Rana pipiens*. Es una proteína de cadena sencilla con una masa de 12 kDa, homóloga estructuralmente a la ARNasa A. Estudios sobre esta proteína mostraron que tiene una actividad citotóxica notable contra las células tumorales (Y Wu, SM Mikulski, W Ardelt, SM Rybak y RJ Youle, The Journal of Biological Chemistry 268, 10686-10693). La investigación sobre el mecanismo de acción de la onconasa mostró que durante el proceso de internalización, entra en la célula en donde lleva a cabo el proceso de degradación del ARNr ribosómico 28S y 18S, lo que conduce a la inhibición de la

40 síntesis de proteínas y a la muerte celular.

El péptido efector de SEQ. No. 42 del grupo anterior es el fragmento N-terminal de 20 aminoácidos de la proteína p14ARF, que es el inhibidor de la proteína Mdm2 prosupervivencia, presentado por

VRRFLVTLRI RRACGPPRV (SEQ. No. 42).

5 p14ARF es la proteína que regula la actividad de la proteína Mdm2, que se une al supresor tumoral p53 y es responsable de su degradación y que por tanto hace posible la supervivencia de células transformadas. La proteína p14ARF a través de la unión a Mdm2, impide su interacción con p53. Se ha informado de que un péptido corto obtenido a partir de p14ARF es suficiente para bloquear la interacción entre Mdm2 y p53 y evitar la degradación de este último (Midgley et al, Oncogene 19: 2312-2323, 2000).

10 El péptido efector de SEQ. No. 43 del grupo anterior es el péptido de 11 aminoácidos que se une a Mdm2, presentado por

PRFMDTWEGL N (SEQ. No. 43).

El péptido anterior muestra homología de secuencia con la secuencia de p53 y una eficacia significativa para inhibir las interacciones entre MDM2-p53 (Böttger et al, Oncogene 13:2141-2147, 1996), evitando de ese modo la degradación de p53.

15 El péptido efector de SEQ. No. 44 del grupo anterior es el fragmento de 17 aminoácidos del péptido lunasina, presentado por

CEKHIMEKIQ GRGDDDD (SEQ. No. 44).

20 La lunasina es un péptido de 43 aminoácidos obtenido a partir de la soja (*Glycine max*) con un potencial anticancerígeno comprobado. El mecanismo de acción general de esta molécula consiste en la inhibición de la acetilación de histonas. Se conoce que las moléculas que poseen actividad desacetilasa actúan también como cosupresoras del proceso de transcripción (Leong et al, Cancer Lett, 18: 42-48, 2007).

El péptido efector de SEQ. No. 45 del grupo anterior es el dominio BH3 de la proteína Bik, presentado por

LALRLAC IGDEMDVS (SEQ. No. 45).

25 La proteína Bik interacciona con factores celulares y víricos que inician las señales de supervivencia (por ejemplo, Bcl-2), estimulando así la apoptosis. Al igual que muchas otras proteínas proapoptóticas, contiene un dominio BH3 necesario para la interacción con Bcl-2. Un péptido obtenido a partir de esta proteína que comprende el dominio BH3 puede iniciar la apoptosis mediante la activación de otras proteínas proapoptóticas o mediante la inhibición de proteínas antiapoptóticas (Del Gaizo Moore, V, et al, Blond, 111: 2300-2309, 2008).

30 El péptido efector de SEQ. No. 46 del grupo anterior es el péptido sintético - un inhibidor de proteasoma, presentado por

AGAGGGAGG AGAGGGAGGA G (SEQ. No. 46).

Este péptido consiste en una serie de repeticiones de residuos Gly y Ala, y es un inhibidor del proteasoma capaz de potenciar la apoptosis inducida por TRAIL, mediante la inducción de la hiperexpresión del receptor DR5 de TRAIL.

35 El péptido efector de SEQ. No. 47 del grupo anterior es el dominio del fragmento C-terminal del proteasoma S5a presentado por

MTISQQEFG RTGLPDLSSM TEEEQIAYAM QMSLQGAIEFG QAESADIDAS SAMDTSEPAK

EEDDYDVMQD PEFLQSVLEN LPGVDPNNEA IRNAMGLAS QATKDGKKDK KEEDK

(SEQ. No. 47).

Este dominio procedente del fragmento de proteasoma S5a contiene motivos UIMS que participan directamente en la unión de la ubiquitina y por lo tanto tienen capacidad de inducir la apoptosis.

El péptido efector de SEQ. No. 151 del grupo anterior es el péptido obtenido a partir de azurina.

40 La azurina, una proteína redox que contiene cobre, liberada por la bacteria patógena *Pseudomonas aeruginosa*, es muy citotóxica para muchas líneas celulares de cáncer. Entra en el citosol y se desplaza hasta el núcleo. Su actividad depende estrictamente de la presencia de la forma activa de p53 en las células cancerígenas. Se ha mostrado que la azurina se une a p53 e incrementa el nivel de p53 y Bax después de la traducción. Esta acción aparentemente antagonista con respecto a la interacción funcional entre Mdm2-p53, sugiere que la unión de azurina a p53 podría interferir con la asociación entre Mdm2-p53 y por lo tanto evitar la degradación de p53. Después de la unión, se desencadena la liberación de citocromo c mitocondrial en el citosol. Este proceso activa la cascada de las caspasas (in-

45

- cluyendo la caspasa-9 y la caspasa-7), iniciando de este modo el proceso de la apoptosis (Punj V, et al *Oncogene*. 25 de marzo de 2004; 23(13):2367-78, Funari G et al. *J Mol Recognit*. 2010 Jul Ago; 23(4):343-51). Un análisis detallado de la actividad de los péptidos obtenidos a partir de la secuencia de azurina mostró la región de 28 aminoácidos, responsable de la penetración eficaz en la célula y del desencadenamiento de la apoptosis (Yamada et al, *Cell Microbiol*, 7:1418-1431, 2005).
- 5 El péptido efector de SEQ. No. 152 del grupo anterior es el péptido de azurina de longitud completa.
- El péptido efector de SEQ. No. 153 del grupo anterior es el péptido diseñado a partir de la proteína aPP y el dominio BH3 de la proteína Bax.
- 10 Se han descrito quimeras de la proteína aPP y la proteína Bak proapoptótica rediseñada en el documento EP1309680, como muy potentes y ligandos específicos para Bcl-2 y Bcl-X humana. (Véase también Chin JW, Schepartz A. Design and evolution of a miniature Bcl-2 binding protein *Angew Chem Int Ed Engl*. 2001 Oct 15; 40(20):3806-3809).
- El péptido efector de SEQ. No. 154 del grupo anterior es otro péptido diseñado a partir de la proteína aPP y el dominio BH3 de la proteína Bax.
- 15 El péptido efector de SEQ. No. 155 del grupo descrito anteriormente es el péptido obtenido a partir de Reticulón RTN1-C.
- La proteína RTN1-C es una proteína de membrana localizada en el RE y que se expresa en el sistema nervioso, y su función biológica no está completamente aclarada. La región C-terminal de RTN1-C, correspondiente al fragmento procedente de los residuos 186 a 208, es capaz de unirse a ácidos nucleicos e interactuar con enzimas desacetilasas de histonas (HDAC) disminuyendo su actividad.
- 20 El péptido efector de SEQ. No. 156 del grupo anterior es reticulón 3 humano de longitud completa (isoforma a). Los reticulones (RTNs) forman un grupo de proteínas integrales de membrana que no tienen homología con ningún otro dominio conocido relacionado con la apoptosis. La isoforma a del reticulón 3 se hiperexpresa en líneas celulares tumorales, volviéndolas sensibles a la apoptosis mediada por TRAIL.
- 25 El péptido efector de SEQ. No. 157 del grupo anterior es la caspasa-3 modificada, activa de forma constitutiva (de cadena sencilla) (Srinivasula SM, Ahmad M, MacFarlane M, Luo Z, Huang Z, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES. Generation of constitutively active recombinant caspases-3 and -6 by rearrangement of their subunits. *J Biol Chem*. 1998 Abr 24; 273(17):10107-11).
- 30 El péptido efector de SEQ. No. 158 del grupo anterior es el dominio SAC de la proteína Par-4 (proteína de respuesta a la apoptosis de la próstata par-4).
- Par-4 es una proteína supresora de tumores con función proapoptótica. La acción proapoptótica específica del cáncer de Par-4 reside en su dominio SAC situado en el centro. La función de la molécula se logra por dos medios distintos: la activación de los componentes moleculares de la maquinaria de muerte celular (traslocación de Fas y FasL a la membrana plasmática) y la inhibición del factor de prosupervivencia (ruta de NF-κB). (Zhao Y, Rangnekar VM. Apoptosis and tumor resistance conferred by Par-4. *Cancer Biol Ther*. 2008 Dic; 7(12):1867-74. Epub 2008 Dic 8. Revisión).
- 35 El péptido efector de SEQ. No. 159 del grupo anterior es la proteína Noxa. Noxa codifica un miembro solo de homología con Bcl-2 3 (BH3) de la familia Bcl-2 de proteínas; este miembro contiene la región BH3 pero no otros dominios BH. Noxa es un mediador de la apoptosis dependiente de p53 y se localiza de forma dependiente del motivo BH3 en la mitocondria e interactúa con miembros de la familia Bcl-2 antiapoptóticos, dando como resultado la activación de la caspasa-9.
- 40 El péptido efector de SEQ. No. 160, del grupo descrito anteriormente, es el fragmento de proteína Noxa de 10 AA (KLLNLIISKLF), necesario para la ubicación mitocondrial (dominio que se dirige a la mitocondria-MTD o péptido que destruye células-CKP). Se ha descrito en el documento WO2006/001582 y en Young-Woo Seo et al. en *The Journal of Biological Chemistry* vol. 278, nº 48, edición del 28 de noviembre, págs. 48292-48299, 2003.
- 45 El péptido efector de SEQ. No. 161 del grupo anterior es el péptido híbrido corto Antp-TPR descrito en el documento WO2010055929. Antp-TPR es un péptido híbrido diseñado por ingeniería genética que se dirige a Hsp90, que tiene actividad citotóxica selectiva frente a células cancerígenas debido a la inhibición de la interacción de Hsp90 con el dominio TPR2A de Hop.
- 50 El péptido efector de SEQ. No. 162, del grupo descrito anteriormente es el péptido inhibidor del dominio SH2 de la proteína Stat3.
- El dominio SH2 de las proteínas Stat es responsable de la serie de eventos que conducen a favorecer el crecimiento y la diferenciación celular a través de la señalización normal de Stat, como respuesta a factores de crecimiento y citocinas.

El péptido efector de SEQ. No. 163 del grupo anterior es el péptido GQVGRQLAIIGDDINR obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bak (familia Bcl-2) (Castelli M, Reiners JJ, Kessel D. A mechanism for the proapoptotic activity of ursodeoxycholic acid: effects on Bcl-2 conformation. *Cell Death Differ.* 2004 Ago; 11(8):906-14). La proteína Bak es un miembro proapoptótico de la familia Bcl-2 que está implicada en la iniciación de la apoptosis.

- 5 El péptido efector de SEQ. No. 164 del grupo anterior es el péptido KNLWAAQRYGRELRRMSDEFEGSFKGL obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bad (familia Bcl-2) (Wang JL, Zhang ZJ, Choksi S, Shan S, Lu Z, Croce CM, Alnemri ES, Korngold R, Huang Z. Cell permeable Bcl-2 binding peptides: a chemical approach to apoptosis induction in tumor cells. *Cancer Res.* 2000 Mar 15; 60(6):1498-502).

El péptido efector de SEQ. No. 165 del grupo anterior es el péptido ATAP procedente de la proteína Bfl1.

- 10 ATAP (péptido anfipático que se ancla en la cola) (residuos 147-175 de Bfl1, una proteína bifuncional de la familia Bcl2), se dirige específicamente a las mitocondrias e induce la apoptosis dependiente de caspasas que no requiere Bax o Bak.

- 15 El péptido efector de SEQ. No. 166 del grupo anterior es otro péptido ATAP procedente de la proteína Bfl1. La proteína ATAP se fusiona con el dominio MTS de HCCS1 (Ko JK, Choi KH, Pan Z, Lin P, Weisleder N, Kim CW, Ma J. The tail-anchoring domain of Bfl1 and HCCS1 targets mitochondrial membrane permeability to induce apoptosis. *J Cell Sci.* 2007 Ago 15; 120(Pt 16):2912-23. Epub 2007 Jul 31).

- 20 Como se ha descrito anteriormente en este documento, la primera variante del péptido efector proapoptótico del dominio (b) puede ser un péptido que ejerce su actividad apoptótica a través de la ruta intrínseca de la apoptosis (intracelularmente), que induce apoptosis directamente mediante la activación de los componentes de la cascada de señalización de la ruta mitocondrial de la apoptosis o por inducción directa de la apoptosis mitocondrial en las células.

En una realización de la primera variante, un grupo de péptidos efectores proapoptóticos del dominio (b) que ejerce su actividad a través de la ruta intrínseca, pueden ser péptidos que inhiben y/o modulan los factores de prosupervivencia o antiapoptóticos intracelulares, tales como las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y Bcl-XL, después de la unión de los mismos.

- 25 Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior, son péptidos representados por SEQ. No. 30, presente en las proteínas de fusión del Ejemplo 1, SEQ. No. 37 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 11 y 47, SEQ. No. 45 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 21, SEQ. No. 158 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 42 y 43, y SEQ. No. 159 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 44.

- 30 En otra realización de esta primera variante, un grupo de péptidos efectores proapoptóticos del dominio (b) que ejercen su actividad a través de la ruta intrínseca, pueden ser péptidos que ejercen directamente un efecto destructor dentro de la célula para detener el ciclo celular.

Dicho efecto destructor directo dentro de la célula en una ruta intrínseca mitocondrial se puede iniciar con el péptido efector en diferentes niveles de la cascada de caspasas, lo que conduce a la muerte celular.

- 35 Ejemplos de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial son la degradación de ácidos nucleicos, especialmente de ARN o ADN celular completo y la inducción de nucleasas de degradación. Tal efecto puede ser ejercido, por ejemplo, por ribonucleasas, tales como ribonucleasas de la superfamilia de la ARNasa A pancreática, que incluye ARNasa pancreática humana, angiogenina humana (ribonucleasa 5, hAng), neurotoxina derivada de eosinófilos humanos (EDN) y ribonucleasa bovina, así como sus homólogos y variantes. Ejemplos de homólogos de ARNasas son onconasa, ribonucleasas aisladas a partir de *Rana catesbiana* y *Rana japonica*.

- 40 Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior que actúan mediante la degradación de ácidos nucleicos son péptidos representados por SEQ. No. 32, presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 3, 4 y 27, SEQ. No. 41, presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 16, 17 y 46, y SEQ. No. 157, presente en la proteína de fusión del Ejemplo 41.

- 45 Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial es la activación de caspasas. Un efecto de este tipo puede ser ejercido, por ejemplo, por el citocromo c (SEQ. No. 33), presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 5 y 6, granzima B (SEQ. No. 34), presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 7 y 8 o un péptido obtenido a partir de la proteína Smac/DIABLO (SEQ. No. 39), presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 14, 21, 33, 34 y 35.

- 50 Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial es la inhibición del proteasoma, debido a la influencia de la estabilización de proteínas proapoptóticas sobre el restablecimiento de las funciones de p53.

Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior que actúan mediante la inhibición del proteasoma, son péptidos representados por SEQ. No. 46 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 22, y SEQ. No. 47 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 23.

Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial es la modulación de proteínas histonas debido a la mejora de la influencia de la expresión de proteínas proapoptóticas sobre el restablecimiento de las funciones de p53.

5 Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior que actúan mediante la modulación de proteínas histonas, son buforina IIb representada por SEQ. No. 40 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 15 y lunasina representada por SEQ. No. 44 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 20.

10 Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial es el restablecimiento de las funciones de p-53, como con la inhibición de su degradación. La prevención de la degradación de p-53 se puede lograr mediante la inhibición del regulador negativo de p-53, tal como doble minuto murino 2 (MDM2) para interrumpir su regulación negativa. Esto se puede conseguir a través de péptidos que se unen a MDM2, que compiten con MDM2 para unirse a p-53, tales como azurina, una proteína redox que contiene cobre, un regulador del ciclo celular p14ARF o SuperTIP (proteína de inserto de tiorredoxina, péptido que se une a mdm-2 dentro del bucle del sitio activo de la proteína tiorredoxina bacteriana) o sus fragmentos.

15 Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior que actúan mediante el restablecimiento de funciones de p-53 son péptidos representados por SEQ. No. 42 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 18, SEQ. No. 43 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 19, SEQ. No. 151 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 29, 30 y 31, y SEQ. No. 152 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 32.

20 Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial es tener influencia, es decir, la activación, la inhibición o la modulación de la familia de proteínas Bcl-2, tales como las proteínas Bax, Bak, Bok, Bid, Bim, Bad, Bmf, Hrk, Noxa, Puma, Bik, BNIP3 y Spike, más particularmente de la familia de proteínas solo BH3, incluyendo Bid, Bim, Bad, Bmf, Hrk, Noxa, Puma, Bik, BNIP3 y Spike. En particular, los fragmentos de los dominios BH3 de los miembros de la familia Bcl-2, serán péptidos efectores ventajosos. Otro grupo de péptidos efectores son fragmentos de la familia de receptores nucleares RXR (receptor retinoide X), tales como por ejemplo, el receptor nuclear Nur77.

25 Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior que actúan influyendo en las proteínas de la familia Bcl-2, son péptidos representados por SEQ. No. 30 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 1, SEQ. No. 31 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 2, 4 y 8, SEQ. No. 32 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 3, SEQ. No. 35 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 9, SEQ. No. 36 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 10, SEQ. No. 37 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 11 y 47, SEQ. No. 38 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 12 y 13, SEQ. No. 159 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 44, SEQ. No. 160 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 45, SEQ. No. 163 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 51, SEQ. No. 164 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 52 y 53, SEQ. No. 165 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 54 y SEQ. No. 166 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 55.

35 Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial es provocar la señal apoptótica inducida por TRAIL, uniéndose a receptores de TRAIL, en particular mediante la activación de caspasas.

Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial, es favorecer la formación del apoptosoma.

40 Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior que actúan promoviendo la formación del apoptosoma, son péptidos representados por SEQ. No. 30 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 1, SEQ. No. 31 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 2, SEQ. No. 33 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 5 y 6, SEQ. No. 35 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 9, SEQ. No. 36 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 10, SEQ. No. 37 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 47, SEQ. No. 39 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 33, 34 y 35, SEQ. No. 40 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 14, SEQ. No. 45 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 21, SEQ. No. 153 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 36 y 37, SEQ. No. 154 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 38, SEQ. No. 157 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 41, SEQ. No. 158 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 42 y 43, SEQ. No. 159 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 44, SEQ. No. 160 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 45, SEQ. No. 163 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 51 y SEQ. No. 164 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 52 y 53.

Otro ejemplo de dicho efecto destructor directo del péptido efector en una ruta intrínseca mitocondrial es favorecer la permeabilización de la membrana mitocondrial externa (MOMP), debido a ello, las proteínas liberadas por la mitocondria pueden actuar sobre el nivel de activación de las caspasas.

55 Péptidos efectores a modo de ejemplo del grupo anterior que actúan favoreciendo la permeabilización MOMP, son péptidos representados por SEQ. No. 30 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 1, SEQ. No. 31 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 2 y 48, SEQ. No. 33 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 5 y 6, SEQ. No. 39 presente en las proteínas de fusión de los Ejemplos 14, 33, 34 y 35, SEQ. No. 40 incorporada en

la proteína de fusión del Ejemplo 15, SEQ. No. 41 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 46 y SEQ. No. 45 incorporada en la proteína de fusión del Ejemplo 21.

5 Como se ha descrito anteriormente en este documento, la segunda variante del péptido efector proapoptótico del dominio (b) de la invención es el grupo de péptidos efectores proapoptóticos que actúa a través de la ruta extrínseca (extracelularmente), los cuales requieren para su efecto la unión a receptores presentes en la superficie de la célula cancerígena.

Los siguientes ligandos de TNF (TNF - factor de necrosis tumoral) o análogos de TNF en forma de péptidos que actúan extracelularmente, se utilizaron como péptidos efectores comparativos:

- el decapeptido VANPQAEGQL (SEQ. No. 48);
- 10 • el hexapeptido LANGVE (SEQ. No. 49) o
- el septapeptido CPSEGLC (SEQ. No. 50).

El decapeptido representado por SEQ. No. 48 ha sido descrito como análogo/agonista de TNF en el documento JP 60226816.

15 El hexapeptido representada por SEQ. No. 49 se obtiene a partir de TNF y se ha descrito en el documento DE 3.841.768.

El septapeptido representado por SEQ. No. 50 es el péptido de 5 aminoácidos, que forma parte de la citocina TNF obtenida a partir de la superficie de interacción de esta citocina con sus receptores celulares: TNFR55 y TNFR75, que está flanqueada en el extremo C-terminal y N-terminal por dos residuos de cisteína. Los residuos de cisteína estabilizan la ciclación del péptido mediante la formación de un puente de sulfuro entre los aminoácidos. El objetivo de la ciclación es la estabilización del péptido y mejorar su actividad.

Después de la unión a los receptores de TRAIL presentes en la superficie de las células cancerígenas, la proteína de fusión ejercerá un efecto doble. El dominio (a), que es un fragmento funcional de TRAIL, ejercerá su actividad agonista conocida - es decir, la unión a receptores de muerte en la superficie celular y la activación de la ruta extrínseca de la apoptosis. Después de la internalización mediante endocitosis de la proteína de fusión que comprende el péptido proapoptótico que actúa intracelularmente, el dominio (b) será capaz de ejercer potencialmente su acción de forma intracelular, paralela a la actividad del dominio TRAIL. De esta manera, la actividad anticancerígena de TRAIL puede ser potenciada por la activación de otros elementos y mecanismos de la apoptosis.

La proteína de fusión comparativa que incorpora el péptido proapoptótico que actúa extracelularmente, debe iniciar potencialmente de forma adicional la ruta de la apoptosis, mediante la unión a y la activación de receptores proapoptóticos distintos de los receptores de TRAIL.

En una de las realizaciones de la invención, los dominios (a) y (b) de la proteína de fusión se pueden unir directamente entre sí.

En otra realización, el dominio (a) y el dominio (b) están unidos por un dominio (c) que comprende la secuencia de un sitio de escisión reconocido por proteasas presentes en el entorno de la célula, especialmente en el entorno de las células tumorales.

Un sitio de escisión para proteasas se puede seleccionar a partir de:

- una secuencia reconocida por la metaloproteasa MMP, en secuencias particulares PLGLAG (SEQ. No. 51), PLGIAGE (SEQ. No. 171) o PLGLAGQ (SEQ. No. 173),
 - una secuencia reconocida por la urocinasa uPA, en particular la secuencia RWR (SEQ. No. 52), y
 - 40 - una secuencia reconocida por furina, en particular, la secuencia RKKR (SEQ. No. 53), o la secuencia RKKRVKR (SEQ. No. 172),
- y sus combinaciones.

En particular, el sitio de escisión para proteasas es una combinación de la secuencia reconocida por la metaloproteasa MMP y una secuencia reconocida por la urocinasa uPA, situadas cerca una de la otra en cualquier orden.

45 En una realización, el dominio (c) es una combinación de MMP/uPA SEQ. No. 51/SEQ. No. 52, que es la secuencia PLGLAGRVVR, o una combinación de uPA/MMP SEQ. No. 52/SEQ. No. 51, que es la secuencia RVVRPLGLAG.

Las proteasas metaloproteasa MMP, urocinasa y/o furina se hiperexpresan en el entorno del tumor. La presencia de la secuencia reconocida por la proteasa permite la escisión del dominio (a) del dominio (b) después de la internalización de la estructura artificial, es decir, la liberación del dominio funcional (b) y, por lo tanto, su activación.

La presencia del sitio de escisión para proteasas, que permite la liberación rápida del péptido efector, aumenta las posibilidades de transportar el péptido hasta el lugar de su acción, antes de que se produzca la degradación aleatoria de la proteína de fusión mediante proteasas presentes en la célula.

5 Además, al dominio (b) del péptido efector de la proteína de fusión de la invención, se puede fijar un dominio de transporte (d), seleccionado a partir del grupo que consiste en:

(d1) una secuencia que se dirige al retículo endoplasmático,

(d2) una secuencia de poliarginina que transporta a través de la membrana celular, compuesta por 6, 7, 8 o 9 residuos de Arg,

(d3) un dominio de traslocación de *Pseudomonas aeruginosa* (SEQ. No. 54),

10 (d4) un dominio de transporte a través de la membrana,

(d5) un dominio de localización nuclear y

(d6) un dominio que se dirige a la mitocondria,

y sus combinaciones.

15 La combinación de los dominios (d1), (d2) y (d3) puede comprender, en particular, la combinación (d1)/(d2), (d1)/(d3) o (d1)/(d2)/(d3).

La combinación de los dominios (d1), (d2), (d3), (d4) y (d5) puede comprender, en particular, también la combinación (d1)/(d2), (d1)/(d3), (d1)/(d4), (d1)/(d5) y (d1)/(d2)/(d3), (d3)/(d5), (d2)/(d5), (d1)/(d3)/(d5), (d2)/(d3)/(d6).

Además, la combinación de los dominios (d1), (d2), (d3), (d4) y (d5) puede incluir dominios situados uno junto a otro y conectados a un extremo del dominio (b) y/o dominios enlazados a diferentes extremos del dominio (b).

20 Se debe entender que en el caso en el que la proteína de fusión tiene tanto el dominio de transporte (d) fijado al dominio (b), como el dominio (c) del sitio de escisión entre los dominios (a) y (b), entonces el dominio (c) está situado de tal manera que después de la escisión de la estructura artificial, el dominio de transporte (d) permanece fijado al dominio (b). En otras de palabras, si la proteína de fusión contiene tanto el dominio de transporte (d) como el dominio del sitio de escisión (c), entonces el dominio (d) se encuentra entre el dominio (b) y el dominio (c), o se encuentra en el extremo del dominio (b) opuesto al lugar de fijación del dominio (d). La invención no comprende una variante tal en la que el dominio (d) se encuentra entre el dominio (c) y un dominio (a), que es el caso cuando después de la escisión de la estructura artificial, el dominio de transporte permanece fijado al dominio TRAIL.

30 La secuencia de transporte puede estar fijada al extremo N-terminal o al extremo C-terminal del dominio (b). En algunas realizaciones, la secuencia de transporte puede ser también la parte terminal de la estructura artificial completa, tal como la parte C-terminal o la parte N-terminal, dependiendo de la manera de fijación de los dominios (a) y (b).

El dominio de traslocación de *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de traslocarse a través de la membrana lisosómica dentro del citoplasma y se puede utilizar para introducir el péptido efector en los compartimentos de células tumorales. La secuencia del dominio de traslocación de *Pseudomonas aeruginosa* es bien conocida y está representada por:

PEGGLA ALTAHQACHL PLETFTRHRQ PRGWEQLEQC GYPVQRLVAL YLAARLSWNQ

VDQVIANALA SPGSGGDLGE AIRESPEQAR LALTLAAAES ERFVRQGTGN

35 DEAGAANGPA D (SEQ. No. 54)

La secuencia (d1) que se dirige al retículo endoplasmático puede ser cualquier secuencia señal que se dirige al retículo endoplasmático, conocida en la técnica, tal como por ejemplo, pero no limitada a, KDEL, HDEL, RDEL, DDEL, ADEL, SDEL, KEDL. La secuencia (d1) se selecciona preferiblemente a partir de las secuencias KDEL (SEQ. No. 55) y KDEL (SEQ. No. 56).

40 Preferiblemente, la secuencia de direccionamiento (d1) se encuentra en el extremo C-terminal de la proteína de fusión de la invención y forma parte del extremo C-terminal de la misma.

El dominio de transporte a través de la membrana (d4) puede ser cualquier secuencia señal que transporta a través de la membrana plasmática, conocida en la técnica, tal como por ejemplo y sin limitarse a, KPRRPY o KPRRPYR.

La secuencia de localización nuclear (d5) puede ser cualquier secuencia señal que se dirige dentro del núcleo, co-

nocida en la técnica, tal como por ejemplo y no limitada a, EEEAAGRKRKKRT (SEQ. No. 168), FFFAAGRKRKKRT, NNNAAGRKRKKRT, YYYAAGRKRKKRT, AAKKK o GR KRKKRT.

5 El dominio de direccionamiento mitocondrial (d6) puede ser cualquier secuencia señal que se dirige a la mitocondria, conocida en la técnica, tal como por ejemplo y sin limitarse a, RVSFCRPGWSAMARSRLTATSVSQVQENGFK (SEQ. No. 166), un fragmento de MLATRVFSLVGKRAISTSVQV de la subunidad IV de la citocromo oxidasa humana (hCOXIV), o el péptido líder de la transcarbamilasa de ornitina.

10 Aparte de los principales elementos funcionales de la proteína de fusión, los dominios de transporte y los dominios de sitios de escisión, las proteínas de fusión de la invención pueden contener un dominio (e), es decir, un motivo de policisteína que facilita la estabilización del trimero, como, por ejemplo, y no limitado a, la secuencia CAACAAAC (SEQ No. 177) o CAAECAAAAC (SEQ. No. 178).

Además, el dominio de policisteína (e) puede estar conectado con un extremo del dominio (b) y/o enlazado a diferentes extremos del dominio (b).

15 Se debe entender que en el caso en el que la proteína de fusión tiene tanto el dominio de policisteína (e) fijado al dominio (b) como el dominio (c) del sitio de escisión entre los dominios (a) y (b), entonces el dominio (c) está situado de tal manera que después de la escisión de la estructura artificial, el dominio de policisteína (e) permanece fijado al dominio (a). En otras de palabras, si la proteína de fusión contiene el dominio de policisteína (e) y el dominio del sitio de escisión (c), entonces el dominio (e) se encuentra entre el dominio (a) y el dominio (c), o se coloca en el extremo del dominio (a), opuesto al lugar de fijación del dominio (d). La invención no comprende una variante tal en la que el dominio (e) se encuentra entre el dominio (c) y el dominio (b), que es el caso en el que después de la escisión de la estructura artificial, el dominio de policisteína permanecería fijado al dominio del péptido efector.

20 Además de los principales elementos funcionales de la proteína de fusión, los dominios de transporte y el o los dominios del sitio de escisión, las proteínas de fusión de la invención pueden contener una secuencia/secuencias neutras de un enlazador estérico flexible (espaciador) que comprende residuos de alanina, glicina, glutamina, cisteína, histidina y serina. Tales enlazadores/espaciadores son bien conocidos y se han descrito en la bibliografía. Su incorporación en la secuencia de la proteína de fusión es para proporcionar el plegamiento correcto de las proteínas producidas por el proceso de su hiperexpresión en las células hospedadoras.

25 En particular, el enlazador estérico flexible se puede seleccionar entre el grupo que consiste en GGSG (SEQ. No. 57), GGGG (SEQ. No. 58), GGGGS (SEQ. No. 59), GGSGG (SEQ. No. 60), GGGSGG (SEQ. No. 61), GGGSGGG (SEQ. No. 62), GGGSGGGG (SEQ. No. 63), GGGSGGGG (SEQ. No. 64), ASGG (SEQ. No. 65), GGGASGG (SEQ. No. 66) SGCGS (SEQ. No. 169), GGGSGGGG (SEQ. No. 180), GGSHG (SEQ. No. 182), SGGCGGS (SEQ. No. 183) y AACAA (SEQ. No. 184).

En una de las realizaciones, entre el dominio (a) y el dominio (b) se encuentra adicionalmente

(f) un dominio de la secuencia adecuada para fijar una molécula de PEG (enlazador PEG) a la proteína de fusión de la invención.

35 Un enlazador de este tipo puede ser una secuencia conocida AlaSerGlyCysGlyProGlu (ASGCGPE con la nomenclatura de una sola letra), indicada en la Lista de Secuencias adjunta como SEQ. No. 170. El enlazador PEG también se puede seleccionar entre AlaAlaCysAlaAla (AACAA), SerGlyGlyCysGlyGlySer (SGGCGGS) y (SGCGS), indicados en la Lista de Secuencias adjunta, respectivamente, como SEQ. No. 178, SEQ. No. 177 y SEQ. No. 179.

40 En otra realización, los dominios (a) (b) (c) (d) (e) y (f) se pueden separar adicionalmente hasta por tres residuos de aminoácidos, formados por residuos de aminoácidos, seleccionados en particular a partir del grupo que consiste en glicina y glutamina.

45 Además, en algunas realizaciones, la proteína de fusión puede contener como una parte C-terminal de la estructura artificial completa, un fragmento no funcional de hTRAIL, tal como la secuencia hTRAIL95-121, precedida por la secuencia que permite su escisión de la estructura artificial, de manera ventajosa el sitio de escisión para proteasas, preferiblemente la secuencia reconocida por trombina. La incorporación de un pequeño fragmento no funcional de hTRAIL de este tipo confiere mayor hidrofiliidad a la estructura artificial completa, mejorando así la solubilidad de la proteína durante el proceso de expresión. Después de las etapas de purificación, hTRAIL95-121 se escindiría con trombina. En tal caso, hTRAIL95-121 no estará presente en la proteína de fusión utilizada para la preparación de la composición farmacéutica.

50 Se puede utilizar cualquier secuencia reconocida por la trombina, conocida en la técnica, en particular, LVPRGS de secuencia (SEQ. No. 174).

Tal secuencia hTRAIL95-121 adicional es especialmente ventajosa en el caso de péptidos efectores lipófilos, y cuando el dominio (a) comienza con el aminoácido 114 y superiores en la secuencia completa de TRAIL.

Realizaciones particulares de la proteína de fusión de la invención son proteínas de fusión que comprenden un

péptido proapoptótico que actúa de forma intracelular, seleccionado entre el grupo que consiste en las proteínas representadas por:

5 SEQ. No. 1, SEQ. No. 2, SEQ. No. 3, SEQ. No. 4, SEQ. No. 5, SEQ. No. 6, SEQ. No. 7, SEQ. No. 8, SEQ. No. 9, SEQ. No. 10, SEQ. No. 11, SEQ. No. 12, SEQ. No. 13, SEQ. No. 14, SEQ. No. 15, SEQ. No. 16, SEQ. No. 17, SEQ. No. 18, SEQ. No. 19, SEQ. No. 20, SEQ. No. 21, SEQ. No. 22, SEQ. No. 23, SEQ. No. 93, SEQ. No. 94, SEQ. No. 95, SEQ. No. 96, SEQ. No. 97, SEQ. No. 98, SEQ. No. 99, SEQ. No. 100, SEQ. No. 101, SEQ. No. 102, SEQ. No. 103, SEQ. No. 104, SEQ. No. 105, SEQ. No. 106, SEQ. No. 107, SEQ. No. 108, SEQ. No. 109, SEQ. No. 110, SEQ. No. 111, SEQ. No. 112, SEQ. No. 113, SEQ. No. 114, SEQ. No. 115, SEQ. No. 116, SEQ. No. 117, SEQ. No. 118, SEQ. No. 119, SEQ. No. 120 y SEQ. No. 121.

10 Otras realizaciones específicas de la proteína de fusión de la invención son proteínas de fusión que comprenden un péptido proapoptótico que actúa extracelularmente, seleccionado entre el grupo que consiste en proteínas representadas por SEQ. No. 24, SEQ. No. 25 y SEQ. No. 26.

Una descripción detallada de la estructura de proteínas de fusión representativas mencionadas anteriormente, se muestra en las Figuras 1 a 5 y 9 a 13, y en los Ejemplos presentados en el presente documento a continuación.

15 De acuerdo con la presente invención, por proteína de fusión se entiende una sola molécula proteica que contiene dos o más proteínas o fragmentos de las mismas, unidos covalentemente a través de un enlace peptídico dentro de sus respectivas cadenas peptídicas, sin enlaces químicos adicionales.

20 La proteína de fusión también se puede describir alternativamente como una estructura artificial proteica o una proteína quimérica. Según la presente invención, las expresiones "estructura artificial" o "proteína quimérica", si se emplean, deben entenderse como una referencia a la proteína de fusión tal y como se ha definido anteriormente.

Para una persona experta en la técnica será evidente que la proteína de fusión definida de este modo se puede sintetizar por métodos conocidos de síntesis química de péptidos y proteínas.

25 La proteína de fusión se puede sintetizar por métodos de síntesis química de péptidos, especialmente utilizando las técnicas de síntesis de péptidos en fase sólida, utilizando resinas adecuadas como vehículos. Tales métodos son convencionales y conocidos en la técnica, y se describen, entre otros, en monografías, tales como, por ejemplo, Bodanszky y Bodanszky, *The Practice of Peptide Synthesis*, 1984, Springer-Verlag, Nueva York, Stewart et al., *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2ª edición, 1984, Pierce Chemical Company.

30 La proteína de fusión se puede sintetizar por los métodos de síntesis química de péptidos como una proteína continua. Alternativamente, los fragmentos individuales (dominios) de proteína se pueden sintetizar por separado y luego combinarlos entre sí en un péptido continuo, a través de un enlace peptídico, mediante condensación del extremo amino terminal de un fragmento peptídico procedente del extremo carboxilo del segundo péptido. Tales técnicas son convencionales y bien conocidas.

35 Para la verificación de la estructura del péptido resultante, se pueden utilizar métodos conocidos para el análisis de la composición de aminoácidos de los péptidos, tales como la técnica de espectrometría de masas de alta resolución para determinar el peso molecular del péptido. Para confirmar la secuencia peptídica, también se pueden utilizar secuenciadores de proteínas que degradan secuencialmente el péptido e identifican la secuencia de aminoácidos.

Sin embargo, preferiblemente, la proteína de fusión de la invención es una proteína recombinante, generada por métodos de expresión génica de una secuencia de polinucleótidos que codifica la proteína de fusión en células hospedadoras.

40 También se describe la secuencia de polinucleótidos, en particular la secuencia de ADN que codifica una proteína de fusión tal como se ha definido anteriormente.

Preferiblemente, la secuencia de polinucleótidos, en particular ADN, de acuerdo con la invención, que codifica la proteína de fusión tal como se ha definido anteriormente, es una secuencia perfeccionada para la expresión en *E. coli*.

45 También se describe un vector de expresión que contiene la secuencia de polinucleótidos, en particular la secuencia de ADN de la invención, tal como se ha definido anteriormente.

También se describe una célula hospedadora que comprende un vector de expresión como se ha definido anteriormente.

Una célula hospedadora preferida para la expresión de proteínas de fusión de la invención es una célula de *E. coli*.

50 Los métodos para generar proteínas recombinantes, que incluyen proteínas de fusión, son bien conocidos. Resumiendo, esta técnica consiste en la generación de una molécula de polinucleótidos, por ejemplo, una molécula de ADN que codifica la secuencia de aminoácidos de la proteína diana y que dirige la expresión de la proteína diana en el hospedador. A continuación, la proteína diana que codifica la molécula de polinucleótidos se incorpora en un vector de expresión apropiado, lo que asegura una expresión eficaz del polipéptido. A continuación se introduce el vec-

tor de expresión recombinante en células hospedadoras para la transfección/transformación, y como resultado se produce una célula hospedadora transformada. Seguidamente se realiza un cultivo de las células transformadas para hiperexpresar la proteína diana, la purificación de las proteínas obtenidas y, opcionalmente, el corte por escisión de las secuencias marcadoras usadas para la expresión o la purificación de la proteína.

- 5 Se describen técnicas adecuadas de expresión y purificación, por ejemplo, en la monografía de Goeddel, *Gene Expression Technology, Methods in Enzymology 185*, Academic Press, San Diego, CA (1990) y A. Staron et al., *Advances Mikrobiol.*, 2008, 47, 2, 1983-1995.

10 Como vectores de expresión para la introducción y la replicación de secuencias de ADN en células hospedadoras se pueden utilizar cósmidos, plásmidos o virus modificados. Normalmente los plásmidos se utilizan como vectores de expresión. Los plásmidos adecuados son bien conocidos y están disponibles comercialmente.

15 El vector de expresión comprende una molécula de polinucleótido que codifica la proteína de fusión de la invención y las secuencias reguladoras necesarias para la transcripción y la traducción de la secuencia codificadora incorporada en una célula hospedadora adecuada. La selección de secuencias reguladoras depende del tipo de células hospedadoras y una persona experta en la técnica lo puede llevar a cabo fácilmente. Ejemplos de tales secuencias reguladoras son promotor y potenciador transcripcional o secuencia que se une a la polimerasa de ARN, secuencia que se une al ribosoma que contiene la señal de iniciación de la transcripción insertada antes de la secuencia codificadora, y secuencia de terminación de la transcripción insertada después de la secuencia codificadora. Por otra parte, dependiendo de la célula hospedadora y del vector utilizado, se pueden introducir otras secuencias en el vector de expresión, tal como el origen de replicación, sitios de restricción de ADN adicionales, potenciadores y secuencias que permiten la inducción de la transcripción.

20 El vector de expresión también comprenderá una secuencia génica marcadora que confiere un fenotipo definido a la célula transformada y permite una selección específica de las células transformadas. Además, el vector también puede contener una segunda secuencia marcadora que permite distinguir las células transformadas con un plásmido recombinante que contiene una secuencia codificadora insertada de la proteína diana, a partir de las que se ha tomado el plásmido sin inserto. Con mayor frecuencia, se utilizan marcadores típicos de resistencia a antibióticos, sin embargo, se puede usar cualquier otro gen indicador conocido en el campo, cuya presencia en una célula (*in vivo*) se puede determinar fácilmente utilizando técnicas de autorradiografía, espectrofotometría o bioluminiscencia y quimioluminiscencia. Por ejemplo, dependiendo de la célula hospedadora, se pueden utilizar genes indicadores tales como β -galactosidasa, β -glucuronidasa, luciferasa, cloranfenicol acetiltransferasa o proteína fluorescente verde.

25 Además, el vector de expresión puede contener una secuencia señal que transporta proteínas al compartimento celular apropiado, por ejemplo, el periplasma, en donde se facilita el plegamiento. Asimismo, puede estar presente una secuencia que codifica un marcador/etiqueta, tal como un marcador His fijado al extremo N-terminal o GST fijada al extremo C-terminal, lo que facilita la posterior purificación de la proteína producida usando el principio de afinidad, a través de una cromatografía de afinidad en una columna de níquel. Pueden estar presentes secuencias adicionales que protegen a la proteína frente a la degradación proteolítica en las células hospedadoras, así como secuencias que incrementan también su solubilidad.

30 Un elemento auxiliar fijado a la secuencia de la proteína diana puede bloquear su actividad, o ser perjudicial por otra razón, tal como, por ejemplo, debido a la toxicidad. Tal elemento debe ser eliminado, lo que se puede llevar a cabo mediante escisión enzimática o química.

35 En particular, un marcador His de seis histidinas u otros marcadores de este tipo, fijados para permitir la purificación de la proteína por cromatografía de afinidad, se deben eliminar debido a su efecto descrito sobre la toxicidad hepática de la proteína TRAIL soluble.

40 Se pueden utilizar sistemas de expresión heterólogos basados en diversas células hospedadoras conocidas, incluyendo células procariontas: bacterianas, tales como *Escherichia coli* o *Bacillus subtilis*, levaduras tales como *Saccharomyces cerevisiae* o *Pichia pastoris* y líneas de células eucariotas (de insectos, mamíferos, plantas).

45 Preferiblemente, debido a la facilidad del cultivo y la manipulación genética, y a la gran cantidad de producto obtenido, se utiliza el sistema de expresión de *E. coli*. Por consiguiente, la secuencia de polinucleótidos que contiene la secuencia diana que codifica la proteína de fusión de la invención se perfeccionará para la expresión en *E. coli*, es decir, contendrá codones en la secuencia codificadora que sean óptimos para la expresión en *E. coli*, seleccionados a partir de posibles variantes de la secuencia, conocidas en el estado de la técnica. Además, el vector de expresión contendrá los elementos descritos anteriormente, adecuados para *E. coli*, fijados a la secuencia codificadora.

50 Por consiguiente, en una realización preferida se selecciona una secuencia de polinucleótidos que comprende una secuencia que codifica una proteína de fusión de la invención, perfeccionada para la expresión en *E. coli* a partir del grupo de secuencias de polinucleótidos que consiste en:

55 SEQ. No. 67, SEQ. No. 68, SEQ. No. 69, SEQ. No. 70, SEQ. No. 71, SEQ. No. 72, SEQ. No. 73, SEQ. No. 74, SEQ. No. 75, SEQ. No. 76, SEQ. No. 77, SEQ. No. 78, SEQ. No. 79, SEQ. No. 80, SEQ. No. 81, SEQ. No. 82, SEQ. No. 83, SEQ. No. 84, SEQ. No. 85, SEQ. No. 86, SEQ. No. 87, SEQ. No. 88, SEQ. No. 89,

SEQ. No. 90, SEQ. No. 91, SEQ. No. 92, SEQ. No. 122, SEQ. No. 123, SEQ. No. 124, SEQ. No. 125, SEQ. No. 126, SEQ. No. 127, SEQ. No. 128, SEQ. No. 129, SEQ. No. 130, SEQ. No. 131, SEQ. No. 132, SEQ. No. 133, SEQ. No. 134, SEQ. No. 135, SEQ. No. 136, SEQ. No. 137, SEQ. No. 138, SEQ. No. 139, SEQ. No. 140, SEQ. No. 141, SEQ. No. 142, SEQ. No. 143, SEQ. No. 144, SEQ. No. 145, SEQ. No. 146, SEQ. No. 147, SEQ. No. 148, SEQ. No. 149 y SEQ. No. 150;

que codifican una proteína de fusión que tiene una secuencia de aminoácidos que se corresponde a secuencias de aminoácidos seleccionadas a partir del grupo que consiste en secuencias de aminoácidos, respectivamente:

SEQ. No. 1, SEQ. No. 2, SEQ. No. 3, SEQ. No. 4, SEQ. No. 5, SEQ. No. 6, SEQ. No. 7, SEQ. No. 8, SEQ. No. 9, SEQ. No. 10, SEQ. No. 11, SEQ. No. 12, SEQ. No. 13, SEQ. No. 14, SEQ. No. 15, SEQ. No. 16, SEQ. No. 17, SEQ. No. 18, SEQ. No. 19, SEQ. No. 20, SEQ. No. 21, SEQ. No. 22, SEQ. No. 23, SEQ. No. 24, SEQ. No. 25, SEQ. No. 26, SEQ. No. 93, SEQ. No. 94, SEQ. No. 95, SEQ. No. 96, SEQ. No. 97, SEQ. No. 98, SEQ. No. 99, SEQ. No. 100, SEQ. No. 101, SEQ. No. 102, SEQ. No. 103, SEQ. No. 104, SEQ. No. 105, SEQ. No. 106, SEQ. No. 107, SEQ. No. 108, SEQ. No. 109, SEQ. No. 110, SEQ. No. 111, SEQ. No. 112, SEQ. No. 113, SEQ. No. 114, SEQ. No. 115, SEQ. No. 116, SEQ. No. 117 y SEQ. No. 118, SEQ. No. 119, SEQ. No. 120 y SEQ. No. 121.

En una realización preferida, se proporciona un vector de expresión adecuado para la transformación de *E. coli*, que comprende la secuencia de polinucleótidos seleccionada a partir del grupo de secuencias de polinucleótidos SEQ. No. 67 a SEQ. No. 92 y SEQ. No. 122 a SEQ. No. 150 indicadas anteriormente, así como células de *E. coli* transformadas con un vector de expresión de este tipo.

La transformación, es decir, la introducción de una secuencia de ADN en células hospedadoras bacterianas, en particular *E. coli*, se realiza generalmente en células competentes, preparadas para aceptar el ADN, por ejemplo, mediante tratamiento con iones de calcio a baja temperatura (4°C), y después someter a choque térmico (a 37-42°C) o por electroporación. Tales técnicas son bien conocidas y están determinadas generalmente por el fabricante del sistema de expresión.

El procedimiento de hiperexpresión de proteínas de fusión de la invención en un sistema de expresión de *E. coli* se describirá más adelante.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que contiene la proteína de fusión de la invención tal como se ha definido anteriormente, como un ingrediente activo y un vehículo adecuado, diluyente y componentes auxiliares convencionales farmacéuticamente aceptables.

La composición farmacéutica contendrá una cantidad eficaz de la proteína de fusión de la invención y componentes auxiliares farmacéuticamente aceptables disueltos o dispersados en un vehículo o diluyente, y preferiblemente estará en forma de una composición farmacéutica formulada en forma de dosificación unitaria o una formulación que contiene una pluralidad de dosis.

Las formas farmacéuticas y los métodos de su formulación, así como otros componentes, vehículos y diluyentes son conocidos por el experto en la materia y se describen en la bibliografía. Por ejemplo, se describen en la monografía de Remington Pharmaceutical Sciences, ed. 20, 2000, Mack Publishing Company, Easton, EE.UU.

Los términos "vehículo, diluyente e ingrediente auxiliar farmacéuticamente aceptables" comprenden cualquier disolvente, medio de dispersión, agente tensioactivo, antioxidante, estabilizante, conservante (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agente isotónico, conocido en la técnica. La composición farmacéutica de la invención puede contener diversos tipos de vehículos, diluyentes y excipientes, dependiendo de la ruta de administración elegida y la forma de dosificación deseada, tal como formas líquidas, sólidas y aerosoles para la administración oral, parenteral, por inhalación, tópica, y de si esa forma seleccionada debe estar esterilizada para la ruta de administración, como mediante inyección.

La ruta de administración preferida de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención es la parenteral, incluyendo las rutas por inyección, tales como intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intratumoral o mediante infusiones intravenosas únicas o continuas.

En una realización, la composición farmacéutica de la invención se puede administrar mediante inyección directamente en el tumor. En otra realización, la composición farmacéutica de la invención se puede administrar por ruta intravenosa. En aún otra realización, la composición farmacéutica de la invención se puede administrar por ruta subcutánea o intraperitoneal.

Una composición farmacéutica para administración parenteral puede ser una solución o dispersión en un medio acuoso o no farmacéuticamente aceptable, tamponado a un pH apropiado e isoosmótico con los fluidos corporales, si es necesario, y también puede contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y sustancias solubles, que hacen que la composición sea compatible con los tejidos o la sangre del receptor. Otros componentes, que se pueden incluir en la composición son, por ejemplo, agua, alcoholes tales como etanol, polioles tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, lípidos tales como triglicéridos, aceites vegetales, liposomas. La fluidez ade-

cuada y el tamaño de las partículas de la sustancia se pueden proporcionar mediante sustancias de recubrimiento, tales como lecitina, y tensioactivos, tales como polisorbatos de hidroxipropilcelulosa, y similares. Agentes isotónicos adecuados para las composiciones parenterales líquidas son, por ejemplo, azúcares tales como glucosa, y cloruro de sodio, y combinaciones de los mismos.

- 5 Alternativamente, la composición farmacéutica para administrar mediante inyección o infusión puede estar en forma de polvo, tal como polvo liofilizado, para reconstituir inmediatamente antes del uso en un vehículo adecuado tal como, por ejemplo, agua esterilizada exenta de pirógenos.

La composición farmacéutica de la invención para administración parenteral también puede estar en forma de administración nasal, incluyendo soluciones, pulverizaciones o aerosoles. Preferiblemente, la forma para administración intranasal será una solución acuosa y será isotónica o estará tamponada o conservará un pH de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5, a fin de tener un carácter similar al de las secreciones nasales. Además, contendrá conservantes o estabilizantes, tales como en las preparaciones intranasales bien conocidas.

La composición puede contener diversos antioxidantes que retrasan la oxidación de uno o varios componentes. Además, con el fin de evitar la acción de microorganismos, la composición puede contener diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, incluyendo, por ejemplo, y no limitados a, parabenos, clorobutanol, timerosal, ácido sórbico y sustancias conocidas similares de este tipo.

En general, la composición farmacéutica de la invención puede incluir, por ejemplo, al menos aproximadamente 0,01% en peso de ingrediente activo. Más particularmente, la composición puede contener el ingrediente activo en una cantidad de 1% a 75% en peso de la unidad de composición, o por ejemplo de 25% a 60% en peso, pero no estar limitada a los valores indicados.

La cantidad real de la dosis de la composición de acuerdo con la presente invención que se administra a pacientes, incluyendo el hombre, se determinará según factores físicos y fisiológicos, tales como el peso corporal, la gravedad del trastorno, el tipo de enfermedad a tratar, intervenciones terapéuticas anteriores o concomitantes, el paciente y la vía de administración. Una dosis unitaria adecuada, la dosis total y la concentración de ingrediente activo en la composición serán determinadas por el médico encargado.

La composición se puede administrar, por ejemplo, con una dosis de aproximadamente 1 microgramo/kg de peso corporal hasta aproximadamente 1000 mg/kg de peso corporal del paciente, por ejemplo, en el intervalo de 5 mg/kg de peso corporal a 100 mg/kg de peso corporal o en el intervalo de 5 mg/kg de peso corporal a 500 mg/kg de peso corporal.

30 La proteína de fusión y las composiciones que la contienen son anticancerígenas o antitumorales y se pueden utilizar para el tratamiento de enfermedades cancerígenas.

La invención también proporciona la proteína de fusión tal como se ha definido anteriormente para uso en un método para tratar enfermedades cancerígenas en mamíferos, incluyendo seres humanos.

35 La proteína de fusión de la invención se puede utilizar para el tratamiento de neoplasias hematológicas, tales como leucemia, granulomatosis, mieloma y otras neoplasias hematológicas. La proteína de fusión también se puede utilizar para el tratamiento de tumores sólidos, como cáncer de mama, cáncer de pulmón, incluyendo el cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de cerebro y similares.

40 La vía de administración apropiada de la proteína de fusión en el tratamiento del cáncer será, en particular, una vía parenteral, que consiste en la administración de la proteína de fusión de la invención en forma de inyecciones o infusiones, con la composición y la forma apropiada para esta vía de administración.

La invención se describirá con más detalle en los siguientes procedimientos generales y ejemplos de proteínas de fusión específicas.

Procedimiento general para la hiperexpresión de la proteína de fusión

45 Preparación del plásmido

La secuencia de aminoácidos de la proteína de fusión diana se utilizó como molde para generar una secuencia de ADN que la codifica, que comprendía codones optimizados para la expresión en *Escherichia coli*. Tal procedimiento permite aumentar la eficacia de una etapa adicional de la síntesis de proteínas diana en *Escherichia coli*. A continuación, la secuencia de nucleótidos resultante se sintetizó de forma automática. Además, los sitios de escisión de las enzimas de restricción NdeI (en el extremo 5' de la cadena conductora) y XhoI (en el extremo 3' de la cadena conductora) se añadieron al gen resultante que codificaba la proteína diana. Estos fueron utilizados para clonar el gen en el vector pET28a (Novagen). También se pueden utilizar para la clonación del gen que codifica la proteína en otros vectores. La proteína diana expresada a partir de esta estructura artificial estaba equipada en el extremo N-terminal con un marcador de polihistidina (seis histidinas), precedido por un sitio reconocido por la trombina, que

posteriormente sirvió para su purificación a través de cromatografía de afinidad. La precisión de la estructura artificial resultante se confirmó en primer lugar mediante análisis de restricción de plásmidos aislados, utilizando las enzimas NdeI y XhoI, seguido por una secuenciación automática del marco de lectura completo de la proteína diana. Los cebadores utilizados para la secuenciación eran complementarios a las secuencias del promotor T7 (5'-TAATACGACTCACTATAGG-3') y el terminador T7 (5'-GCTAGTTATTGCTCAGCGG-3') presentes en el vector.

El plásmido resultante se utilizó para la hiperexpresión de la proteína de fusión diana en una cepa comercial de *E. coli*, que se transformó según las recomendaciones del fabricante. Las colonias obtenidas en el medio de selección (agar LB, 50 µg/ml de kanamicina, 1% de glucosa) se utilizaron para la preparación de un cultivo de una noche en medio líquido LB, complementado con kanamicina (50 µg/ml) y 1% de glucosa. Después de aproximadamente 15 h de crecimiento en una incubadora con agitación, se utilizaron los cultivos para inocular el cultivo apropiado.

Hiperexpresión y purificación de proteínas de fusión - procedimiento general A

Se inoculó medio LB con kanamicina (30 µg/ml) y sulfato de zinc 100 µM con un cultivo durante una noche. El cultivo se incubó a 37°C hasta que la densidad óptica (DO) a 600 nm alcanzó 0,60-0,80. Entonces se añadió IPTG a la concentración final en el intervalo de 0,25-1 mM. Después de la incubación (3,5 - 20 h) con agitación a 25°C, el cultivo se centrifugó durante 25 min a 6000 g.

Los sedimentos bacterianos se resuspendieron en un tampón que contenía KH₂PO₄ 50 mM, NaCl 0,5 M, imidazol 10 mM, pH 7,4. La suspensión se sometió a ultrasonidos sobre hielo durante 8 minutos (40% de amplitud, impulso de 15 segundos, intervalo de 10 s). El extracto resultante se clarificó por centrifugación durante 40 minutos a 20.000 g, 4°C. Una resina de Ni-Sefarosa (GE Healthcare) se trató previamente mediante equilibrado con tampón, que se había utilizado para la preparación del extracto de células bacterianas. Después, la resina se incubó durante una noche a 4°C con el material sobrenadante obtenido después de centrifugar el extracto. A continuación, se cargó en la columna de cromatografía y se lavó con 15 a 50 volúmenes de tampón KH₂PO₄ 50 mM, NaCl 0,5 M, imidazol 20 mM, pH 7,4. La proteína obtenida se eluyó de la columna usando un gradiente de imidazol en tampón KH₂PO₄ 50 mM con NaCl 0,5 M, pH 7,4. Las fracciones obtenidas se analizaron por SDS-PAGE. Las fracciones adecuadas se combinaron y se dializaron durante una noche a 4°C frente a tampón Tris 50 mM, pH 7,2, NaCl 150 mM, L-arginina 500 mM, ZnSO₄ 0,1 mM, 0,01% de Tween 20, y al mismo tiempo Histag se escindió con trombina (1:50). Después de la escisión, la trombina se separó de la proteína de fusión diana usando una resina de benzamidina Sepharose®. La pureza del producto se analizó mediante electroforesis en SDS-PAGE (Maniatis et al, Molecular Cloning. Cold Spring Harbor, NY, 1982).

Hiperexpresión y purificación de proteínas de fusión - procedimiento general B

Se inoculó medio LB con kanamicina (30 µg/ml) y sulfato de zinc 100 µM con un cultivo durante una noche. Los cultivos se incubaron a 37°C hasta que la densidad óptica (DO) a 600 nm alcanzó 0,60-0,80. Entonces se añadió IPTG hasta tener una concentración final en el intervalo de 0,5 - 1 mM. Después de incubar durante 20 h con agitación a 25°C, el cultivo se centrifugó durante 25 min a 6000 g.

Las células bacterianas después de la hiperexpresión se rompieron en una prensa francesa en un tampón que contenía KH₂PO₄ 50 mM, NaCl 0,5 M, imidazol 10 mM, beta-mercaptoetanol 5 mM, PMSF 0,5 mM (fluoruro de fenilmetilsulfonilo), pH 7,8. El extracto resultante se clarificó mediante centrifugación durante 50 minutos a 8.000 g. La resina de Ni-Sefarosa se incubó durante una noche con el material sobrenadante obtenido. Después, la resina con proteína unida se cargó en la columna de cromatografía. Para extraer por lavado las fracciones que contenían proteínas no unidas, la columna se lavó con 15 a 50 volúmenes de tampón KH₂PO₄ 50 mM, NaCl 0,5 M, imidazol 10 mM, beta-mercaptoetanol 5 mM, PMSF 0,5 mM (fluoruro de fenilmetilsulfonilo), pH 7,8. A continuación, para extraer por lavado la mayoría de las proteínas unidas específicamente con el lecho, la columna se lavó con un tampón que contenía KH₂PO₄ 50 mM, NaCl 0,5 M, imidazol 500 mM, 10% de glicerol, PMSF 0,5 mM, pH 7,5. Las fracciones obtenidas se analizaron mediante SDS-PAGE (Maniatis et al, Molecular Cloning. Cold Spring Harbor, NY, 1982). Las fracciones que contenían la proteína diana se combinaron y se escindieron con trombina (1 U por 4 mg de proteína, 8 h a 16°C) para eliminar el marcador de polihistidina. A continuación, las fracciones se dializaron frente a tampón de formulación (L-arginina 500 mM, Tris 50 mM, ZnSO₄ 2,5 mM, pH 7,4).

Caracterización de las proteínas de fusión empleando electroforesis en 2-D

Con el fin de caracterizar adicionalmente las proteínas obtenidas y seleccionar unas condiciones cromatográficas precisas, se determinaron los puntos isoeléctricos de las proteínas. Para este fin, se utilizó el método de electroforesis bidimensional (2-D), en dos etapas de acuerdo con el siguiente programa.

Etapla 1. Enfoque isoeléctrico de proteínas en un gradiente de pH y condiciones de desnaturalización.

Preparaciones de proteínas a concentraciones de 1 - 2 mg/ml se precipitaron mezclando en una proporción de 1:1 con una solución de precipitación que contenía 10% de ácido tricloroacético y 0,07% de beta-mercaptoetanol en acetona. La mezcla se incubó durante 30 min a -20°C y después se centrifugó durante 25 min a 15.000 g y 4°C. Se eliminó el material sobrenadante y el sedimento se lavó dos veces con acetona fría con 0,07% de beta-mercaptoetanol. A continuación, los residuos de acetona se evaporaron hasta no tener ningún olor detectable. El se-

dimento de proteína se suspendió en 250 ml de tampón de rehidratación, urea 8 M, 1% de CHAPS, DTT 15 mM, 0,5% de anfolito (GE Healthcare) con un perfil de pH de 3-11 o 6-11, dependiendo de la tira usada posteriormente. La solución proteica se colocó en una cámara de cerámica para el enfoque isoelectrico, seguido por DryStrip de 13 cm (GE Healthcare) con un perfil de pH apropiado (3-11 o 6-11). El conjunto se cubrió con una capa de aceite mineral. Las cámaras se colocaron en el aparato Ettan IPGphor III, en donde se llevó a cabo el enfoque isoelectrico según el siguiente programa asignado a las dimensiones de la tira y el perfil de pH:

Deshidratación durante 16 h a 20°C.

Enfoque en el campo eléctrico con un gradiente de pH fijo

Tiempo	Tensión
1h	500 V
1 h	gradiente 500 - 1000 V
2h 30 min	gradiente 1000 - 8000 V
30 min	8000 V

- 10 Después, la tira que contenía las proteínas enfocadas se lavó durante 1 min en agua desionizada, se tiñó con Coomassie Brilliant y luego se descoloró y se archivó como una imagen para marcar la ubicación de las proteínas. La tira descolorada se equilibró 2 x 15 min con un tampón con la siguiente composición: Tris-HCl 50 mM pH 8,8, urea 6 M, 1% de DTT, 2% de SDS, 30% de glicerol.

Etapa 2. Separación en una segunda dirección mediante SDS-PAGE.

- 15 La tira se colocó sobre el gel de poliacrilamida al 12,5% que contenía un solo pocillo por tamaño estándar y luego se realizó la separación en un aparato para SDS-PAGE, a una tensión de 200 V durante 3 horas. El gel se tiñó con Coomassie Brilliant, luego se archivó con la escala aplicada. Las proteínas se identificaron mediante la determinación de su peso basándose en un patrón del tamaño, y su IPI se leyó para la escala de 6-11, basándose en las curvas proporcionadas por el fabricante (GE Healthcare) (proporción entre pH y % de longitud de la tira desde el extremo marcado como ánodo) o una escala de 3-11, basándose en la curva determinada experimentalmente por medio de un kit de calibración del enfoque isoelectrico (GE Healthcare).

Los ejemplos representativos de las proteínas de fusión de la invención se describen a continuación.

Ejemplo 1. La proteína de fusión de SEQ. No. 1

- 25 La proteína de SEQ. No. 1 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 194 aminoácidos y una masa de 22,7 kDa, en la que el péptido de 16 aminoácidos obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bax (SEQ. No. 30), se fija como péptido efector en el extremo N-terminal de la secuencia TRAIL121-128. En el extremo C-terminal de la secuencia de 16 aminoácidos del péptido efector se fija la secuencia de poliarginina con 7 residuos de Arg/R. La secuencia de poliarginina ayuda en la penetración de la membrana celular y el transporte de la proteína de fusión en la célula. Entre la secuencia de poliarginina y el dominio TRAIL se incorporan de forma secuencial una junto a otra, secuencias reconocidas por la urocinasa uPA (SEQ. No. 52) y la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51), debido a lo cual, después de la internalización de la proteína de fusión, el péptido efector se escinde en el entorno del tumor.

La estructura de la proteína de fusión se presenta esquemáticamente en la Fig. 1 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 1 y SEQ. No. 67, como se muestra a continuación.

- 35 Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 1

1 KKLSECLKRI GDELDSRRRR RRRRVVRPLG LAGRVAAHIT GTRGRSNTLS
 51 SPNSKNEKAL GRKINSWESS RSGHSFLSNL HLRNGELVIH EKGFYIYSQ
 101 TYFRFQEEIK ENTKNDKQMV QYIYKYTSYP DPILLMKSAR NSCWSKDAEY
 151 GLYSIQGGI FELKENDRIF VSVTNEHLID MDHEASFFGA FLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 67

1 GCCCACCAGA AATGCACCAA AAAAGCTGGC TTCATGATCC ATATCAATCA
 GATGTTTCATT GGTCACGCTC AAAAAATGC GATCATTTTC TTTCAGTTCA
 101 AAAATGCCAC CCTGATAAAT GCTATACAGG CCATATTCTG CATCTTTGCT
 CCAACAGCTA TTACGTGCGC TTTTCATCAG CAGAATCGGA TCCGGATAGC
 201 TGGTATATTT ATAAATGTAC TGCACCATTT GTTTATCATT TTTGGTATTT
 TCTTTAATTT CTTCTGAAA GCGAAAATAG GTCTGGCTAT AAATATAATA
 301 AAAGCCTTTT TCATGAATCA CCAGTTCACC ATTACGCAGA TGCAGATTGC
 TCAGAAAGCT ATGACCGCTA CGGCTGCTTT CCCAGCTATT AATTTTGCGA
 401 CCCAGGGCTT TTTCATTTTT GCTATTCGGG CTGCTCAGGG TATTGCTACG
 ACCACGGGTG CCGGTAATAT GTGCTGCAAC ACGACCTGCC AGACCCAGCG
 501 GACGAACAAC ACGACGACGG CGACGACGAC GACGGCTATC CAGTTCATCA
 CCAATACGTT TCAGGCATTC GCTCAGTTTT TT

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Un plásmido que contenía la secuencia que codificaba el ADN se generó y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) y Tuner (DE3) pLysS, ambas de Novagen. La proteína se separó mediante electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 2. La proteína de fusión de SEQ. No. 2

La proteína de fusión de SEQ. No. 2 es una proteína que tiene una longitud de 193 aminoácidos y una masa de 22,5 kDa, en la que en la que el péptido de 16 aminoácidos obtenido a partir de la proteína Bid (SEQ. No. 31) se fija como péptido efector en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281. Además, en el extremo C-terminal de la proteína efectora se fija una secuencia de poliarginina con 7 residuos de Arg. La secuencia de poliarginina ayuda en la penetración de la membrana celular y el transporte de la proteína de fusión en la célula. Entre la secuencia de poliarginina y la secuencia de TRAIL, se incorporan secuencias reconocidas por la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y urocinasa uPA (SEQ. No. 52) secuencialmente una junta a otra, debido a lo cual, después de la internalización de la proteína de fusión, el péptido efector se escinde en el entorno del tumor.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 1 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 2 y SEQ. No. 68, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 2

1 RNIARHLAQV GDSMDRRRRR RRRVVRPLGL AGRVAAHITG TRGRSNTLSS
 51 PNSKNEKALG RKINSWESSR SGHSFSLNLH LRNGELVIHE KGFYIYSQT
 101 YFRFQEEIKE NTKNDKQMVQ YIYKYTSYPD PILLMKSARN SCWSKDAEYG
 151 LYSIQGGIF ELKENDRIFV SVTNEHLIDM DHEASFFGAF LVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 68

```

1  CGTAATATTG CACGTCATCT GGCACAGGTT GGTGATAGCA TGGACCGTCG
   TCGTCGTCGC CGTCGTCGTG TTGTTTCGTCC GCTGGGTCTG GCAGGTCGTG
101 TTGCAGCACA TATTACCGGC ACCCGTGGTC GTAGCAATAC CCTGAGCAGC
   CCGAATAGCA AAAATGAAAA AGCCCTGGGT CGCAAATA ATAGCTGGGA
201 AAGCAGCCGT AGCGGTCATA GCTTTCTGAG CAATCTGCAT CTGCGTAATG
   GTGAACTGGT GATTCATGAA AAAGGCTTTT ATTATATTTA TAGCCAGACC
301 TATTTTCGCT TTCAGGAAGA AATTAAGAA AATACCAAAA ATGATAAACA
   AATGGTGCAG TACATTTATA AATATACCAG CTATCCGGAT CCGATTCTGC
401 TGATGAAAAG CGCACGTAAT AGCTGTTGGA GCAAAGATGC AGAATATGGC
   CTGTATAGCA TTTATCAGGG TGGCATT TTTT GAACTGAAAG AAAATGATCG
501 CATT TTTGTG AGCGTGACCA ATGAACATCT GATTGATATG GATCATGAAG
   CCAGCTTTT TGGTGCATTT CTGGTGGGC
    
```

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN se generó y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* BL21 (DE3) de Novagen. La proteína se separó mediante electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 3. La proteína de fusión de SEQ. No. 3

10 La proteína de fusión de SEQ. No. 3 es una proteína que tiene una longitud de 303 aminoácidos y una masa de 34,2 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el homólogo de la ribonucleasa ARNasa A (SEQ. No. 32) se fija como péptido efector. Entre la secuencia de poliarginina y la secuencia de TRAIL, secuencias reconocidas por la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y la urocinasa uPA (SEQ. No. 52), se incorporan secuencialmente una junto a otra, debido a lo cual, después de la internalización de la proteína de fusión, el péptido efector se escinde en el entorno del tumor.

15 La proteína también contiene, entre la secuencia del dominio TRAIL y la secuencia de los sitios de escisión, un enlazador flexible de glicina-serina GGSG (SEQ. No. 57). Además, en el extremo C-terminal del péptido efector, la proteína contiene la secuencia KEDL (SEQ. No. 56) que se dirige al retículo endoplasmático, siendo también una parte C-terminal de la estructura artificial completa.

20 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 1 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 3 y SEQ. No. 69, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 3

```

1  RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
51  NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYDPPI
101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
151 EASFFGAFLV GGGSGPLGLA GRVVRKETAA AKFERQHMDS STSAASSSNY
201 CNQMMKSRNL TKDRCKPVNT FVHESLADVQ AVCSQKNVAC KNGQTNCYQS
251 YSTMSITDCR ETGSSKYPNC AYKTTQANKH IIVACEGNPY VPVHFDASVK
301 EDL
    
```

Secuencia de ADN: SEQ. No. 69

1 CGTGTTCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCCCT GGGTCGCAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAGG AAGAAATTA AGAAAATACC AAAAATGACA
 AACAAATGGT GCAGTATATC TACAAATACA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGCCTGTAT AGCATTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGT GGTGGTGGTA GCGGTCCGCT
 501 GGGTCTGGCA GGTCGTGTTG TTCGTAAAGA AACCGCAGCA GCCAAATTTG
 AACGTCAGCA CATGGATAGC AGCACCAGCG CAGCAAGCAG CAGCAATTAT
 601 TGCAATCAGA TGATGAAAAG CCGCAATCTG ACCAAAGATC GTTGTAACC
 GGTGAATACC TTTGTTTCATG AAAGCCTGGC AGATGTTTCAG GCAGTTTGCA
 701 GCCAGAAAAA TGTGGCCTGT AAAAATGGTC AGACCAATTG CTATCAGAGC
 TATAGCACCA TGAGCATTAC CGATTGTCGT GAAACCGGTA GCAGCAAATA
 801 TCCGAATTGC GCCTATAAAA CCACCCAGGC CAATAACAT ATTATTGTGG
 CCTGTGAAGG CAATCCGTAT GTTCCGGTTC ATTTTGATGC CAGCGTGAAA
 901 GAAGATCTG

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Un plásmido que contenía la secuencia que codifica el ADN se generó y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando la cepa de *E. coli* BL21 (DE3) de Novagen. La proteína se separó mediante electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 4. La proteína de fusión de SEQ. No. 4

La proteína de SEQ. No. 4 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 293 aminoácidos y una masa de 33,2 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, el homólogo de la ribonucleasa ARNasa A (SEQ. No. 32) se fija como péptido efector. Entre el péptido efector y la secuencia de TRAIL hay un enlazador flexible de glicina-serina GGGSGGGS (SEQ. No. 63).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 1 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 4 y SEQ. No. 70, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 4

1 RVAAHITGR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GGGGSGGGSK ETAAAKFERQ HMDSSTSAAS SSNYCNQMMK
 201 SRNLTKDRCK PVNTFVHESL ADVQAVCSQK NVACKNGQTN CYQSYSTMSI
 251 TDCRETGSSK YPNCAKTTQ ANKHIIVACE GNPYVPVHFD ASV

Secuencia de ADN: SEQ. No. 70

1 CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAAG AAGAAATTA AGAAAATACC AAAAATGATA
 AGCAGATGGT GCAGTATATC TATAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGTT GGTGGTGGTG GTAGCGGTGG
 501 TGGTAGTAAA GAAACCGCAG CAGCAAAATT TGAACGTCAG CACATGGATA
 GCAGCACCAG CGCAGCAAGC AGCAGCAATT ATTGTAATCA GATGATGAAA
 601 AGCCGCAATC TGACCAAAGA TCGTTGTAAG CCGGTGAATA CCTTTGTTCA
 TGAAAGCCTG GCAGATGTTT AGGCAGTTTG TAGCCAGAAA AATGTTGCCT
 701 GTAAAAATGG TCAGACCAAT TGCTATCAGA GCTATAGCAC CATGAGCATT
 ACCGATTGTC GTGAAACCGG TAGCAGCAA TATCCGAATT GTGCATATAA
 801 AACCAACCAG GCCAATAAAC ATATTATTGT TGCCTGTGAA GGCAATCCGT
 ATGTTCCGGT TCATTTTGAT GCAAGCGTT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* BL21 DE3pLysSRIL de Stratagene y Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 5. La proteína de fusión de SEQ. No. 5

La proteína de SEQ. No. 5 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 283 aminoácidos y una masa de 31 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, la secuencia del citocromo C (SEQ. No. 33) se fija como péptido efector. Entre la secuencia del dominio TRAIL y la secuencia de la proteína efectora, las secuencias reconocidas por la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y la urocinasa uPA (SEQ. No. 52) se incorporan secuencialmente una junto a otra, debido a lo cual, después de la internalización de la proteína de fusión, el péptido efector se escinde en el entorno del tumor. La proteína también contiene, entre la secuencia del dominio TRAIL y la secuencia de los sitios de escisión, un enlazador flexible de glicina-serina GGSG (SEQ. No. 57). Además, en el extremo C-terminal del péptido efector, la proteína contiene la secuencia KEDL (SEQ. No. 56) que se dirige al retículo endoplásmico, que es una parte C-terminal de la estructura artificial completa.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 1 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 5 y SEQ. No. 71, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 5

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GGGSGPLGLA GRVVRGDVEK GKKIFIMKCS QCHTVEKGGK
 201 HKTGPNLHGL FGRKTGQAPG YSYTAANKNK GIIWGEDTLM EYLENPKKYI
 251 PGTKMIFVGI KKKEERADLI AYLKATNEK EDL

Secuencia de ADN: SEQ. No. 71

1 CAGATCTTCT TTTTCATTGG TGGCTTTTTT CAGATAGGCA ATCAGATCTG
 CGCGTTCTTC TTTTTTTTTA ATGCCACAA AAATCATTTT CGTACCCGGA
 101 ATATATTTTT TCGGATTTTC CAGATATTCC ATCAGGGTAT CTTACCCCA
 AATAATGCCT TTGTTTTTAT TGGCTGCGGT ATAGCTATAA CCCGGTGCCT
 201 GACCGGTTTT ACGACCAAAC AGACCATGCA GATTTCGGACC GGTTTTATGT
 TTGCCACCTT TTTCAACGGT ATGACACTGG CTGCATTTC TAATAAAAAT
 301 TTTTTTGCCT TTTTCCACAT CACCACGAAC AACACGACCT GCCAGACCCA
 GCGGACCGCT ACCACCACCA ACCAGAAATG CACCACAAAA GCTGGCTTCA
 401 TGATCCATAT CAATCAGATG TTCATTGGTC ACGCTCACAA AAATGCGATC
 ATTTTCTTTC AGTTCAAAAA TGCCACCCTG ATAAATGCTA TACAGGCCAT
 501 ATTCTGCATC TTTGCTCCAA CAGCTATTAC GTGCGCTTTT CATCAGCAGA
 ATCGGATCCG GATAGCTGGT ATATTTATAA ATGTA CTGCA CCATTTGTTT
 601 ATCGTTTTTG GTATTTTCTT TAATTTCTTC CTGAAAGCGA AAATAGGTCT
 GGCTATAAAT ATAATAAAG CCTTTTTTCAT GAATCACCAG TTCACCATTA
 701 CGCAGATGCA GATTGCTCAG AAAGCTATGA CCGCTACGGC TGCTTTCCCA
 GCTATTAATT TTGCGACCCA GGGCTTTTTT ATTTTTGCTA TTCGGGCTGC
 801 TCAGGGTATT GCTACGACCA CGGGTGCCGG TAATATGTGC TGCAACACGC AT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 6. La proteína de fusión de SEQ. No. 6

La proteína de SEQ. No. 6 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 407 aminoácidos y una masa de 45,2 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, la secuencia del citocromo C (SEQ. No. 33) se fija como péptido efector. Entre la secuencia del dominio TRAIL y el péptido efector está la secuencia reconocida por furina (SEQ. No. 53) y el dominio de traslocación de *Pseudomonas aeruginosa* (SEQ. No. 54). La proteína también contiene enlazadores flexibles: entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del sitio de escisión reconocido por furina, está el enlazador flexible de glicina-serina GGGS (SEQ. No. 58), entre la secuencia del sitio de escisión reconocido por furina y el dominio de traslocación de *Pseudomonas aeruginosa*, el enlazador flexible de glicina-serina ASGG (SEQ. No. 65), y entre la secuencia del dominio de traslocación y la secuencia del citocromo C, el enlazador flexible de glicina-serina GGGSGGG (SEQ. No. 62). Además, en el extremo C-terminal del dominio del péptido efector, la proteína contiene una secuencia KEDL (SEQ. No. 56) que se dirige al retículo endoplásmico, que es una parte C-terminal de la estructura artificial completa.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 2 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 6 y SEQ. No. 72, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 6

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GGGGSRKKRA SGGPEGGLA ALTAHQACHL PLETFTRRHQ
 201 PRGWEQLEQC GYPVQRLVAL YLAARLSWNQ VDQVIANALA SPGSGGDLGE
 251 AIRESPEQAR LALTLAAAES ERFVRQGTGN DEAGAANGPA DGGGSGGGMG
 301 DVEKGGKIFI MKCSQCHTVE KGGKHKTGPN LHGLFGRKTG QAPGYSYTA
 351 NKNKGIIWGE DTLMEYLENP KKYIPGTKMI FVGIKKKEER ADLIAYLKKA
 401 TNEKDEL

Secuencia de ADN: SEQ. No. 72

1 CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTCAAG AAGAAATTA AGAAAATACC AAAAATGACA
 AACAAATGGT GCAGTATATC TATAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGT GGTGGTGGTG GTAGCCGTAA
 501 AAAACGTGCA AGCGGTGGTC CGGAAGTGG TAGCCTGGCA GCACTGACCG
 CACATCAGGC ATGTCATCTG CCGCTGGAAA CCTTTACCCG TCATCGTCAG
 601 CCTCGTGGT GGAACAGCT GGAACAGTGT GGTTATCCGG TTCAGCGTCT
 GGTGCACTG TATCTGGCAG CACGTCTGAG CTGGAATCAG GTTGATCAGG
 701 TTATTGCAA TGCCTGGCA AGTCCGGTA GCGGTGGTGA TCTGGGTGAA
 GCAATTCGTG AAAGTCCGGA ACAGGCACGT CTGGCACTGA CCCTGGCAGC

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN
 codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hi-
 perexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos an-
 teriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Tu-
 ner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito
 10 anteriormente.

Ejemplo 7. La proteína de fusión de SEQ. No. 7

La proteína de SEQ. No. 7 es una fusión que tiene una longitud de 409 aminoácidos y una masa de 46,1 kDa, en la
 que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL114-281, la secuencia de granzima B (SEQ. No. 34) se fija
 como péptido efector. Entre la secuencia del dominio TRAIL y la secuencia del péptido efector granzima B, está la
 15 secuencia del sitio de escisión de furina (SEQ. No. 53), flanqueada adicionalmente por los enlazadores flexibles de
 glicina-serina GGGGS (SEQ. No. 59).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 2 y su secuencia de aminoácidos y la
 secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectiva-
 mente, SEQ. No. 7 y SEQ. No. 73, como se muestra a continuación.

20 Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 7

1 IIGGHVAKPH SRPYMAYLMI WDQKSLKRCG GFLIRDDFVL TAAHCWGSSI
 51 NVTLGAHNIK EQEPTQQFIP VKRAIPHPAY NPKNFSNDIM LLQLERKAKR
 101 TRAVQPLRLP SNKAQVKPGQ TCSVAGWGQT APLGKHSHTL QEVKMTVQED
 151 RKCESDLRHY YDSTIELCVG DPEIKKTSFK GDSGGPLVCN KVAQGIVSYG
 201 RNNGMPPRAC TKVSSFVHWI KKTMKRYGGG GSRKKRGGGG SVRERGPQRV
 251 AAHITGTRGR SNTLSSPNSK NEKALGRKIN SWESSRSGHS FLSNLHLRNG
 301 ELVIHEKGFY YIYSQTYFRF QEEIKENTKN DKQMVQYIYK YTSYPDPILL
 351 MKSARNSCWS KDAEYGLYSI YQGGIFELKE NDRIFVSVTN EHLIDMDHEA
 401 SFFGAFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 73

1 CGTGTTCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCCCT GGGTCGTAAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGCGAAC TGGTGATTCA TGAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAGG AAGAAATTAA AGAAAATACC AAAAATGATA
 AACAAATGGT GCAGTATATC TATAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCCGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGTT GGTGGTGGTG GTAGCCGTAA
 501 AAAACGTGGT GGTGGCGGTT CTATTATTGG TGGTCATGTT GCAAAACCGC
 ATAGCCGTCC GTATATGGCA TATCTGATGA TTTGGGATCA GAAAAGCCTG
 601 AAACGTTGTG GTGGCTTTCT GATTCGTGAT GATTTTGTTC TGACCGCAGC
 ACATTGTTGG GGTAGCAGCA TTAATGTTAC CCTGGGTGCC CATAATATTA
 701 AAGAACAGGA ACCGACCCAG CAGTTTATTC CGGTAAACG TGCAATTCCG
 CATCCGGCAT ATAATCCGAA AAATTTTAGC AATGATATCA TGCTGCTGCA
 801 GCTGGAACGT AAAGCAAAAC GTACCCGTGC AGTTCAGCCG CTGCGTCTGC
 CGAGCAATAA AGCACAGGTT AAACCGGGTC AGACCTGTAG CGTTGCAGGT
 901 TGGGGTCAGA CCGCACCGCT GGGTAAACAT TCTCATACCC TGCAAGAGGT
 TAAAATGACC GTCCAAGAGG ATCGTAAATG CGAAAGCGAT CTGCGCCATT
 1001 ATTATGATAG CACCATTGAA CTGTGTGTGG GCGATCCGGA AATCAAAAAA
 ACCAGCTTTA AAGGTGATAG CGGTGGTCCG CTGGTTTGTA ATAAAGTTGC
 1101 CCAGGGTATT GTTAGCTATG GTCGTAATAA TGGTATGCCG CCGCGTGCAT
 GTACCAAAGT TAGCAGCTTT GTGCATTGGA TTAATAAAAAAC GATGAAACGC
 1201 TATAAAGATG AACTG

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

10

Ejemplo 8. La proteína de fusión de SEQ. No. 8

La proteína de SEQ. No. 8 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 405 aminoácidos y una masa de 45,7 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, la secuencia de granzima B (SEQ. No. 34) se fija como péptido efector. Entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector, está la secuencia del sitio de escisión de furina (SEQ. No. 53), separada adicionalmente de las secuencias de granzima B y TRAIL con enlazadores flexibles de glicina-serina GGGS (SEQ. No. 58) y GGGGS (SEQ. No. 59), respectivamente. Además, en el extremo C-terminal del péptido efector, la proteína contiene la secuencia KDEL que se dirige al retículo endoplásmico, que es la parte C-terminal de la estructura artificial completa.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 2 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 8 y SEQ. No. 74, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 8

```

1   RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
51  NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYDPDI
101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
151 EASFFGAFLV GGGGSRKKRG GGGSIIGGHV AKPHSRPYMA YLMIWDQKSL
201 KRCGGFLIRD DFVLTAHCW GSSINVTLGA HNIKEQEPTQ QFIPVKRAIP
251 HPAYNPKNFS NDIMLLQLER KAKRTRAVQP LRLPSNKAQV KPGQTCVAG
301 WGQTAPLGKH SHTLQEVKMT VQEDRKCESD LRHYDSTIE LCVGDPEIKK
351 TSEFKGDSGGP LVCNKVAQGI VSYGRNNGMP PRACTKVSSF VHWIKKTMKR
401 YKDEL

```

Secuencia de ADN: SEQ. No. 74

```

1   CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
    CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAA ATTAATAGCT
101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
15  AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA

```

201 GACCTATTTT CGCTTTCAAG AAGAAATTAA AGAAAACACC AAAAATGATA
AACAAATGGT GCAGTATATT TACAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
TGGTCTGTAT AGCATTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGTT GGTGGTGGTG GTAGCCGTAA
501 AAAACGTGGT GGTGGCGGTA GTATTATTGG TGGTCATGTT GCAAAACCGC
ATAGCCGTCC GTATATGGCA TATCTGATGA TTTGGGATCA GAAAAGCCTG
601 AAACGTTGTG GTGGTTTTCT GATTCGTGAT GATTTTGTTT TGACCGCAGC
ACATTGTTGG GGTAGCAGCA TTAATGTTAC CCTGGGTGCC CATAATATTA
701 AAGAACAAGA ACCGACCCAG CAGTTTATTC CGGTAAACG TGCAATTCCG
CATCCGGCAT ATAATCCGAA AAATTTTAGC AATGATATTA TGCTGCTGCA
801 GCTGGAACGC AAAGCAAAAC GTACCCGTGC AGTTCAGCCG CTGCGTCTGC
CGAGCAATAA AGCACAGGTT AAACCGGGTC AGACCTGTAG CGTTGCAGGT
901 TGGGGTCAGA CCGCACCGCT GGGTAAACAT TCACATACC TGCAAGAGGT
GAAAATGACC GTTCAAGAGG ATCGTAAATG CGAAAGCGAT CTGCGCCATT
1001 ATTATGATAG CACCATTGAA CTGTGTGTTG GTGATCCGGA AATTAATAA
ACCAGCTTTA AAGGCGATAG CGGTGGTCCG CTGGTTTGTA ATAAAGTTGC
1101 ACAGGGTATT GTGAGCTATG GTCGTAATAA TGGTATGCCT CCGCGTGCAT
GTACCAAAGT TAGCAGCTTT GTGCATTGGA TTAATAAATG GATGAAACGC
1201 TATAAAGATG AACTG

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) pLysS de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 9. La proteína de fusión de SEQ. No. 9

La proteína de SEQ. No. 9 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 187 aminoácidos y una masa de 21,9 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, se fija el péptido de 9 aminoácidos obtenido a partir de la proteína Nur77 (SEQ. No. 35) como péptido efector, en donde la secuencia de poliarginina que consiste en siete residuos de Arg se fija adicionalmente en el extremo C-terminal del péptido efector. Entre el péptido efector y la secuencia de TRAIL hay una secuencia de sitios de escisión para la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y la urocinasa uPA (SEQ. No. 52).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 2 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 9 y SEQ. No. 75, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 9

1 FSRSLHSLLR RRRRRRRVVR PLGLAGRVAA HITGTRGRSN TLSSPNSKNE
51 KALGRKINSW ESSRSGHSFL SNLHLRNGEL VIHEKGFYI YSPTYFRFQE
101 EIKENTKNDK QMVQYIYKYT SYPDPILLMK SARNSCWSKD AEYGLYSIQ
151 GGIFELKEND RIFVSVTNEH LIDMDHEASF FGAFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 75

1 TTTAGCCGTA GCCTGCATAG CCTGCTGCGT CGTCGTCGTC GCCGTCGTCG
 TGTTGTTTCGT CCGCTGGGTC TGGCAGGTCG TGTTGCAGCA CATATTACCG
 101 GCACCCGTGG TCGTAGCAAT ACCCTGAGCA GCCCGAATAG CAAAAATGAA
 AAAGCCCTGG GTCGCAAAAT TAATAGCTGG GAAAGCAGCC GTAGCGGTCA
 201 TAGCTTTCTG AGCAATCTGC ATCTGCGTAA TGGTGAAGTGTG GTGATTCATG
 AAAAAGGCTT TTATTATATT TATAGCCAGA CCTATTTTCG CTTTCAGGAA
 301 GAAATTAAG AAAATACCAA AAATGATAAA CAAATGGTGC AGTACATTTA
 TAAATATACC AGCTATCCGG ATCCGATTCT GCTGATGAAA AGCGCACGTA
 401 ATAGCTGTTG GAGCAAAGAT GCAGAATATG GCCTGTATAG CATTATCAG
 GGTGGCATT TTTGAACTGAA AGAAAATGAT CGCATTTTTGTG TGAGCGGTGAC
 501 CAATGAACAT CTGATTGATA TGGATCATGA AGCCAGCTTT TTTGGTGCAT
 TTCTGGTGGG C

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Rosetta (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 10. La proteína de fusión de SEQ. No. 10

La proteína de SEQ. No. 10 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 193 aminoácidos y una masa de 22,4 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el péptido de 16 aminoácidos que contiene el dominio BH3 de la proteína Bak (SEQ. No. 36) se fija como péptido efector, en donde la secuencia de poliarginina que penetra en la membrana, que consiste en siete residuos de Arg, está fijada adicionalmente al extremo C-terminal del péptido efector. Entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL, hay secuencias de los sitios de escisión para la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y la urocinasa uPA (SEQ. No. 52).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 2 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 10 y SEQ. No. 76, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 10

1 GQVGRQLAII GDDINRRRRR RRRVVRPLGL AGRVAAHITG TRGRSNTLSS
 51 PNSKNEKALG RKINSWESSR SGHSFLSNLH LRNGELVIHE KGFYIYSQT
 101 YFRFQEEIKE NTKNDKQMVQ YIYKYTSYPD PILLMKSARN SCWSKDAEYG
 151 LYSIQGGIF ELKENDRIFV SVTNEHLIDM DHEASFFGAF LVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 76

1 GGTCAGGTTG GTCGTCAGCT GGCAATTATT GGTGATGATA TTAACCGTCG
 TCGTCGTCGC CGTCGTCGTG TTGTTTCGTCC GCTGGGTCTG GCAGGTCGTG
 101 TTGCAGCACA TATTACCGGC ACCCGTGGTC GTAGCAATAC CCTGAGCAGC
 CCGAATAGCA AAAATGAAAA AGCCCTGGGT CGCAAATA ATAGCTGGGA
 201 AAGCAGCCGT AGCGGTCATA GCTTTCTGAG CAATCTGCAT CTGCGTAATG
 GTGAACTGGT GATTCATGAA AAAGGCTTTT ATTATATTTA TAGCCAGACC
 301 TATTTTCGCT TTCAGGAAGA AATTAAGAA AATACCAAAA ATGATAAACA
 AATGGTGCAG TACATTTATA AATATACCAG CTATCCGGAT CCGATTCTGC
 401 TGATGAAAAG CGCACGTAAT AGCTGTTGGA GCAAAGATGC AGAATATGGC
 CTGTATAGCA TTTATCAGGG TGGCATTITT GAACTGAAAG AAAATGATCG
 501 CATTTTGTG AGCGTGACCA ATGAACATCT GATTGATATG GATCATGAAG
 CCAGCTTTTT TGGTGCATTT CTGGTGGGC

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) y Tuner (DE3) pLysS de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente

Ejemplo 11. La proteína de fusión de SEQ. No. 11

La proteína de SEQ. No. 11 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 204 aminoácidos y una masa de 24,3 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el dominio BH3 de la molécula PU-MA/BBC3 (SEQ. No. 37) está fijado como péptido efector, en donde la secuencia de poliarginina que comprende 9 residuos de Arg está fijada además en el extremo C-terminal del péptido efector. Entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL, la estructura artificial contiene también secuencias de sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 3 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 11 y SEQ. No. 77, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 11

1 EEQWAREIGA QLRRMADDLN AQYERRRRRR RRRRVVRPLG LAGRVAAHIT
 51 GTRGRSNTLS SPNSKNEKAL GRKINSWESS RSGHSFSLNL HLRNGELVIH
 101 EKFYIYSQ TYFRFQEEIK ENTKNDKQMV QYIYKYTSYP DPILLMKSAR
 151 NSCWSKDAEY GLYSIQGGI FELKENDRIF VSVTNEHLID MDHEASFFGA
 201 FLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 77

1 GAAGAACAGT GGGCACGTGA AATTGGTGCA CAGCTGCGTC GTATGGCAGA
 TGATCTGAAT GCACAGTATG AACGTCGTG TCGTCGCCGT CGGCGTCGTG
 101 GTGTTGTTTCG TCCGCTGGGT CTGGCAGGTC GTGTTGCAGC ACATATTACC
 GGCACCCGTG GTCGTAGCAA TACCCTGAGC AGCCCGAATA GCAAAAATGA

201 AAAAGCACTG GGTCGCAAAA TCAATAGCTG GGAAAGCAGC CGTAGCGGTC
 ATAGCTTTCT GAGCAATCTG CATCTGCGTA ATGGTGAAC TGGTATTTCAT
 301 GAAAAAGGCT TTTATTATAT TTATAGCCAG ACCTATTTTC GCTTTCAAGA
 AGAGATTA AAA GAAAATACCA AAAATGATAA ACAAATGGTG CAGTATATTT
 401 ACAAATACAC CAGCTATCCG GACCCGATTC TGCTGATGAA AAGCGCACGT
 AATAGCTGTT GGAGCAAAGA TGCAGAATAT GGTCTGTATA GCATTTATCA
 501 GGGTGGCATC TTTGAGCTGA AAGAAAATGA TCGCATCTTT GTTAGCGTGA
 CCAACGAACA TCTGATCGAT ATGGATCATG AAGCCAGCTT TTTTGGTGCA

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) y Tuner (DE3) pLysS de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente

Ejemplo 12. La proteína de fusión de SEQ. No. 12

La proteína de SEQ. No. 12 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 372 aminoácidos y una masa de 41 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, la proteína PUMA (SEQ. No. 38) se fija como péptido efector. Entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector hay una secuencia de sitios de escisión reconocidos por la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y la urocinasa uPA (SEQ. No. 52) que, además, está separada de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGSGG (SEQ. No. 60). Además, en el extremo C-terminal, el péptido efector comprende la secuencia de KEDL (SEQ. No. 56) que se dirige al retículo endoplasmático y forma una parte C-terminal de la estructura artificial completa.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 3 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 12 y SEQ. No. 78, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 12

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GGGSGGPLGL AGRVVRARAR QEGSSPEPVE GLARDGPRPF
 201 PLGRLVPSAV SCGLCEPGLA AAPAAPTLLP AAYLCAPTAP PAVTAALGGS
 251 RWPGGPRSRP RGPRPDGPQP SLSLAEQHLE SPVPSAPGAL AGGPTQAAPG
 301 VRGEEEQWAR EIGAQLRRMA DDLNAQYERR RQEEQQRHRP SPWRVLYNLI
 351 MGLLPLPRGH RAPEMEPNKE DL

Secuencia de ADN: SEQ. No. 78

1 CGTGTTCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAA ATCAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAG AAGAGATTAA AGAAAATACC AAAAATGATA
 AACAAATGGT GCAGTACATT TACAAATATA CCAGCTATCC GGACCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTATC AGGGTGGCAT CTTTGAGCTG AAAGAAAATG
 401 ATCGCATCTT TGTTAGCGTG ACCAACGAAC ATCTGATCGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTTGGTGC ATTTCTGGTT GGTGGTGGTA GCGGTGGTCC
 501 GCTGGGTCTG GCAGGTCGTG TTGTTCGTGC CCGTGCGCGT CAAGAAGGTA
 GCAGTCCGGA ACCGGTTGAA GGTCTGGCAC GTGATGGTCC GCGTCCGTTT
 601 CCGCTGGGTC GTCTGGTTCC GAGCGCAGTT AGCTGTGGTC TGTGTGAACC
 GGGTCTGGCA GCCGCACCGG CAGCACCGAC ACTGCTGCCT GCAGCATATC
 701 TGTGTGCACC GACCGCACCG CCTGCAGTTA CCGCAGCACT GGGTGGTAGC
 CGTTGGCCTG GTGGTCCGCG TAGTCGTCCG CGTGGTCCTC GTCCGGATGG
 801 TCCGCAGCCG AGCCTGAGCC TGGCAGAACA GCATCTGGAA AGTCCGGTGC
 CGAGCGCACC GGGTGCCTG GCAGGCGGTC CTACACAGGC AGCACCGGGT
 901 GTTCGTGGTG AAGAGGAACA GTGGGCACGT GAAATTGGTG CACAGCTGCG
 TCGTATGGCA GATGATCTGA ATGCACAGTA TGAACGTCGT CGTCAAGAAG
 1001 AACAGCAGCG TCATCGTCCG AGCCCGTGGC GTGTTCTGTA TAATCTGATT
 ATGGGTCTGC TGCCGCTGCC TCGTGGTCAT CGTGCACCGG AAATGGAACC
 1101 GAATAAAGAA GATCTG

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* B.21 (DE3) de Novagen y BL21DE3pLysSRIL de Stratagene. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 13. La proteína de fusión de SEQ. No. 13

La proteína de SEQ. No. 13 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 493 aminoácidos y una masa de 53,4 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, la proteína PUMA (SEQ. No. 38) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia de la proteína PUMA, hay una secuencia del dominio de traslocación de *Pseudomonas aeruginosa* (SEQ. No. 54), que se separa adicionalmente de la secuencia de TRAIL por secuencias consecutivas de: enlazador flexible de glicina-serina GGGGS (SEQ. No. 59), sitio de escisión de furina (SEQ. No. 53) y enlazador flexible de alanina-glicina-serina ASGG (SEQ. No. 65), y de la proteína PUMA por el enlazador flexible de glicina-serina GSGG (SEQ. No. 60). Además, en el extremo C-terminal del péptido efector, la proteína de fusión contiene la secuencia de KEDL (SEQ. No. 56) que se dirige al retículo endoplásmico, que es la parte C-terminal de la estructura artificial completa.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 3 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 13 y SEQ. No. 79, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 13

ES 2 531 288 T3

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYDPDI
101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
151 EASFFGAFLV GGGGSRKKRA SGGPEGGSLA ALTAHQACHL PLETFTRHRQ
201 PRGWEQLEQC GYPVQRLVAL YLAARLSWNQ VDQVIANALA SPGSGGDLGE
251 AIRESPEQAR LALTAAAES ERFVRQGTGN DEAGAANGPA DGGSGGGARA
301 RQEGSSPEPV EGLARDGPRP FPLGRLVPSA VSCGLCEPGL AAAPAAPTL
351 PAAYLCAPTA PPAVTAALGG SRWPGGPRSR PRGPRPDGPQ PSLSLAEQHL
401 ESPVPSAPGA LAGGPTQAAP GVRGEEEQWA REIGAQLRRM ADDLNAQYER
451 RRQEEQRHR PSPWRVLYNL IMGLLPLPRG HRAPEMEPNK DEL

Secuencia de ADN: SEQ. No. 79

1 CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAAG AAGAAATTAAG AGAAAATACC AAAAATGATA
 AGCAGATGGT GCAGTATATC TATAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGT GGTGGTGGT GTAGCCGTAA
 501 AAAACGTGCA AGCGGTGGT CGGAAGGTGG TAGCCTGGCA GCACTGACCG
 CACATCAGGC ATGTCATCTG CCGCTGGAAA CCTTTACCCG TCATCGTCAG
 601 CCTCGTGGT GGGAACAGCT GGAACAGTGT GGTATCCGG TTCAGCGTCT
 GGTGCACTG TATCTGGCAG CACGTCTGAG CTGGAATCAG GTTGATCAGG
 701 TTATTGCAA TGCCTGGCA AGTCCGGGT GCGGTGGTGA TCTGGGTGAA
 GCAATTCGT AAAGTCCGA ACAGGCACGT CTGGCACTGA CCCTGGCAGC
 801 AGCAGAAAGC GAACGTTTTG TTCGTCAGG CACCGTAAT GATGAAGCCG
 GTGCAGCAA TGGTCCGCA GATGGTGGTA GTGGTGGTGG TGCACGTGCT
 901 CGTCAAGAAG GTAGCAGTCC GGAACCGGT GAAGGTCTGG CACGTGACGG
 TCCGCTCCG TTTCCGCTGG GTCGCTGGT TCCGAGCGCA GTTAGCTGTG
 1001 GTCTGTGTGA ACCGGTCTG GCAGCCGCAC CGGCAGCAC GACTGCTG
 CCTGCAGCAT ATCTGTGTG ACCGACCGCA CCGCCTGCAG TTACCGCAGC
 1101 ACTGGTGGT AGTCGTTGGC CTGGTGGTCC GCGTAGTCGT CCGCTGGTC
 CGCGTCCGA TGGTCCGCA CCGAGTCTGA GCCTGGCAGA ACAGCATCTG
 1201 GAAAGTCTG TGCCGAGCGC ACCGGGTGCA CTGGCAGGCG GTCCGACACA
 GGCAGCACCT GGTGTTCTG GTGAAGAAGA ACAGTGGGCA CGCGAAATTG
 1301 GTGCACAGCT GCGTCGTATG GCAGATGATC TGAATGCACA GTATGAACGT
 CGTCGTCAAG AAGAACAGCA GCGTCATCGT CCGAGCCCGT GCGTGTCT
 1401 GTATAATCTG ATTATGGGTC TGCTGCCGCT GCCTCGTGGT CATCGTGCAC
 CGGAAATGGA ACCGAATAAA GATGAAGT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) de Novagen y BL21DE3pLysSRIL de Stratagene. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 14. La proteína de fusión de SEQ. No. 14

La proteína de SEQ. No. 14 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 186 aminoácidos y una masa de 21,5 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el fragmento de 8 aminoácidos de la proteína SMAC/Diablo (SEQ. No. 39) se fija como péptido efector, en donde la secuencia de poliarginina que consiste en siete residuos de Arg está unida adicionalmente al extremo C-terminal del péptido efector. Además, entre la secuencia de poliarginina y la secuencia de TRAIL, la proteína contiene secuencias de sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 3 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 14 y SEQ. No. 80 como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 14

1 AVPIAQKPRR RRRRRRVVRP LGLAGRVAAH ITGTRGRSNT LSSPNSKNEK
 51 ALGRKINSWE SSRSGHSFLS NLHLRNGELV IHEKGFYIY SQTYFRFQEE
 101 IKENTKNDKQ MVQYIYKYTS YPDPILLMKS ARNSCWSKDA EYGLYSIYQG
 5 151 GIFELKENDR IFVSVTNEHL IDMDHEASFF GAFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 80

1 GCAGTTCCGA TTGCACAGAA ACCGCGTCGT CGTCGTCGCC GTCGTCGTGT
 TGTTTCGTCCG CTGGGTCTGG CAGGTCGTGT TGCAGCACAT ATTACCGGCA
 101 CCCGTGGTCG TAGCAATACC CTGAGCAGCC CGAATAGCAA AAATGAAAAA
 GCCCTGGGTC GCAAATCAA TAGCTGGGAA AGCAGCCGTA GCGGTCATAG
 201 CTTTCTGAGC AATCTGCATC TGCGTAATGG TGAACGGTG ATTCATGAAA
 AAGGCTTTTA CTATATCTAT AGCCAGACCT ACTTCCGCTT TCAGGAAGAA
 301 ATAAAGAAA ATACCAAAAA TGATAAACAA ATGGTGCAGT ATATCTATAA
 ATATACCAGC TATCCGGATC CGATTCTGCT GATGAAAAGC GCACGTAATA
 401 GCTGTTGGAG CAAAGATGCA GAATATGGCC TGTATAGCAT TTATCAGGGT
 GGCATTTTTG AACTGAAAGA AAATGATCGC ATTTTTGTGA GCGTGACCAA
 501 TGAACATCTG ATTGATATGG ATCATGAAGC CAGCTTTTTT GGTGCATTC
 TGGTGGGT

10 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) o Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

15 Ejemplo 15. La proteína de fusión de SEQ. No. 15

La proteína de SEQ. No. 15 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 191 aminoácidos y una masa de 22,2 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, la buforina IIb (SEQ. No. 40) se fija como péptido efector. Además, entre el péptido efector y la secuencia de TRAIL, la proteína contiene secuencias de sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

20 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 3 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 15 y SEQ. No. 81, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 15

1 RAGLQFPVGR LLRLLRLL RVRPLGLAG RVAAHITGTR GRSNTLSSPN
 51 SKNEKALGRK INSWESSRG HSFLSNLHLR NGELVIHEKG FYYIYSQTYF
 101 RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI LLMKSARNSC WSKDAEYGLY
 151 SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH EASFFGAFLV G

25 Secuencia de ADN: SEQ. No. 81

1 CGTGCAGGTC TGCAGTTTCC GGTTGGACGT CTGTTACGTC GCCTGCTGCG
 TCGTCTGCTG CGCGTTGTTC GTCCGCTGGG TCTGGCAGGT CGTGTTGCAG
 101 CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG CAGCCCGAAT
 AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAAA ATCAATAGCT GGGAAAGCAG
 201 CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT AATGGTGAAC
 TGGTGATTCA TGAAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA GACCTATTTT
 301 CGCTTTCAAG AAGAGATTAA AGAAAATACC AAAAATGATA AACAAATGGT
 GCAGTACATT TACAAATATA CCAGCTATCC GGACCCGATT CTGCTGATGA
 401 AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA TGGTCTGTAT
 AGCATTATC AGGGTGGCAT CTTTGAGCTG AAAGAAAATG ATCGCATCTT
 501 TGTTAGCGTG ACCAACGAAC ATCTGATCGA TATGGATCAT GAAGCCAGCT
 TTTTGGTGC ATTTCTGGTG GGTCTGGTTC CGCGTGGTAG CGGTAGCAGC
 601 CATCATCATC ATCACCATAG CAGCGGT

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 16. La proteína de fusión de SEQ. No. 16

10 La proteína de SEQ. No. 16 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 279 aminoácidos y una masa de 31,7 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, la proteína onconasa (SEQ. No. 41) se fija como péptido efector. Entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector hay una secuencia de sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52), separados adicionalmente de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGGS (SEQ. No. 58).

15 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 4 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 16 y SEQ. No. 82, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 16

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GGGSGPLGLA GRVVRQDWLT FQKKHITNTR DVDCDNIMST
 201 NLFHCKDKNT FIYSRPEPVK AICKGIIASK NVLTTSEFYI SDCNVTSRPC
 251 KYKLLKSTNK FCVTCENQAP VHFVGVGSC

Secuencia de ADN: SEQ. No. 82

1 CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAAG AAGAAATTA AGAAAATACC AAAAATGATA
 AGCAGATGGT GCAGTATATC TATAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCAITTTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGT GGTGGTGGTA GCGGTCCGCT
 501 GGGTCTGGCA GGTCGTGTTG TTCGTCAGGA TTGGCTGACC TTTCAGAAAA
 AACATATTAC CAATACCCGT GATGTGGATT GCGATAATAT TATGAGCACC
 601 AACCTGTTTC ATTGCAAAGA TAAAATACC TTTATTTATA GCCGTCCGGA
 ACCGGTTAAA GCAATTTGTA AAGGTATTAT TGCCAGCAA AATGTGCTGA
 701 CCACGAGCGA ATTCTATCTG AGCGATTGTA ATGTTACCAG CCGTCCGTGT
 AAATATAAAC TGAAAAAAG CACCAATAA TTTTGCCTGA CCTGCGAAAA
 801 TCAGGCACCG GTTCATTTTG TTGGTGTGG TAGCTGT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 17. La proteína de fusión de SEQ. No. 17

La proteína de SEQ. No. 17 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 274 aminoácidos y una masa de 31 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, la proteína onconasa (SEQ. No. 41) se fija como péptido efector, en donde la secuencia del péptido efector se separa adicionalmente de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina, GGGSGGGGS (SEQ. No. 64).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 4 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 17 y SEQ. No. 83, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 17

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GGGSGGGGS QDWLTFQKKH ITNTRDVDCD NIMSTNLFHC
 201 KDKNTFIYSR PEPVKAICKG IASKNVLTT SEFYLSDCNV TSRPCKYKLG
 251 KSTNKFCVTC ENQAPVHFGV VGSC

Secuencia de ADN: SEQ. No. 83

1 CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAAG AAGAAATTAAG AGAAAATACC AAAAATGATA
 AGCAGATGGT GCAGTATATC TATAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGT GGTGGTGGT GTAGCGGTGG
 501 TGGTGGCAGC CAGGATTGGC TGACCTTCA GAAAAACAT ATTACCAATA
 CCCGTGATGT GGATTGCGAT AATATTATGA GCACCAACCT GTTTCATTGC
 601 AAAGATAAAA ATACCTTTAT TTATAGCCGT CCGGAACCGG TTAAAGCAAT
 TTGTAAAGGT ATTATTGCCA GCAAAAATGT GCTGACCACG AGCGAATTCT
 701 ATCTGAGCGA TTGTAATGTT ACCAGCCGTC CGTGTAATA TAACTGAAA
 AAAAGCACCA ATAAATTTG CGTGACCTGC GAAATCAGG CACCGGTTCA
 801 TTTTGTGGT GTTGGTAGCT GT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 18. La proteína de fusión de SEQ. No. 18

La proteína de SEQ. No. 18 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 197 aminoácidos y una masa de 23,2 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, un péptido de 20 aminoácidos que contiene el dominio N-terminal de la proteína p14ARF (SEQ. No. 42) se fija como péptido efector, en donde la secuencia de poliarginina que consiste en seis residuos de Arg se fija adicionalmente al extremo C-terminal del péptido efector. Además, entre la secuencia de poliarginina y la secuencia de TRAIL hay una secuencia de sitios de escisión de las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 4 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 18 y SEQ. No. 84, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 18

1 VRRFLVTLRI RRACGPPRVR RRRRRRVVR PLGLAGRVA A HITGTRGRSN
 51 TLSSPNSKNE KALGRKINSW ESSRSGHSFL SNLHLRNGEL VIHEKGFYI
 101 YSPTYFRFQE EIKENTKNDK QMVQYIYKYT SYPDPILLMK SARNSCWSKD
 151 AEYGLYSIQ GGIFELKEND RIFVSVTNEH LIDMDHEASF FGAFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 84

1 GTTCGTCGTT TTCTGGTTAC CCTGCGTATT CGTCGTGCAT GTGGTCCTCC
 GCGTGTGCGT CGTCGTCGTC GCCGTCGTCG TGTTGTTTCGT CCTCTGGGTC

101 TGGCAGGTCG CGTTGCAGCA CATATTACCG GCACCCGTGG TCGTAGCAAT
 ACCCTGAGCA GCCCGAATAG CAAAATGAA AAAGCCCTGG GTCGCAAAAT
 201 TAATAGCTGG GAAAGCAGCC GTAGCGGTCA TAGCTTTCTG AGCAATCTGC
 ATCTGCGTAA TGGTGAAGTGTGATTGATG AAAAAGGCTT TTATTATATT
 301 TATAGCCAGA CCTATTTTCG CTTTCAGGAA GAAATTAAG AAAATACCAA
 AAATGATAAA CAAATGGTGC AGTATATCTA TAAATATACC AGCTATCCGG
 401 ATCCGATTCT GCTGATGAAA AGCGCACGTA ATAGCTGTTG GAGCAAAGAT
 GCAGAATATG GCCTGTATAG CATTATCAG GGTGGCATT TTGAACTGAA
 501 AGAAAATGAT CGCATTTTTG TGAGCGTGAC CAATGAACAT CTGATTGATA
 TGGATCATGA AGCCAGCTTT TTTGGTGCAT TTCTGGTTGG T

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 19. La proteína de fusión de SEQ. No. 19

10 La proteína de SEQ. No. 19 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 189 aminoácidos y una masa de 22,3 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, el péptido de 11 aminoácidos que se une a Mdm2 (SEQ No. 43) se fija como péptido efector, en donde la secuencia de poliarginina que consiste en siete residuos de Arg se fija además al extremo C-terminal del péptido efector. Además, entre la secuencia de poliarginina y la secuencia de TRAIL hay secuencias de sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

15 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 4 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 19 y SEQ. No. 85, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 19

1 PRFMDTWEGL NRRRRRRRRV VRPLGLAGRV AAHITGTRGR SNTLSSPNSK
 51 NEKALGRKIN SWESSRSGHS FLSNLHLRNG ELVIHEKGFY YIYSQTYFRF
 101 QEEIKENTKN DKQMVQYIYK YTSYPDPILL MKSARNSCWS KDAEYGLYSI
 20 151 YQGGIFELKE NDRIFVSVTN EHLIDMDHEA SFFGAFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 85

1 CCTCGTTTTA TGGATACCTG GGAAGGTCTG AATCGCCGTC GCGTCGTCG
 GCGTCGTGTT GTTCGTCCGC TGGGTCTGGC AGGTCGTGTT GCAGCACATA
 101 TTACCGGCAC CCGTGGTCGT AGCAATACCC TGAGCAGCCC GAATAGCAA
 AATGAAAAAG CACTGGGTCG CAAAATTAAT AGCTGGGAAA GCAGCCGTAG
 201 CGGTCATAGC TTTCTGAGCA ATCTGCATCT GCGTAATGGT GAACTGGTGA
 TTCATGAAAA AGGCTTTTAT TATATTTATA GCCAGACCTA TTTTCGCTTT
 301 CAGGAAGAAA TAAAGAAAA TACCAAAAAT GATAAACAAA TGGTGCAGTA
 CATTACAAA TATACCAGCT ATCCGGATCC GATTCTGCTG ATGAAAAGCG
 401 CACGTAATAG CTGTTGGAGC AAAGATGCAG AATATGGTCT GTATAGCATT
 TATCAGGGTG GCATTTTTGA ACTGAAAGAA AATGATCGCA TTTTGTGAG
 501 CGTGACCAAT GAACATCTGA TTGATATGGA TCATGAAGCC AGCTTTTTTG
 GTGCATTCT GGTGGT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) o Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 20. La proteína de fusión de SEQ. No. 20

La proteína de SEQ. No. 20 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 195 aminoácidos y una masa de 22,9 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia TRAIL121-281, el péptido obtenido a partir de lunasina (SEQ. No. 44) se fija como péptido efector. Entre el péptido efector y la secuencia de TRAIL hay, en el orden dado, la secuencia de poliarginina que consiste en siete residuos de Arg y secuencias de sitios de escisión para las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 4 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 20 y SEQ. No. 86, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 20

1 CEKHIMEKIQ GRGDDDDRRR RRRRRVVRPL GLAGRVAHI TGTRGRSNTL
 51 SSPNSKNEKA LGRKINSWES SRSGHSFLSN LHLRNGELVI HEKGFYIYS
 101 QTYFRFQEEI KENTKNDKQM VQYIYKYSY PDPILLMKSA RNSCWSKDAE
 151 YGLYSIQGG IFELKENDRI FVSVTNEHLI DMDHEASFFG AFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 86

1 TGTGAAAAAC ATATTATGGA AAAAATTCAG GGTCGCGGTG ATGATGATGA
 TCGCCGTCGG CGTCGTCGGC GTCGTGTTGT TCGTCCGCTG GGTCTGGCAG
 101 GTCGTGTTGC AGCACATATT ACCGGCACCC GTGGTCGTAG CAATACCCTG
 AGCAGCCCGA ATAGCAAAAA TGAAAAAGCA CTGGGTCGCA AAATTAATAG
 201 CTGGGAAAGC AGCCGTAGCG GTCATAGCTT TCTGAGCAAT CTGCATCTGC
 GTAATGGTGA ACTGGTGATT CATGAAAAAG GCTTTTATTA TATTTATAGC
 301 CAGACCTATT TTCGCTTTCA GGAAGAAATT AAAGAAAATA CCAAAAATGA
 TAAACAAATG GTGCAGTACA TTTACAAATA TACCAGCTAT CCGGATCCGA
 401 TTCTGCTGAT GAAAAGCGCA CGTAATAGCT GTTGGAGCAA AGATGCAGAA
 TATGGTCTGT ATAGCATTTA TCAGGGTGGC ATTTTTGAAC TGAAAGAAAA
 501 TGATCGCATT TTTGTGAGCG TGACCAATGA ACATCTGATT GATATGGATC
 ATGAAGCCAG CTTTTTGGT GCATTTCTGG TTGGT

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) o Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 21. La proteína de fusión de SEQ. No. 21

10 La proteína de SEQ. No. 21 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 218 aminoácidos y una masa de 25,5 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, se fija como péptido efector un fragmento de la proteína de 8 aminoácidos Smac/Diablo (SEQ No. 39) con una secuencia de poliarginina fijada a su extremo C-terminal, que consiste en siete residuos de Arg. Además, en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281 se fija como segundo péptido efector el péptido que contiene el dominio BH3 de la proteína Bik (SEQ. No. 45), estando fijado el segundo péptido efector en su extremo N-terminal, a una secuencia de poliarginina que
 15 consiste en siete residuos de Arg. Entre la secuencia de TRAIL y ambos péptidos efectores con secuencias de poliarginina fijadas, hay secuencias de sitios de escisión reconocidos por la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y la urocinasa uPA (SEQ. No. 52).

20 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 4 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 21 y SEQ. No. 87, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 21

1 AVPIAQKPRR RRRRRRVVRP LGLAGRVAAH ITGTRGRSNT LSPNSKNEK
 51 ALGRKINSWE SRSRHSFSL NLHLRNGELV IHEKGFYYIY SQTYFRFQEE
 101 IKENTKNDKQ MVQYIYKYTS YDPILLMKS ARNSCWSKDA EYGLYSIYQG
 151 GIFELKENDR IFVSVTNEHL IDMDHEASFF GAFLVGPLGL AGRVVRRRRR
 201 RRRLALRLAC IGDEMDVS

Secuencia de ADN: SEQ. No. 87

1 GCAGTTCCGA TTGCACAGAA ACCGCGTCGT CGTCGTCGCC GTCGTCGTGT
 TGTTTCGTCTT CTGGGTCTGG CAGGTCGCGT TGCAGCACAT ATTACCGGCA
 101 CCCGTGGTCC TAGCAATACC CTGAGCAGCC CGAATAGCAA AAATGAAAAA
 GCCCTGGGTC GCAAATTA TAGCTGGGAA AGCAGCCGTA GCGGTCATAG
 201 CTTTCTGAGC AATCTGCATC TGCGTAATGG TGAAGTGGTG ATTCATGAAA
 AAGGCTTTTA TTATATTTAT AGCCAGACCT ATTTTCGCTT TCAGGAAGAA
 301 ATTAAAGAAA ATACCAAAAA TGATAAACAA ATGGTGCAGT ATATCTATAA
 ATATACCAGC TATCCGGATC CGATTCTGCT GATGAAAAGC GCACGTAATA
 401 GCTGTTGGAG CAAAGATGCA GAATATGGCC TGTATAGCAT TTATCAGGGT
 GGCATTTTTG AACTGAAAGA AAATGATCGC ATTTTTGTGA GCGTGACCAA
 501 TGAACATCTG ATTGATATGG ATCATGAAGC CAGCTTTTTT GGTGCATTTT
 TGGTTGGTCC GCTGGGCCTG GCTGGCCGTG TGGTTCGCCG GCGCCGTCGC
 601 CGTCGCCGCC TGGCACTGCG TCTGGCATGT ATTGGTGATG AAATGGATGT
 GAGC

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Rosetta (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 22. La proteína de fusión de SEQ. No. 22

10 La proteína de SEQ. No. 22 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 199 aminoácidos y una masa de 22,3 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL 121-281, se fija como péptido efector la secuencia peptídica sintética que consiste en repeticiones de Gly, Ala (SEQ. No. 46), que tiene también fijado a su extremo C-terminal la secuencia de poliarginina que consiste en ocho residuos de Arg, en donde esta última forma también la parte C-terminal de la estructura artificial completa. Además, entre el péptido efector y la secuencia de TRAIL hay una secuencia de sitios de escisión reconocida por la metaloproteasa MMP (SEQ. No. 51) y la urocinasa uPA (SEQ. No. 52).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 4 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 22 y SEQ. No. 88, como se muestra a continuación.

20 Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 22

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GRVVRPLGLA GAGAGGGAGG AGAGGGAGGA GRRRRRRRR

Secuencia de ADN: SEQ. No. 88

1 CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAA ATTAATAGCT

101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAAG AAGAAATTAAG AAAAACACC AAAAATGATA
 AACAAATGGT GCAGTATATT TACAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGTT GGTGGTGGTG GTAGCGGTGG
 501 TGGTCGTGTT GTTCGTCCGC TGGGTCTGGC TGGTGCCGGT GCCGGTGGTG
 GTGCAGGCGG TGCTGGTGGC GGTGGCGGAG CCGGTGGTGC AGGTCGTCGT
 601 CGTCGCCGTC GTCGGCGT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) o Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 23. La proteína de fusión de SEQ. No. 23

La proteína de SEQ. No. 23 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 289 aminoácidos y una masa de 32,6 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el dominio C-terminal del componente S5a del proteasoma que contiene motivos UIMs (SEQ. No. 46), se fija como péptido efector. Además, entre el péptido efector y la secuencia de TRAIL está la secuencia del sitio de escisión de furina (SEQ. No. 53), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por un enlazador flexible de glicina-serina GGGSGG (SEQ. No. 61), y en el extremo C-terminal del péptido efector se encuentra la secuencia KEDL que se dirige al retículo endoplasmático (SEQ. No. 56), siendo esta última la parte C-terminal de la estructura artificial completa.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 5 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 23 y SEQ. No. 89, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 23

1 RVAAHITGTR GRSNTLSSPN SKNEKALGRK INSWESSRSG HSFLSNLHLR
 51 NGELVIHEKG FYYIYSQTYF RFQEEIKENT KNDKQMVQYI YKYTSYPDPI
 101 LLMKSARNSC WSKDAEYGLY SIYQGGIFEL KENDRIFVSV TNEHLIDMDH
 151 EASFFGAFLV GGGGSGGRKK RMTISQQEFG RTGLPDLSSM TEEEQIAYAM
 201 QMSLQGAIEFG QAESADIDAS SAMDTSEPAK EEDDYDVMQD PEFLQSVLEN
 20 251 LPGVDPNNEA IRNAMGSLAS QATKDGKKDK KEEDKKEDL

Secuencia de ADN: SEQ. No. 89

1 CGTGTTGCAG CACATATTAC CGGCACCCGT GGTCGTAGCA ATACCCTGAG
 CAGCCCGAAT AGCAAAAATG AAAAAGCACT GGGTCGCAAA ATTAATAGCT
 101 GGGAAAGCAG CCGTAGCGGT CATAGCTTTC TGAGCAATCT GCATCTGCGT
 AATGGTGAAC TGGTGATTCA TGAAAAAGGC TTTTATTATA TTTATAGCCA
 201 GACCTATTTT CGCTTTCAAG AAGAAATTAAG AGAAAACACC AAAAATGATA
 AACAAATGGT GCAGTATATT TACAAATATA CCAGCTATCC GGATCCGATT
 301 CTGCTGATGA AAAGCGCACG TAATAGCTGT TGGAGCAAAG ATGCAGAATA
 TGGTCTGTAT AGCATTATC AGGGTGGCAT TTTTGAAGT AAAGAAAATG
 401 ATCGCATTTT TGTGAGCGTG ACCAATGAAC ATCTGATTGA TATGGATCAT
 GAAGCCAGCT TTTTGGTGC ATTTCTGGT GGTGGTGGTG GTAGCGGTGG
 501 TCGTAAAAAA CGTATGACCA TTAGCCAGCA AGAATTTGGT CGTACCGGTC
 TGCCGGATCT GAGCAGCATG ACCGAAGAAG AACAAATTGC CTACGCAATG
 601 CAGATGAGCC TGCAGGGTGC AGAATTTGGT CAGGCAGAAA GCGCAGATAT
 TGATGCAAGC AGCGCAATGG ATACCAGCGA ACCGGCAAAA GAAGAAGACG
 701 ATTACGACGT TATGCAGGAT CCGGAATTTT TGCAGAGCGT TCTGGAAAAT
 CTGCCGGGTG TTGATCCGAA TAATGAAGCA ATTCGTAATG CAATGGGTAG
 801 CCTGGCAAGC CAAGCAACCA AAGATGGCAA AAAAGATAAA AAAGAGGAAG
 ACAAAAAGA AGATCTG

5 La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general B, usando las cepas de *E. coli* BL21 (DE3) o Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 24. La proteína de fusión de SEQ. No. 24 (comparativo)

10 La proteína de SEQ. No. 24 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 183 aminoácidos y una masa de 21 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL119-281, el decapeptido obtenido a partir del ligando de TNF (SEQ. No. 48) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL hay secuencias de sitios de escisión reconocidas por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

15 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 5 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 24 y SEQ. No. 90, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 24

1 VANPQAEQQL RVVRPLGLAG PQRVAAHITG TRGRSNTLSS PNSKNEKALG
 51 RKINSWESSR SGHSFLSNLH LRNGELVIHE KGFYIYSQT YFRFQEEIKE
 101 NTKNDKQMVQ YIYKYTSYPD PILLMKSARN SCWSKDAEYG LYSIYQGGIF
 151 ELKENDRIFV SVTNEHLIDM DHEASFFGAF LVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 90

1 GTTGCAAATC CGCAGGCAGA AGGTCAGCTG CGCGTTGTTT GTCCGCTGGG
 TCTGGCAGGT CCGCAGCGTG TTGCAGCACA TATTACCGGC ACCCGTGGTC
 101 GTAGCAATAC CCTGAGCAGC CCGAATAGCA AAAATGAAAA AGCCCTGGGT
 CGTAAATTA ATAGCTGGGA AAGCAGCCGT AGCGGTCATA GCTTTCTGAG
 201 CAATCTGCAT CTGCGTAATG GCGAACTGGT GATTCATGAA AAAGGCTTTT
 ATTATATTTA TAGCCAGACC TATTTTCGCT TTCAGGAAGA AATTAAGAA
 301 AATACAAAA ATGATAACA AATGGTGCAG TATATCTATA AATATACCAG
 CTATCCGGAT CCGATTCTGC TGATGAAAAG CGCACGTAAT AGCTGTTGGA
 401 GCAAAGATGC CGAATATGGT CTGTATAGCA TTTATCAGGG TGGCATTITT
 GAACTGAAAG AAAATGATCG CATTITTTGTG AGCGTGACCA ATGAACATCT
 501 GATTGATATG GATCATGAAG CCAGCTTTTT TGGTGCATTT CTGGTTGGT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* BL21 (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 25. La proteína de fusión de SEQ. No. 25 (comparativo)

La proteína de SEQ. No. 25 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 179 aminoácidos y una masa de 20,7 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL 119-281, el péptido de 6 aminoácidos obtenido a partir de TNF (SEQ. No. 49) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL hay secuencias de sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 5 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 25 y SEQ. No. 91, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 25

1 LANGVERVVR PLGLAGPQRV AAHITGTRGR SNTLSSPNSK NEKALGRKIN
 51 SWESSRSGHS FLSNLHLRNG ELVIHEKGFY YIYSQTYFRF QEEIKENTKN
 101 DKQMVQYIYK YTSYDPILL MKSARNSCWS KDAEYGLYSI YQGGIFELKE
 151 NDRIFVSVTN EHLIDMDHEA SFFGAFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 91

1 CTGGCAAATG GTGTTGAACG TGTTGTTTCGT CCGCTGGGTC TGGCAGGTCC
 GCAGCGTGTT GCAGCACATA TTACCGGCAC CCGTGGTTCGT AGCAATACCC
 101 TGAGCAGCCC GAATAGCAA AATGAAAAAG CCCTGGGTCG TAAATTAAT
 AGCTGGGAAA GCAGCCGTAG CGGTCATAGC TTTCTGAGCA ATCTGCATCT
 201 GCGTAATGGC GAACTGGTGA TTCATGAAAA AGGCTTTTAT TATATTTATA
 GCCAGACCTA TTTTCGCTTT CAGGAAGAAA TTAAAGAAAA TACCAAAAAT
 301 GATAAACAAA TGGTGCAGTA TATCTATAAA TATACCAGCT ATCCGGATCC
 GATTCTGCTG ATGAAAAGCG CACGTAATAG CTGTTGGAGC AAAGATGCCG
 401 AATATGGTCT GTATAGCATT TATCAGGGTG GCATTTTGA ACTGAAAGAA
 AATGATCGCA TTTTGTGAG CGTGACCAAT GAACATCTGA TTGATATGGA
 501 TCATGAAGCC AGCTTTTTTG GTGCATTTCT GGTTGGT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 26. La proteína de fusión de SEQ. No. 26 (comparativo)

La proteína de SEQ. No. 26 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 180 aminoácidos y una masa de 20,8 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL119-281, se fija como péptido efector el fragmento de 5 aminoácidos de la citocina TNF (SEQ. No. 50) con un residuo de Cys adicional tanto en su extremo C-terminal como N-terminal. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL hay secuencias de sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 5 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 26 y SEQ. No. 92, como se muestra a continuación.

Secuencia de aminoácidos: SEQ. No. 26

1 CPSEGLCRVV RPLGLAGPQR VAAHITGTRG RSNTLSSPNS KNEKALGRKI
 51 NSWESSRSGH SFLSNLHLRN GELVIHEKGF YYIYSQTYFR FQEEIKENTK
 101 NDKQMVQYIY KYTSYPDPIL LMK SARNSCW SKDAEYGLYS IYQGGIFELK
 151 ENDRIFVSVT NEHLIDMDHE ASFFGAFLVG

Secuencia de ADN: SEQ. No. 92

1 TGTCGGAGCG AAGGTCTGTG TCGTGTTGTT CGTCCGCTGG GTCTGGCAGG
 TCCGCAGCGT GTTGCAGCAC ATATTACCGG CACCCGTGGT CGTAGCAATA
 101 CCCTGAGCAG CCCGAATAGC AAAAATGAAA AAGCCCTGGG TCGTAAATT
 AATAGCTGGG AAAGCAGCCG TAGCGGTCAT AGCTTTCTGA GCAATCTGCA
 201 TCTGCGTAAT GGCGAACTGG TGATTCATGA AAAAGGCTTT TATTATATTT
 ATAGCCAGAC CTATTTTCGC TTTCAGGAAG AAATTAAGA AAATACCAA
 301 AATGATAAAC AAATGGTGCA GTATATCTAT AAATATACCA GCTATCCGGA
 TCCGATTCTG CTGATGAAAA GCGCACGTAA TAGCTGTTGG AGCAAAGATG
 401 CCGAATATGG TCTGTATAGC ATTTATCAGG GTGGCATT TT TGA ACTGAAA
 GAAAATGATC GCATTTTTGT GAGCGTGACC AATGAACATC TGATTGATAT
 501 GGATCATGAA GCCAGCTTTT TTGGTGCATT TCTGGTTGGT

La secuencia de aminoácidos presentada anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante presentada anteriormente. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, usando la cepa de *E. coli* Turner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 27. La proteína de fusión de SEQ. No. 93

La proteína de SEQ. No. 93 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 459 aminoácidos y una masa de 50,4 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, se fija como péptido efector la AR-Nasa humana de longitud completa (SEQ. No. 32) flanqueada en su extremo C-terminal por la secuencia que se dirige al retículo endoplásmico (KDEL) y en su extremo N-terminal por el enlazador flexible de glicina-serina (SEQ. No. 175). Además, para estabilizar su estructura trimérica, en la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo N-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 179) flanqueado en su extremo N-terminal por un residuo de glicina. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector, se encuentran en un orden dado el enlazador flexible de glicina-serina (SEQ. No. 59), el enlazador para la pegilación (SEQ. No. 170), la secuencia de un sitio de escisión reconocido por furina (SEQ. No. 53), el enlazador flexible de glicina-serina (SEQ. No. 65) y el dominio de

traslocación modificado de *Pseudomonas aeruginosa* (delección de la hélice F) (SEQ. No. 176).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 6 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 93 y SEQ. No. 122.

5 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

10 Ejemplo 28. La proteína de fusión de SEQ. No. 94

La proteína de SEQ. No. 94 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 213 aminoácidos y una masa de 24,7 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido obtenido a partir de Nur77 (SEQ. No. 35) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo N-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL hay una secuencia de sitios de escisión reconocida por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Fig. 6 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 93 y SEQ. No. 122.

20 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

25 Ejemplo 29. La proteína de fusión de SEQ. No. 95

La proteína de SEQ. No. 95 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 204 aminoácidos y una masa de 23,1 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL116-281, el péptido obtenido a partir de azurina (SEQ. No. 151) se fija como péptido efector. Entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocida por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 6 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 95 y SEQ. No. 124.

35 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 30. La proteína de fusión de SEQ. No. 96

40 La proteína de SEQ. No. 96 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 205 aminoácidos y una masa de 23,3 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL120-281, el péptido obtenido a partir de azurina (SEQ. No. 151) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector hay una secuencia de un sitio de escisión reconocido por la proteasa furina (SEQ. No. 172), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGGS (SEQ. No. 58). El extremo C-terminal del péptido efector está flanqueado por la secuencia de KEDL que se dirige al retículo endoplasmático (SEQ. No. 56), que forma la parte C-terminal de la estructura artificial completa.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 6 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 96 y SEQ. No. 125.

50 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 31. La proteína de fusión de SEQ. No. 97

La proteína de SEQ. No. 97 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 207 aminoácidos y una masa de 23,1 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL120-281, el péptido obtenido a partir de azurina (SEQ. No. 151) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGGSGGG (SEQ. No. 62).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 6 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 97 y SEQ. No. 126.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 32. La proteína de fusión de SEQ. No. 98

La proteína de SEQ. No. 98 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 327 aminoácidos y una masa de 36,2 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL120-281, el péptido de longitud completa de azurina (SEQ. No. 152) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGGSGGG (SEQ. No. 62).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 7 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 98 y SEQ. No. 127.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 33. La proteína de fusión de SEQ. No. 99

La proteína de SEQ. No. 99 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 199 aminoácidos y una masa de 22,9 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL114-281, el péptido octámero obtenido a partir de Smac/DIABLO (SEQ. No. 39) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 7 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 99 y SEQ. No. 128.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 34. La proteína de fusión de SEQ. No. 100

La proteína de SEQ. No. 100 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 221 aminoácidos y una masa de 25,2 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido octámero obtenido a partir de Smac/DIABLO (SEQ. No. 39) se fija como péptido efector. En la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo N-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 177) para estabilizar su estructura trimérica. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 7 y su secuencia de aminoácidos y

la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 100 y SEQ. No. 129.

5 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 35. La proteína de fusión de SEQ. No. 101

10 La proteína de SEQ. No. 101 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 212 aminoácidos y una masa de 24,5 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido octámero obtenido a partir de Smac/DIABLO (SEQ. No. 39) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

15 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 7 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 101 y SEQ. No. 130.

20 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 36. La proteína de fusión de SEQ. No. 102

25 La proteína de SEQ. No. 102 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 212 aminoácidos y una masa de 24,5 kDa, en la que en el N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el péptido diseñado a partir de la proteína aPP y el dominio BH3 de la proteína Bax (SEQ. No. 153), se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 6 residuos de Arg. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentran las secuencias de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

30 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 7 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 102 y SEQ. No. 131.

35 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 37. La proteína de fusión de SEQ. No. 103

40 La proteína de SEQ. No. 103 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 247 aminoácidos y una masa de 28,1 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido diseñado a partir de la proteína aPP y el dominio BH3 de la proteína Bax (SEQ. No. 153) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 6 residuos de Arg. En la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo N-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 177) para estabilizar su estructura trimérica. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL, se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

45 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 8 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 103 y SEQ. No. 132.

50 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 38. La proteína de fusión de SEQ. No. 104

La proteína de SEQ. No. 104 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 212 aminoácidos y una masa de 24,4 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL114-281, el péptido diseñado a partir de la proteína aPP y el dominio BH3 de la proteína Bax (SEQ. No. 153) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 8 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 104 y SEQ. No. 133.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 39. La proteína de fusión de SEQ. No. 105

La proteína de SEQ. No. 105 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 221 aminoácidos y una masa de 24,8 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL120-281, el péptido obtenido a partir de Retículo RTN1-C (SEQ. No. 155) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal la secuencia de localización nuclear (SEQ. No. 168). Además, para estabilizar su estructura trimérica, en la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo N-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 179) flanqueado por dos y tres residuos de glicina, respectivamente en su extremo N y C-terminal. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 8 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 105 y SEQ. No. 134.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 40. La proteína de fusión de SEQ. No. 106

La proteína de SEQ. No. 106 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 435 aminoácidos y una masa de 48 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL119-281, el péptido obtenido a partir de Retículo RTN1-C (SEQ. No. 156) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 8 residuos de Arg. Además, para estabilizar su estructura trimérica, en la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo N-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 178). Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51), estando flanqueada esta secuencia de los sitios de escisión por una secuencia enlazadora GGSGG (SEQ. No. 60), respectivamente en los extremos N y C-terminales.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 8 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 106 y SEQ. No. 135.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 41. La proteína de fusión de SEQ. No. 107

La proteína de SEQ. No. 107 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 580 aminoácidos y una masa de 65 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, una caspasa-3 constitutivamente activa (de cadena sencilla) (SEQ. No. 157) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra el dominio de transporte obtenido a partir de *Pseudomonas* (SEQ. No. 176). El dominio de transporte y la secuencia del péptido efector están conectados a través del enlazador flexible

GGGSGGG (SEQ. No. 62). El dominio de transporte se separa de la secuencia de TRAIL por la secuencia del sitio de escisión reconocido por furina (SEQ. No. 53), estando flanqueada esta secuencia del sitio de escisión, en sus extremos N y C-terminales, por dos secuencias de enlazadores GGGGS (SEQ. No. 59) y ASGG (SEQ. No. 65), respectivamente.

- 5 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 8 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 107 y SEQ. No. 136.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

10

Ejemplo 42. La proteína de fusión de SEQ. No. 108

La proteína de SEQ. No. 108 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 247 aminoácidos y una masa de 28,5 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL119-281, el dominio SAC de Par-4 (SEQ. No. 158) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Adicionalmente, en la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo N-terminal el enlazador flexible de glicina-serina GGSGG (SEQ. No. 60). Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 173).

15

20

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 9 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 108 y SEQ. No. 137.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

25

Ejemplo 43. La proteína de fusión de SEQ. No. 109

La proteína de SEQ. No. 109 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 247 aminoácidos y una masa de 28,5 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL119-281, el dominio SAC de Par-4 (SEQ. No. 158) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal, el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg, y en su extremo N-terminal la secuencia NLS (señal de localización nuclear) procedente del factor de transcripción Oct6 (SEQ. No. 168). En la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo N-terminal el enlazador flexible de glicina-serina GGSGG (SEQ. No. 60). Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 173).

30

35

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 9 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 109 y SEQ. No. 138.

40

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

45

Ejemplo 44. La proteína de fusión de SEQ. No. 110

La proteína de SEQ. No. 110 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 270 aminoácidos y una masa de 30,8 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, la proteína Noxa (SEQ. No. 159) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo N-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Además, para estabilizar su estructura trimérica, en la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo C-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 177), separado de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGSG (SEQ. No. 57). Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52).

50

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 9 y su secuencia de aminoácidos y

55

la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 110 y SEQ. No. 139.

5 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 45. La proteína de fusión de SEQ. No. 111

10 La proteína de SEQ. No. 111 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 207 aminoácidos y una masa de 23,7 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL114-281, el péptido MTD/CKP obtenido a partir de la proteína Noxa (SEQ. No. 160) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo N-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Para estabilizar su estructura trimérica, en la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo C-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 177), en donde este enlazador se separa de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGSG (SEQ. No. 57). Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52).

20 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 9 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 111 y SEQ. No. 140.

25 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 46. La proteína de fusión de SEQ. No. 112

30 La proteína de SEQ. No. 112 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 311 aminoácidos y una masa de 35 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido onconasa (SEQ. No. 41) se fija como péptido efector. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por dos enlazadores flexibles de glicina-serina GGGGS (SEQ. No. 59).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 9 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 112 y SEQ. No. 141.

35 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

40 Ejemplo 47. La proteína de fusión de SEQ. No. 113

45 La proteína de SEQ. No. 113 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 230 aminoácidos y una masa de 27 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el dominio BH3 de la proteína PUMA (SEQ. No. 37) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 9 residuos de Arg. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 10 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 113 y SEQ. No. 142.

50 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 48. La proteína de fusión de SEQ. No. 114

La proteína de SEQ. No. 114 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 225 aminoácidos y una masa de 25,7 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido corto obtenido a partir de la proteína Bid (SEQ. No. 31) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte KPRRPY (SEQ. No. 167). Para estabilizar su estructura trimérica, en la secuencia de TRAIL se ha fijado en su extremo C-terminal el enlazador de policisteína (SEQ. No. 177). Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 10 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 114 y SEQ. No. 143.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 49. La proteína de fusión de SEQ. No. 115

La proteína de SEQ. No. 115 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 234 aminoácidos y una masa de 26,7 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido híbrido corto Antp-TPR (SEQ. No. 161) se fija como un péptido efector. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por un enlazador de policisteína (SEQ. No. 177) para estabilizar su estructura trimérica, seguido por dos residuos de glicina.

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 10 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 115 y SEQ. No. 144.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 50. La proteína de fusión de SEQ. No. 116

La proteína de SEQ. No. 116 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 216 aminoácidos y una masa de 24,3 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL120-281, el péptido inhibidor del dominio SH2 de la proteína Stat3 (SEQ. No. 162) se fija como péptido efector. Además, para estabilizar su estructura trimérica, en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL se fija el enlazador de policisteína (SEQ. No. 179), estando flanqueado el enlazador en sus extremos N y C-terminal, por tres residuos de glicina y un motivo GSG, respectivamente. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 10 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 116 y SEQ. No. 145.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 51. La proteína de fusión de SEQ. No. 117

La proteína de SEQ. No. 117 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 194 aminoácidos y una masa de 22,8 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el péptido obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bak (SEQ. No. 163) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 10 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 117 y SEQ. No. 146.

- 5 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 52. La proteína de fusión de SEQ. No. 118

- 10 La proteína de SEQ. No. 118 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 257 aminoácidos y una masa de 30 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el péptido obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bad (SEQ. No. 164) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo C-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 8 residuos de Arg. Entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51). En el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281 se encuentra el enlazador flexible GGSHG (SEQ. No. 182), seguido por la secuencia del sitio de escisión reconocido por la proteasa trombina (SEQ. No. 174) y, como parte C-terminal de la estructura artificial completa, la secuencia de TRAIL95-121.

- 20 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 11 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 118 y SEQ. No. 147.

- 25 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 53. La proteína de fusión de SEQ. No. 119

- 30 La proteína de SEQ. No. 119 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 236 aminoácidos y una masa de 27, 5 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL95-281, el péptido obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bad (SEQ. No. 164) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo N-terminal el dominio de transporte de poliarginina que consiste en 7 residuos de Arg. Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52), estando el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL95-281 separado adicionalmente de la secuencia de los sitios de escisión por el enlazador que consiste en residuos GGS.

- 35 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 11 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 119 y SEQ. No. 148.

- 40 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Ejemplo 54. La proteína de fusión de SEQ. No. 120

- 45 La proteína de SEQ. No. 120 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 216 aminoácidos y una masa de 24,7 kDa, en la que en el extremo C-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el péptido ATAP procedente de la proteína Bfl1 (SEQ. No. 165) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo N-terminal el dominio de transporte membranal KPRRPYR (SEQ. No. 181). Además, entre la secuencia de TRAIL y la secuencia del péptido efector se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas MMP (SEQ. No. 51) y uPA (SEQ. No. 52), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGGSGGGG (SEQ. No. 180).

- 50 La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 11 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 120 y SEQ. No. 149.

- 55 La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuen-

cia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

5 Ejemplo 55. La proteína de fusión de SEQ. No. 121

La proteína de SEQ. No. 120 es una proteína de fusión que tiene una longitud de 237 aminoácidos y una masa de 27 kDa, en la que en el extremo N-terminal de la secuencia de TRAIL121-281, el péptido ATAP procedente de la proteína Bfl1 (SEQ. No. 165) se fija como péptido efector. En la secuencia del péptido efector se ha fijado en su extremo N-terminal la secuencia de direccionamiento mitocondrial (SEQ. No. 166). Además, entre la secuencia del péptido efector y la secuencia de TRAIL se encuentra la secuencia de los sitios de escisión reconocidos por las proteasas uPA (SEQ. No. 52) y MMP (SEQ. No. 51), separada adicionalmente de la secuencia de TRAIL por el enlazador flexible de glicina-serina GGS GG (SEQ. No. 60).

La estructura de la proteína de fusión se muestra esquemáticamente en la Figura 11 y su secuencia de aminoácidos y la secuencia que codifica el ADN que comprende codones optimizados para la expresión en *E. coli* son, respectivamente, SEQ. No. 121 y SEQ. No. 150.

La secuencia de aminoácidos de la estructura descrita anteriormente se utilizó como molde para generar su secuencia de ADN codificante. Se generó un plásmido que contenía la secuencia codificante de ADN y la hiperexpresión de la proteína de fusión se llevó a cabo de conformidad con los procedimientos generales descritos anteriormente. La hiperexpresión se realizó de acuerdo con el procedimiento general A, utilizando la cepa de *E. coli* Tuner (DE3) de Novagen. La proteína se separó por electroforesis de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente.

Examen de la actividad antitumoral de las proteínas de fusión

El examen de la actividad antitumoral de las proteínas de fusión se llevó a cabo *in vitro* en un ensayo de citotoxicidad sobre líneas de células tumorales e *in vivo* en ratones. Para fines de comparación, se utilizó la proteína hTRAIL114-281 (de aquí en adelante también se denomina simplemente TRAIL).

25 1. Pruebas en las líneas celulares *in vitro*

Líneas celulares

Las células de cáncer colorrectal humano Colo205 (ATCC n° CCL-222), cáncer de pulmón de células pequeñas A549 (ATCC n° CCL-185), cáncer de páncreas BxPC3 (ATCC n° CRL-1687), cáncer de próstata DU145 (ATCC n° HTB-81) y PC3 (ATCC n° CRL-1435) y cáncer de pulmón humano de células grandes NCI-H460-Luc2 (Caliper n° 124316) se conservaron en medio RPMI 1640 (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 10% de suero de ternera fetal. Las células de cáncer de ovario humano OVCAR-3 (ATCC n° HTB-161) se conservaron en medio RPMI 1640 (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 20% de suero de ternera fetal y 0,01 mg/ml de insulina. Las células de cáncer de vejiga UM-UC-3 (ATCC n° CRL-1749), las células de cáncer de pulmón SK-MES-1 (ATCC n° HTB-58), las células de cáncer de mama MCF-7 (ATCC n° HTB-22), las células de cáncer de tejido conectivo HT1080 (ATCC n° CCL-121), las células de hepatoma HepG2 (ATCC n° HB-8065) se conservaron en medio de cultivo MEM (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 10% de suero de ternera fetal (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.). Las células tumorales de tejido conectivo HT1080 se conservaron también durante el experimento en el medio condicionado, se recogieron a partir de 2 días de cultivo normal de estas células. Las células de cáncer colorrectal humano HCT-116 (ATCC n° CCL-247) y HT-29 (HTB-38), cáncer de ovario SK-OV-3 (ATCC n° HTB-77), cáncer de útero MES-SA (ATCC n° CRL-1976) y su clon resistente a la doxorubicina MES-SA/Dx5 (ATCC n° CRL-1977) se conservaron en medio de McCoy (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 10% de suero de ternera fetal. Las células de cáncer de vejiga SW780 (ATCC n° CRL-2169), las células de cáncer de mama MDA-MB-231 (ATCC n° HTB-26) y la línea celular de carcinoma de páncreas humano de tipo epitelial PANC-1, CLS (Cell Lines Service n° 300228) se conservaron en DMEM (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 10% de suero de ternera fetal. Las células HUVEC procedentes de la vena umbilical (ATCC n° CRL-1730) se conservaron en medio M199 (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 20% de suero de ternera fetal, factores de crecimiento, 0,02 mg/ml de ECGS (Sigma), 0,1 mg/ml de heparina (Sigma), estas células se cultivaron en un medio recubierto con 0,1% de gelatina. Las células de mama MCF10A (ATCC n° CRL-10317) se conservaron en DMEM: F12 (1:1) (Sigma, EE.UU.) complementado con suero de caballo al 5%, 0,5 mg/ml de hidrocortisona, 10 µg/ml de insulina, 20 ng/ml de factor de crecimiento EGF (todos de Sigma, EE.UU.). Todos los medios se complementaron adicionalmente con L-glutamina 2 mM y antibióticos (100 U/ml de penicilina y 100 mg/ml de estreptomina (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.)). Las células se conservaron a 37°C en 5% de CO₂/aire en el caso de los medios de crecimiento RPMI, MEM, McCoy y DMEM: F12, y en 10% de CO₂/aire en el caso de DMEM. Las células se controlaron de forma rutinaria para estudiar la presencia de Mycoplasma mediante la técnica de PCR, utilizando el kit de detección con PCR de Mycoplasma Venor®GeM (Minerva Biolabs, Berlín, Alemania).

Ensayo de la citotoxicidad MTT

El ensayo de MTT es un ensayo colorimétrico utilizado para medir la proliferación celular, la viabilidad y la citotoxici-

dad. Consiste en la descomposición de una sal de tetrazolio amarilla MTT (bromuro de 4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazolio) en el colorante formazán de color púrpura insoluble en agua, mediante la enzima succinato-tetrazolio reductasa presente en las mitocondrias. La reducción de MTT se produce solo en las células vivas. El análisis de los datos consiste en determinar la concentración CI_{50} de la proteína (en ng/ml), a la que se produce una reducción del 50% del número de células en la población tratada, en comparación con las células de control. Los resultados se analizaron utilizando GraphPad Prism 5.0.

La prueba se realizó de acuerdo con las descripciones de la bibliografía (Celis, JE, (1998). Cell Biology, a Laboratory Handbook, segunda edición, Academic Press, San Diego; Yang, Y., Koh, LW, Tsai, JH., (2004); Involvement of viral and chemical factors with oral cancer in Taiwan, Jpn J Clin Oncol, 34 (4), 176-183).

El medio de cultivo celular se diluyó hasta una densidad definida ($10^4 - 10^5$ células por 100 μ l). A continuación, 100 μ l de suspensión celular diluida apropiadamente se aplicó a una placa de 96 pocillos por triplicado. Las células preparadas de este modo se incubaron durante 24 h a 37°C en 5% o 10% de CO_2 , dependiendo del medio utilizado, a continuación, a las células (en 100 μ l de medio) se añadieron adicionalmente 100 μ l del medio que contenía diversas concentraciones de proteínas sometidas a ensayo. Las células se incubaron con las proteínas sometidas a ensayo durante las siguientes 72 horas, que es equivalente a 3-4 veces de una división celular, después de lo cual el medio con la proteína del ensayo se añadió a 20 ml de solución de trabajo de MTT [5 mg/ml] y se incubó durante 3 horas a 37°C en 5% de CO_2 . Después se retiró el medio con una solución de MTT, y los cristales de formazán se disolvieron añadiendo 100 μ l de DMSO. Después de mezclar, se midió la absorbancia a 570 nm (filtro de referencia a 690 nm).

Los resultados de los ensayos de citotoxicidad *in vitro* se resumen en las Tablas 1, 1a, 1b y en la Tabla 2 como valores de CI_{50} (ng/ml), que se corresponden a una concentración de proteína con la que se observa un efecto citotóxico de las proteínas de fusión del 50%, con respecto a las células control incubadas solo con disolvente. Cada experimento representa el valor promedio de al menos dos experimentos independientes realizados por triplicado. Como criterio de falta de actividad de las preparaciones de proteínas, se adoptó el límite de CI_{50} de 2000 ng/ml. Las proteínas de fusión con un valor de CI_{50} superior a 2000 se consideraron inactivas.

Las células para este ensayo se seleccionaron de modo que incluyeran las líneas de células tumorales resistentes de forma natural a la proteína TRAIL (el criterio de resistencia natural a TRAIL: CI_{50} para la proteína TRAIL > 2000), líneas de células tumorales sensibles a la proteína TRAIL y la línea resistente a la doxorrubicina MES-SA/DX5 como una línea cancerígena resistente a medicamentos anticancerígenos convencionales.

La línea celular HUVEC indiferenciada se utilizó como línea celular sana de control para evaluar el impacto/toxicidad de las proteínas de fusión sobre células no cancerígenas.

Los resultados obtenidos confirman la posibilidad de superar la resistencia de las líneas celulares a TRAIL mediante la administración de ciertas proteínas de fusión de la invención a las células resistentes de forma natural a TRAIL. Cuando se administraban proteínas de fusión de la invención en las células sensibles a TRAIL, en algunos casos se observó una potenciación clara y fuerte de la potencia de la acción de TRAIL, que se manifestaba en una reducción de los valores de CI_{50} de la proteína de fusión, en comparación con la CI_{50} para TRAIL sola. Además, se obtuvo la actividad citotóxica de la proteína de fusión de la invención sobre células resistentes a un medicamento anticancerígeno clásico, doxorrubicina, siendo en algunos casos más fuerte que la actividad de TRAIL.

Los valores de CI_{50} superiores a 2000 obtenidos para las líneas celulares no cancerígenas, muestran la ausencia de efectos tóxicos asociados con el uso de proteínas de la invención en células sanas, lo que indica una toxicidad sistémica baja potencial de la proteína.

Tabla 1. Actividad citotóxica de las proteínas de fusión de la invención y proteínas comparativas

Proteína	Incubación continua de preparaciones con células durante 72 h (prueba MTT, ng/ml)											
	MES-SA		MES-SA/Dx5		HCT116		SK-MES-1		A549		MCF10A	
	CI_{50}	\pm DE	CI_{50}	\pm DE	CI_{50}	\pm DE	CI_{50}	\pm DE	CI_{50}	\pm DE	CI_{50}	\pm DE
TRAIL 114-281	>2000		32,2	2,40	173	31,3	12,2	2,33	>2000		>2000	
Ej. 1	6,98	1,01	7,05	0,63	39,2	11,00	2,79	0,70	>2000		386	52,5
Ej. 2	3,19	0,41	2,62	1,61	35,1	23,70	6,43	1,22	>2000		>2000	
Ej. 5	646	166,9	378	94,3	757	446,3	1114	108,2	719	91,7	912	2,4
Ej. 9	>2000		1720	312,7	>2000		791,9	95,8	>2000		>2000	
Ej. 14	8,99	8,73	0,53	0,265	7,73	5,45	0,45	0,091	>2000		>2000	
Ej. 18	312	110,6	326	56,1	937	144,6	184	30,5	>2000		>2000	

Proteína	Incubación continua de preparaciones con células durante 72 h (prueba MTT, ng/ml)											
	MES-SA		MES-SA/Dx5		HCT116		SK-MES-1		A549		MCF10A	
	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE
Ej. 19	24,9	21,2	19,9	1,98	23,9	2,31	87,6	32,4	87,2	45,8	83,1	19,33
Ej. 20	259	60,0	172	20,9	223	110,4	123	25,6	296	3,4	282	39,9
Ej. 24 (no de la invención)	>2000		1760	367,7	85,6	19,96	36,8	7,44	>2000		>2000	
Ej. 25 (no de la invención)	>2000		157	40,0	991	119,0	117,4	4,24	>2000		>2000	
Ej. 26 (no de la invención)	>2000		>2000		1895	70,0	245	19,2	>2000		>2000	

Tabla 1a. Actividad citotóxica de las proteínas de fusión de la invención

Proteína	Incubación continua de preparaciones con células durante 72 h (prueba MTT, ng/ml)											
	A549		HCT116		MCF10A		MES-SA		MES-SA/Dx5		SK-MES-1	
	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE
TRAIL 95-281	10000		7558		10000		10000		29,15	12,66	33,60	
Ej. 16	2632,50	219,91	132,65	37,69	1890,00	894,03	65,63	4,41	32,24	7,86	20,31	2632,50
Ej. 23	10000		223,55	105,29	10000		1280,00	304,06	292,50	86,97	82,46	1,48
Ej. 42	31,70	11,74	15,32	12,85	53,33	12,40	5,18	2,20	0,40	0,10	2,53	2,15
Ej. 36	142,05	32,46	5,66	2,26	79,16	3,33	2392,50	2,12	0,58	0,10	3,95	
Ej.3	3,10		9,43		4573		57,14		10,67		6,83	
Ej. 35	889,55	276,41	14,10		1273,50		57,14		1,18	0,82	3,93	0,32
Ej. 51 TRP15	307,95	72,05	1,29	1,41	4,97	1,50	0,64	0,34	0,08	0,11	0,62	

Tabla 1b. Actividad citotóxica de las proteínas de fusión de la invención

Proteína	Incubación continua de preparaciones con células durante 72 h (prueba MTT, ng/ml)									
	HT29		H460		PLC/PRF/5		HepG2		PANC1	
	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE
TRAIL 95-281	10000		9000		10000		10000		10000	
Ej. 3	108		2,852	3,10						
Ej. 35	3289,50		900,15							
Ej. 51					9,66		10,49		22,91	

5

2. Análisis de la actividad citotóxica de las preparaciones de proteínas seleccionadas frente a un grupo ampliado de líneas de células tumorales

La Tabla 2 presenta los resultados de la actividad citotóxica *in vitro* de proteínas de fusión seleccionadas de la invención, frente a un grupo ampliado de células tumorales procedentes de diferentes órganos, que se corresponden a una amplia variedad de los cánceres más comunes. Los valores de Cl₅₀ obtenidos confirman una actividad citotóxica elevada de las proteínas de fusión y por lo tanto su utilidad potencial en el tratamiento del cáncer.

10

Tabla 2. Análisis de la actividad citotóxica de preparaciones de proteínas seleccionadas frente a un amplio grupo de líneas celulares tumorales

Línea celular	Incubación continua de preparaciones con células durante 72 h (prueba MTT, ng/ml)							
	TRAIL 114-281		Ej. 1		Ej. 2		Ej. 14	
	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE	Cl ₅₀	±DE
UM-UC-3	39,05	5,70	0,44	0,44	0,55	0,21	1,72	0,97

Línea celular	Incubación continua de preparaciones con células durante 72 h (prueba MTT, ng/ml)							
	TRAIL 114-281		Ej. 1		Ej. 2		Ej. 14	
	CI ₅₀	±DE	CI ₅₀	±DE	CI ₅₀	±DE	CI ₅₀	±DE
HCT116	109,1	24,45	39,20	11	11,13	0,69	3,03	0,42
Colo205	7,32	1,46	2,26	0,30	1,06	0,06	0,47	0,09
SW780	25,53	5,10	3,86	1,39	0,99	0,15	0,18	0,03
A549	>2000		>2000		>2000		485,3	55,51
MDA-MB-231	81,18	3,78	11,66	2,06	23,80		7,89	2,81
MES-SA/ Dx5	495,6	209,19	7,20	0,84	17,58	4,7	0,68	0,12
MES-SA	>2000		6,99	1,01	3,40		1,80	0,49
OVCAR-3	447,9	4,60	1,72	0,84	1,25	0,48	1,61	0,42
SK-MES-1	10,52	5,49	3,29	0,70	5,44	0,36	0,44	0,13
BxPC-3	13,20	1,56	3,89	1,74	1,24	0,54	1,55	0,48
DU145	>2000		10,76	1,63	137,8	120,3	5,89	2,3
HUVEC	>2000		>2000		>2000		>2000	

3. La eficacia antitumoral de las proteínas de fusión *in vivo* en xenoinjertos

La actividad antitumoral de las preparaciones de proteínas se sometió a ensayo en un modelo en ratón de cáncer de colon humano Colo205, de cáncer de pulmón humano de células grandes NCI-H460-Luc2, de cáncer de pulmón humano A549 y de cáncer pancreático humano PANC-1.

Células

Las células Colo205 (ATCC nº CCL-222) se conservaron en medio RPMI 1640 (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) mezcladas en una proporción de 1:1 con Opti-MEM ((Invitrogen, Cat. 22600-134) complementado con 10% de suero de ternera fetal y glutamina 2 mM. El día en el que se realizó el injerto en los ratones, las células se separaron del soporte mediante lavado de las células con tripsina (Invitrogen), después las células se centrifugaron a 1300 rpm, 4°C, 8 min, se suspendieron en tampón HBSS (medio de Hanks), se contaron y se diluyeron hasta tener una concentración de $28,57 \times 10^6$ células/ml. Después, se añadió a las células Matrigel (BD Biosciences, Cat. 354 248) hasta tener una concentración final de 25×10^6 células/ml.

Las células H460-Luc2 se conservaron en medio RPMI 1640 (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 10% de suero de ternera fetal y glutamina 2 mM. El día en el que se realizó el injerto en los ratones, las células se separaron del soporte mediante lavado de las células con tripsina (Invitrogen), después las células se centrifugaron a 1300 rpm, 4°C, 8 min, se suspendieron en tampón HBSS (medio de Hanks), se contaron y se diluyeron hasta tener una concentración de 50×10^6 células/ml.

Las células A549 se conservaron en medio RPMI 1640 (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 10% de suero de ternera fetal y glutamina 2 mM. El día en el que se realizó el injerto en los ratones, las células se separaron del soporte mediante lavado de las células con tripsina (Invitrogen), después las células se centrifugaron a 1300 rpm, 4°C, 8 min, se suspendieron en tampón HBSS (medio de Hanks).

Las células de cáncer de páncreas humano PANC-1 se conservaron en medio DMEM (Hyclone, Logan, UT, EE.UU.) complementado con 10% de suero de ternera fetal y glutamina 2 mM. El día en el que se realizó el injerto en los ratones, las células se separaron del soporte mediante lavado de las células con tripsina (Invitrogen), después las células se centrifugaron a 1300 rpm, 4°C, 8 min, se suspendieron en tampón HBSS (medio de Hanks).

Ratones

El examen de la actividad antitumoral de las proteínas de la invención se llevó a cabo en ratones NOD SCID de 7-9 semanas de edad, obtenidos a partir de Harlan UK Ltd., Shaws Farm, Bicester, Reino Unido. En el caso de las células A549, NCI-H460-Luc2 y PANC-1, el examen de la actividad antitumoral de las proteínas de la invención se llevó a cabo en ratones CrI:SHO-Prkdc^{scid}Hr^{hr} de 4-5 semanas de edad, obtenidos a partir de Charles River Alemania. Los ratones se mantuvieron en condiciones específicas, exentas de agentes patógenos, con acceso libre a comida y agua desmineralizada (*ad libitum*). Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con las directivas: "Interdisciplinary Principles and Guidelines for the Use of Animals in Research, Marketing and Education" publicadas por la Academia de Ciencias de Nueva York, Comité Especial encargado de Investigación en Animales y fueron aprobados por el Comité de Ética Local IV sobre Experimentación Animal en Varsovia (nº 71/2009).

El curso y la evaluación del experimento

5 El día 0 se inyectó en los ratones por ruta subcutánea (sc) en el lado derecho, 5×10^6 células Colo205 suspendidas en 0,15 ml de tampón HBSS y 0,05 ml de Matrigel, por medio de una jeringa con una aguja de 0,5 x 25 mm (Bogmark). Cuando los tumores alcanzaron el tamaño de ~ 90 - 140 mm^3 (día 11), los ratones se distribuyeron al azar hasta obtener el tamaño promedio de los tumores en el grupo de $\sim 115 \text{ mm}^3$ y fueron asignados a grupos de tratamiento. A los grupos de tratamiento se administraron las preparaciones de proteínas de fusión de la invención y TRAIL114-281 como comparación. Las preparaciones se administraron por ruta intraperitoneal (ip) diariamente durante diez días (qdx10), los días 11-20. Cuando un grupo terapéutico alcanzaba el tamaño promedio de tumor de $\sim 2000 \text{ mm}^3$, los ratones fueron sacrificados mediante lesión de la médula espinal. El grupo control recibió TRAIL114-281.

10 En el caso de H460, el día 0 se inyectó a los ratones por ruta subcutánea (sc) en el lado derecho, 5×10^6 de células NCI-H460-Luc2 suspendidas en 0,1 ml de tampón HBSS, por medio de una jeringa con una aguja de 0,5 x25 mm (Bogmark). Cuando los tumores alcanzaron el tamaño de ~ 100 - 120 mm^3 (día 11), los ratones se distribuyeron al azar y se asignaron a grupos de tratamiento. A los grupos de tratamiento se administraron las preparaciones de proteínas de fusión de la invención y TRAIL114-281 como comparación. Las preparaciones se administraron por ruta intravenosa (iv) 6 veces al día, cada dos días. El día 29 del experimento, los ratones fueron sacrificados mediante lesión de la médula espinal. El grupo control recibió TRAIL114-281.

20 En el caso de A549, el día 0 se inyectó a los ratones por ruta subcutánea (sc) en el lado derecho, 7×10^6 células A549, suspendidas en 0,1 ml de la mezcla de tampón HBSS: Matrigel en una relación de 3:1, por medio de una jeringa con una aguja de 0,5 x25 mm (Bogmark). Cuando los tumores alcanzaron el tamaño de ~ 100 - 120 mm^3 (día 17), los ratones se distribuyeron al azar y se asignaron a grupos de tratamiento. A los grupos de tratamiento se administraron las preparaciones de proteínas de fusión de la invención y TRAIL114-281 como comparación. Las preparaciones se administraron por ruta intravenosa (iv) 6 veces una vez al día, cada dos días. El día 34 del experimento, los ratones fueron sacrificados mediante una lesión de la médula espinal. El grupo control recibió TRAIL114-281.

25 En el caso de PANC-1, el día 0 se inyectó a los ratones por ruta subcutánea (sc) en el lado derecho, 7×10^6 células PANC-1 suspendidas en 0,1 ml de la mezcla de tampón HBSS: Matrigel en una relación de 3:1, por medio de una jeringa con una aguja de 0,5 x25 mm (Bogmark). Cuando los tumores alcanzaron el tamaño de $\sim 95 \text{ mm}^3$ (día 27), los ratones se distribuyeron al azar y se asignaron a grupos de tratamiento. A los grupos de tratamiento se administraron las preparaciones de proteínas de fusión de la invención y TRAIL114-281 como comparación. Las preparaciones se administraron por ruta intravenosa (iv) 6 veces, una vez al día, cada dos días. El día 43 del experimento, los ratones fueron sacrificados mediante una lesión de la médula espinal. El grupo control recibió TRAIL114-281.

30 El tamaño del tumor se midió utilizando un calibrador electrónico, el volumen del tumor se calculó utilizando la fórmula: $(a^2 \times b)/2$, en donde a = diagonal más corta del tumor (mm) y b = diagonal más larga del tumor (mm). La inhibición del crecimiento tumoral se calculó utilizando la fórmula:

$$\text{TGI [\%]} (\text{inhibición del crecimiento tumoral}) = (\text{WT}/\text{WC}) \times 100 - 100\%$$

35 en donde WT se refiere al volumen tumoral promedio en el grupo de tratamiento, WC se refiere al volumen tumoral promedio en el grupo de control.

Los resultados experimentales se presentan como un valor medio \pm desviación estándar (DE). Todos los cálculos y las gráficas se prepararon utilizando el programa GraphPad Prism 5.0.

40 Los resultados experimentales se muestran en la Fig. 12 y 13 como un diagrama de los cambios de volumen del tumor en ratones SCID/NOD con cáncer de colon Colo205, tratados con proteínas de fusión de la invención y comparativamente con TRAIL114-281. Los resultados de los experimentos presentados en las gráficas en las Figuras 12 y 13 muestran que la administración de las proteínas de fusión de la invención del Ejemplo 1 y el Ejemplo 14, causó la inhibición del crecimiento del tumor Colo205, con una TGI respectivamente del 39% y 32% con respecto al control, el día 29 del experimento. Para TRAIL114-281 utilizada como preparación de referencia, se obtuvo un ligero efecto inhibidor sobre el crecimiento de las células tumorales, en relación con el control, con una TGI del 9%. Por tanto, las proteínas de fusión de la invención ejercen un efecto mucho más fuerte que en comparación con TRAIL.

Las proteínas de fusión sometidas a ensayo no causaron efectos secundarios significativos, manifestados por una disminución del peso corporal de los ratones (es decir, menos del 10% del peso corporal inicial). Esto muestra una baja toxicidad sistémica de la proteína.

50 Los resultados experimentales presentados en las Fig. 14 y 15 muestran un diagrama de los cambios del volumen del tumor en ratones CrI:SHO-PrkdcscidHrhr con cáncer de pulmón humano de células grandes causado por NCI-H460, tratado con proteínas de fusión de la invención y comparativamente con TRAIL114-281. Se puede observar que mediante la administración de las proteínas de fusión de la invención del Ejemplo 14 y el Ejemplo 2, se obtuvo una inhibición del crecimiento del tumor NCI-H460, con una TGI respectivamente del 82% y 81% con respecto al control el día 29 del experimento. Para TRAIL114-281 utilizada como preparación de referencia, se obtuvo un ligero efecto inhibidor sobre el crecimiento de las células tumorales en relación con el control, con una TGI del 75%. Por lo tanto, las proteínas de fusión de la invención ejercen un efecto mucho más fuerte contra estas células cancerígenas

que en comparación con TRAIL.

Las proteínas de fusión sometidas a ensayo no causaron efectos secundarios significativos, manifestados por una disminución en el peso corporal de los ratones (es decir, menos del 10% del peso corporal inicial). Esto muestra una baja toxicidad sistémica de la proteína.

5 Los resultados experimentales presentados en las Fig. 16 y 17 muestran un diagrama de los cambios del volumen del tumor en ratones Cri:SHO-Prkdc^{scid}Hr^{hr} con cáncer de pulmón humano causado por A549, tratado con proteínas de fusión de la invención y comparativamente con TRAIL114-281. Se puede observar que mediante la administración de las proteínas de fusión de la invención del Ejemplo 14 y del Ejemplo 2, se obtuvo una inhibición del crecimiento del tumor A549, con una TGI respectivamente del 48% y 45,5% con respecto al control, el día 29 del experimento. Para TRAIL114-281, utilizada como preparación de referencia, se obtuvo un ligero efecto inhibidor sobre el crecimiento de las células tumorales en relación con el control, con una TGI del 20,7%. Por lo tanto, las proteínas de fusión de la invención ejercen un efecto mucho más fuerte que en comparación con TRAIL.

15 Los resultados experimentales presentados en las Fig. 18 y 19 muestran un diagrama de los cambios del volumen tumoral en ratones Cri:SHO-PrkdcscidHrhr con carcinoma pancreático humano causado por PANC-1, células de tipo epitelial, tratado con proteínas de fusión de la invención y comparativamente con TRAIL114-281. Se puede observar que mediante la administración de las proteínas de fusión de la invención del Ejemplo 14 y el Ejemplo 2, se obtuvo una inhibición del crecimiento del tumor PANC-1, con una TGI respectivamente del 41,5% y del 49,8%, con respecto al control el día 43 del experimento. Para TRAIL114-281 utilizada como preparación de referencia, se obtuvo un ligero efecto inhibidor sobre el crecimiento de las células tumorales, en relación con el control, con una TGI del 32%. Por lo tanto, las proteínas de fusión de la invención ejercen un efecto mucho más fuerte que en comparación con TRAIL.

Las proteínas de fusión sometidas a ensayo no causaron efectos secundarios significativos manifestados por una disminución del peso corporal de los ratones (es decir, menos del 10% del peso corporal inicial). Esto muestra una baja toxicidad sistémica de la proteína.

25 Dicroísmo circular - determinación de estructuras secundarias contenidas en las preparaciones de proteínas de fusión de la invención

La calidad de la estructura de las preparaciones de proteínas de fusión, en términos de su estructura, se determinó mediante análisis de las estructuras secundarias utilizando dicroísmo circular (DC). El método de DC utiliza la actividad óptica de las estructuras de las proteínas, que se manifiesta en la rotación del plano de polarización de la luz y la aparición de polarización elíptica. El espectro DC de las proteínas en ultravioleta lejano (UV) proporciona datos precisos sobre la conformación de la cadena polipeptídica principal.

35 Muestras de la proteína preparadas en los Ej. 1, Ej. 2, Ej. 14, Ej. 24, Ej. 51 y Ej. 42 después de que se formularan en un tampón que consistía en Tris-HCl 50 mM pH 8,0, NaCl 100 mM, 10% de glicerol, ZnCl₂ 0,1 mM, sacarosa 80 mM, DTT 5 mM, se dializaron en bolsas de diálisis (Sigma-Aldrich) con un valor de corte de 12 kDa. La diálisis se realizó mientras que se agitaba, frente a un exceso de 100 veces (v/v) de tampón, en comparación con las preparaciones de proteína, durante varias horas a 4°C. Después de completar la diálisis, cada preparación se centrifugó (25.000 rpm, 10 min, 4°C) y se recogió el material sobrenadante adecuado. La concentración de proteína en las muestras obtenidas de este modo se determinó por el método de Bradford.

40 La medición del dicroísmo circular en proteínas en el intervalo de concentración de 0,1-2,7 mg/ml se realizó con un espectropolarímetro Jasco J-710, en una cubeta de cuarzo con una vía óptica de 0,2 mm o 1 mm. La medición se realizó bajo un flujo de nitrógeno de 7 l/min, lo que permitió realizar la medición en el intervalo de longitud de onda de 195-250 nm.

Parámetros de la medición: resolución espectral de - 1 nm; media anchura del haz de luz 1 nm; sensibilidad 20 mdeg, el tiempo promedio para una longitud de onda - 8 s, velocidad de exploración 10 nm/min.

45 Los resultados se presentaron como el promedio de tres mediciones. Los espectros de dicroísmo circular de proteínas de acuerdo con los Ej. 1, Ej. 2, Ej. 14, Ej. 24, Ej. 51 y Ej. 42 se presentan en la Fig. 20.

50 Los espectros obtenidos se analizaron numéricamente en el intervalo de 193-250 nm, utilizando un paquete CDPro. Los puntos en los que la tensión en el fotomultiplicador superaba los 700 V, fueron omitidos, debido a la muy baja relación entre señal y ruido en este intervalo de longitud de onda. Los datos obtenidos sirvieron para el cálculo de determinadas estructuras secundarias contenidas en las proteínas analizadas con el uso del paquete de programas CDPro (Tabla 4).

Tabla 4. Contenido en estructuras secundarias en las proteínas analizadas

Proteína	NRMDE (Exp-Cal)	hélice α (%)	lámina β (%)	Desplazamiento (%)	Trastorno (%)
Ej. 24	0,720	4,1%	46,7%	26,4%	22,8%
Ej. 42	0,100	18,4%	28,7%	22,0%	30,8%

Proteína	NRMDE (Exp-Cal)	hélice α (%)	lámina β (%)	Desplazamiento (%)	Trastorno (%)
Ej. 1	0,105	20,3%	27,4%	22,9%	29,3%
Ej. 2	0,035	14,8%	32,2%	21,3%	31,6%
Ej. 51	0,302	4,5%	38,6%	22,5%	34,4%
Ej. 14	0,220	3,5%	39,0%	21,1%	36,3%
hrTRAIL*		1,94%	50,97%	7,74%	39,35%
hrTRAIL114-281	0,389	4,9%	33,7%	23,1%	38,3%

* valor obtenido basándose en la estructura cristalina 1 D4V

Los controles (rhTRAIL114-281) muestran un espectro DC característico para las proteínas con estructuras predominantemente de tipo lámina β (elipticidad mínima claramente delineada con una longitud de onda de 220 nm). Esto confirma el cálculo de los componentes de la estructura secundaria, lo que sugiere un número marginal de elementos de hélice α . El resultado obtenido es también coherente con los datos procedentes de la estructura cristalina de la proteína TRAIL, en donde los elementos beta constituyen más de la mitad de su composición. En el caso de proteínas híbridas del Ej. 1 y Ej. 42, los espectros de dicroísmo se caracterizan por dos mínimos en las longitudes de onda 208 y 220 nm, lo que es característico de proteínas con estructura secundaria mixta de tipo alfa/beta. Esto se debe probablemente a la fijación de un dominio (por ejemplo, BH3 de Bax) a TRAIL, que forma las estructuras alfa helicoidales, de modo que la naturaleza mixta de las estructuras secundarias en las proteínas quiméricas analizadas puede confirmar su presencia (para el Ej. 42 es menos claro debido a la mala calidad del espectro).

Para las preparaciones del Ej. 2, Ej. 51, Ej. 14 y Ej. 24, así como para la proteína TRAIL, se encontró un contenido significativo en estructuras de tipo beta. Esto se debe probablemente al hecho de que los péptidos cortos fijados tienen inicialmente la estructura beta o no están estructurados y, por lo tanto, no afectan significativamente a su composición. En el caso de la proteína del Ej. 2, también se observó un ligero aumento en el contenido de estructuras alfa. De manera similar a la proteína del Ej. 1, esto puede ser debido a la presencia de un dominio BH3, que crea formas similares o debido al intervalo estrecho de longitudes de onda (una cantidad elevada de ruido en el UV lejano, excluye las lecturas). La falta de un intervalo claramente delineado de 180-200 nm en la región analizada del espectro, puede causar un exceso de contenido en estructuras de α -hélice.

20

LISTA DE SECUENCIAS

5 <110> Adamed Sp. z o.o.
Pieńków 149, 05-152 Czosnów
Poland
Pieczykolan, Jerzy Szczepan
Pawlak, Sebastian Dominik
Terek, Bart³omiej Maciej
Lemke, Krzysztof Kazimierz

<120> Proteína de fusión anticancerígena

10 <130> P069/02/PCT

<150> PL391627
<151> 2010-06-25

<160> 184

<170> PatentIn versión 3.5

15 <210> 1
<211> 194
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> artificial

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

ES 2 531 288 T3

130

135

140

Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile
145 150 155 160

Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu
165 170 175

His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu
180 185 190

Val Gly

<210> 2

<211> 193

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

<400> 2

Arg Asn Ile Ala Arg His Leu Ala Gln Val Gly Asp Ser Met Asp Arg
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly
20 25 30

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
35 40 45

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
50 55 60

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
65 70 75 80

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
85 90 95

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
100 105 110

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
115 120 125

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
130 135 140

5

10

ES 2 531 288 T3

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
145 150 155 160

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
165 170 175

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
180 185 190

Gly

<210> 3

<211> 303

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

<400> 3

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
145 150 155 160

5

10

ES 2 531 288 T3

Gly Gly Gly Ser Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val Arg Lys
 165 170 175

Glu Thr Ala Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ser Thr
 180 185 190

Ser Ala Ala Ser Ser Ser Asn Tyr Cys Asn Gln Met Met Lys Ser Arg
 195 200 205

Asn Leu Thr Lys Asp Arg Cys Lys Pro Val Asn Thr Phe Val His Glu
 210 215 220

Ser Leu Ala Asp Val Gln Ala Val Cys Ser Gln Lys Asn Val Ala Cys
 225 230 235 240

Lys Asn Gly Gln Thr Asn Cys Tyr Gln Ser Tyr Ser Thr Met Ser Ile
 245 250 255

Thr Asp Cys Arg Glu Thr Gly Ser Ser Lys Tyr Pro Asn Cys Ala Tyr
 260 265 270

Lys Thr Thr Gln Ala Asn Lys His Ile Ile Val Ala Cys Glu Gly Asn
 275 280 285

Pro Tyr Val Pro Val His Phe Asp Ala Ser Val Lys Glu Asp Leu
 290 295 300

<210> 4
 <211> 293
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

<400> 4
 Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

5

10

ES 2 531 288 T3

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Lys Glu Thr Ala Ala Ala Lys
165 170 175

Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ser Thr Ser Ala Ala Ser Ser Ser
180 185 190

Asn Tyr Cys Asn Gln Met Met Lys Ser Arg Asn Leu Thr Lys Asp Arg
195 200 205

Cys Lys Pro Val Asn Thr Phe Val His Glu Ser Leu Ala Asp Val Gln
210 215 220

Ala Val Cys Ser Gln Lys Asn Val Ala Cys Lys Asn Gly Gln Thr Asn
225 230 235 240

Cys Tyr Gln Ser Tyr Ser Thr Met Ser Ile Thr Asp Cys Arg Glu Thr
245 250 255

Gly Ser Ser Lys Tyr Pro Asn Cys Ala Tyr Lys Thr Thr Gln Ala Asn
260 265 270

Lys His Ile Ile Val Ala Cys Glu Gly Asn Pro Tyr Val Pro Val His
275 280 285

Phe Asp Ala Ser Val
290

<210> 5
<211> 283
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 5

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val Arg Gly
 165 170 175

Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Ile Met Lys Cys Ser Gln Cys
 180 185 190

His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu His
 195 200 205

Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Tyr Ser Tyr Thr
 210 215 220

Ala Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Ile Trp Gly Glu Asp Thr Leu Met
 225 230 235 240

Glu Tyr Leu Glu Asn Pro Lys Lys Tyr Ile Pro Gly Thr Lys Met Ile
 245 250 255

Phe Val Gly Ile Lys Lys Lys Glu Glu Arg Ala Asp Leu Ile Ala Tyr
 260 265 270

Leu Lys Lys Ala Thr Asn Glu Lys Glu Asp Leu
 275 280

5

<210> 6
 <211> 407

ES 2 531 288 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

5

<406> 6

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Arg Lys Lys Arg Ala Ser Gly Gly Pro Glu Gly
 165 170 175

Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu

ES 2 531 288 T3

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

<210> 7
 <211> 409
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 7

Ile Ile Gly Gly His Val Ala Lys Pro His Ser Arg Pro Tyr Met Ala
 1 5 10 15

Tyr Leu Met Ile Trp Asp Gln Lys Ser Leu Lys Arg Cys Gly Gly Phe
 20 25 30

Leu Ile Arg Asp Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His Cys Trp Gly Ser
 35 40 45

Ser Ile Asn Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Lys Glu Gln Glu Pro
 50 55 60

Thr Gln Gln Phe Ile Pro Val Lys Arg Ala Ile Pro His Pro Ala Tyr
 65 70 75 80

Asn Pro Lys Asn Phe Ser Asn Asp Ile Met Leu Leu Gln Leu Glu Arg
 85 90 95

Lys Ala Lys Arg Thr Arg Ala Val Gln Pro Leu Arg Leu Pro Ser Asn
 100 105 110

Lys Ala Gln Val Lys Pro Gly Gln Thr Cys Ser Val Ala Gly Trp Gly
 115 120 125

Gln Thr Ala Pro Leu Gly Lys His Ser His Thr Leu Gln Glu Val Lys
 130 135 140

Met Thr Val Gln Glu Asp Arg Lys Cys Glu Ser Asp Leu Arg His Tyr
 145 150 155 160

Tyr Asp Ser Thr Ile Glu Leu Cys Val Gly Asp Pro Glu Ile Lys Lys
 165 170 175

Thr Ser Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Lys Val
 180 185 190

Ala Gln Gly Ile Val Ser Tyr Gly Arg Asn Asn Gly Met Pro Pro Arg
 195 200 205

Ala Cys Thr Lys Val Ser Ser Phe Val His Trp Ile Lys Lys Thr Met
 210 215 220

Lys Arg Tyr Gly Gly Gly Gly Ser Arg Lys Lys Arg Gly Gly Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly

ES 2 531 288 T3

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

ES 2 531 288 T3

305		310		315		320									
Val	Gln	Glu	Asp	Arg	Lys	Cys	Glu	Ser	Asp	Leu	Arg	His	Tyr	Tyr	Asp
				325					330					335	
Ser	Thr	Ile	Glu	Leu	Cys	Val	Gly	Asp	Pro	Glu	Ile	Lys	Lys	Thr	Ser
			340					345					350		
Phe	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Val	Cys	Asn	Lys	Val	Ala	Gln
		355					360					365			
Gly	Ile	Val	Ser	Tyr	Gly	Arg	Asn	Asn	Gly	Met	Pro	Pro	Arg	Ala	Cys
	370					375					380				
Thr	Lys	Val	Ser	Ser	Phe	Val	His	Trp	Ile	Lys	Lys	Thr	Met	Lys	Arg
385					390					395					400
Tyr	Lys	Asp	Glu	Leu											
				405											

<210> 9
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 9

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

ES 2 531 288 T3

Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu
 115 120 125

Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly
 130 135 140

Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp
 145 150 155 160

Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His
 165 170 175

Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 180 185

<210> 10
 <211> 193
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 10
 Gly Gln Val Gly Arg Gln Leu Ala Ile Ile Gly Asp Asp Ile Asn Arg
 1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly
 20 25 30

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 35 40 45

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 50 55 60

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 65 70 75 80

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 85 90 95

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 100 105 110

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 115 120 125

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 130 135 140

10

ES 2 531 288 T3

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
145 150 155 160

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
165 170 175

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
180 185 190

Gly

<210> 11

<211> 204

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

<400> 11

Glu Glu Gln Trp Ala Arg Glu Ile Gly Ala Gln Leu Arg Arg Met Ala
1 5 10 15

Asp Asp Leu Asn Ala Gln Tyr Glu Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
20 25 30

Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Ala Ala His
35 40 45

Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser
50 55 60

Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser
65 70 75 80

Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu
85 90 95

Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr
100 105 110

Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln
115 120 125

Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu
130 135 140

Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr
145 150 155 160

5

10

ES 2 531 288 T3

Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn
 165 170 175

Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp
 180 185 190

His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 195 200

<210> 12
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 12
 Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

10

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val Arg

ES 2 531 288 T3

165 170 175

Ala Arg Ala Arg Gln Glu Gly Ser Ser Pro Glu Pro Val Glu Gly Leu
180 185 190

Ala Arg Asp Gly Pro Arg Pro Phe Pro Leu Gly Arg Leu Val Pro Ser
195 200 205

Ala Val Ser Cys Gly Leu Cys Glu Pro Gly Leu Ala Ala Ala Pro Ala
210 215 220

Ala Pro Thr Leu Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Cys Ala Pro Thr Ala Pro
225 230 235 240

Pro Ala Val Thr Ala Ala Leu Gly Gly Ser Arg Trp Pro Gly Gly Pro
245 250 255

Arg Ser Arg Pro Arg Gly Pro Arg Pro Asp Gly Pro Gln Pro Ser Leu
260 265 270

Ser Leu Ala Glu Gln His Leu Glu Ser Pro Val Pro Ser Ala Pro Gly
275 280 285

Ala Leu Ala Gly Gly Pro Thr Gln Ala Ala Pro Gly Val Arg Gly Glu
290 295 300

Glu Glu Gln Trp Ala Arg Glu Ile Gly Ala Gln Leu Arg Arg Met Ala
305 310 315 320

Asp Asp Leu Asn Ala Gln Tyr Glu Arg Arg Arg Gln Glu Glu Gln Gln
325 330 335

Arg His Arg Pro Ser Pro Trp Arg Val Leu Tyr Asn Leu Ile Met Gly
340 345 350

Leu Leu Pro Leu Pro Arg Gly His Arg Ala Pro Glu Met Glu Pro Asn
355 360 365

Lys Glu Asp Leu
370

<210> 13
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 13

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Arg Lys Lys Arg Ala Ser Gly Gly Pro Glu Gly
 165 170 175

Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu
 180 185 190

Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu
 195 200 205

Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala
 210 215 220

Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Ala Asn Ala Leu Ala
 225 230 235 240

Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Ser Pro
 245 250 255

Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg

ES 2 531 288 T3

260 265 270

Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Gly
 275 280 285

Pro Ala Asp Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Arg Ala Arg Gln Glu Gly
 290 295 300

Ser Ser Pro Glu Pro Val Glu Gly Leu Ala Arg Asp Gly Pro Arg Pro
 305 310 315 320

Phe Pro Leu Gly Arg Leu Val Pro Ser Ala Val Ser Cys Gly Leu Cys
 325 330 335

Glu Pro Gly Leu Ala Ala Ala Pro Ala Ala Pro Thr Leu Leu Pro Ala
 340 345 350

Ala Tyr Leu Cys Ala Pro Thr Ala Pro Pro Ala Val Thr Ala Ala Leu
 355 360 365

Gly Gly Ser Arg Trp Pro Gly Gly Pro Arg Ser Arg Pro Arg Gly Pro
 370 375 380

Arg Pro Asp Gly Pro Gln Pro Ser Leu Ser Leu Ala Glu Gln His Leu
 385 390 395 400

Glu Ser Pro Val Pro Ser Ala Pro Gly Ala Leu Ala Gly Gly Pro Thr
 405 410 415

Gln Ala Ala Pro Gly Val Arg Gly Glu Glu Glu Gln Trp Ala Arg Glu
 420 425 430

Ile Gly Ala Gln Leu Arg Arg Met Ala Asp Asp Leu Asn Ala Gln Tyr
 435 440 445

Glu Arg Arg Arg Gln Glu Glu Gln Gln Arg His Arg Pro Ser Pro Trp
 450 455 460

Arg Val Leu Tyr Asn Leu Ile Met Gly Leu Leu Pro Leu Pro Arg Gly
 465 470 475 480

His Arg Ala Pro Glu Met Glu Pro Asn Lys Asp Glu Leu
 485 490

<210> 14
 <211> 186
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 14

Ala Val Pro Ile Ala Gln Lys Pro Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

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

Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn
35 40 45

Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser
50 55 60

Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val
65 70 75 80

Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg
85 90 95

Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val
100 105 110

Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met
115 120 125

Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu
130 135 140

Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg
145 150 155 160

Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu
165 170 175

Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
180 185

<210> 15

<211> 191

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

<400> 15

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

5

10

ES 2 531 288 T3

Arg Arg Leu Leu Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val
 20 25 30

Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser
 35 40 45

Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp
 50 55 60

Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg
 65 70 75 80

Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser
 85 90 95

Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn
 100 105 110

Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp
 115 120 125

Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp
 130 135 140

Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu
 145 150 155 160

Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile
 165 170 175

Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 180 185 190

<210> 16
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 16
 Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

10

ES 2 531 288 T3

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val Arg Gln
165 170 175

Asp Trp Leu Thr Phe Gln Lys Lys His Ile Thr Asn Thr Arg Asp Val
180 185 190

Asp Cys Asp Asn Ile Met Ser Thr Asn Leu Phe His Cys Lys Asp Lys
195 200 205

Asn Thr Phe Ile Tyr Ser Arg Pro Glu Pro Val Lys Ala Ile Cys Lys
210 215 220

Gly Ile Ile Ala Ser Lys Asn Val Leu Thr Thr Ser Glu Phe Tyr Leu
225 230 235 240

Ser Asp Cys Asn Val Thr Ser Arg Pro Cys Lys Tyr Lys Leu Lys Lys
245 250 255

Ser Thr Asn Lys Phe Cys Val Thr Cys Glu Asn Gln Ala Pro Val His
260 265 270

Phe Val Gly Val Gly Ser Cys
275

<210> 17
<211> 274
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 17

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Trp Leu Thr Phe
 165 170 175

Gln Lys Lys His Ile Thr Asn Thr Arg Asp Val Asp Cys Asp Asn Ile
 180 185 190

Met Ser Thr Asn Leu Phe His Cys Lys Asp Lys Asn Thr Phe Ile Tyr
 195 200 205

Ser Arg Pro Glu Pro Val Lys Ala Ile Cys Lys Gly Ile Ile Ala Ser
 210 215 220

Lys Asn Val Leu Thr Thr Ser Glu Phe Tyr Leu Ser Asp Cys Asn Val
 225 230 235 240

Thr Ser Arg Pro Cys Lys Tyr Lys Leu Lys Lys Ser Thr Asn Lys Phe
 245 250 255

Cys Val Thr Cys Glu Asn Gln Ala Pro Val His Phe Val Gly Val Gly
 260 265 270

Ser Cys

ES 2 531 288 T3

<210> 18
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 18
 Val Arg Arg Phe Leu Val Thr Leu Arg Ile Arg Arg Ala Cys Gly Pro
 1 5 10 15
 Pro Arg Val Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu
 20 25 30
 Gly Leu Ala Gly Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg
 35 40 45
 Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly
 50 55 60
 Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu
 65 70 75 80
 Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly
 85 90 95
 Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile
 100 105 110
 Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys
 115 120 125
 Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn
 130 135 140
 Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln
 145 150 155 160
 Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val
 165 170 175
 Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly
 180 185 190
 Ala Phe Leu Val Gly
 195

10

<210> 19
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 19

Pro Arg Phe Met Asp Thr Trp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Arg Arg Arg
 1 5 10 15

Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Ala Ala
 20 25 30

His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn
 35 40 45

Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser
 50 55 60

Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly
 65 70 75 80

Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr
 85 90 95

Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys
 100 105 110

Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile
 115 120 125

Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu
 130 135 140

Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu
 145 150 155 160

Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met
 165 170 175

Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 180 185

5

<210> 20
 <211> 195
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 20

Cys Glu Lys His Ile Met Glu Lys Ile Gln Gly Arg Gly Asp Asp Asp
 1 5 10 15

Asp Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu
 20 25 30

Ala Gly Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn
 35 40 45

Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys
 50 55 60

Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn
 65 70 75 80

Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr
 85 90 95

Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu
 100 105 110

Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr
 115 120 125

Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys
 130 135 140

Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly
 145 150 155 160

Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn
 165 170 175

Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe
 180 185 190

Leu Val Gly
 195

<210> 21

<211> 218

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

5

ES 2 531 288 T3

<400> 21

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

<210> 22

<211> 199

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 22

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly
 165 170 175

Gly Ala Gly Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Ala Gly Arg
 180 185 190

Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 195

<210> 23

<211> 289

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

5

ES 2 531 288 T3

<400> 23

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Lys Lys Arg Met Thr Ile Ser Gln
 165 170 175

Gln Glu Phe Gly Arg Thr Gly Leu Pro Asp Leu Ser Ser Met Thr Glu
 180 185 190

Glu Glu Gln Ile Ala Tyr Ala Met Gln Met Ser Leu Gln Gly Ala Glu
 195 200 205

Phe Gly Gln Ala Glu Ser Ala Asp Ile Asp Ala Ser Ser Ala Met Asp
 210 215 220

ES 2 531 288 T3

Thr Ser Glu Pro Ala Lys Glu Glu Asp Asp Tyr Asp Val Met Gln Asp
225 230 235 240

Pro Glu Phe Leu Gln Ser Val Leu Glu Asn Leu Pro Gly Val Asp Pro
245 250 255

Asn Asn Glu Ala Ile Arg Asn Ala Met Gly Ser Leu Ala Ser Gln Ala
260 265 270

Thr Lys Asp Gly Lys Lys Asp Lys Lys Glu Glu Asp Lys Lys Glu Asp
275 280 285

Leu

<210> 24

<211> 183

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> artificial

<400> 24

Val Ala Asn Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Arg Val Val Arg Pro Leu
1 5 10 15

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

Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala
35 40 45

Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser
50 55 60

Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu
65 70 75 80

Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu
85 90 95

Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile
100 105 110

Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala
115 120 125

Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile
130 135 140

5

10

ES 2 531 288 T3

Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val
145 150 155 160

Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe
165 170 175

Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
180

<210> 25
<211> 179
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> artificial

<400> 25
Leu Ala Asn Gly Val Glu Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly
1 5 10 15

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

Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys
35 40 45

Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn
50 55 60

Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr
65 70 75 80

Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu
85 90 95

Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr
100 105 110

Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys
115 120 125

Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly
130 135 140

Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn
145 150 155 160

Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe
165 170 175

10

Leu Val Gly

<210> 26
<211> 180

ES 2 531 288 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

5

<400> 26

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

<210> 27
 <211> 168
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<300>
 <308> P50591
 <309> 1996-10-01
 <313> (114)..(281)

ES 2 531 288 T3

<400> 27

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

<210> 28

<211> 163

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>

<308> P50591

<309> 1996-10-01

<313> (119)..(281)

5

10

ES 2 531 288 T3

<400> 28

Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn
1 5 10 15

Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys
20 25 30

Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn
35 40 45

Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr
50 55 60

Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu
65 70 75 80

Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr
85 90 95

Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys
100 105 110

Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly
115 120 125

Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn
130 135 140

Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe
145 150 155 160

Leu Val Gly

<210> 29

<211> 161

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>

<308> P50591

<309> 1996-10-01

10 <313> (121)..(281)

<400> 29

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
20 25 30

ES 2 531 288 T3

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly

5

<210> 30
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<300>
 <308> GenBank/ AAF71267.1
 <309> 2000-05-21
 <313> (57)..(72)

15

<400> 30
 Lys Lys Leu Ser Glu Cys Leu Lys Arg Ile Gly Asp Glu Leu Asp Ser
 1 5 10 15

<210> 31
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<300>
 <308> GenBank/ AAH22072.2
 <309> 2005-07-21
 <313> (141)..(155)

<400> 31
 Arg Asn Ile Ala Arg His Leu Ala Gln Val Gly Asp Ser Met Asp
 1 5 10 15

<210> 32
 <211> 124

ES 2 531 288 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<300>
<308> GenBank/ AAA72757.1
<309> 1993-08-30
<313> (33)..(156)

5

<400> 32
 Lys Glu Thr Ala Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ser
 1 5 10 15
 Thr Ser Ala Ala Ser Ser Ser Asn Tyr Cys Asn Gln Met Met Lys Ser
 20 25 30
 Arg Asn Leu Thr Lys Asp Arg Cys Lys Pro Val Asn Thr Phe Val His
 35 40 45
 Glu Ser Leu Ala Asp Val Gln Ala Val Cys Ser Gln Lys Asn Val Ala
 50 55 60
 Cys Lys Asn Gly Gln Thr Asn Cys Tyr Gln Ser Tyr Ser Thr Met Ser
 65 70 75 80
 Ile Thr Asp Cys Arg Glu Thr Gly Ser Ser Lys Tyr Pro Asn Cys Ala
 85 90 95
 Tyr Lys Thr Thr Gln Ala Asn Lys His Ile Ile Val Ala Cys Glu Gly
 100 105 110
 Asn Pro Tyr Val Pro Val His Phe Asp Ala Ser Val
 115 120

10

<210> 33
<211> 104
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15

<300>
<308> GenBank/ AAH67222.1
<309> 2006-07-15
<313> (2)..(105)

<400> 33
 Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Ile Met Lys Cys Ser Gln
 1 5 10 15
 Cys His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu

ES 2 531 288 T3

20 25 30
 His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Tyr Ser Tyr
 35 40 45
 Thr Ala Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Ile Trp Gly Glu Asp Thr Leu
 50 55 60
 Met Glu Tyr Leu Glu Asn Pro Lys Lys Tyr Ile Pro Gly Thr Lys Met
 65 70 75 80
 Ile Phe Val Gly Ile Lys Lys Lys Glu Glu Arg Ala Asp Leu Ile Ala
 85 90 95
 Tyr Leu Lys Lys Ala Thr Asn Glu
 100
 <210> 34
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <300>
 <308> GenBank/ CAA01810.1
 <309> 1995-10-17
 <313> (1)..(227)
 10
 <400> 34
 Ile Ile Gly Gly His Val Ala Lys Pro His Ser Arg Pro Tyr Met Ala
 1 5 10 15
 Tyr Leu Met Ile Trp Asp Gln Lys Ser Leu Lys Arg Cys Gly Gly Phe
 20 25 30
 Leu Ile Arg Asp Asp Phe Val Leu Thr Ala Ala His Cys Trp Gly Ser
 35 40 45
 Ser Ile Asn Val Thr Leu Gly Ala His Asn Ile Lys Glu Gln Glu Pro
 50 55 60
 Thr Gln Gln Phe Ile Pro Val Lys Arg Ala Ile Pro His Pro Ala Tyr
 65 70 75 80
 Asn Pro Lys Asn Phe Ser Asn Asp Ile Met Leu Leu Gln Leu Glu Arg
 85 90 95
 Lys Ala Lys Arg Thr Arg Ala Val Gln Pro Leu Arg Leu Pro Ser Asn
 100 105 110
 Lys Ala Gln Val Lys Pro Gly Gln Thr Cys Ser Val Ala Gly Trp Gly
 115 120 125

ES 2 531 288 T3

Gln Thr Ala Pro Leu Gly Lys His Ser His Thr Leu Gln Glu Val Lys
 130 135 140

Met Thr Val Gln Glu Asp Arg Lys Cys Glu Ser Asp Leu Arg His Tyr
 145 150 155 160

Tyr Asp Ser Thr Ile Glu Leu Cys Val Gly Asp Pro Glu Ile Lys Lys
 165 170 175

Thr Ser Phe Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Asn Lys Val
 180 185 190

Ala Gln Gly Ile Val Ser Tyr Gly Arg Asn Asn Gly Met Pro Pro Arg
 195 200 205

Ala Cys Thr Lys Val Ser Ser Phe Val His Trp Ile Lys Lys Thr Met
 210 215 220

Lys Arg Tyr
 225

5 <210> 35
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <300>
 <308> GenBank/ EAW58223.1
 <309> 2006-12-18
 <313> (561)..(569)

<400> 35
Phe Ser Arg Ser Leu His Ser Leu Leu
1 5

15 <210> 36
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <300>
 <308> GenBank/ AAI10338.1
 <309> 2009-03-18
 <313> (72)..(86)

<400> 36
Gly Gln Val Gly Arg Gln Leu Ala Ile Ile Gly Asp Asp Ile Asn
1 5 10 15

25 <210> 37
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30 <300>
 <308> GenBank/ AAB51243.2
 <309> 2001-09-26
 <313> (130)..(153)

ES 2 531 288 T3

<400> 37

Glu Glu Gln Trp Ala Arg Glu Ile Gly Ala Gln Leu Arg Arg Met Ala
 1 5 10 15

Asp Asp Leu Asn Ala Gln Tyr Glu
 20

<210> 38

<211> 192

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>

<308> GenBank/ AAB51243.2

<309> 2001-09-26

<313> (2)..(193)

<400> 38

Ala Arg Ala Arg Gln Glu Gly Ser Ser Pro Glu Pro Val Glu Gly Leu
 1 5 10 15

Ala Arg Asp Gly Pro Arg Pro Phe Pro Leu Gly Arg Leu Val Pro Ser
 20 25 30

Ala Val Ser Cys Gly Leu Cys Glu Pro Gly Leu Ala Ala Ala Pro Ala
 35 40 45

Ala Pro Thr Leu Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Cys Ala Pro Thr Ala Pro
 50 55 60

Pro Ala Val Thr Ala Ala Leu Gly Gly Ser Arg Trp Pro Gly Gly Pro
 65 70 75 80

Arg Ser Arg Pro Arg Gly Pro Arg Pro Asp Gly Pro Gln Pro Ser Leu
 85 90 95

Ser Leu Ala Glu Gln His Leu Glu Ser Pro Val Pro Ser Ala Pro Gly
 100 105 110

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

Glu Glu Gln Trp Ala Arg Glu Ile Gly Ala Gln Leu Arg Arg Met Ala
 130 135 140

Asp Asp Leu Asn Ala Gln Tyr Glu Arg Arg Arg Gln Glu Glu Gln Gln
 145 150 155 160

Arg His Arg Pro Ser Pro Trp Arg Val Leu Tyr Asn Leu Ile Met Gly
 165 170 175

Leu Leu Pro Leu Pro Arg Gly His Arg Ala Pro Glu Met Glu Pro Asn
 180 185 190

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 531 288 T3

<300>
 <308> GenBank/ EAW98311.1
 <309> 2006-12-18
 <313> (132)..(138)

5 <400> 39
 Ala Val Pro Ile Ala Gln Lys Pro
 1 5

<210> 40
 <211> 20
 <212> PRT
 10 <213> Homo sapiens

<300>
 <308> GenBank/ BAG35060.1
 <309> 2008-05-24
 <313> (21)..(36)

15 <400> 40
 Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Leu Leu Arg Arg Leu Leu
 1 5 10 15

Arg Arg Leu Leu
 20

<210> 41
 <211> 104
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens

<300>
 <308> Swiss-Prot/ P22069.2
 <309> 2010-03-02
 <313> (1)..(104)

25 <400> 41
 Gln Asp Trp Leu Thr Phe Gln Lys Lys His Ile Thr Asn Thr Arg Asp
 1 5 10 15

Val Asp Cys Asp Asn Ile Met Ser Thr Asn Leu Phe His Cys Lys Asp
 20 25 30

Lys Asn Thr Phe Ile Tyr Ser Arg Pro Glu Pro Val Lys Ala Ile Cys
 35 40 45

Lys Gly Ile Ile Ala Ser Lys Asn Val Leu Thr Thr Ser Glu Phe Tyr
 50 55 60

Leu Ser Asp Cys Asn Val Thr Ser Arg Pro Cys Lys Tyr Lys Leu Lys
 65 70 75 80

Lys Ser Thr Asn Lys Phe Cys Val Thr Cys Glu Asn Gln Ala Pro Val
 85 90 95

His Phe Val Gly Val Gly Ser Cys
 100

ES 2 531 288 T3

<210> 42
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <300>
<308> GenBank/ AAH15960.3
<309> 2008-11-30
<313> (18)..(36)

<400> 42
Val Arg Arg Phe Leu Val Thr Leu Arg Ile Arg Arg Ala Cys Gly Pro
1 5 10 15

10 Pro Arg Val

<210> 43
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <300>
<301> Böttger
<303> Oncogene
<304> 13
<306> 2141-2147
20 <307> 1996

<400> 43
Pro Arg Phe Met Asp Thr Trp Glu Gly Leu Asn
1 5 10

25 <210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> Glycine max

<300>
<308> GenBank/ ACE36683.1
<309> 2008-07-10
30 <313> (43)..(59)

<400> 44
Cys Glu Lys His Ile Met Glu Lys Ile Gln Gly Arg Gly Asp Asp Asp
1 5 10 15

Asp

35 <210> 45
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<300>
<308> GenBank/ EAW98311.1
<309> 2006-12-18
40 <313> (132)..(138)

<400> 45
Leu Ala Leu Arg Leu Ala Cys Ile Gly Asp Glu Met Asp Val Ser
1 5 10 15

<210> 46
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> artificial

<300>
 <308> GenBank/ AAY41125.1
 <309> 2006-01-06
 <313> (148)..(167)

10 <400> 46
 Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala
 1 5 10 15

Gly Gly Ala Gly
 20

<210> 47
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <300>
 <308> GenBank/ CAO72169.1
 <309> 2009-01-13
 <313> (79)..(191)

<400> 47
 Met Thr Ile Ser Gln Gln Glu Phe Gly Arg Thr Gly Leu Pro Asp Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Met Thr Glu Glu Glu Gln Ile Ala Tyr Ala Met Gln Met Ser
 20 25 30

Leu Gln Gly Ala Glu Phe Gly Gln Ala Glu Ser Ala Asp Ile Asp Ala
 35 40 45

Ser Ser Ala Met Asp Thr Ser Glu Pro Ala Lys Glu Glu Asp Asp Tyr
 50 55 60

Asp Val Met Gln Asp Pro Glu Phe Leu Gln Ser Val Leu Glu Asn Leu
 65 70 75 80

Pro Gly Val Asp Pro Asn Asn Glu Ala Ile Arg Asn Ala Met Gly Ser
 85 90 95

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

Asp Lys

25 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<210> 53
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> artificial

<400> 53
Arg Lys Lys Arg
 1

10 <210> 54
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 54
Pro Glu Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His
 1 5 10 15

Leu Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu
 20 25 30

Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr
 35 40 45

Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Ala Asn
 50 55 60

Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg
 65 70 75 80

Glu Ser Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu
 85 90 95

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

Ala Asn Gly Pro Ala Asp
 115

15 <210> 55
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 55
Lys Asp Glu Leu
 1

<210> 56
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25 <400> 56
Lys Glu Asp Leu
 1

<210> 57
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 57
Gly Gly Ser Gly
 1

10

<210> 58
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

15

<400> 58
Gly Gly Gly Ser
 1

20

<210> 59
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

<400> 59
Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

25

<210> 60
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> artificial

<400> 60
Gly Gly Ser Gly Gly
 1 5

35

<210> 61
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

40

<400> 61
Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 1 5

<210> 62
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 62
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 1 5

10

<210> 63
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

15

<400> 63
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 1 5

20

<210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

<400> 64
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

25

<210> 65
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> artificial

<400> 65
Ala Ser Gly Gly
 1

35

<210> 66
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

<400> 66
Gly Gly Gly Ser Ala Ser Gly Gly
 1 5

40

ES 2 531 288 T3

<210> 67
 <211> 582
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> artificial

<400> 67
 gccaccaga aatgcaccaa aaaagctggc ttcgatgcc atatcaatca gatgttcatt 60
 ggtcacgctc acaaaaaatgc gatcattttc tttcagttca aaaatgccac cctgataaat 120
 gctatacagg ccatattctg catctttgct ccaacagcta ttacgtgctc ttttcacag 180
 cagaatcggg tccggatagc tggatatatt ataaatgtac tgcaccattt gtttatcatt 240
 tttggatatt tctttaattt ctctctgaaa gcgaaaatag gtctggctat aaatataata 300
 aaagcctttt tcatgaatca ccagttcacc attacgcaga tgcagattgc tcagaaagct 360
 atgaccgcta cggctgcttt cccagctatt aattttgca cccagggctt tttcattttt 420
 gctattcggg ctgctcaggg tattgctacg accacgggtg ccgtaatat gtgctgcaac 480
 acgacctgcc agaccagcg gacgaacaac acgacgacgg cgacgacgac gacggctatc 540
 cagttcatca ccaatacgtt tcaggcattc gctcagtttt tt 582

10 <210> 68
 <211> 579
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

15 <400> 68
 cgtaatttg cacgtcatct ggcacaggtt ggtgatagca tggaccgtcg tcgtcgtcgc 60
 cgtcgtcgtg ttgttcgtcc gctgggtctg gcaggctcgtg ttgcagcaca tattaccggc 120
 acccgtggtc gtagcaatac cctgagcagc ccgaatagca aaaatgaaa agccctgggt 180
 cgcaaaatta atagctggga aagcagccgt agcggtcata gctttctgag caatctgcat 240
 ctgcgtaatg gtgaactggt gattcatgaa aaaggctttt attatattta tagccagacc 300
 tattttcgtc ttcaggaaga aattaaaga aatacaaaa atgataaaca aatggtgcag 360
 tacatttata aatataccag ctatccggat ccgattctgc tgatgaaaag cgcacgtaat 420
 agctgttggg gcaaagatgc agaatatggc ctgtatagca tttatcaggg tggcattttt 480
 gaactgaaag aaaatgatcg cttttttgtg agcgtgacca atgaacatct gattgatatg 540
 gatcatgaag ccagcttttt tgggtcattt ctgggtgggc 579

20 <210> 69
 <211> 909
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 69
 cgtgttgcag cacatattac cggcaccogt ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagccct gggtcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcgggt 120
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tggtgattca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatfff cgctttcagg aagaaattaa agaaaatacc 240
 aaaaatgaca acaaatggt gcagtatadc taaaaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggcctgtat 360
 agcatttadc aggttggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gcggtccgct gggctcggca ggtcgtggtt ttcgtaaaga aaccgcagca 540
 gccaaatttg aacgtcagca catggatagc agcaccagcg cagcaagcag cagcaattat 600
 tgcaatcaga tgatgaaaag ccgcaatctg accaaagatc gttgtaaacc ggtgaatacc 660
 tttgttcag aaagcctggc agatgttcag gcagtttgca gccagaaaa tgtggcctgt 720
 aaaaatggtc agaccaattg ctatcagagc tatagcacca tgagcattac cgattgtcgt 780
 gaaaccggtg gcagcaata tccgaattgc gcctataaaa ccaaccaggc caataaacat 840
 attattgtgg cctgtgaagg caatccgtat gttccggttc attttgatgc cagcgtgaaa 900
 gaagatctg 909

<210> 70
 <211> 879
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 70
 cgtgttgcag cacatattac cggcaccogt ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcgggt 120
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tggtgattca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatfff cgctttcaag aagaaattaa agaaaatacc 240
 aaaaatgata agcagatggt gcagtatadc tataaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggctctgtat 360
 agcatttadc aggttggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gttagcgtgg tggtagtaaa gaaaccgcag cagcaaaatt tgaacgtcag 540
 cacatggata gcagcaccag cgcagcaagc agcagcaatt attgtaatca gatgatgaaa 600

10

ES 2 531 288 T3

agccgcaatc tgaccaaga tcgttgtaa ccggtgaata cctttgttca tgaaagcctg 660
gcagatgttc aggcagtttg tagccagaaa aatggtgcct gtaaaaatgg tcagaccaat 720
tgctatcaga gctatagcac catgagcatt accgattgtc gtgaaaccgg tagcagcaaa 780
tatccgaatt gtgcatataa aaccaccag gccataaac atattattgt tgccctgtgaa 840
ggcaatccgt atgttccggt tcattttgat gcaagcgtt 879

5

<210> 71
<211> 852
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> artificial

<400> 71
cagatcttct ttttcattgg tggctttttt cagataggca atcagatctg cgcgttcttc 60
ttttttttta atgccacaa aatcattttt cgtaccggga atatattttt tcggattttc 120
cagatattcc atcagggat cttcaccoca aataatgcct ttgtttttat tggctgcggt 180
atagctataa cccggtgcct gaccggtttt acgaccaaac agaccatgca gattcggacc 240
ggttttatgt ttgccacctt tttcaacggt atgacactgg ctgcatttca taataaaaat 300
ttttttgctt tttccacat caccacgaac aacacgacct gccagacca gcggaccgct 360
accaccacca accagaaatg caccaaaaaa gctggcttca tgatccatat caatcagatg 420
ttcattggtc acgctcacia aatgogate attttctttc agttcaaaaa tgccaccctg 480
ataaatgcta tacaggccat attctgcatc tttgctcaa cagctattac gtgcgctttt 540
catcagcaga atcggatccg gatagctggt atatttataa atgtactgca ccatttgttt 600
atcgtttttg gtattttctt taatttcttc ctgaaagcga aataggtct ggctataaat 660
ataataaaag cctttttcat gaatcaccag ttcaccatta cgcagatgca gattgctcag 720
aaagctatga ccgctacggc tgctttccca gctattaatt ttgcgacca gggctttttc 780
atttttgcta ttcgggctgc tcagggtatt gctacgacca cgggtgccgg taatatgtgc 840
tgcaacacgc at 852

10

<210> 72
<211> 800
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

15

<220>
<223> artificial

<400> 72
cgtgttgcag cacatattac cggcaccggt ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcggg 120

ES 2 531 288 T3

catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tgggtgattca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatctt cgctttcaag aagaaattaa agaaaatacc 240
 aaaaatgaca aacaaatggt gcagtatctc tataaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaaag atgcagaata tggctctgtat 360
 agcatttctc aggggtggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gtagccgtaa aaaacgtgca agcgggtggtc cggaaggtgg tagcctggca 540
 gcactgaccg cacatcaggc atgtcatctg ccgctggaaa cctttaccgc tcactgctcag 600
 cctcgtggtt gggaacagct ggaacagtgt ggttatccgg ttcagcgtct ggttgactg 660
 tatctggcag cacgtctgag ctggaatcag gttgatcagg ttattgcaaa tgcactggca 720
 agtccgggta gcggtggtga tctgggtgaa gcaattcgtg aaagtccgga acagggcagct 780
 ctggcactga ccctggcagc 800

<210> 73
 <211> 1215
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 73
 cgtgttgacg cacatattac cggcaccctg ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagccct gggcgtgaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcggc 120
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggogaac tgggtgattca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatctt cgctttcagg aagaaattaa agaaaatacc 240
 aaaaatgata aacaaatggt gcagtatctc tataaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaaag atgccgaata tggctctgtat 360
 agcatttctc aggggtggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gtagccgtaa aaaacgtggt ggtggcgggt ctattattgg tggctcatggt 540
 gcaaaaccgc atagccgtcc gtatatggca tatctgatga tttgggatca gaaaagcctg 600
 aaacgttggt gtggctttct gattcgtgat gattttgttc tgaccgcagc acattggttg 660
 ggtagcagca ttaatgttac cctgggtgcc cataatatta aagaacagga accgaccag 720
 cagtttctc cggttaaacg tgcaattccg catccggcat ataatccgaa aaatcttagc 780
 aatgatatca tgctgctgca gctggaacgt aaagcaaac gtaccctgac agttcagccg 840
 ctgctctgca cgagcaataa agcacaggtt aaaccgggtc agacctgtag cggtgcaggt 900
 tggggtcaga ccgcaccctg gggtaaacat tctcataccc tgcaagaggt taaaatgacc 960

10

ES 2 531 288 T3

gtccaagagg atcgtaaatg cgaaagcgat ctgcgccatt attatgatag caccattgaa 1020
 ctgtgtgtgg gcgatccgga aatcaaaaaa accagcttta aaggtgatag cggtagtccg 1080
 ctggtttgta ataaagttgc ccagggtatt gttagctatg gtcgtaataa tggtagtccg 1140
 ccgctgcat gtaccaaagt tagcagcttt gtgcattgga ttaaaaaaac gatgaaacgc 1200
 tataaagatg aactg 1215

<210> 74
 <211> 1215
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 74
 cgtgttgacag cacatattac cggcaccctg gtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcggc 120
 catagcttcc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tggtagtca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatccc cgctttcaag aagaaattaa agaaaacacc 240
 aaaaatgata acaaatggt gcagtatatt tacaatatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaag atgcagaata tggctctgat 360
 agcatttacc agggtagcct ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gtagccgtaa aaaacgtggt ggtggcggta gtattattgg tggctatggt 540
 gcaaaaccgc atagccgtcc gtatatggca tatctgatga tttgggatca gaaaagcctg 600
 aaacgttggt gtggttttct gattcgtgat gattttgttc tgaccgcagc acattggttg 660
 ggtagcagca ttaatgttac cctgggtgcc cataatatta aagaacaaga accgaccag 720
 cagtttattc cggttaaacg tgcaattccg catccggcat ataatccgaa aaattttagc 780
 aatgatatta tgctgctgca gctggaacgc aaagcaaac gtaccctgac agttcagccg 840
 ctgctctgac cgagcaataa agcacagggt aaaccgggtc agacctgtag cgttgcaggc 900
 tggggtcaga ccgcaccgct gggtaaacat tcacataccc tgcaagaggt gaaaatgacc 960
 gttcaagagg atcgtaaatg cgaaagcgat ctgcgccatt attatgatag caccattgaa 1020
 ctgtgtgttg gtgatccgga aattaaaaaa accagcttta aaggcgatag cggtagtccg 1080
 ctggtttgta ataaagttgc acagggtatt gtgagctatg gtcgtaataa tggtagtccg 1140
 ccgctgcat gtaccaaagt tagcagcttt gtgcattgga ttaaaaaaac gatgaaacgc 1200
 tataaagatg aactg 1215

10

<210> 75
 <211> 561
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 531 288 T3

<220>
<223> artificial

<400> 75
 tttagccgta gcctgcatag cctgctgcgt cgtcgtcgtc gccgctcgtc tgttgttcgt 60
 ccgctgggtc tggcaggctg tgttgacgca catattaccg gcacccgtgg tcgtagcaat 120
 accctgagca gcccgaaatg caaaaatgaa aaagccctgg gtcgcaaaat taatagctgg 180
 gaaagcagcc gtagcgggtca tagctttctg agcaatctgc atctgcgtaa tggatgaactg 240
 gtgattcatg aaaaaggctt ttattatatt tatagccaga cctatcttcg ctttcaggaa 300
 gaaattaaag aaaataccaa aatgataaa caaatggtgc agtacattta taaatatacc 360
 agctatccgg atccgattct gctgatgaaa agcgcacgta atagctggtg gagcaaagat 420
 gcagaatatg gcctgtatag catttatcag ggtggcattt ttgaaactgaa agaaaatgat 480
 cgcatttttg tgagcgtgac caatgaacat ctgattgata tggatcatga agccagcttt 540
 tttggtgcat ttctggtggg c 561

5 <210> 76
 <211> 579
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> artificial

<400> 76
 ggtcagggtg gtcgtcagct ggcaattatt ggtgatgata ttaaccgtcg tcgtcgtcgc 60
 cgtcgtcgtg ttgttcgtcc gctgggtctg gcaggctcgtg ttgcagcaca tattaccggc 120
 acccgtggtc gtagcaatac cctgagcagc ccgaatagca aaaatgaaaa agccctgggt 180
 cgcaaaatta atagctggga aagcagccgt agcggtcata gctttctgag caatctgcat 240
 ctgcgtaatg gtgaactggt gattcatgaa aaaggctttt attatattta tagccagacc 300
 tattttcgtc ttcaggaaga aattaaaga aatacaaaa atgataaaca aatggtgacg 360
 tacatttata aatataccag ctatccggat ccgattctgc tgatgaaaag cgcacgtaat 420
 agctggttga gcaaagatgc agaatatggc ctgtatagca tttatcaggg tggcattttt 480
 gaactgaaag aaaatgatcg cttttttgtg agcgtgacca atgaacatct gattgatatg 540
 gatcatgaag ccagcttttt tgggtcattt ctgggtgggc 579

15 <210> 77
 <211> 666
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 77
 gaagaacagt gggcacgtga aattggtgca cagctgctc gtatggcaga tgatctgaat 60
 gcacagtatg aacgtcgtcg tcgtcgccgt cggcgtcgtc gtgttggtcg tccgctgggt 120
 ctggcaggtc gtgttcagc acatattacc ggcacccgtg gtcgtagcaa taccctgagc 180
 agcccgaata gcaaaaatga aaaagcactg ggtcgcaaaa tcaatagctg ggaaagcagc 240
 cgtagcggtc atagctttct gagcaatctg catctgcgta atggtgaact ggtgattcat 300
 gaaaaaggct tttattatat ttatagccag acctattttc gctttcaaga agagattaaa 360
 gaaaatacca aaaatgataa acaaatggtg cagtatattt acaaatcac cagctatccg 420
 gacccgattc tgctgatgaa aagcgcacgt aatagctggt ggagcaaaga tgcagaatat 480
 ggtctgtata gcatttatca gggtagcctc tttgagctga aagaaaatga tcgcatcttt 540
 gttagcgtga ccaacgaaca tctgatcgt atggatcatg aagccagctt ttttgggtgca 600
 tttctggtgg gtctggttcc gcgtggtagc ggtagcagcc atcatcatca tcacatagc 660
 agcgggt 666

<210> 78
 <211> 1116
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

<400> 78
 cgtgttgagc cacatattac cggcaccctg ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagcact ggtcgcaaaa atcaatagct gggaaagcag ccgtagcgggt 120
 catagctttc tgagcaatct gcactctcgt aatggtgaac tggtagattca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatttt cgctttcaag aagagattaa agaaaatacc 240
 aaaaatgata acaaatggt gcagtacatt tacaatatata ccagctatcc ggacccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggctctgat 360
 agcatttate agggtagcat ctttgagctg aaagaaaatg atcgcactct tggtagcgtg 420
 accaacgaac atctgatcga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gcggtggtcc gctgggtctg gcaggctcgt ttgttcgtgc ccgtgcgcgt 540
 caagaaggta gcagtcagg accggttgaa ggtctggcac gtgatggtcc gcgtccgttt 600
 ccgctgggtc gtctggttcc gagcgcagtt agctgtggtc tgtgtgaacc ggtctggca 660
 gccgcaccgg cagcaccgac actgctgcct gcagcatatc tgtgtgcacc gaccgcaccg 720
 cctgcagtta ccgcagcact gggtagtagc cgttggcctg gtggtccgcg tagtctccg 780
 cgtggtcctc gtccggatgg tccgcagccg agcctgagcc tggcagaaca gcatctggaa 840

5

10

ES 2 531 288 T3

agtcCGgtgc cgagcgcacc gggTgcactg gcaggcggTc ctacacaggc agcaccgggt 900
 gttcgtggTg aagaggaaca gtgggcacgt gaaattggTg cacagctgcg tCGtatggca 960
 gatgatctga atgcacagta tgaacgtcgt cgtcaagaag aacagcagcg tcatcgtccg 1020
 agcccgtggc gtgttctgta taatctgatt atgggtctgc tGCCgctgcc tCGTggTcat 1080
 cgtgcaccgg aatggaacc gaataaagaa gatctg 1116

<210> 79
 <211> 1479
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 79
 cgtgttgCag cacatattac cggcaccCGt ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagcact gggTcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcggT 120
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggTgaac tggTgattca tGaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatTTT cgctttcaag aagaaattaa agaaaatacc 240
 aaaaatgata agcagatggT gcagtatatc tataaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaaG atgcagaata tggTctgtat 360
 agcatttatac agggTggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggTgc atttctggTt 480
 ggtggTggTg gtagccgtaa aaaacgtgca agcggTggTc cggaaaggTg tagcctggca 540
 gcactgaccg cacatcaggc atgtcatctg ccgctggaaa cctttaccCG tcatcgtcag 600
 cctcgtggTt gggaaacagct ggaacagTgt ggttatccgG ttcagcgtct ggtTgcactg 660
 tatctggcag cacgtctgag ctggaatcag gttgatcagG ttattgcaaa tgcactggca 720
 agtcCGgta gcggTggTga tctgggtgaa gcaattcgtg aaagtccgga acaggcactg 780
 ctggcactga ccctggcagc agcagaaagc gaacgttttG ttcgtcaggg caccggtaat 840
 gatgaagccg gtgcagcaaa tggTccggca gatggTggTa gtggTggTgG tgcacgtgct 900
 cgtcaagaag gtagcagTcc ggaaccggTt gaaggTctgG cacgtgacgG tccgctccg 960
 tttccgctgg gtcgtctggT tccgagcgca gttagctgtg gtctgtgtga accgggtctg 1020
 gcagccgcac cggcagcacc gacctgctg cctgcagcat atctgtgtgc accgaccgca 1080
 ccgcctgcag ttaccgcagc actgggtggT agtcgttggc ctggTggTcc cgtagtcgt 1140
 ccgctgTgTc cgcgtccgga tggTccgcag ccgagTctga gcctggcaga acagcatctg 1200
 gaaagtccTg tGCCgagcgc accgggtgca ctggcagggc gtccgacaca ggcagcacct 1260
 ggtgttctgT gtgaagaaga acagtgggca cgcgaaattg gtgcacagct gcgtcgtatg 1320
 gcagatgata tgaatgcaca gtatgaacgt cgtcgtcaag aagaacagca gcgtcatcgt 1380
 ccgagcccgt ggcgtgttct gtataatctg attatgggtc tgctgccgct gcctcgtggT 1440
 catcgtgcac cggaaatgga accgaataaa gatgaactg 1479

10

ES 2 531 288 T3

<210> 80
 <211> 558
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> artificial

<400> 80
 gcagttccga ttgcacagaa accgcgctgt cgtcgtcgcc gtcgctcgtgt tgttcgtccg 60
 ctgggtctgg caggtcgtgt tgcagcacat attaccggca cccgtggctg tagcaatacc 120
 ctgagcagcc cgaatagcaa aatgaaaaa gccctgggtc gcaaaatcaa tagctgggaa 180
 agcagccgta gcggtcatag ctttctgagc aatctgcatc tgcgtaatgg tgaactgggtg 240
 attcatgaaa aaggctttta ctatatctat agccagacct acttccgctt tcaggaagaa 300
 attaaagaaa ataccaaaaa tgataaacia atggtgcagt atatctataa atataccagc 360
 tatccggatc cgattctgct gatgaaaagc gcaagtaata gctgttgag caaagatgca 420
 gaatatggcc tgtatagcat ttatcagggg gccatTTTTG aactgaaaga aaatgatcgc 480
 atTTTTgtga gcgtagccaa tgaacatctg attgatatgg atcatgaagc cagctTTTTT 540
 ggtgcatttc tgggtgggt 558

10 <210> 81
 <211> 627
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

15 <400> 81
 cgtgcaggtc tgcagtttcc ggttggacgt ctgttacgtc gcctgctgcg tcgtctgctg 60
 cgcgttgttc gtccgctggg tctggcaggt cgtgttgag cacatattac cggcaccctg 120
 ggtcgtagca ataccctgag cagccogaat agcaaaaatg aaaaagcact gggtagcaaa 180
 atcaatagct gggaaagcag ccgtagcggg catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt 240
 aatggtgaac tgggtgattca tgaaaaaggc ttttattata tttatagcca gacctatTTT 300
 cgctttcaag aagagattaa agaaaatacc aaaaatgata aacaaatggt gcagtacatt 360
 tacaatatata ccagctatcc ggaccogatt ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt 420
 tggagcaaag atgcagaata tggctctgtat agcatTTTatc agggtaggcat ctttgagctg 480
 aaagaaaatg atcgcacatt tgttagcgtg accaacgaac atctgatcga tatggatcat 540
 gaagccagct tttttggtgc atttctggtg ggtctggttc cgcgtggtag cggtagcagc 600
 catcatcatc atcaccatag cagcgggt 627

20 <210> 82
 <211> 837
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 531 288 T3

<220>
<223> artificial

<400> 82
cgtgttgacag cacatattac cggcaccocgt ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcgggt 120
catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatgggtgaac tgggtgattca tgaaaaaggc 180
ttttattata tttatagcca gacctatfff cgctttcaag aagaaattaa agaaaatacc 240
aaaaatgata agcagatggg gcagtatata tataaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggctctgtat 360
agcatttatc aggggtggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctgggt 480
gggtggggta gccgtccgct gggctcggca ggtcgtggtg ttcgctcagga ttggctgacc 540
tttcagaaaa aacatattac caataccocgt gatgtggatt gcgataatat tatgagcacc 600
aacctgtttc attgcaaaga taaaaatacc tttatftata gccgtccgga accgggttaaa 660
gcaatttgta aaggtattat tgccagcaaa aatgtgctga ccacgagcga attctatctg 720
agcgattgta atgttaccag ccgtccgtgt aaatataaac tgaaaaaaag caccaataaa 780
ttttgcgtga cctgcgaaaa tcaggcaccg gttcattttg ttgggtgttg tagctgt 837

5 <210> 83
<211> 822
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> artificial

<400> 83
cgtgttgacag cacatattac cggcaccocgt ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcgggt 120
catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatgggtgaac tgggtgattca tgaaaaaggc 180
ttttattata tttatagcca gacctatfff cgctttcaag aagaaattaa agaaaatacc 240
aaaaatgata agcagatggg gcagtatata tataaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggctctgtat 360
agcatttatc aggggtggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctgggt 480
gggtggggta gtagcgggtg tgggtggcagc caggattggc tgacctttca gaaaaaacat 540
attaccaata ccCgtgatgt ggattgcgat aatattatga gcaccaacct gtttcattgc 600
aaagataaaa atacctttat ttatagccgt ccggaaccgg ttaaagcaat ttgtaaagggt 660
attattgcca gcaaaaatgt gctgaccacg agcgaattct atctgagcga ttgtaatggt 720
accagccgctc cgtgtaaata taaactgaaa aaaagcacca ataaatfttg cgtgacctgc 780
gaaaatcagg ccccggttca ttttggtggg gttggtagct gt 822

ES 2 531 288 T3

<210> 84
 <211> 591
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> artificial

<400> 84
 gttcgtcgtt ttctggttac cctgcgtatt cgtcgtgcat gtggtcctcc gcgtgtgcgt 60
 cgtcgtcgtc gccgtcgtcg tgttgttcgt cctctgggtc tggcaggtcg cgttgcagca 120
 catattaccg gcaaccgtgg tcgtagcaat accctgagca gcccgatag caaaaatgaa 180
 aaagccctgg gtcgcaaaaat taatagctgg gaaagcagcc gtagcggcca tagctttctg 240
 agcaatctgc atctcgttaa tggatgaactg gtgattcatg aaaaggcctt ttattatatt 300
 tatagccaga cctattttctg ctttcaggaa gaaattaaag aaaataccaa aatgataaa 360
 caaatggtgc agtatatcta taaatatacc agctatccgg atccgattct gctgatgaaa 420
 agcgcacgta atagctgttg gagcaaagat gcagaatatg gcctgtatag catttatcag 480
 ggtggcattt ttgaactgaa agaaaatgat cgcatttttg tgagcgtgac caatgaacat 540
 ctgattgata tggatcatga agccagcttt tttggtgcat ttctggttgg t 591

10 <210> 85
 <211> 567
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

15 <400> 85
 cctcgtttta tggataacctg ggaaggtctg aatcgccgtc ggcgtcgtcg gcgtcgtggt 60
 gttcgtccgc tgggtctggc aggtcgtggt gcagcacata ttaccggcac ccgtggtcgt 120
 agcaataccc tgagcagccc gaatagcaaa aatgaaaaag cactgggtcg caaaattaat 180
 agctgggaaa gcagccgtag cgtcatagc tttctgagca atctgcatct gcgtaatggt 240
 gaactggtga ttcattgaaa aggcctttat tatatttata gccagaccta ttttcgcttt 300
 caggaagaaa ttaaagaaaa taccaaaaat gataaaciaa tgggtgcagta catttaciaa 360
 tataccagct atccggatcc gattctgctg atgaaaagcg cacgtaatag ctggtggagc 420
 aaagatgcag aatatggtct gtatagcatt tatcaggggtg gcatttttga actgaaagaa 480
 aatgatcgca tttttgtgag cgtgaccaat gaacatctga ttgatatgga tcatgaagcc 540
 agcttttttg gtgcatttct ggttgggt 567

20 <210> 86
 <211> 585
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 86
 tgtgaaaaaac atattatgga aaaaattcag ggtcgcgggtg atgatgatga tcgcccgtcgg 60
 cgtcgctcggc gtcgtgttgt tcgtccgctg ggtctggcag gtcgtgttgc agcacatatt 120
 accggcacccc gtggtcgtag caataccctg agcagcccga atagcaaaaa tgaaaaagca 180
 ctgggtcgc aaattaatag ctgggaaagc agccgtagcg gtcatagctt tctgagcaat 240
 ctgcatctgc gtaatggtga actggtgatt catgaaaaag gcttttatta tatttatagc 300
 cagacctatt ttcgctttca ggaagaaatt aaagaaaata ccaaaaatga taaacaaatg 360
 gtgcagtaca ttacaaata taccagctat ccggatccga ttctgctgat gaaaagcgca 420
 cgtaatagct gttgagcaa agatgcagaa tatggtctgt atagcattta tcagggtggc 480
 atttttgaac tgaaagaaa tgatcgcatt ttgtgagcg tgaccaatga acatctgatt 540
 gatatggatc atgaagccag cttttttggt gcatttctgg ttggt 585

<210> 87
 <211> 654
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 87
 gcagttccga ttgcacagaa accgcgtcgt cgtcgctcgc gtcgctcgtg tgttcgtcct 60
 ctgggtctgg caggtcgcgt tgcaacacat attaccggca cccgtggtcg tagcaatacc 120
 ctgagcagcc cgaatagcaa aaatgaaaa gccctgggtc gcaaaattaa tagctgggaa 180
 agcagccgta gcggtcatag ctttctgagc aatctgcac tcggtaatgg tgaactggtg 240
 attcatgaaa aaggctttta ttatattat agccagacct attttcgctt tcaggaagaa 300
 ataaagaaa ataccaaaa tgataaaca atggtgcagt atatctataa atataccagc 360
 tatccggatc cgattctgct gatgaaaagc gcacgtaata gctgttgag caaagatgca 420
 gaatatggcc tgtatagcat ttatcagggg gccatttttg aactgaaaga aaatgatcgc 480
 atttttgtga gcgtgaccaa tgaacatctg attgatatgg atcatgaagc cagctttttt 540
 ggtgcatttc tggttggtcc gctgggcctg gctggccgtg tggttcgcg gcgcccgtcgc 600
 cgtcgcgcc tggcactgcg tctggcatgt attggtgatg aaatggatgt gagc 654

10

<210> 88
 <211> 618
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 88
 cgtggtgcag cacatattac cggcaccctg ggtcgtagca atacctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcggc 120
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tgggtattca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatfff cgctttcaag aagaaattaa agaaaacacc 240
 aaaaatgata acaaatggt gcagtatatt taaaaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggctctgat 360
 agcatttata agggtggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gtagcgggtg tggcgtggtt gttcgtccgc tgggtctggc tggtgccggt 540
 gccggtggtg gtgcaggcgg tgctggtgcg ggtggcggag ccggtggtgc aggtcgtcgt 600
 cgtcggcgtc gtcggcgt 618

<210> 89
 <211> 867
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> artificial

<400> 89
 cgtggtgcag cacatattac cggcaccctg ggtcgtagca atacctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaatagct gggaaagcag ccgtagcggc 120
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tgggtattca tgaaaaaggc 180
 ttttattata tttatagcca gacctatfff cgctttcaag aagaaattaa agaaaacacc 240
 aaaaatgata acaaatggt gcagtatatt taaaaatata ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggctctgat 360
 agcatttata agggtggcat ttttgaactg aaagaaaatg atcgcatttt tgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgattga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
 ggtggtggtg gtagcgggtg tctgtaaaaa cgtatgacca ttagccagca agaatttggc 540
 cgtaccggtc tgccggatct ggcagcatg accgaagaag acaaatgct ctacgcaatg 600
 cagatgagcc tgcaagggtc agaatttggc caggcagaaa gcgcagatat tgatgcaagc 660
 agcgcaatgg ataccagcga accggcaaaa gaagaagacg attacgacgt tatgcaggat 720
 ccggaatttc tgcaagcgt tctggaaaat ctgcccgggtg ttgatccgaa taatgaagca 780
 attcgtaatg caatgggtag cctggcaagc caagcaacca aagatggcaa aaaagataaa 840
 aaagaggag acaaaaaaga agatctg 867

10

<210> 90
 <211> 549
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

ES 2 531 288 T3

<220>
<223> artificial

<400> 90
 gttgcaaatac cgcaggcaga aggtcagctg cgcgttgctc gtccgctggg tctggcaggt 60
 ccgcagcgtg ttgcagcaca tattaccggc acccgtggtc gtagcaatac cctgagcagc 120
 ccgaatagca aaaatgaaaa agccctgggt cgtaaaatta atagctggga aagcagccgt 180
 agcggtcata gctttctgag caatctgcat ctgcgtaatg gcgaactggg gattcatgaa 240
 aaaggctttt attatattta tagccagacc tattttcgcct ttcaggaaga aattaaagaa 300
 aatacctaaa atgataaaca aatggtgcag tatatctata aatataccag ctatccggat 360
 ccgattctgc tgatgaaaag cgcacgtaat agctggtgga gcaaagatgc cgaatatggt 420
 ctgtatagca tttatcaggg tggcattttt gaactgaaaag aaaatgatcg catttttctg 480
 agcgtgacca atgaacatct gattgatatg gatcatgaag ccagcttttt tgggtgcattt 540
 ctggttggt 549

5 <210> 91
 <211> 537
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> artificial

<400> 91
 ctggcaaatac gtgttgaacg tgtgttctgt ccgctgggtc tggcaggtcc gcagcgtgtt 60
 gcagcacata ttaccggcac ccgtggctgt agcaataccc tgagcagccc gaatagcaaaa 120
 aatgaaaaag ccctgggtcg taaaattaat agctgggaaa gcagccgtag cggtcatagc 180
 tttctgagca atctgcatct gcgtaatggc gaactggtga ttcattgaaa aggcttttat 240
 tatatttata gccagacctt tttctgcttt caggaagaaa ttaaagaaaa taccaaaaat 300
 gataaacaaa tgggtgcagta tatctataaa tataccagct atccggatcc gattctgctg 360
 atgaaaagcg cacgtaatag ctgttgagc aaagatgccg aatatggtct gtatagcatt 420
 tatcagggtg gcatttttga actgaaagaa aatgatcgca tttttgtgag cgtgaccaat 480
 gaacatctga ttgatatgga tcatgaagcc agcttttttg gtgcatttct ggttggt 537

15 <210> 92
 <211> 540
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> artificial

ES 2 531 288 T3

<400> 92
 tgtccgagcg aaggtctgtg tcgtgttggt cgtccgctgg gtctggcagg tccgcagcgt 60
 gttgcagcac atattaccgg caccctgggt cgtagcaata ccctgagcag cccgaatagc 120
 aaaaatgaaa aagccctggg tcgtaaaatt aatagctggg aaagcagccg tagcggtcac 180
 agctttctga gcaatctgca tctgcgtaat ggcgaactgg tgattcatga aaaaggcttt 240
 tattatattt atagccagac ctattttcgc tttcaggaag aaattaaaga aaataccaaa 300
 aatgataaac aaatggtgca gtatatctat aaatatacca gctatccgga tccgattctg 360
 ctgatgaaaa gcgcacgtaa tagctgttgg agcaaagatg ccgaatatgg tctgtatagc 420
 atttatcagg gtggcatttt tgaactgaaa gaaaatgatc gcattttttgt gagcgtgacc 480
 aatgaacatc tgattgatat ggatcatgaa gccagctttt ttggtgcatt tctggttggt 540

<210> 93
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 93
 Gly Cys Ala Ala Ala Cys Ala Ala Cys Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser
 1 5 10 15
 Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg
 20 25 30
 Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser
 35 40 45
 Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg
 50 55 60
 Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser
 65 70 75 80
 Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe

10

ES 2 531 288 T3

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

ES 2 531 288 T3

Ser Ser Asn Tyr Cys Asn Gln Met Met Lys Ser Arg Asn Leu Thr Lys
 355 360 365

Asp Arg Cys Lys Pro Val Asn Thr Phe Val His Glu Ser Leu Ala Asp
 370 375 380

Val Gln Ala Val Cys Ser Gln Lys Asn Val Ala Cys Lys Asn Gly Gln
 385 390 395 400

Thr Asn Cys Tyr Gln Ser Tyr Ser Thr Met Ser Ile Thr Asp Cys Arg
 405 410 415

Glu Thr Gly Ser Ser Lys Tyr Pro Asn Cys Ala Tyr Lys Thr Thr Gln
 420 425 430

Ala Asn Lys His Ile Ile Val Ala Cys Glu Gly Asn Pro Tyr Val Pro
 435 440 445

Val His Phe Asp Ala Ser Val Lys Asp Glu Leu
 450 455

<210> 94
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 94
 Phe Ser Arg Ser Leu His Ser Leu Leu Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 1 5 10 15

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

Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu
 35 40 45

Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg
 50 55 60

Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly
 65 70 75 80

Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu
 85 90 95

Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly

ES 2 531 288 T3

100 105 110

Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile
115 120 125

Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys
130 135 140

Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn
145 150 155 160

Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln
165 170 175

Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val
180 185 190

Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly
195 200 205

Ala Phe Leu Val Gly
210

<210> 95
<211> 204
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 95
Leu Ser Thr Ala Ala Asp Met Gln Gly Val Val Thr Asp Gly Met Ala
1 5 10 15

Ser Gly Leu Asp Lys Asp Tyr Leu Lys Pro Asp Asp Pro Leu Gly Leu
20 25 30

Ala Gly Arg Val Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His
35 40 45

Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser
50 55 60

Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser
65 70 75 80

Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu
85 90 95

5

10

ES 2 531 288 T3

Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr
100 105 110

Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln
115 120 125

Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu
130 135 140

Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr
145 150 155 160

Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn
165 170 175

Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp
180 185 190

His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
195 200

<210> 96
<211> 205
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 96
Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr
1 5 10 15

Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile
20 25 30

Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu
35 40 45

His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr
50 55 60

Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn
65 70 75 80

Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser
85 90 95

Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp
100 105 110

10

ES 2 531 288 T3

Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile
 115 120 125

Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu
 130 135 140

His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu
 145 150 155 160

Val Gly Gly Gly Gly Ser Arg Lys Lys Arg Val Lys Arg Leu Ser Thr
 165 170 175

Ala Ala Asp Met Gln Gly Val Val Thr Asp Gly Met Ala Ser Gly Leu
 180 185 190

Asp Lys Asp Tyr Leu Lys Pro Asp Asp Lys Asp Glu Leu
 195 200 205

<210> 97
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 97
 Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile
 20 25 30

Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu
 35 40 45

His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr
 50 55 60

Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn
 65 70 75 80

Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser
 85 90 95

Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp
 100 105 110

Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile
 115 120 125

10

ES 2 531 288 T3

Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu
 130 135 140

His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu
 145 150 155 160

Val Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg
 165 170 175

Val Val Arg Leu Ser Thr Ala Ala Asp Met Gln Gly Val Val Thr Asp
 180 185 190

Gly Met Ala Ser Gly Leu Asp Lys Asp Tyr Leu Lys Pro Asp Asp
 195 200 205

<210> 98
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 98
 Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile
 20 25 30

Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu
 35 40 45

His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr
 50 55 60

Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn
 65 70 75 80

Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser
 85 90 95

Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp
 100 105 110

Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile
 115 120 125

10

Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu

ES 2 531 288 T3

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

<210> 99
 <211> 193
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 99
 Ala Val Pro Ile Ala Gln Lys Pro Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 1 5 10 15

5

10

Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln
 20 25 30

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 35 40 45

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 50 55 60

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 65 70 75 80

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 85 90 95

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 100 105 110

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 115 120 125

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 130 135 140

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 145 150 155 160

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 165 170 175

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 180 185 190

Gly

<210> 100
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 100
 Ala Val Pro Ile Ala Gln Lys Pro Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 1 5 10 15

Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Gly Cys Ala Ala Ala Cys Ala
 20 25 30

5

10

ES 2 531 288 T3

Ala Cys Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln
35 40 45

Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Cys Ala Ala
50 55 60

His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn
65 70 75 80

Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser
85 90 95

Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly
100 105 110

Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr
115 120 125

Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys
130 135 140

Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile
145 150 155 160

Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu
165 170 175

Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu
180 185 190

Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met
195 200 205

Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
210 215 220

<210> 101

<211> 212

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 101

Ala Val Pro Ile Ala Gln Lys Pro Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

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

5

10

ES 2 531 288 T3

Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg
35 40 45

Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser
50 55 60

Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg
65 70 75 80

Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser
85 90 95

Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe
100 105 110

Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys
115 120 125

Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr
130 135 140

Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser
145 150 155 160

Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly
165 170 175

Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr
180 185 190

Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala
195 200 205

Phe Leu Val Gly
210

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

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 102
Gly Pro Ser Gln Pro Thr Tyr Pro Gly Asp Asp Ala Pro Val Glu Asp
1 5 10 15

Leu Ile Arg Phe Val Gly Arg Leu Leu Ala Tyr Phe Gly Asp Thr Ile

5

10

ES 2 531 288 T3

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

<210> 103
<211> 247
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 103
Gly Pro Ser Gln Pro Thr Tyr Pro Gly Asp Asp Ala Pro Val Glu Asp
1 5 10 15

5

10

ES 2 531 288 T3

Leu Ile Arg Phe Val Gly Arg Leu Leu Ala Tyr Phe Gly Asp Thr Ile
 20 25 30

Asn Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly
 35 40 45

Leu Ala Gly Gly Cys Ala Ala Ala Cys Ala Ala Cys Thr Ser Glu Glu
 50 55 60

Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val
 65 70 75 80

Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg
 85 90 95

Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala
 100 105 110

Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser
 115 120 125

Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu
 130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu
 145 150 155 160

Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile
 165 170 175

Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala
 180 185 190

Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile
 195 200 205

Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val
 210 215 220

Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe
 225 230 235 240

Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 245

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

<220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 104

Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr
 1 5 10 15

Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys
 20 25 30

Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His
 35 40 45

Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His
 50 55 60

Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln
 65 70 75 80

Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr
 85 90 95

Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser
 100 105 110

Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser
 115 120 125

Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe
 130 135 140

Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser
 145 150 155 160

Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val
 165 170 175

Val Arg Gly Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Gly Asp Asp Ala Pro Val
 180 185 190

Glu Asp Leu Ile Arg Phe Val Gly Arg Leu Leu Ala Tyr Phe Gly Asp
 195 200 205

Thr Ile Asn Arg
 210

<210> 105

<211> 221

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 105

Arg Thr His Ile Asn Thr Val Val Ala Lys Ile Gln Ala Lys Ile Pro
 1 5 10 15

Gly Ala Lys Arg His Ala Glu Glu Glu Glu Ala Ala Gly Arg Lys Arg
 20 25 30

Lys Lys Arg Thr Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Gly Gly
 35 40 45

Cys Ala Ala Ala Cys Ala Ala Cys Gly Gly Gly Gln Arg Val Ala Ala
 50 55 60

His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn
 65 70 75 80

Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser
 85 90 95

Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly
 100 105 110

Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr
 115 120 125

Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys
 130 135 140

Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile
 145 150 155 160

Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu
 165 170 175

Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu
 180 185 190

Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met
 195 200 205

Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 210 215 220

<210> 106

<211> 435

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 106

Ala Glu Pro Ser Ala Ala Thr Gln Ser His Ser Ile Ser Ser Ser Ser
 1 5 10 15

Phe Gly Ala Glu Pro Ser Ala Pro Gly Gly Gly Gly Ser Pro Gly Ala
 20 25 30

Cys Pro Ala Leu Gly Thr Lys Ser Cys Ser Ser Ser Cys Ala Val His
 35 40 45

Asp Leu Ile Phe Trp Arg Asp Val Lys Lys Thr Gly Phe Val Phe Gly
 50 55 60

Thr Thr Leu Ile Met Leu Leu Ser Leu Ala Ala Phe Ser Val Ile Ser
 65 70 75 80

Val Val Ser Tyr Leu Ile Leu Ala Leu Leu Ser Val Thr Ile Ser Phe
 85 90 95

Arg Ile Tyr Lys Ser Val Ile Gln Ala Val Gln Lys Ser Glu Glu Gly
 100 105 110

His Pro Phe Lys Ala Tyr Leu Asp Val Asp Ile Thr Leu Ser Ser Glu
 115 120 125

Ala Phe His Asn Tyr Met Asn Ala Ala Met Val His Ile Asn Arg Ala
 130 135 140

Leu Lys Leu Ile Ile Arg Leu Phe Leu Val Glu Asp Leu Val Asp Ser
 145 150 155 160

Leu Lys Leu Ala Val Phe Met Trp Leu Met Thr Tyr Val Gly Ala Val
 165 170 175

Phe Asn Gly Ile Thr Leu Leu Ile Leu Ala Glu Leu Leu Ile Phe Ser
 180 185 190

Val Pro Ile Val Tyr Glu Lys Tyr Lys Thr Gln Ile Asp His Tyr Val
 195 200 205

Gly Ile Ala Arg Asp Gln Thr Lys Ser Ile Val Glu Lys Ile Gln Ala
 210 215 220

Lys Leu Pro Gly Ile Ala Lys Lys Lys Ala Glu Arg Arg Arg Arg Arg
 225 230 235 240

ES 2 531 288 T3

Arg Arg Arg Gly Gly Ser Gly Gly Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu
 245 250 255

Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Cys Ala Ala Glu Cys Ala Ala Ala Cys
 260 265 270

Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn
 275 280 285

Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys
 290 295 300

Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn
 305 310 315 320

Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr
 325 330 335

Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu
 340 345 350

Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr
 355 360 365

Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys
 370 375 380

Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly
 385 390 395 400

Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn
 405 410 415

Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe
 420 425 430

Leu Val Gly
 435

<210> 107
 <211> 580
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 107
 Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu

5

10

ES 2 531 288 T3

Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Gly
 275 280 285

Pro Ala Asp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Met Ile Glu Thr Asp Ser
 290 295 300

Gly Val Asp Asp Asp Met Ala Cys His Lys Ile Pro Val Asp Ala Asp
 305 310 315 320

Phe Leu Tyr Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Gly Tyr Tyr Ser Trp Arg Asn
 325 330 335

Ser Lys Asp Gly Ser Trp Phe Ile Gln Ser Leu Cys Ala Met Leu Lys
 340 345 350

Gln Tyr Ala Asp Lys Leu Glu Phe Met His Ile Leu Thr Arg Val Asn
 355 360 365

Arg Lys Val Ala Thr Glu Phe Glu Ser Phe Ser Phe Asp Ala Thr Phe
 370 375 380

His Ala Lys Lys Gln Ile Pro Cys Ile Val Ser Met Leu Thr Lys Glu
 385 390 395 400

Leu Tyr Phe Tyr His Asp Val Asp Gly Met Glu Asn Thr Glu Asn Ser
 405 410 415

Val Asp Ser Lys Ser Ile Lys Asn Leu Glu Pro Lys Ile Ile His Gly
 420 425 430

Ser Glu Ser Met Asp Ser Gly Met Ser Trp Asp Thr Gly Tyr Lys Met
 435 440 445

Asp Tyr Pro Glu Met Gly Leu Cys Ile Ile Ile Asn Asn Lys Asn Phe
 450 455 460

His Lys Ser Thr Gly Met Thr Ser Arg Ser Gly Thr Asp Val Asp Ala
 465 470 475 480

Ala Asn Leu Arg Glu Thr Phe Arg Asn Leu Lys Tyr Glu Val Arg Asn
 485 490 495

Lys Asn Asp Leu Thr Arg Glu Glu Ile Val Glu Leu Met Arg Asp Val
 500 505 510

Ser Lys Glu Asp His Ser Lys Arg Ser Ser Phe Val Cys Val Leu Leu
 515 520 525

ES 2 531 288 T3

Ser His Gly Glu Glu Gly Ile Ile Phe Gly Thr Asn Gly Pro Val Asp
530 535 540

Leu Lys Lys Ile Thr Asn Phe Phe Arg Gly Asp Arg Cys Arg Ser Leu
545 550 555 560

Thr Gly Lys Pro Lys Leu Phe Ile Ile Gln Ala Cys Arg Gly Thr Glu
565 570 575

Leu Asp Cys Gly
580

<210> 108

<211> 247

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 108

Ala Arg Lys Gly Lys Gly Gln Ile Glu Lys Arg Lys Leu Arg Glu Lys
1 5 10 15

Arg Arg Ser Thr Gly Val Val Asn Ile Pro Ala Ala Glu Cys Leu Asp
20 25 30

Glu Tyr Glu Asp Asp Glu Ala Gly Gln Lys Glu Arg Lys Arg Glu Asp
35 40 45

Ala Ile Thr Gln Gln Asn Thr Ile Gln Asn Glu Ala Arg Arg Arg Arg
50 55 60

Arg Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Gln Gly Gly
65 70 75 80

Ser Gly Gly Ser Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg
85 90 95

Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala
100 105 110

Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser
115 120 125

Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu
145 150 155 160

Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile
 165 170 175

Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala
 180 185 190

Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile
 195 200 205

Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val
 210 215 220

Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe
 225 230 235 240

Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 245

<210> 109
 <211> 260
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 109
 Glu Glu Glu Ala Ala Gly Arg Lys Arg Lys Lys Arg Thr Ala Arg Lys
 1 5 10 15

Gly Lys Gly Gln Ile Glu Lys Arg Lys Leu Arg Glu Lys Arg Arg Ser
 20 25 30

Thr Gly Val Val Asn Ile Pro Ala Ala Glu Cys Leu Asp Glu Tyr Glu
 35 40 45

Asp Asp Glu Ala Gly Gln Lys Glu Arg Lys Arg Glu Asp Ala Ile Thr
 50 55 60

Gln Gln Asn Thr Ile Gln Asn Glu Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 65 70 75 80

Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Gln Gly Gly Ser Gly Gly
 85 90 95

Ser Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser
 100 105 110

10

Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg

ES 2 531 288 T3

115 120 125

Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser
 130 135 140

Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe
 145 150 155 160

Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys
 165 170 175

Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr
 180 185 190

Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser
 195 200 205

Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly
 210 215 220

Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr
 225 230 235 240

Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala
 245 250 255

Phe Leu Val Gly
 260

<210> 110
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 110
 Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile
 1 5 10 15

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

Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys
 35 40 45

Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg
 50 55 60

5

10

ES 2 531 288 T3

Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu
65 70 75 80

Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe
85 90 95

Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met
100 105 110

Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu
115 120 125

Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly
130 135 140

Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp
145 150 155 160

Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His
165 170 175

Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly Gly Gly Ser Gly Cys
180 185 190

Ala Ala Cys Ala Ala Ala Cys Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val
195 200 205

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Met Pro Gly Lys Lys Ala Arg Lys
210 215 220

Asn Ala Gln Pro Ser Pro Ala Arg Ala Pro Ala Glu Leu Glu Val Glu
225 230 235 240

Cys Ala Thr Gln Leu Arg Arg Phe Gly Asp Lys Leu Asn Phe Arg Gln
245 250 255

Lys Leu Leu Asn Leu Ile Ser Lys Leu Phe Cys Ser Gly Thr
260 265 270

<210> 111

<211> 207

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 111

Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr
1 5 10 15

5

10

ES 2 531 288 T3

Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys
 20 25 30

Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His
 35 40 45

Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His
 50 55 60

Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln
 65 70 75 80

Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr
 85 90 95

Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser
 100 105 110

Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser
 115 120 125

Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe
 130 135 140

Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser
 145 150 155 160

Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly Gly Gly Ser Gly Cys Ala Ala Cys
 165 170 175

Ala Ala Ala Cys Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val Arg Arg Arg
 180 185 190

Arg Arg Arg Arg Arg Lys Leu Leu Asn Leu Ile Ser Lys Leu Phe
 195 200 205

<210> 112
 <211> 311
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 112
 Gln Asp Trp Leu Thr Phe Gln Lys Lys His Ile Thr Asn Thr Arg Asp
 1 5 10 15

Val Asp Cys Asp Asn Ile Met Ser Thr Asn Leu Phe His Cys Lys Asp
 20 25 30

5

10

ES 2 531 288 T3

Lys Asn Thr Phe Ile Tyr Ser Arg Pro Glu Pro Val Lys Ala Ile Cys
 35 40 45

Lys Gly Ile Ile Ala Ser Lys Asn Val Leu Thr Thr Ser Glu Phe Tyr
 50 55 60

Leu Ser Asp Cys Asn Val Thr Ser Arg Pro Cys Lys Tyr Lys Leu Lys
 65 70 75 80

Lys Ser Thr Asn Lys Phe Cys Val Thr Cys Glu Asn Gln Ala Pro Val
 85 90 95

His Phe Val Gly Val Gly Ser Cys Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu
 100 105 110

Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Ser Glu Glu
 115 120 125

Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val
 130 135 140

Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg
 145 150 155 160

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

Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser
 180 185 190

Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu
 195 200 205

Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu
 210 215 220

Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile
 225 230 235 240

Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala
 245 250 255

Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile
 260 265 270

Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val
 275 280 285

Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe
 290 295 300

Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 305 310

<210> 113
 <211> 230

ES 2 531 288 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

5

<400> 113

Glu Glu Gln Trp Ala Arg Glu Ile Gly Ala Gln Leu Arg Arg Met Ala
 1 5 10 15

Asp Asp Leu Asn Ala Gln Tyr Glu Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 20 25 30

Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Thr Ser Glu Glu Thr
 35 40 45

Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg
 50 55 60

Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly
 65 70 75 80

Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu
 85 90 95

Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe
 100 105 110

Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys
 115 120 125

Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu
 130 135 140

Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr
 145 150 155 160

Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg
 165 170 175

Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr
 180 185 190

Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser
 195 200 205

Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe
 210 215 220

Gly Ala Phe Leu Val Gly
 225 230

10

<210> 114
 <211> 225
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

ES 2 531 288 T3

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 114

Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile
 1 5 10 15

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

Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys
 35 40 45

Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg
 50 55 60

Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu
 65 70 75 80

Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe
 85 90 95

Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met
 100 105 110

Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu
 115 120 125

Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly
 130 135 140

Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp
 145 150 155 160

Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His
 165 170 175

Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly Cys Ala Ala Cys Ala
 180 185 190

Ala Ala Cys Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val Arg Asn Ile Ala
 195 200 205

Arg His Leu Ala Gln Val Gly Asp Ser Met Asp Lys Pro Arg Arg Pro
 210 215 220

Tyr
 225

<210> 115

<211> 234

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

10

ES 2 531 288 T3

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 115

Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile
 1 5 10 15

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

Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys
 35 40 45

Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg
 50 55 60

Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu
 65 70 75 80

Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe
 85 90 95

Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met
 100 105 110

Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu
 115 120 125

Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly
 130 135 140

Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp
 145 150 155 160

Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His
 165 170 175

Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly Cys Ala Ala Cys Ala
 180 185 190

Ala Ala Cys Gly Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Val Arg Gln
 195 200 205

Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys Lys Ala
 210 215 220

Tyr Ala Ala Ala Gly Asn Ser Tyr Phe Lys
 225 230

5

10

<210> 116

<211> 216

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 116

Phe Ile Ser Lys Glu Arg Arg Glu Arg Ala Ile Leu Ser Thr Lys Pro
 1 5 10 15

Pro Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Glu Ser Ser Lys Arg Val Val
 20 25 30

Arg Pro Leu Gly Ile Ala Gly Glu Gly Gly Gly Cys Ala Ala Ala Cys
 35 40 45

Ala Ala Cys Gly Ser Gly Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr
 50 55 60

Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys
 65 70 75 80

Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His
 85 90 95

Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His
 100 105 110

Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln
 115 120 125

Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr
 130 135 140

Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser
 145 150 155 160

Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser
 165 170 175

Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe
 180 185 190

Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser
 195 200 205

Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 210 215

5 <210> 117
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 117

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

Val Gly

5

<210> 118
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 118

Lys Asn Leu Trp Ala Ala Gln Arg Tyr Gly Arg Glu Leu Arg Arg Met
 1 5 10 15

Ser Asp Glu Phe Glu Gly Ser Phe Lys Gly Leu Arg Arg Arg Arg Arg
 20 25 30

Arg Arg Arg Arg Val Val Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Arg Val Ala
 35 40 45

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

Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu
 65 70 75 80

Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn
 85 90 95

Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln
 100 105 110

Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp
 115 120 125

Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro
 130 135 140

Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala
 145 150 155 160

Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys
 165 170 175

Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp
 180 185 190

Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly Gly Gly
 195 200 205

Ser His Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser
 210 215 220

Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro Leu Val Arg Glu Arg
 225 230 235 240

Gly Pro Gln

5

<210> 119

<211> 236

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 531 288 T3

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 119

Thr Ser Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile
 1 5 10 15

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

Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys
 35 40 45

Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg
 50 55 60

Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu
 65 70 75 80

Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe
 85 90 95

Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met
 100 105 110

Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu
 115 120 125

Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly
 130 135 140

Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp
 145 150 155 160

Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His
 165 170 175

Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly Gly Gly Ser Pro Leu
 180 185 190

Gly Leu Ala Gly Cys Arg Val Val Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 195 200 205

Arg Lys Asn Leu Trp Ala Ala Gln Arg Tyr Gly Arg Glu Leu Arg Arg
 210 215 220

Met Ser Asp Glu Phe Glu Gly Ser Phe Lys Gly Leu
 225 230 235

<210> 120

<211> 216

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión

5

10

ES 2 531 288 T3

<400> 120

Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn
 20 25 30

Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His
 35 40 45

Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile
 50 55 60

Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr
 65 70 75 80

Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr
 85 90 95

Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser
 100 105 110

Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe
 115 120 125

Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His
 130 135 140

Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Pro Leu Gly Leu Ala Gly
 165 170 175

Arg Val Val Arg Lys Phe Glu Pro Lys Ser Gly Trp Met Thr Phe Leu
 180 185 190

Glu Val Thr Gly Lys Ile Cys Glu Met Leu Ser Leu Leu Lys Gln Tyr
 195 200 205

Cys Lys Pro Arg Arg Pro Tyr Arg
 210 215

5

<210> 121
 <211> 237
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 121

Arg Val Ser Phe Cys Arg Pro Gly Trp Ser Ala Met Ala Arg Ser Arg
 1 5 10 15

Leu Thr Ala Thr Ser Val Ser Gln Val Gln Glu Asn Gly Phe Val Lys
 20 25 30

Lys Phe Glu Pro Lys Ser Gly Trp Met Thr Phe Leu Glu Val Thr Gly
 35 40 45

Lys Ile Cys Glu Met Leu Ser Leu Leu Lys Gln Tyr Cys Arg Val Val
 50 55 60

Arg Pro Leu Gly Leu Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Arg Val Ala Ala
 65 70 75 80

His Ile Thr Gly Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn
 85 90 95

Ser Lys Asn Glu Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser
 100 105 110

Ser Arg Ser Gly His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly
 115 120 125

Glu Leu Val Ile His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr
 130 135 140

Tyr Phe Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys
 145 150 155 160

Gln Met Val Gln Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile
 165 170 175

Leu Leu Met Lys Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu
 180 185 190

Tyr Gly Leu Tyr Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu
 195 200 205

Asn Asp Arg Ile Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met
 210 215 220

Asp His Glu Ala Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
 225 230 235

5

<210> 122

<211> 1377

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 122
 ggttgtgcag cagcatgtgc agcctgtacc agcgaagaaa ccattagcac cgttcaagaa 60
 aaacagcaga atattagtcg gctggttcgt gaacgtggtc cgcagcgtgt tgcagcacat 120
 attacggca cccgtggtcg tagcaatacc ctgagcagcc cgaatagcaa aaatgaaaaa 180
 gccctgggtc gcaaaattaa cagctgggaa agcagccgta gcggtcatag ctttctgagc 240
 aatctgcata tgcgtaatgg tgaactgggtg attcacgaga aaggcttcta ttatatctat 300
 agccagacct atttccgctt ccaagaagag atcaaagaga acaccaaaaa cgacaaacaa 360
 atggtgcagt acatctataa atacaccagc tatccggatc cgattctgct gatgaaaagc 420
 gcacgtaata gctgttgag caaagatgca gaatatggcc tgtatagcat ctatcagggt 480
 ggcatttttg aactgaaaga aaacgatcgc atcttttga gcgtgaccaa tgaacatctg 540
 attgatatgg atcacgaagc cagctttttt ggtgcatttc tggttgggtg tgggtgtagc 600
 gcaagcgggt gtggtccgga acgtaaaaaa cgtgcaagcg gtggtccgga aggtggtagt 660
 ctggcagcac tgaccgcaca tcaggcatgt catctgccgc tggaaacctt taccgctcat 720
 cgtcagcctc gtggttggga acagctggaa cagtgtgggt atccggttca gcgtctggtt 780
 gcactgtatc tggcagctcg tctgagctgg aatcagggtg atcaggttat tctgtaatgca 840
 ctggcaagtc cgggtagcgg tggcagatctg ggtgaagcaa ttcgtgaaca gccggaacag 900
 gcacgtctgg cactgacctt ggcagcagca gaaagcgaac gttttgttcg tcaaggcacc 960
 ggtaatggtg gtggcggtag tgggtgggtg tcaaaagaaa ccgcagcagc caaatttgaa 1020
 cgtcagcaca tggatagcag caccagcgca gcaagcagca gcaattattg caatcagatg 1080
 atgaaaagcc gcaatctgac caaagatcgt tgtaaaccgg tgaatacctt tgttcatgaa 1140
 agcctggcag atgttcaggc agtttgcagc cagaaaaatg tggcctgtaa aaatggtcag 1200
 accaattgct atcagagcta tagcaccatg agcattaccg attgtcgtga aaccggtagc 1260
 agcaaatatc cgaattgccc ctataaaacc acccaggcca ataaacatat tattgtggcc 1320
 tgtgaaggca atccgtatgt tccggttcat tttgatgcca gcgtgaaaga tgaactg 1377

5 <210> 123
 <211> 639
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 123
 ttttagccgta gcctgcatag cctgctgcgt cgtcgtcgcc gtcgtcggcg tgttgttcgt 60
 ccgctgggtc tggcaggcac cagcgaagaa accattagca ccgttcaaga aaaacagcag 120
 aatattagtc cgctggttcg tgaacgtggt ccgcagcgtg ttgcagcaca tattaccggc 180
 acccgtggtc gtagcaatac cctgagcagc ccgaatagca aaaatgaaaa agccctgggt 240
 cgcaaaatta acagctggga aagcagccgt agcggtcata gctttctgag caatctgcat 300
 ctgctgaatg gtgaactggt gattcacgag aaaggcttct attatatcta tagccagacc 360
 tatttccgct tccaagaaga gatcaaagag aacaccaaaa acgacaaaca aatgggtgcag 420
 tacatctata aatacaccag ctatccggat ccgattctgc tgatgaaaag cgcacgtaat 480
 agctgttggg gcaaagatgc agaatatggc ctgtatagca tctatcaggg tggcattttt 540
 gaactgaaag aaaacgatcg catctttgtg agcgtgacca atgaacatct gattgatatg 600
 gatcacgaag ccagcttttt tggtccttt ctggttggt 639

5

<210> 124
 <211> 612
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

<400> 124
 ctgtctaccg cagcagatat gcaggggtgt gttaccgatg gtatggcaag cggctctggat 60
 aaagattatc tgaaaccgga tgatccgctg ggtctggcag gtcgtgttgt tcgtgaacgt 120
 ggtccgcagc gtgttgcagc acatattacc ggcaccctg gtcgtagcaa taccctgagc 180
 agcccgaata gcaaaaatga aaaagccctg ggtcgcaaaa ttaatagctg ggaaagcagc 240
 cgtagcggtc atagctttct gagcaatctg catctgcgta atggtgaact ggtgattcat 300
 gaaaaaggct tttattatat ttatagccag acctattttc gctttcagga agaaattaa 360
 gaaaacacca aaaatgataa acaaatggtg cagtatatct ataaatatac cagctatccg 420
 gatccgattc tgctgatgaa aagcgcacgt aatagctgtt ggagcaaaga tgcagaatat 480
 ggcctgtata gcatttatca ggtggcatt tttgaactga aagaaaatga tcgcattttt 540
 gtgagcgtga ccaatgaaca tctgattgat atggatcatg aagccagctt ttttgggtgca 600
 tttctggttg gt 612

10

<210> 125
 <211> 615
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 125
cagcgtgttg cagcacatat taccggcacc cgtggtcgta gcaataccct gagcagcccc 60
aatagcaaaa atgaaaaagc actgggtcgc aaaattaaca gctgggaaag cagccgtagc 120
ggcatagct ttctgagcaa tctgcatctg cgtaatggtg aactggtgat tcatgaaaaa 180
ggcttctact atatctacag ccagacctat ttctgcttcc aagaagagat taaagaaaac 240
acaaaaacg ataaacaaat ggtgcagtac atctataaat acaccagcta tccggatccg 300
attctgctga tgaaaagcgc acgtaatagc tgttggagca aagatgcaga atatggcctg 360
tatagcattt atcaggggtg catctttgaa ctgaaagaaa acgatcgtat ttctgtgagc 420
gtgaccaatg aacatctgat cgatatggat catgaagcca gcttttttgg tgcatttctg 480
gtgggtggtg gtggtagccg taaaaaacgt gttaaacgtc tgagcaccgc agcagatatg 540
caggggtgtg ttaccgatgg tatggcaagc ggtctggata aagattatct gaaaccggat 600
gataaagatg aactg 615

<210> 126
<211> 621
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 126
cagcgtgttg cagcacatat taccggcacc cgtggtcgta gcaataccct gagcagcccc 60
aatagcaaaa atgaaaaagc actgggtcgc aaaatcaata gctgggaaag cagccgtagc 120
ggcatagct ttctgagcaa tctgcatctg cgtaatggtg aactggtgat tcatgaaaaa 180
ggcttttatt atatttatag ccagacctat ttctgcttcc aagaagagat taaagaaaat 240
acaaaaatg ataaacaaat ggtgcagtac atttataaat ataccagcta tccggacccg 300
attctgctga tgaaaagcgc acgtaatagc tgttggagca aagatgcaga atatggtctg 360
tatagcattt atcaggggtg catctttgag ctgaaagaaa atgatcgcct ctttgttagc 420
gtgaccaacg aacatctgat cgatatggat catgaagcca gcttttttgg tgcatttctg 480
gttgggtggtg gtggtagcgg tgggtggtccg ctgggtctgg caggtcgtgt tgttcgtctg 540
agcaccgcag cagatatgca ggggtgtggt accgatggta tggcaagcgg tctggataaa 600
gattatctga aaccggatga t 621

10

<210> 127
<211> 981
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

15

<220>
<223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 127
cagcgtgttg cagcacatat tacccggcacc cgtgggtcgta gcaataccct gagcagcccg 60
aatagcaaaa atgaaaaagc actgggtcgc aaaatcaata gctgggaaag cagccgtagc 120
ggtcatagct ttctgagcaa tctgcatctg cgtaatgggt aactgggtgat tcatgaaaaa 180
ggcttttatt atatttatag ccagacctat ttctgctttc aagaagagat taaagaaaat 240
acaaaaatg ataaacaaat ggtgcagtac atttataaat ataccagcta tccggaccgg 300
attctgctga tgaaaagcgc acgtaatagc tgttgaggca aagatgcaga atatggctcg 360
tatagcattt atcaggggtg catctttgag ctgaaagaaa atgatcgcat ctttgttagc 420
gtgaccaacg aacatctgat cgatatggat catgaagcca gcttttttgg tgcatttctg 480
gttggtggtg gtggtagcgg tgggtggtccg ctgggtctgg caggctcgtg tgttcgtatg 540
ctgcgtaaac tggcagcagt tagcctgctg agtctgctga ggcaccgct gctggcagca 600
gaatgtagcg ttgatattca ggtaatgat cagatgcagt ttaacaccaa tgccattacc 660
gttgacaaaa gctgtaaaaa gttaccgtg aatctgagcc atccgggtaa tctgccgaaa 720
aatgttatgg gtcataattg ggttctgagc accgcagcag atatgcaggg tgttgttacc 780
gatggtatgg caagcggctc ggataaagat tatctgaaac cggatgatag ccgtgttatt 840
gcacatacca aactgattgg tagcgggtgaa aaagatagcg ttacctttga tgtgagcaaa 900
ctgaaagaag gcgagcagta tatgttcttt tgtacctttc cgggtcatag cgcactgatg 960
aaaggcaccg tgaccctgaa a 981

5 <210> 128
<211> 579
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> proteína de fusión

<400> 128
gcagttccga ttgcacagaa acccggctcgt cgtcgtcgcc gtcggcgtgt tgttcgtccg 60
ctgggtctgg caggcgttcg tgaacgtggt ccgcagcgtg ttgcagcaca tattaccggc 120
accctgggtc gtagcaatac cctgagcagc ccgaatagca aaaatgaaaa agcactgggt 180
cgcaaaatca atagctggga aagcagccgt agcggtcata gctttctgag caatctgcat 240
ctgcgtaatg gtgaactggt gattcatgaa aaaggctttt attatattta tagccagacc 300
tattttcgtt ttcaagaaga gattaaagaa aatacaaaaa atgataaaca aatgggtgcag 360
tatatctata aatataccag ctatccggac ccgattctgc tgatgaaaag cgcacgtaat 420
agctgttggg gcaaagatgc agaatatggt ctgtatagca tttatcaggg tggcatcttt 480
gagctgaaag aaaatgatcg catctttggt agcgtgacca acgaacatct gatcgatag 540
gatcatgaag ccagcttttt tgggtcattt ctggttggg 579

15 <210> 129
<211> 663
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 129
gcagttccga ttgcacagaa accgcgctgt cgtcgtcgcc gtcggcgtgt tgttcgtccg 60
ctgggtctgg caggcggttg tgcagcagca tgtgcagcct gtaccagcga agaaaccatt 120
agcaccgttc aagaaaaaca gcagaatatt agtccgctgg ttcgtgaacg tgggccgcag 180
cgttgtgcag cacatattac cggcaccctgt ggtcgtagca atacctgag cagcccgaat 240
agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa atcaatagct gggaaagcag ccgtagcggc 300
catagcttcc tgagcaatct gcatctgctg aatgggtgaac tgggtgattca tgaaaaaggc 360
ttctactata tctatagcca gacctatttc cgcttccaag aagaaatcaa agaaaatacc 420
aaaaatgata aacaaatggt gcagtatatt tacaatatata ccagctatcc ggatccgatt 480
5 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaag atgcagaata tggctctgat 540
agcatttacc aggggtggcat ctttgagctg aaagaaaatg atcgcatctt tgttagcgtg 600
accaacgaac atctgatcga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctgggtg 660
ggt 663

<210> 130
<211> 636
<212> ADN
10 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 130
gcagttccga ttgcacagaa accgcgctgt cgtcgtcgcc gtcggcgtgt tgttcgtccg 60
ctgggtctgg caggcaccag tgaagaaacc attagcaccg ttcaagaaaa acagcagaat 120
attagtcggc tggttcgtga acgtggctccg cagcgtggtg cagcacatat taccggcacc 180
cgtggctgta gcaataccct gagcagcccg aatagcaaaa atgaaaaagc actgggtcgc 240
aaaatcaata gctgggaaag cagccgtagc ggtcatagct ttctgagcaa tctgcatctg 300
cgtaatggtg aactggtgat tcatgaaaaa ggcttctact atatctacag ccagacctat 360
tttcgcttcc aagaagaaat caaagagaac accaaaaacg acaaacaaat ggtgcagtac 420
atctacaaat ataccagcta tccggatccg attctgctga tgaaaagcgc acgtaatagc 480
tgttgagca aagatgcaga atatggtctg tatagcattt atcagggtgg catctttgag 540
ctgaaagaaa atgatcgcat ctttggttagc gtgaccaacg aacatctgat cgatatggat 600
catgaagcca gcttttttgg tgcatttctg gtgggt 636

<210> 131
<211> 636
<212> ADN
15 <213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 131
 ggtccgagcc agccgaccta tccgggtgat gatgcaccgg ttgaagatct gattcgtttt 60
 gttggtcgtc tgctggcata ttttggcgat accattaatc gtcgtcgtag acgtcgtcgg 120
 cgtcgtgttg ttcgtccgct gggctctggca ggtcgtgttg cagcacatat taccggcacc 180
 cgtggtcgtc gcaataccct gacgagccc aatagcaaaa atgaaaaagc actgggtcgc 240
 aaaatcaata gctgggaaag cagccgtagc ggtcatagct ttctgagcaa tctgcatctg 300
 cgtaatggtg aactggtgat tcatgaaaaa ggctttttatt atatttatag ccagacctat 360
 tttcgttttc aagaagagat taaagaaaat accaaaaatg ataaacaaat ggtgcagtat 420
 atctataaat ataccagcta tccggaccgg attctgctga tgaaaagcgc acgtaatagc 480
 tgttgagca aagatgcaga atatggtctg tatagcattt atcaggggtg catctttgag 540
 ctgaaagaaa atgatcgc atttgttagc gtgaccaacg aacatctgat cgatatggat 600
 catgaagcca gcttttttgg tgcatttctg gtgggt 636

5 <210> 132
 <211> 741
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> proteína de fusión

<400> 132
 ggtccgagcc agccgaccta tccgggtgat gatgcaccgg ttgaagatct gattcgtttt 60
 gttggtcgtc tgctggcata ttttggcgat accattaatc gtcgtcgtc cgtcgttaga 120
 cgtcgtgttg ttcgtccgct gggctctggca ggcggtgtg cagcagcatg tgcagcctgt 180
 accagcgaag aaaccattag caccgttcaa gaaaaacagc agaatattag tccgctggtt 240
 cgtgaacgtg gtccgcagcg ttgtgcagca catattaccg gcaccctgg tctgtagcaat 300
 accctgagca gcccgaaatag caaaaatgaa aaagcactgg gtcgcaaaat caatagctgg 360
 gaaagcagcc gtagcgtca tagctttctg agcaatctgc atctgcgtaa tggatgaactg 420
 gtgattcatg aaaaaggctt ctactatata tatagccaga cctatttccg cttccaagaa 480
 gaaatcaaag aaaataccaa aatgataaa caaatggtgc agtatattta caaatatacc 540
 agctatccgg atccgattct gctgatgaaa agcgcacgta atagctgttg gagcaaagat 600
 gcagaatatg gtctgtatag catttatcag ggtggcatct ttgagctgaa agaaaatgat 660
 cgcattcttg ttagcgtgac caacgaacat ctgatcgata tggatcatga agccagcttt 720
 tttggtgcat ttctggtggg t 741

15 <210> 133
 <211> 686
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 133
 ggtccgagcc agccgaccta tccgggtgat gatgcaccgg ttgaagatct gttcgtgaac 60
 gtggtccgca gcgtgttgca gcacatatta ccggcaccgg ttggtcgtagc aataccctga 120
 gcagcccga tagcaaaaat gaaaaagcac tgggtcgcaa aatcaatagc tgggaaagca 180
 gccgtagcgg tcatagcttt ctgagcaatc tgcactctgg taatggtgaa ctggtgattc 240
 atgaaaaagg cttttattat atttatagcc agacctatct tcgctttcaa gaagagatta 300
 aagaaaatac caaaaatgat aaacaaatgg tgcagtatat ctataaatat accagctatc 360
 cggaccgat tctgctgatg aaaagcgcac gtaatagctg ttggagcaaa gatgcagaat 420
 atggtctgta tagcatttat cagggtggca tctttgagct gaaagaaaat gatcgcactc 480
 ttggttagcgt gaccaacgaa catctgatcg atatggatca tgaagccagc ttttttggtg 540
 ctttctggt ttggtccgctg ggtctggcag gtcgtgttgt tcgtggtccg cgtcgtcctc 600
 gtcgtccggg tgatgatgca ccggttgaag atctgattcg ttttgttggc cgtctgctgg 660
 catattttgg cgataccatt aaccgc 686

5 <210> 134
 <211> 663
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> proteína de fusión

<400> 134
 cgcaccata ttaacaccgt tgttgcaaaa attcaggcca aaattccggg tgcaaaacgt 60
 catgccgaag aagaagaggc agcaggtcgt aaacgtaaaa aacgtaccgg tgttggtcgt 120
 ccgctgggtc tggcaggcgg tggttgtgca gcagcatgtg cagcctgtgg ttggtggtcag 180
 cgtggtgag cacatattac cggcaccctg ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 240
 agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaacagct gggaaagcag ccgtagcggc 300
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaa ttggtgattca tgaaaaaggc 360
 ttctactata tctacagcca gacctatctt cgcttccaag aagagattaa agaaaaacacc 420
 aaaaacgata aacaaatggt gcagtacatc tataaatata ccagctatcc ggatccgatt 480
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggcctgtat 540
 agcatttata agggtggcat ctttgaactg aaagaaaacg atcgtatctt cgtgagcgtg 600
 accaatgaac atctgatcga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtg 660
 ggt 663

15 <210> 135
 <211> 1305
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 135
gcagaaccga ggcgagcaac ccagagccat agcattagca gcagcagctt tgggtgcagaa 60
ccgtcagcac cgggtggtgg tggtagtccg ggtgcatgtc cggcactggg caccaaaagc 120
tgtagcagca gttgtgcagt tcatgatctg attttttggc gtgacgtgaa aaaaaccggc 180
tttgtttttg gcaccaccct gattatgctg ctgagcctgg cagcatttag cgttattagc 240
gttgtgagct atctgattct ggcaactgctg agcgttacca ttagctttcg tatctataaa 300
agcgttattc aggccgtgca gaaaagcgaa gaaggtcac cgtttaaagc atatctggat 360
gttgatatta ccctgagcag cgaagcattt cacaattata tgaatgcagc catggtgcac 420
attaatcgtg ccctgaaact gattattcgt ctgtttctgg ttgaagatct ggtggatagt 480
ctgaaactgg cagtttttat gtggctgatg acctatgttg gtgccgtggt taatggcatt 540
accctgctga tcctggccga actgctgatt tttagcgttc cgattgtgta tgaaaaatac 600
aaaaccgaga tcgatcacta tgtgggtatt gcacgtgatc agaccaaaag cattgtggaa 660
aaaattcagg caaaactgcc tgggatcgca aaaaaaaaaag cagaacgtcg tcgtcgccgt 720
cgtcggcgtg gtggttcagg tggctgtggt gttcgtccgc tgggtctggc aggcgggtgt 780
agcgggtggt gtgcagcaga atgtgcagcc gcattgtccgc agcgtggtgc agcacatatt 840
accggcacc cgtggtcgtag caataccctg agtagcccg atagcaaaaa tgaaaaagca 900
ctgggtcgta aatcaacag ctgggaaagc agccgtagcg gtcattagctt tctgagcaat 960
ctgcatctgc gtaatggtga actggtgatt catgaaaaag gcttctacta tatctacagc 1020
cagacctatt ttcgcttcca agaagagatt aaagaaaaca ccaaaaacga taacaaatg 1080
gtgcagtaca tctataaata caccagctat ccggatccga ttctgctgat gaaaagcgca 1140
cgtaatagct gttgagcaa agatgcagaa tatggcctgt atagcattta ccagggtggt 1200
atctttgaac tgaaagaaa cgatcgatt tttgtgagcg tgaccaatga acatctgatc 1260
gatatggatc atgaagccag cttttttggt gcatttctgg tgggt 1305

5 <210> 136
<211> 1740
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 136
cgtgtggcag cacatattac cggcaccogt ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat 60
agcaaaaatg aaaaagcaact gggtcgcaaa atcaatagct gggaaagcag ccgtagcgggt 120
catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tggtgattca tgaaaaaggc 180
ttttattata tttatagcca gacctatfff cgctttcaag aagagattaa agaaaatacc 240
aaaaatgata acaaatggt gcagtacatc tataaatata ccagctatcc ggacccgatt 300
ctgctgatga aaagcgcaag taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggctctgtat 360
agcatttatc aggggtggcat ctttgagctg aaagaaaatg atcgcatctt tgttagcgtg 420
accaacgaac atctgatoga tatggatcat gaagccagct tttttggtgc atttctggtt 480
gggtggtggtg gtagccgtaa aaaacgtgca agcgggtggtc cggaaggtgg tagcctggca 540
gcactgaccg cacatcaggc atgtcatctg ccgctggaaa cctttaccg tcatcgtcag 600
cctcgtggtt gggaaacagct ggaacagtgt ggttatccgg ttcagcgtct ggttgactg 660
tatctggcag cacgtctgag ctggaatcag gttgatcagg ttattgcaaa tgcactggca 720
agtccgggta gcggtggtga tctgggtgaa gcaattcgtg aaagtccgga acaggcacgt 780
ctggcactga ccctggcagc agcagaaagc gaacgttttg ttcgctcaggg caccggtaat 840
gatgaagccg gtgcagcaaa tgggccggca gatggtggtg gttcaggtgg tggatgatt 900
gaaaccgata gcggtgttga tgatgatatg gcctgtcata aaattccggt tgatgccgat 960
ttcctgtatg catatagcac cgcaccgggt tattatagct ggcgtaatag caaagatggc 1020
agctggttta ttcagagcct gtgtgcaatg ctgaaacagt atgcagataa actggaattc 1080
atgcatatc tgaccctgtt taatcgtaaa gttgcaaccg aatttgagag ctttagcttt 1140
gatgcaacct tccatgcaa aaaacaaatt ccgtgcattg ttagcatgct gaccaaagaa 1200
ctgtatttct atcatgatgt ggatggcatg gaaaataccg aaaatagcgt tgatagcaaa 1260
agcattaaaa atctggaacc gaaaatcatc catggtagcg aaagcatgga tagcgggatg 1320
agctgggata ccggttataa aatggattat ccggaaatgg gcctgtgcat tatcatcaac 1380
aacaaaaact ttcataaaag caccgggatg accagccgta gtggcaccga tgttgatgca 1440
gcaaatctgc gtgaaacctt tcgcaatctg aaatatgaag tgcgcaacaa aaacgatctg 1500
accctggaag aaattgttga actgatgcgt gatgtgagca aagaagatca tagcaaacgt 1560
agcagctttg tttgtgttct gctgagccat ggtgaagaag gtattatfff tggcaccaat 1620
ggccgggtgg acctgaaaa aatcaccaat tttttcgtg gtgatcgttgc tctagcctg 1680
accggtaaac cgaaactgtt tatcattcag gcatgtcgtg gcaccgaact ggattgtggt 1740

5 <210> 137
<211> 741
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> proteína de fusión

ES 2 531 288 T3

<400> 137
 gcacgtaaag gtaaaggcca gattgaaaaa cgtaaactgc gtgaaaaacg tcgtagcacc 60
 ggtgttgtta atattccggc agcagaatgt ctggatgaat atgaagatga tgaagccggg 120
 cagaaagaac gtaaactgtga agatgcaatt acccagcaga ataccattca gaatgaagca 180
 cgtcgtcgtc gtcgccgtcg tcgtgttgtt cgtccgctgg gtctggcagg tcagggtggt 240
 agcggtggtg gtccgcagcg tgttgcaagca catattaccg gcaccctggg tcgtagcaat 300
 accctgagca gcccgaatag caaaaatgaa aaagcactgg gtcgcaaaat taatagctgg 360
 gaaagcagcc gtagcgggtca tagctttctg agcaatctgc atctgcgtaa tgggtgaactg 420
 gtgattcatg aaaaaggctt ttattatatt tatagccaga cctattttctg ctttcaggaa 480
 gaaattaaag aaaataccaa aaacgataaa caaatggtgc agtatatcta taaatatacc 540
 agctatccgg atccgattct gctgatgaaa agcgcacgta atagctgttg gagcaaagat 600
 gcagaatatg gtctgtatag cttttatcag ggtggcattt ttgaactgaa agaaaatgat 660
 cgcatttttg tgagcgtgac caatgaacat ctgattgata tggatcatga agccagcttt 720
 tttggtgcat ttctggtggg t 741

5 <210> 138
 <211> 780
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> proteína de fusión

<400> 138
 gaagaagaag cagcaggtcg taaacgtaaa aaacgtaccg cacgtaaagg taaaggccag 60
 attgaaaaac gtaaactgcg tgaaaaacgc cgtagcaccg gtgttggtta tattccggca 120
 gcagaatgtc tggatgaata tgaagatgat gaagccggctc agaagaacg caaacgtgaa 180
 gatgcaatta cccagcagaa taccattcag aatgaagcac gtcgtcgtcg ccgtcgtcgg 240
 cgtgttgttc gtccgctggg tctggcaggt cagggtggtg gcgggtggtag tccgcagcgt 300
 gttgcagcac atattaccgg caccctgggt cgtagcaata ccctgagcag cccgaatagc 360
 aaaaatgaaa aagcactggg tcgcaaaatt aacagctggg aaagcagccg tagcgggtcat 420
 agctttctga gcaatctgca tctgcgtaat ggtgaactgg tgattcatga aaaaggcttc 480
 tactatatct acagccagac ctatttctgc ttccaagaag agattaaaga aaacacccaaa 540
 aacgataaac aatggtgca gtacatctat aaatacacca gctatccgga tccgattctg 600
 ctgatgaaaa ggcacgtaa tagctgttgg agcaaagatg cagaatatgg cctgtatagc 660
 atttatcagg gtggcatctt tgaactgaaa gaaaacgatc gtatttctgt gagcgtgacc 720
 aatgaacatc tgatcगतat ggatcatgaa gccagctttt ttggtgcatt tctggtgggt 780

15 <210> 139
 <211> 810
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 139
 accagcgaag aaaccattag caccgttcaa gaaaaacagc agaatattag tccgctgggt 60
 cgtgaacgtg gtccgcagcg tgttgacgca catattaccg gcacccgtgg tcgtagcaat 120
 accctgagca gcccgaatag caaaaatgaa aaagcactgg gtcgcaaaat caatagctgg 180
 gaaagcagcc gtagcgggtca tagctttctg agcaatctgc atctgcgtaa tggatgaactg 240
 gtgattcatg aaaaaggctt ctactatata tatagccaga cctatttccg cttccaagaa 300
 gaaatcaaag aaaataccaa aatgataaa caaatggtgc agtatattta caaatatacc 360
 agctatccgg atccgattct gctgatgaaa agcgcacgta atagctggtg gagcaaagat 420
 gcagaatatg gtctgtatag cttttatcag ggtggcatct ttgagctgaa agaaaatgat 480
 cgcacttttg ttagcgtgac caacgaacat ctgatcgata tggatcatga agccagcttt 540
 tttggtgcat ttctggttgg tgggtgtagc gtttgtgcag catgtgcagc cgcagtccg 600
 ctgggtctgg caggtcgtgt tgttcgtcgg cgtcgtcggc gtcgtcgtat gcttggtaaa 660
 aaagcacgta aaaatgcaca gccgagtcgg gcacgtgcac cggcagaact ggaagttgaa 720
 tgtgcaaccc agctgcgtcg ttttgggtgat aaactgaatt ttcgtcagaa actgctgaat 780
 ctgattagca aactgttttg tagcggcacc 810

5

<210> 140
 <211> 621
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 140
 gttcgtgaac gtggtccgca gcgtgttgca gcacatatta ccggcaccgg tggctgtagc 60
 aataccctga gcagcccga tagcaaaaat gaaaaagcac tgggtcgcaa aattaacagc 120
 tgggaaagca gccgtagcgg tcatagcttt ctgagcaatc tgcactctgcg taatggtgaa 180
 ctggtgattc atgaaaaagg cttctactat atctacagcc agacctattt tcgcttccaa 240
 gaagagatta aagaaaaacac caaaaacgat aaacaaatgg tgcagtacat ctataaatac 300
 accagctatc cggatccgat tctgctgatg aaaagcgcac gtaatagctg ttggagcaaa 360
 gatgcagaat atggcctgta tagcatttat caggggtggca tctttgaact gaaagaaaac 420
 gatcgtatct tcgtgagcgt gaccaatgaa catctgatcg atatggatca tgaagccagc 480
 ttttttgggtg ctttctggt tgggtggtgg agcgggtgtg cagcatgtgc agccgcagtg 540
 ccgctgggtc tggcaggtcg tgttgttcgt cgtcgtcggc gtcgtcggcg taaactgctg 600
 aatctgatta gcaaactggt t 621

15

<210> 141
 <211> 933
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 141
 caggattggc tgacctttca gaaaaaacat attaccaaca cccgtgatgt ggattgcat 60
 aacattatga gcaccaacct gtttactgac aaagataaaa acaccttcat ctatagccgt 120
 ccggaaccgg ttaaagcaat ttgtaaagggt attatcgcca gcaaaaatgt tctgaccacg 180
 agcgagtttt atctgagcga ttgtaatggt accagccgtc cgtgtaaata caaactgaaa 240
 aaaagcacca acaaattctg cgtgacctgt gaaaatcagg caccggttca ttttgttggt 300
 gttggtagct gtcgtggtgt tctcctcgct ggtctggcag gcgggtggtg tggtagtggg 360
 ggcgggtggt gcaccagcga agaaaccatt agcaccgttc aagaaaaaca gcagaatatt 420
 agtccgctgg ttcgtgaacg tggcccgag cgtgttgag cacatattac cggtagacgt 480
 ggtcgtagca ataccctgag cagcccgaat agcaaaaatg aaaaagcact gggtagcaaa 540
 atcaatagct gggaaagcag ccgtagcggg catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt 600
 aatggtgaa tggtgattca tgaaaaggc ttctactata tctatagcca gacctatttc 660
 cgcttccaag aagaaatcaa agagaacacc aaaaacgata acaaatggg gcagtagatc 720
 tataaataca ccagctatcc ggatccgatt ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt 780
 tggagcaaag atgcagaata tggctctgat agcatttctc aggggtggcat ctttgagctg 840
 aaagaaaatg atcgcattct tgttagcgtg accaacgaac atctgatcga tatggatcat 900
 gaagccagct ttttgggtgc atttctggtg ggt 933

5

<210> 142
 <211> 690
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 142
 gaagaacagt gggcacgtga aattggtgca cagctgcgtc gtatggcaga tgatctgaat 60
 gcacagtatg aacgccgtcg tctgcgccgt agacgtcgtc gtgttgttcg tccgctgggt 120
 ctggcaggca ccagtgaaga aaccattagc accgttcaag aaaaacagca gaatattagt 180
 ccgctggttc gtgaacgtgg tccgcagcgt gttgcagcac atattaccgg caccctggtg 240
 cgtagcaata ccctgagcag ccogaatagc aaaaatgaaa aagccctggg tgcgaaaatt 300
 aacagctggg aaagcagccg tagcggatcat agctttctga gcaatctgca tctgcgtaat 360
 ggtgaaactg tgattcacga gaaaggcttc tattatatct atagccagac ctatttccgc 420
 ttccaagaag agatcaaaga gaacacccaaa aacgacaaac aaatggtgca gtacatctat 480
 aaatacacca gctatccgga tccgattctg ctgatgaaaa gcgcacgtaa tagctgttggt 540
 agcaaagatg cagaatatgg cctgtatagc atctatcagg gtggcatttt tgaactgaaa 600
 gaaaacgatc gcatctttgt gagcgtgacc aatgaacatc tgattgatat ggatcacgaa 660
 gccagctttt ttggtgcctt tctggttggt 690

10

ES 2 531 288 T3

<210> 143
 <211> 675
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> proteína de fusión

<400> 143
 accagcgaag aaaccattag caccggtcaa gaaaaacagc agaatattag tccgctgggt 60
 cgtgaacgtg gtccgcagcg tgttcagca catattaccg gcaccctggg tcgtagcaat 120
 accctgagca gcccgaatag caaaaatgaa aaagcactgg gtcgcaaaat caatagctgg 180
 gaaagcagcc gtagcgggtca tagctttctg agcaatctgc atctgcgtaa tgggtgaactg 240
 gtgattcatg aaaaaggctt ctactatatac tatagccaga cctatttccg cttccaagaa 300
 gaaatcaaag aaaataccaa aatgataaa caaatggtgc agtatattta caaatatacc 360
 agctatccgg atccgattct gctgatgaaa agcgcacgta atagctggtg gagcaaagat 420
 gcagaatatg gtctgtatag ctttatcag ggtggcatct ttgagctgaa agaaaatgat 480
 cgcacttttg ttagcgtgac caacgaacat ctgatcgata tggatcatga agccagcttt 540
 tttggtgcat ttctggttgg ttgtgcagca tgtgcagccg catgtccgct gggctcggca 600
 ggtcgtggtg ttcgtaatat tgcacgtcat ctggcacagc ttggtgatag catggataaa 660
 ccgcgtcgtc cgtat 675

10 <210> 144
 <211> 702
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

15 <400> 144
 accagcgaag aaaccattag caccggtcaa gaaaaacagc agaatattag tccgctgggt 60
 cgtgaacgtg gtccgcagcg tgttcagca catattaccg gcaccctggg tcgtagcaat 120
 accctgagca gcccgaatag caaaaatgaa aaagcactgg gtcgcaaaat taacagctgg 180
 gaaagcagcc gtagcgggtca tagctttctg agcaatctgc atctgcgtaa tgggtgaactg 240
 gtgattcatg aaaaaggctt ctactatatac tacagccaga cctatttccg cttccaagaa 300
 gagattaaag aaaacaccaa aaacgataaa caaatggtgc agtacatcta taaatacacc 360
 agctatccgg atccgattct gctgatgaaa agcgcacgta atagctggtg gagcaaagat 420
 gcagaatatg gcctgtatag ctttatcag ggtggcatct ttgaaactgaa agaaaacgat 480
 cgtattttcg tgagcgtgac caatgaacat ctgatcgata tggatcatga agccagcttt 540
 tttggtgcat ttctggttgg ttgtgcagca tgtgcagccg catgtggtgg tccgctgggt 600
 ctggcaggtc gtgtgttctg tcagattaaa atctggtttc agaaccgtcg catgaaatgg 660
 aaaaaaaaaa cctatgcagc agccggtaac agctacttta aa 702

ES 2 531 288 T3

<210> 145
 <211> 648
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> proteína de fusión

<400> 145
 ttcacacagca aagaacgtcg tgaacgtgca attctgagca ccaaaccgcc tggcaccttt 60
 ctgctgcggt ttagcgaag cagcaaacgt gttgttcgtc cgctgggtat tgccgggtgaa 120
 ggtggtggtt gtgcagcagc atgtgcagcc tgtggtagcg gtcagcgtgt tgcagcacat 180
 attacccgca cccgtggtcg tagcaatacc ctgagcagcc cgaatagcaa aatgaaaaa 240
 gcactgggtc gcaaaattaa cagctgggaa agcagccgta gtggtcatag ctttctgagc 300
 aatctgcac tgcgtaatgg tgaactggtg attcatgaaa aaggcttcta ctatatctac 360
 agccagacct attttcgctt ccaagaagag attaaagaaa acaccaaaaa cgataaacia 420
 atggtgcagt acatctataa atacaccagc tatccggatc cgattctgct gatgaaaagc 480
 gcacgtaata gctgttgag caaagatgca gaatatggcc tgtatagcat ttatcagggt 540
 ggcacctttg aactgaaaga aaacgatcgt attttcgtga gcgtgaccaa tgaacatctg 600
 atcgatatgg atcatgaagc cagctttttt ggtgcatttc tgggtgggt 648

10 <210> 146
 <211> 582
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

15 <400> 146
 ggacaggttg gtcgtcagct ggcaattatt ggtgatgata ttaatcgtcg tcgtcggcgt 60
 cgtagacgtc gtggtgttcg tccgctgggt ctggcaggtc gtggtgcagc acatattacc 120
 ggcacccgtg gtcgtagcaa taccctgagc agcccgaata gcaaaaatga aaaagcactg 180
 ggtcgcaaaa tcaatagctg ggaaagcagc cgtagcggtc atagctttct gagcaatctg 240
 catctgcgta atggtgaact ggtgattcat gaaaaaggct tttattatat ttatagccag 300
 acctattttc gctttcaaga agagattaaa gaaaatacca aaaatgataa acaaatggtg 360
 cagtacatct ataaatatac cagctatccg gaccogattc tgctgatgaa aagcgcacgt 420
 aatagctggt ggagcaaaga tgcagaatat ggtctgtata gcatttatca ggggtggcatc 480
 tttgagctga aagaaaatga tcgcatcttt gttagcgtga ccaacgaaca tctgatcgat 540
 atggatcatg aagccagctt ttttgggtgca tttctggttg gt 582

20 <210> 147
 <211> 729
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

ES 2 531 288 T3

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 147

```

aaaaatctgt gggcagcaca gcgttatggt cgtgaactgc gtcgtatgag tgatgaattt      60
gaaggtagct ttaaaggtct gcgtcgtcgt cgtcgccgtc gtcggcgtgt tgttcgtccg      120
ctgggtctgg caggctcgtgt tgcagcacat attaccggca cccgtggtcg tagcaatacc      180
ctgagcagcc cgaatagcaa aatgaaaaa gcaactgggtc gcaaaatcaa tagctgggaa      240
agcagccgta gcggtcatag ctttctgagc aatctgcata tgcgtaatgg tgaactggtg      300
attcatgaaa aaggctttta ttatatttat agccagacct attttcgctt tcaagaagag      360
attaaagaaa ataccaaaaa tgataaacia atggtgcagt acatctataa atataccagc      420
tatccggacc cgattctgct gatgaaaagc gcacgtaata gctggtggag caaagatgca      480
gaatatggtc tgtatagcat ttatcagggt ggcacctttg agctgaaaga aaatgatcgc      540
atctttgtta gcgtgaccaa cgaacatctg atcgatatgg atcatgaagc cagctttttt      600
ggtgcatttc tggttggtgg tggtagccat ggtctggttc cgcgtggtag caccagcgaa      660
gaaaccatta gcaccgttca agaaaaacag cagaatatta gtccgctggt tcgtgaacgt      720
ggtccgcag                                     729
    
```

5

<210> 148

<211> 708

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> proteína de fusión

<400> 148

```

accagcgaag aaaccattag caccgttcaa gaaaaacagc agaatattag tcctctggtt      60
cgtgaacgtg gtccgcagcg tgttgcaaca catattaccg gcaccctggt tcgtagcaat      120
accctgagca gcccgaaatag caaaaatgaa aaagcactgg gtcgcaaaat caatagctgg      180
gaaagcagcc gtagcgggtca tagctttctg agcaatctgc atctgcgtaa tgggtgaactg      240
gtgattcatg aaaaaggctt ttattatatt tatagccaga cctattttcg ctttcaagaa      300
gagattaaag aaaataccaa aatgataaa caaatggtgc agtacatcta taaatatacc      360
agctatccgg acccgattct gctgatgaaa agcgcacgta atagctggtg gagcaaagat      420
gcagaatatg gtctgtatag cttttatcag ggtggcatct ttgagctgaa agaaaatgat      480
cgcatctttg ttagcgtgac caacgaacat ctgatcgata tggatcatga agccagcttt      540
tttggtgcat ttctggttgg tggtagtagt ccgctgggtc tggcaggttg tcgtggtggt      600
cgtcgtcgtc gccgtcgtcg gcgtcgtaaa aatctgtggg cagcacagcg ttatggtcgt      660
gaactgcgtc gtatgagtga tgaatttgaa ggtagcttta aaggcctg                          708
    
```

15

<210> 149

<211> 648

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

ES 2 531 288 T3

<220>
<223> proteína de fusión

<400> 149
 cgtggtgcag cacatattac cggcaccctg ggtcgtagca atacctgag cagcccgaat 60
 agcaaaaatg aaaaagcact gggtcgcaaa attaacagct gggaaagcag ccgtagcggg 120
 catagctttc tgagcaatct gcatctgcgt aatggtgaac tgggtgattca tgaaaaaggc 180
 ttctactata tctacagcca gacctatfff cgcttccaag aagagattaa agaaaacacc 240
 aaaaacgata aacaaatggg gcagtacatc tataaataca ccagctatcc ggatccgatt 300
 ctgctgatga aaagcgcacg taatagctgt tggagcaaa atgcagaata tggcctgtat 360
 agcatttata aggggtggcat ctttgaactg aaagaaaacg atcgtatfff cgtgagcgtg 420
 accaatgaac atctgatcga tatggatcat gaagccagct tttttgggtg atttctgggtg 480
 ggtggtggtg gcggtagtggt cgggtggtggt cctctgggtc tggcaggtcg tgttgttcgt 540
 aaatttgaac cgaaaagcgg ttggatgacc tttctggaag ttaccggcaa aatttgtgaa 600
 atgctgagcc tgctgaaaca gtattgtaa ccgcgtcgtc cgtatcgc 648

5 <210> 150
 <211> 711
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> proteína de fusión

<400> 150
 cgtgttagct tttgtcgtcc gggttggagc gcaatggcac gtagccgtct gaccgcaacc 60
 agcgttagcc aggttcaaga aatggtttc gtgaaaaaat tcgaaccgaa aagcggttgg 120
 atgacctttc tggaagttac cggcaaaatt tgtgaaatgc tgagcctgct gaaacagtat 180
 tgtcgtggtg ttcgtccgct gggctcggca ggcggtggta gcggtggtcg tgttgcagca 240
 catattaccg gcaccctggg tcgtagcaat accctgagca gcccgaaatag caaaaatgaa 300
 aaagcactgg gtcgcaaaat taacagctgg gaaagcagcc gtagcgggtca tagctttctg 360
 agcaatctgc atctgcgtaa tgggtgaactg gtgattcatg aaaaaggctt ctactatata 420
 tacagccaga cctatftttcg cttccaagaa gagattaaag aaaacaccaa aaacgataaa 480
 caaatggtgc agtacatcta taaatacacc agctatccgg atccgattct gctgatgaaa 540
 agcgcacgta atagctgttg gagcaaagat gcagaatatg gcctgtatag catttatcag 600
 ggtggcatct ttgaactgaa agaaaacgat cgtatftttcg tgagcgtgac caatgaacat 660
 ctgatcgata tggatcatga agccagcttt tttggtgcat ttctggtggg t 711

15 <210> 151
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

20 <300>
 <308> GenBankAAA25730.1

ES 2 531 288 T3

<309> 2000-03-19
 <313> (70)..(97)

<400> 151
 Leu Ser Thr Ala Ala Asp Met Gln Gly Val Val Thr Asp Gly Met Ala
 1 5 10 15

Ser Gly Leu Asp Lys Asp Tyr Leu Lys Pro Asp Asp
 20 25

5 <210> 152
 <211> 148
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

10 <300>
 <308> GenBank/AAA25730.1
 <309> 2000-03-29
 <313> (1)..(148)

<400> 152
 Met Leu Arg Lys Leu Ala Ala Val Ser Leu Leu Ser Leu Leu Ser Ala
 1 5 10 15

Pro Leu Leu Ala Ala Glu Cys Ser Val Asp Ile Gln Gly Asn Asp Gln
 20 25 30

Met Gln Phe Asn Thr Asn Ala Ile Thr Val Asp Lys Ser Cys Lys Gln
 35 40 45

Phe Thr Val Asn Leu Ser His Pro Gly Asn Leu Pro Lys Asn Val Met
 50 55 60

Gly His Asn Trp Val Leu Ser Thr Ala Ala Asp Met Gln Gly Val Val
 65 70 75 80

Thr Asp Gly Met Ala Ser Gly Leu Asp Lys Asp Tyr Leu Lys Pro Asp
 85 90 95

Asp Ser Arg Val Ile Ala His Thr Lys Leu Ile Gly Ser Gly Glu Lys
 100 105 110

15 Asp Ser Val Thr Phe Asp Val Ser Lys Leu Lys Glu Gly Glu Gln Tyr
 115 120 125

Met Phe Phe Cys Thr Phe Pro Gly His Ser Ala Leu Met Lys Gly Thr
 130 135 140

Leu Thr Leu Lys
 145

20 <210> 153
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> proteína de fusión

<300>

<301> E. P. Holinger, T. Chittenden, R. J. Lutz, J. <302> Bak BH3 peptides antagonize Bcl-xL function and induce apoptosis through cytochrome c-independent activation of caspases.<303> Journal of Biological Chemistry<304> 7<305> 274(19):<306> 13298-304<307> 1999-05-07

5

<400> 153

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

Leu Ile Arg Phe Val Gly Arg Leu Leu Ala Tyr Phe Gly Asp Thr Ile
20 25 30

Asn Arg Arg
35

<210> 154

<211> 34

<212> PRT

10

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión

<300>

15

<301> E. P. Holinger, T. Chittenden, R. J. Lutz<302> Bak BH3 Peptides Antagonize Bcl-xL Function and Induce Apoptosis through Cytochrome c-independent Activation of Caspases<303> Journal of Biological Chemistry<304> 7<305> 274(19)<306> 13298-304<307> 1999-05-07

<400> 154

Gly Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Gly Asp Asp Ala Pro Val Glu Asp
1 5 10 15

Leu Ile Arg Phe Val Gly Arg Leu Leu Ala Tyr Phe Gly Asp Thr Ile
20 25 30

20

Asn Arg

<210> 155

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25

<300>

<301> Nepravishta R, Bellomaria A, Polizio F, Paci M, Melino S.<302> Reticulon RTN1-C(CT)peptide: a potential nuclease and inhibitor of histone deacetylase enzymes<303> Biochemistry<304> 19<305> 49(2)<306> 252-8<307> 2010-01-19

<400> 155

Arg Thr His Ile Asn Thr Val Val Ala Lys Ile Gln Ala Lys Ile Pro
1 5 10 15

30

Gly Ala Lys Arg His Ala Glu
20

<210> 156

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 531 288 T3

<300>
 <308> GenBank/NP_006045
 <309> 2011-06-01
 <313> (2)..(236)

5

<400> 156
 Ala Glu Pro Ser Ala Ala Thr Gln Ser His Ser Ile Ser Ser Ser Ser
 1 5 10 15
 Phe Gly Ala Glu Pro Ser Ala Pro Gly Gly Gly Gly Ser Pro Gly Ala
 20 25 30
 Cys Pro Ala Leu Gly Thr Lys Ser Cys Ser Ser Ser Cys Ala Val His
 35 40 45
 Asp Leu Ile Phe Trp Arg Asp Val Lys Lys Thr Gly Phe Val Phe Gly
 50 55 60
 Thr Thr Leu Ile Met Leu Leu Ser Leu Ala Ala Phe Ser Val Ile Ser
 65 70 75 80
 Val Val Ser Tyr Leu Ile Leu Ala Leu Leu Ser Val Thr Ile Ser Phe
 85 90 95
 Arg Ile Tyr Lys Ser Val Ile Gln Ala Val Gln Lys Ser Glu Glu Gly
 100 105 110
 His Pro Phe Lys Ala Tyr Leu Asp Val Asp Ile Thr Leu Ser Ser Glu
 115 120 125
 Ala Phe His Asn Tyr Met Asn Ala Ala Met Val His Ile Asn Arg Ala
 130 135 140
 Leu Lys Leu Ile Ile Arg Leu Phe Leu Val Glu Asp Leu Val Asp Ser
 145 150 155 160
 Leu Lys Leu Ala Val Phe Met Trp Leu Met Thr Tyr Val Gly Ala Val
 165 170 175
 Phe Asn Gly Ile Thr Leu Leu Ile Leu Ala Glu Leu Leu Ile Phe Ser
 180 185 190
 Val Pro Ile Val Tyr Glu Lys Tyr Lys Thr Gln Ile Asp His Tyr Val
 195 200 205
 Gly Ile Ala Arg Asp Gln Thr Lys Ser Ile Val Glu Lys Ile Gln Ala
 210 215 220
 Lys Leu Pro Gly Ile Ala Lys Lys Lys Ala Glu
 225 230 235

10

<210> 157
 <211> 282
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<300>

<301> Srinivasula SM, Ahmad M, MacFarlane M, Luo Z, Huang Z, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES<302>
Generation of constitutively active recombinant caspases-3 and -6 by rearrangement of their subunits<303>
Journal of Biological Chemistry<304> 273<305> 17<306> 10107-11<307> 1998-04-24

5

<400> 157

Met Ile Glu Thr Asp Ser Gly Val Asp Asp Asp Met Ala Cys His Lys
1 5 10 15

Ile Pro Val Asp Ala Asp Phe Leu Tyr Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Gly
20 25 30

ES 2 531 288 T3

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

<210> 158

<211> 60

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>

<308> GenBank/AAC24947.1

ES 2 531 288 T3

<309> 1998-07-01
 <313> (146)..(205)

<400> 158
 Ala Arg Lys Gly Lys Gly Gln Ile Glu Lys Arg Lys Leu Arg Glu Lys
 1 5 10 15
 Arg Arg Ser Thr Gly Val Val Asn Ile Pro Ala Ala Glu Cys Leu Asp
 20 25 30
 Glu Tyr Glu Asp Asp Glu Ala Gly Gln Lys Glu Arg Lys Arg Glu Asp
 35 40 45
 Ala Ile Thr Gln Gln Asn Thr Ile Gln Asn Glu Ala
 50 55 60

5 <210> 159
 <211> 54
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <300>
 <308> GenBank/NP_066950
 <309> 2011-06-05
 <313> (1)..(54)

<400> 159
 Met Pro Gly Lys Lys Ala Arg Lys Asn Ala Gln Pro Ser Pro Ala Arg
 1 5 10 15
 Ala Pro Ala Glu Leu Glu Val Glu Cys Ala Thr Gln Leu Arg Arg Phe
 20 25 30
 Gly Asp Lys Leu Asn Phe Arg Gln Lys Leu Leu Asn Leu Ile Ser Lys
 35 40 45
 Leu Phe Cys Ser Gly Thr
 50

15 <210> 160
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <300>
 <302> PÉPTIDO DESTRUCTOR DE CÉLULAS
 <310> WO2006001582
 <311> 2005-03-22
 <312> 2006-01-05

25 <400> 160
 Lys Leu Leu Asn Leu Ile Ser Lys Leu
 1 5

<210> 161
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

ES 2 531 288 T3

<300>
 <302> NUEVO PÉPTIDO QUIMÉRICO ANTICANCERÍGENO DIRIGIDO A HSP90

 <310> WO2010055929
 <311> 2009-11-13
 5 <312> 2010-05-20

 <400> 161
Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys Lys
1 5 10 15

Ala Tyr Ala Ala Ala Gly Asn Ser Tyr Phe Lys
20 25

 <210> 162
 10 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <300>
 <301> Zhao W, Jaganathan S, Turkson<302> A cell-permeable Stat3 SH2 domain mimetic inhibits Stat3 ac-
 15 tivation and induces antitumor cell effects in vitro<303> Journal of Biological Chemistry<304> 285<305>
 46<306> 35855-65.<307> 2010-11-12
 <308> genBank/NP_644805
 <309> 2011-06-05
 <313> (517)..(544)

 <400> 162
Phe Ile Ser Lys Glu Arg Arg Glu Arg Ala Ile Leu Ser Thr Lys Pro
1 5 10 15

Pro Gly Thr Phe Leu Leu Arg Phe Ser Glu Ser Ser Lys
 20 **20 25**

 <210> 163
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 25 <300>
 <308> GenBank/AAA74466.1
 <309> 1995-08-18
 <313> (72)..(86)

 <400> 163
Gly Gln Val Gly Arg Gln Leu Ala Ile Ile Gly Asp Asp Ile Asn
 30 **1 5 10 15**

 <210> 164
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 35 <300>
 <301> Wang JL, Zhang ZJ, Choksi S, Shan S, Lu Z, Croce CM, Alnemri ES, Korngold R, Huang Z.<302>
 Cell permeable Bcl-2 binding peptides: a chemical approach to apoptosis induction in tumor cells<303>
 Cancer Research<304> 60<305> 6<306> 1498-502<307> 2000-03-15

ES 2 531 288 T3

<400> 164

Lys Asn Leu Trp Ala Ala Gln Arg Tyr Gly Arg Glu Leu Arg Arg Met
 1 5 10 15

Ser Asp Glu Phe Glu Gly Ser Phe Lys Gly Leu
 20 25

<210> 165

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>

<308> GenBank/CAG46760.1

<309> 2004-06-29

<313> (147)..(175)

<400> 165

Lys Phe Glu Pro Lys Ser Gly Trp Met Thr Phe Leu Glu Val Thr Gly
 1 5 10 15

Lys Ile Cys Glu Met Leu Ser Leu Leu Lys Gln Tyr Cys
 20 25

<210> 166

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>

<301> Ko JK, Choi KH, Pan Z, Lin P, Weisleder N, Kim CW, Ma J.

<302> The tail-anchoring domain of Bfl1 and HCCS1 targets mitochondrial membrane permeability to induce apoptosis

<303> J Cell Sci.

<304> 120

<305> 16

<306> 2912-23.

<307> 2007-07-31

<400> 166

Arg Val Ser Phe Cys Arg Pro Gly Trp Ser Ala Met Ala Arg Ser Arg
 1 5 10 15

Leu Thr Ala Thr Ser Val Ser Gln Val Gln Glu Asn Gly Phe Val Lys
 20 25 30

<210> 167

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

Lys Pro Arg Arg Pro Tyr
 1 5

<210> 168

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<300>
 <308> Secuencia de referencia de NCBI/NP_002690.3
 <309> 2011-04-19
 <313> (334)..(344)

5 <400> 168
Glu Glu Glu Ala Ala Gly Arg Lys Arg Lys Lys Arg Thr
 1 5 10

<210> 169
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> enlazador flexible

<400> 169
Ser Gly Cys Gly Ser
 1 5

15 <210> 170
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 20 <223> enlazador de la pegilación

<400> 170
Ala Ser Gly Cys Gly Pro Glu
 1 5

<210> 171
 <211> 7
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sitio de escisión de la proteasa MMP

<400> 171
Pro Leu Gly Ile Ala Gly Glu
 30 1 5

<210> 172
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Sitio de escisión de furina

<300>
 <301> Chards RM, Lowy DR, Schiller JT, Day PM<302> Cleavage of the papillomavirus minor capsid pro-
 40 tein, L2, at a furin consensus site is necessary for infection.<303> Proc Natl Acad Sci USA<304> 103<305>
 5<306> 1522-7<307> 2006-01-31

<400> 172
Arg Lys Lys Arg Val Lys Arg
 1 5

ES 2 531 288 T3

<400> 176

Pro Glu Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His
1 5 10 15

Leu Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu
20 25 30

Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr
35 40 45

Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn
50 55 60

Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg
65 70 75 80

Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu
85 90 95

Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn
100 105

<210> 177

<211> 8

5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> dominio de trimerización

<400> 177

Cys Ala Ala Cys Ala Ala Ala Cys
1 5

10

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> dominio de trimerización

<400> 178

Cys Ala Ala Glu Cys Ala Ala Ala Cys
1 5

20

<210> 179

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> dominio de trimerización

25

<400> 179

Cys Ala Ala Ala Cys Ala Ala Cys
1 5

<210> 180
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> enlazador flexible

<400> 180
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5

10

<210> 181
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 181
Lys Pro Arg Arg Pro Tyr Arg
 1 5

15

<210> 182
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> enlazador flexible

<400> 182
Gly Gly Ser His Gly
 1 5

25

<210> 183
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> enlazador flexible

30

<400> 183
Ser Gly Gly Cys Gly Gly Ser
 1 5

<210> 184
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> enlazador flexible

<400> 184
Ala Ala Cys Ala Ala
 1 5

40

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión que comprende:
- 5 un dominio (a) que es el fragmento funcional de la secuencia de la proteína hTRAIL soluble, en donde dicho fragmento funcional es capaz de inducir una señal apoptótica y comienza con un aminoácido en una posición no inferior a hTRAIL95 o una secuencia que tiene al menos 70% de homología con la misma; y
- un dominio (b) que es la secuencia de un péptido efector proapoptótico, que efectúa su acción proapoptótica a través de la ruta intrínseca de la apoptosis, en donde la secuencia del dominio (b) se fija en el extremo C-terminal y/o N-terminal del dominio (a).
- 10 2. La proteína de fusión según la reivindicación 1, en la que el dominio (a) es el fragmento de la secuencia de la proteína hTRAIL soluble, cuyo fragmento comienza con un aminoácido dentro del intervalo hTRAIL95 a hTRAIL121, inclusive, y termina con el aminoácido hTRAIL281.
3. La proteína de fusión según la reivindicación 1 o 2, en la que el dominio (a) se selecciona entre el grupo que consiste en hTRAIL114-281 (SEQ. No. 27), hTRAIL119-281 (SEQ. No. 28), hTRAIL121-281 (SEQ. No. 29), hTRAIL116-281 y hTRAIL120-281.
- 15 4. La proteína de fusión según la reivindicación 1, en la que el dominio (a) es la secuencia hTRAIL95-281.
5. La proteína de fusión según las reivindicaciones 1 a 4, en la que el dominio (b) se selecciona entre el grupo constituido por:
- el fragmento del dominio BH3 de la proteína Bax de SEQ. No. 30;
 - el fragmento de la proteína Bid de SEQ. No. 31;

20

 - ribonucleasa A de SEQ. No. 32;
 - citocromo C de SEQ. No. 33;
 - granzima B de SEQ. No. 34;
 - el fragmento de la proteína Nur77 de SEQ. No. 35;
 - dominio BH3 de la proteína Bak de SEQ. No. 36;

25

 - dominio BH3 de la proteína PUMA/BBC3 de SEQ. No. 37;
 - proteína PUMA/BBC3 de SEQ. No.38;
 - el fragmento de la proteína SMAC/Diablo de SEQ. No. 39;
 - buforina A de SEQ. No. 40;
 - onconasa de SEQ. No. 41;

30

 - el fragmento de la proteína Mdm2 de SEQ. No. 42;
 - la unión peptídica a Mdm2 de SEQ. No. 43;
 - un fragmento de lunasina de SEQ. No. 44;
 - dominio BH3 de la proteína Bik de SEQ. No. 45;
 - el péptido inhibidor de proteasoma de SEQ. No. 46;

35

 - el dominio que comprende los motivos UIM de unión a proteasoma de SEQ. No. 47;
 - el péptido obtenido a partir de azurina de SEQ. No. 151;
 - el péptido de azurina de longitud completa de SEQ. No. 152;
 - el péptido diseñado a partir de la proteína aPP y el dominio BH3 de la proteína Bax de SEQ. No. 153;
 - el péptido diseñado a partir de la proteína aPP y el dominio BH3 de la proteína Bax de SEQ. No.154;

40

 - el péptido obtenido a partir de Reticulón RTN1-C de SEQ. No. 155;
 - el Reticulón 3 humano de longitud completa de SEQ. No. 156;

- la caspasa-3 activa modificada constitutivamente de SEQ. No. 157;
 - el dominio SAC procedente de la proteína Par-4 de SEQ. No. 158;
 - proteína Noxa de SEQ. No.159;
 - fragmento MTD/CKP de la proteína Noxa de SEQ. No. 160;
- 5
- el péptido híbrido corto Antp-TPR de SEQ. No. 161;
 - el inhibidor peptídico del dominio SH2 de la proteína Stat3 de SEQ. No. 162;
 - el péptido obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bak de SEQ. No. 163;
 - el péptido obtenido a partir del dominio BH3 de la proteína Bad de SEQ. No. 164; y
 - el péptido ATAP de la proteína Bfl1 de SEQ. No. 165.
- 10
6. La proteína de fusión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que entre el dominio (a) y el dominio (b) contiene un dominio (c) que comprende un sitio de escisión para proteasas reconocido por las proteasas presentes en el entorno de las células tumorales, seleccionado a partir de una secuencia reconocida por la metaloproteasa MMP, una secuencia reconocida por la urocinasa uPA, una secuencia reconocida por la furina y combinaciones de las mismas.
- 15
7. La proteína de fusión según la reivindicación 6, en la que la secuencia reconocida por la metaloproteasa MMP es SEQ. No. 51, SEQ. No. 171 o SEQ. No. 173, la secuencia reconocida por la urocinasa uPA es SEQ. No. 52, y la secuencia reconocida por la furina es SEQ. No. 53 o SEQ. No. 172.
8. La proteína de fusión según las reivindicaciones 6 o 7, en la que el dominio (c) es una combinación de secuencias reconocidas por la metaloproteasa MMP y la urocinasa uPA situadas una al lado de la otra.
- 20
9. La proteína de fusión según las reivindicaciones 6 o 7, en la que el dominio (c) es una secuencia reconocida por furina.
10. La proteína de fusión según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el dominio (b) está enlazado adicionalmente con un dominio de transporte (d), seleccionado a partir del grupo que consiste en:
- (d1) secuencia que se dirige al retículo endoplásmico,
- 25
- (d2) secuencia de poliarginina que transporta a través de la membrana celular, que comprende 6, 7, 8 o 9 residuos de Arg,
 - (d3) dominio de traslocación de *Pseudomonas aeruginosa* seleccionado a partir de SEQ. No. 54 o SEQ. No. 176;
 - (d4) dominio de transporte a través de la membrana,
- 30
- (d5) dominio de localización nuclear, y
 - (d6) dominio de direccionamiento mitocondrial,
- y sus combinaciones.
11. La proteína de fusión según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende adicionalmente un dominio (e) de un enlazador estérico flexible de glicina-serina entre los dominios (a), (b), (c) y/o (d).
- 35
12. La proteína de fusión según la reivindicación 1, que tiene la secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en SEQ. No. 1; SEQ. No. 2; SEQ. No. 3; SEQ. No. 4; SEQ. No. 5; SEQ. No. 6; SEQ. No. 7; SEQ. No. 8; SEQ. No. 9; SEQ. No. 10; SEQ. No. 11; SEQ. No. 12; SEQ. No. 13; SEQ. No. 14; SEQ. No. 15; SEQ. No. 16; SEQ. No. 17; SEQ. No. 18; SEQ. No. 19; SEQ. No. 20; SEQ. No. 21; SEQ. No. 22; SEQ. No. 23; SEQ. No. 24; SEQ. No. 25, SEQ. No. 26, SEQ. No. 93, SEQ. No. 94, SEQ. No. 95, SEQ. No. 96, SEQ. No. 97, SEQ. No. 98, SEQ. No. 99, SEQ. No. 100, SEQ. No. 101, SEQ. No. 102, SEQ. No. 103, SEQ. No. 104, SEQ. No. 105, SEQ. No. 106, SEQ. No. 107, SEQ. No. 108, SEQ. No. 109, SEQ. No. 110, SEQ. No. 111, SEQ. No. 112, SEQ. No. 113, SEQ. No. 114, SEQ. No. 115, SEQ. No. 116, SEQ. No. 117, SEQ. No. 118, SEQ. No. 119, SEQ. No. 120 y SEQ. No. 121.
- 40
13. La proteína de fusión según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que contiene adicionalmente como su parte C-terminal la secuencia hTRAIL95-121, precedida por la secuencia del sitio de escisión de proteasas que permite su escisión de la estructura artificial.
- 45
14. Una composición farmacéutica, que comprende como ingrediente activo la proteína de fusión tal como se

ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. Una proteína de fusión tal como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para uso en un método de tratamiento de enfermedades cancerígenas en mamíferos, incluyendo seres humanos.



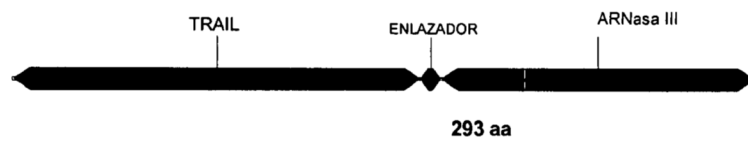
EJEMPLO 1



EJEMPLO 2



EJEMPLO 3



EJEMPLO 4

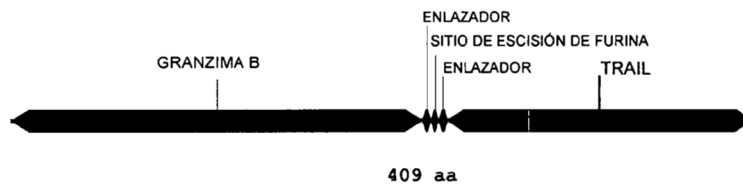


EJEMPLO 5

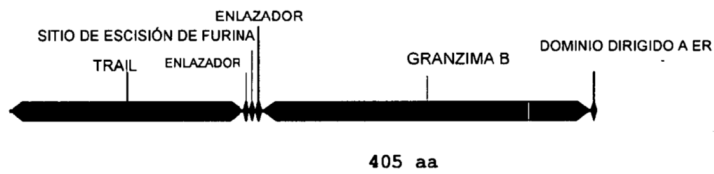
FIG. 1



EJEMPLO 6



EJEMPLO 7



EJEMPLO 8



EJEMPLO 9



EJEMPLO 10

FIG. 2

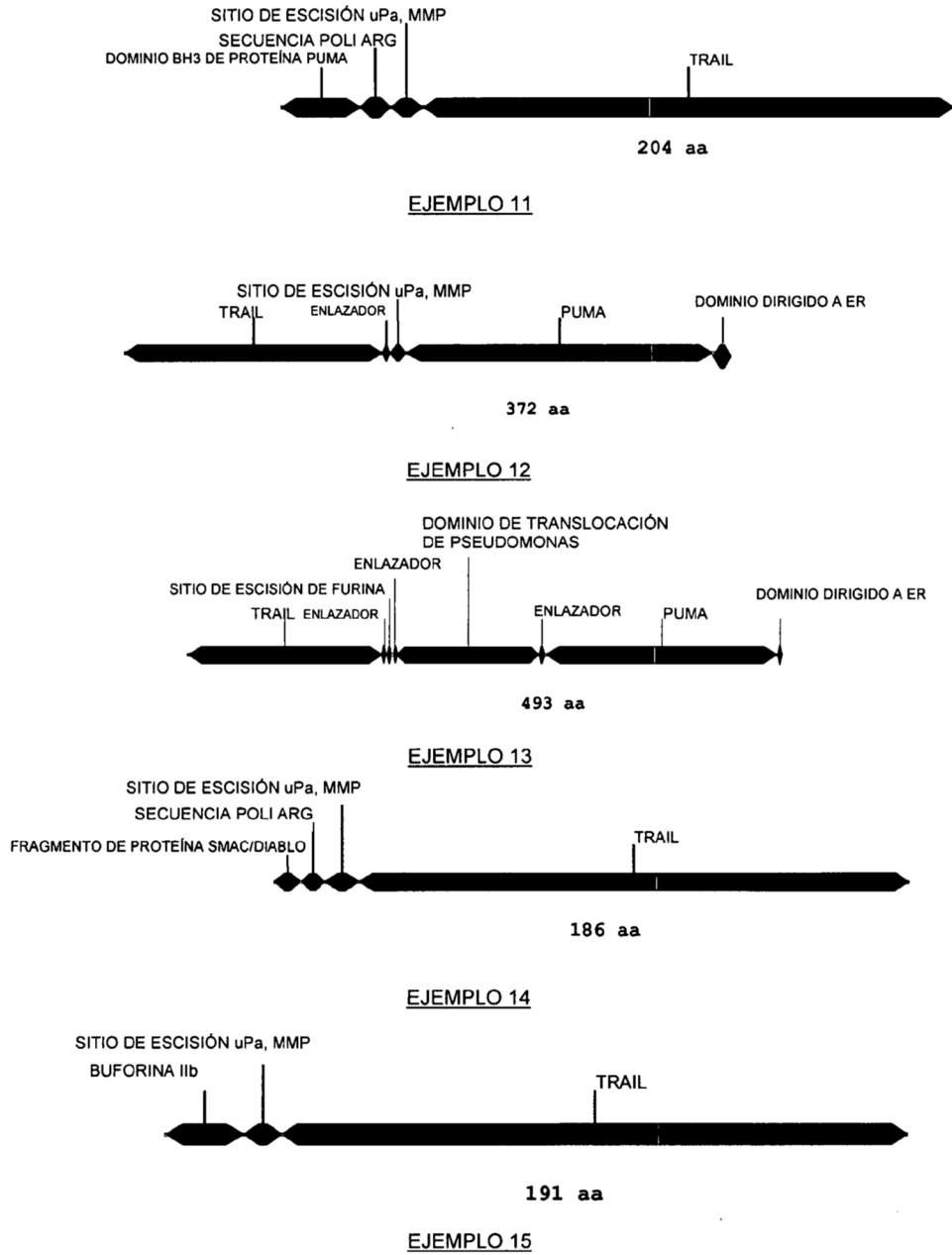


FIG. 3

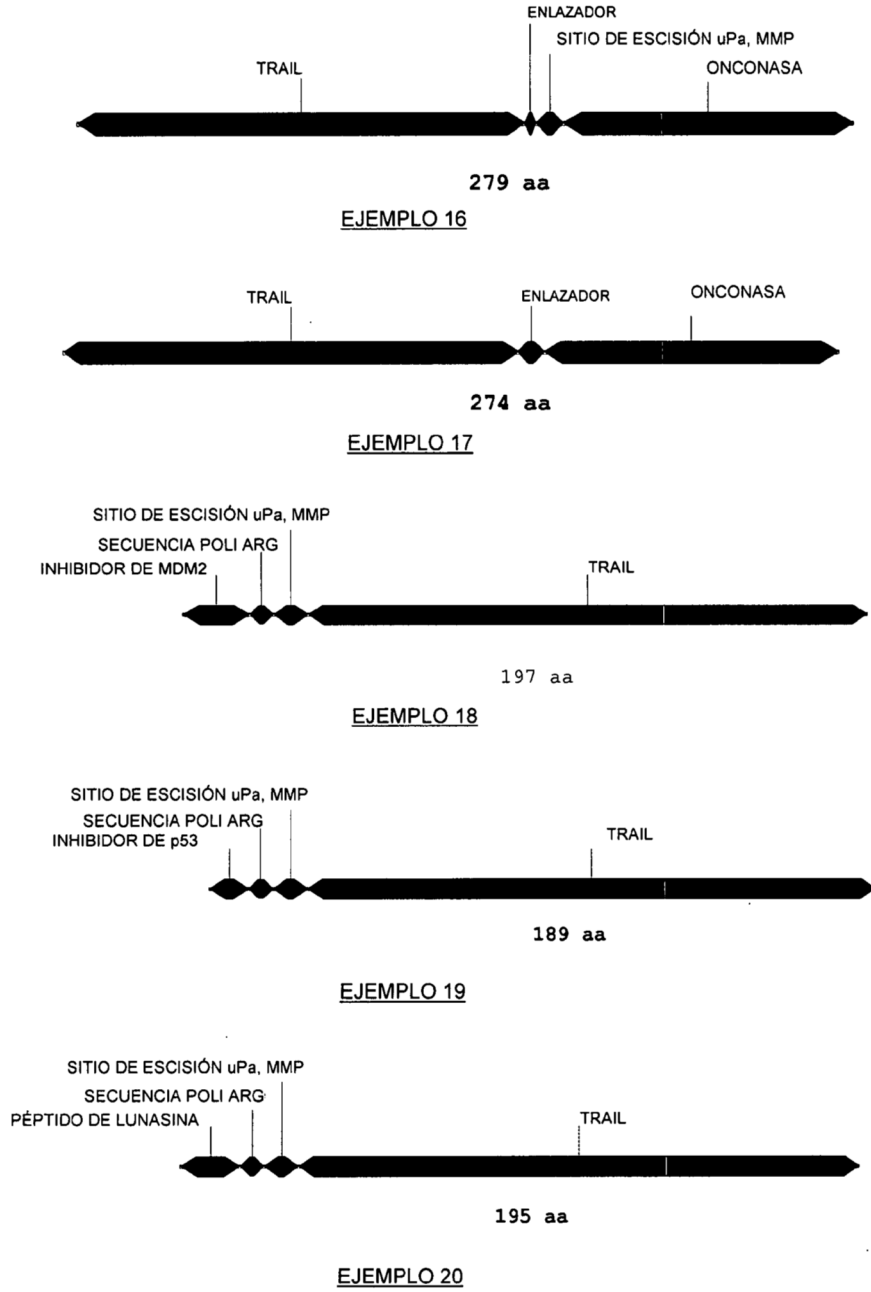
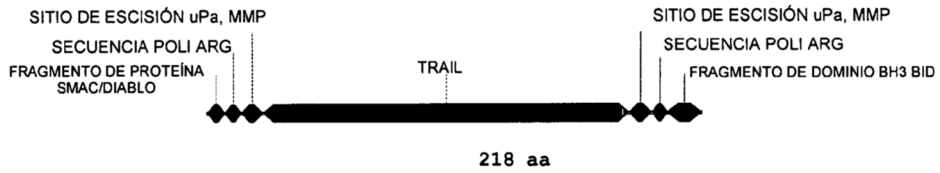
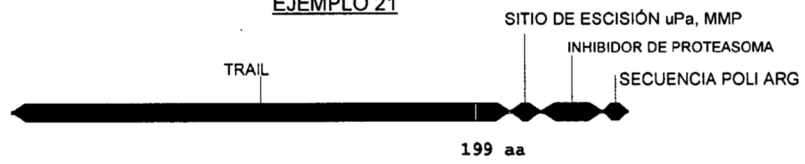


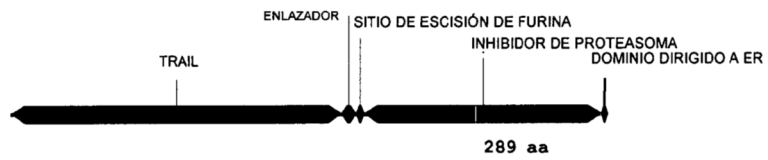
FIG. 4



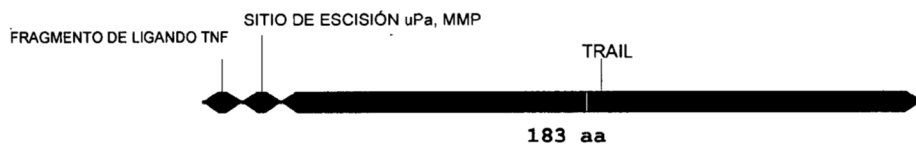
EJEMPLO 21



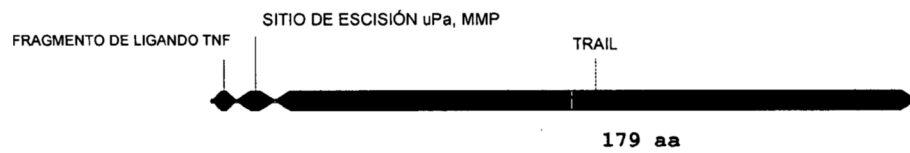
EJEMPLO 22



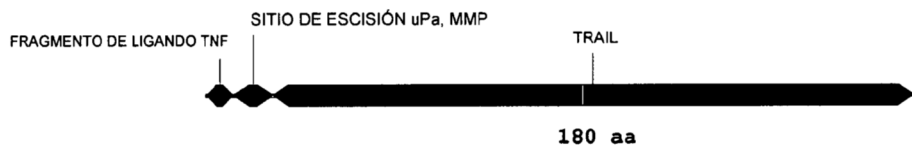
EJEMPLO 23



EJEMPLO 24



EJEMPLO 25



EJEMPLO 26

FIG. 5

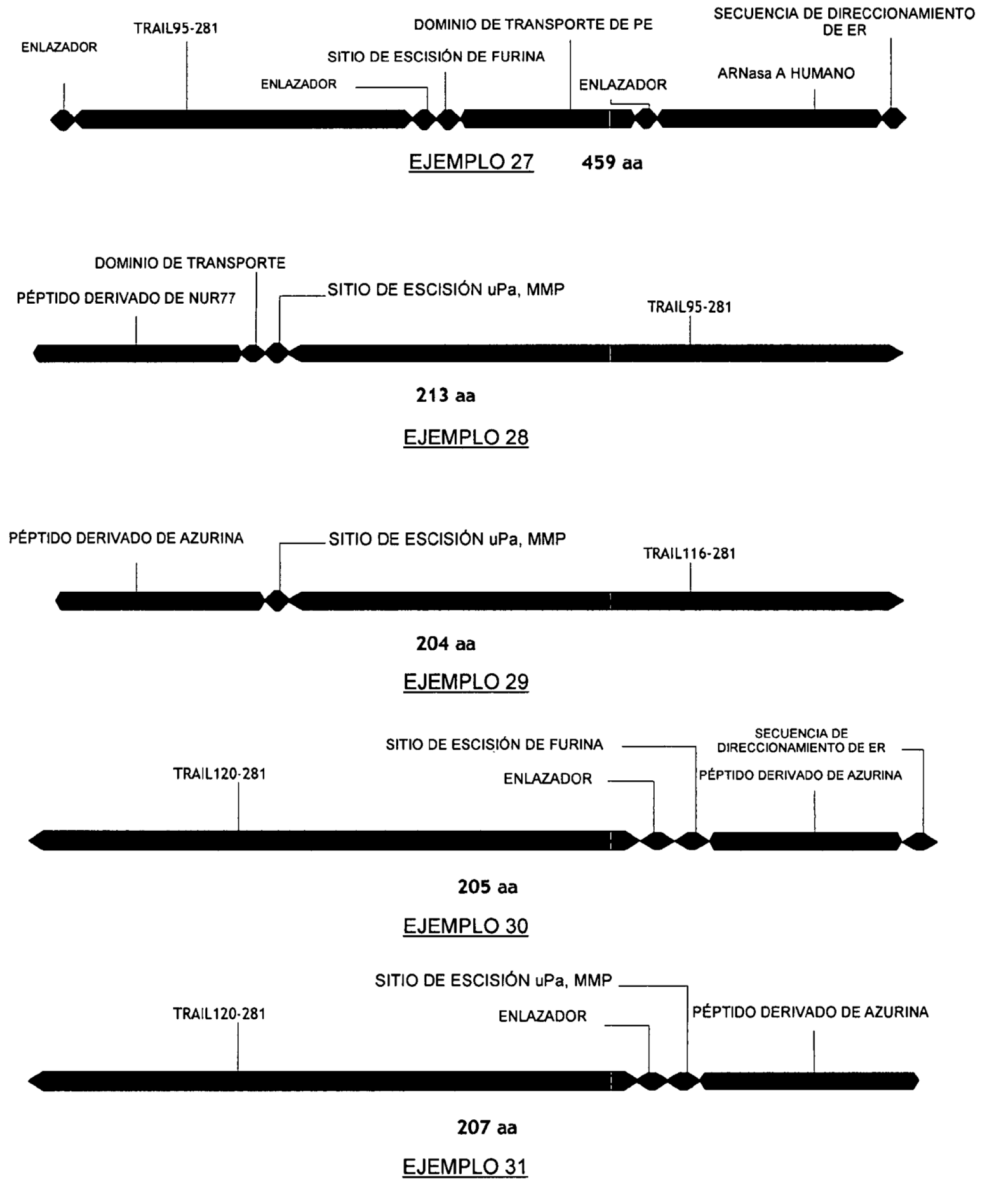
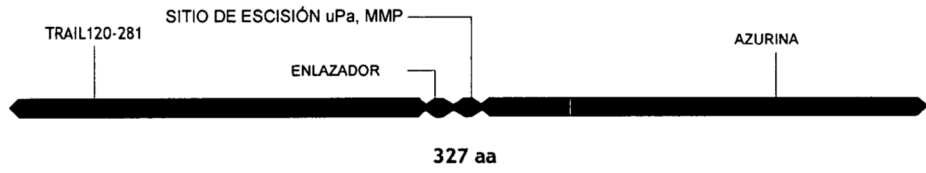
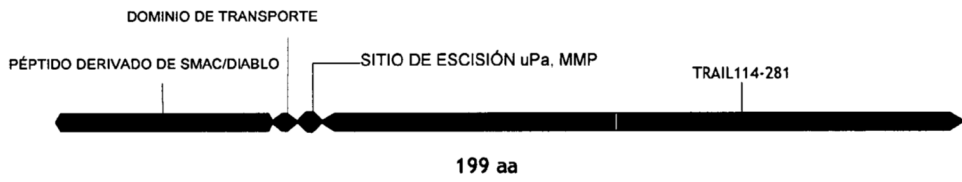


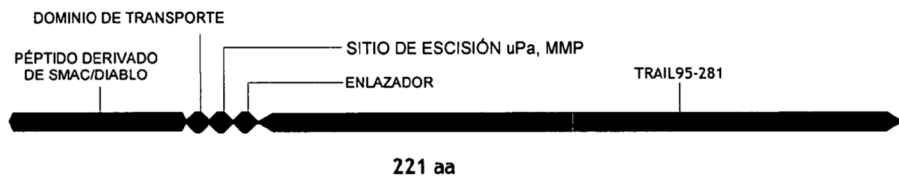
FIG. 6



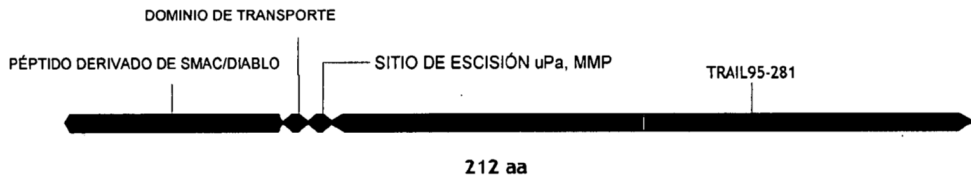
EJEMPLO 32



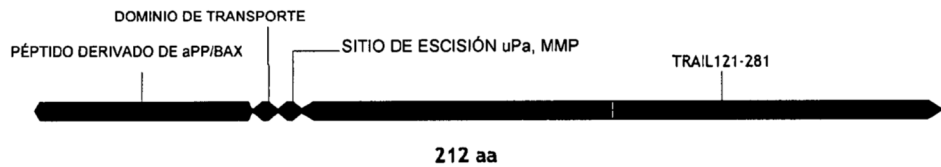
EJEMPLO 33



EJEMPLO 34



EJEMPLO 35



EJEMPLO 36

FIG. 7

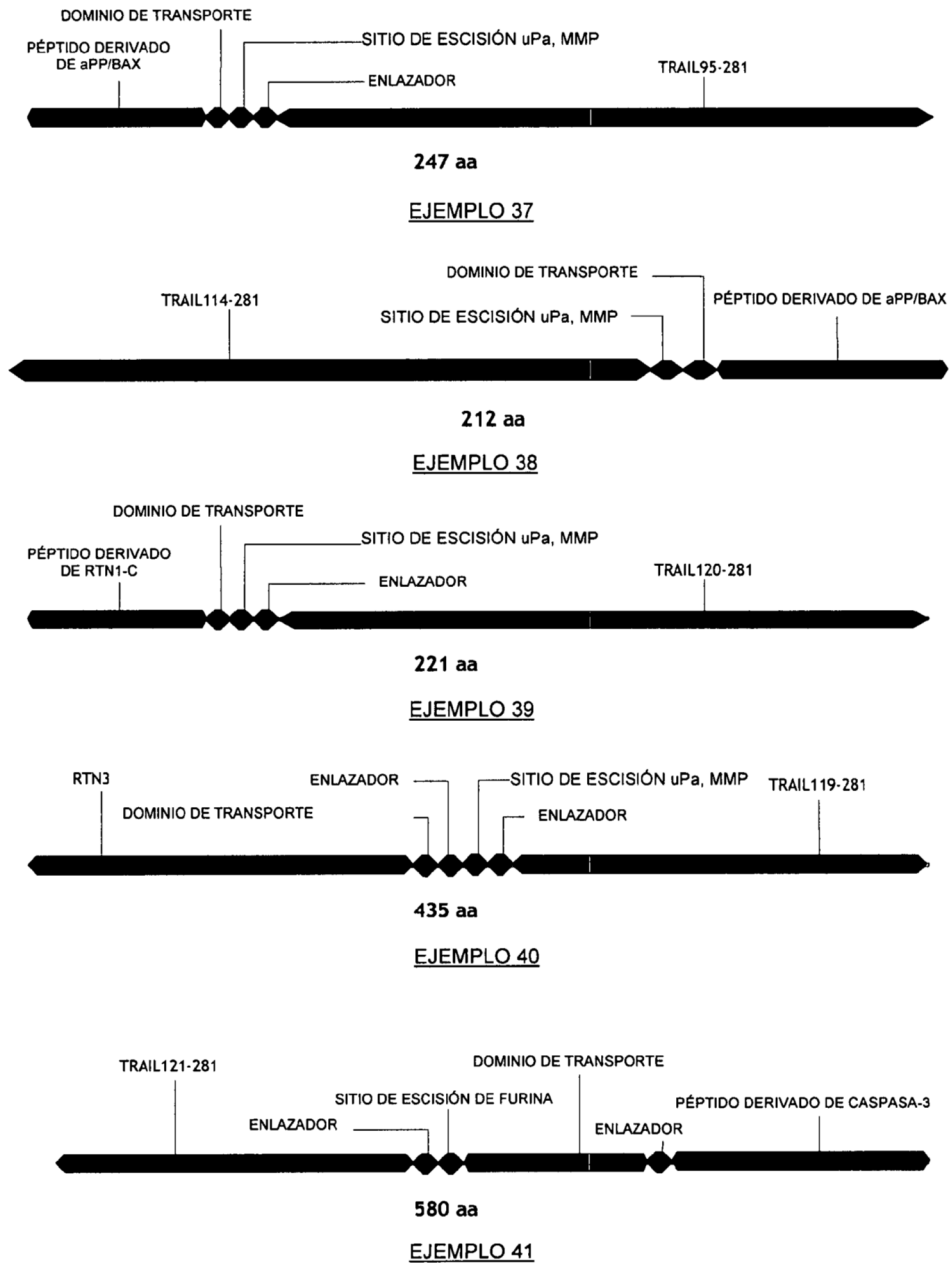


FIG. 8

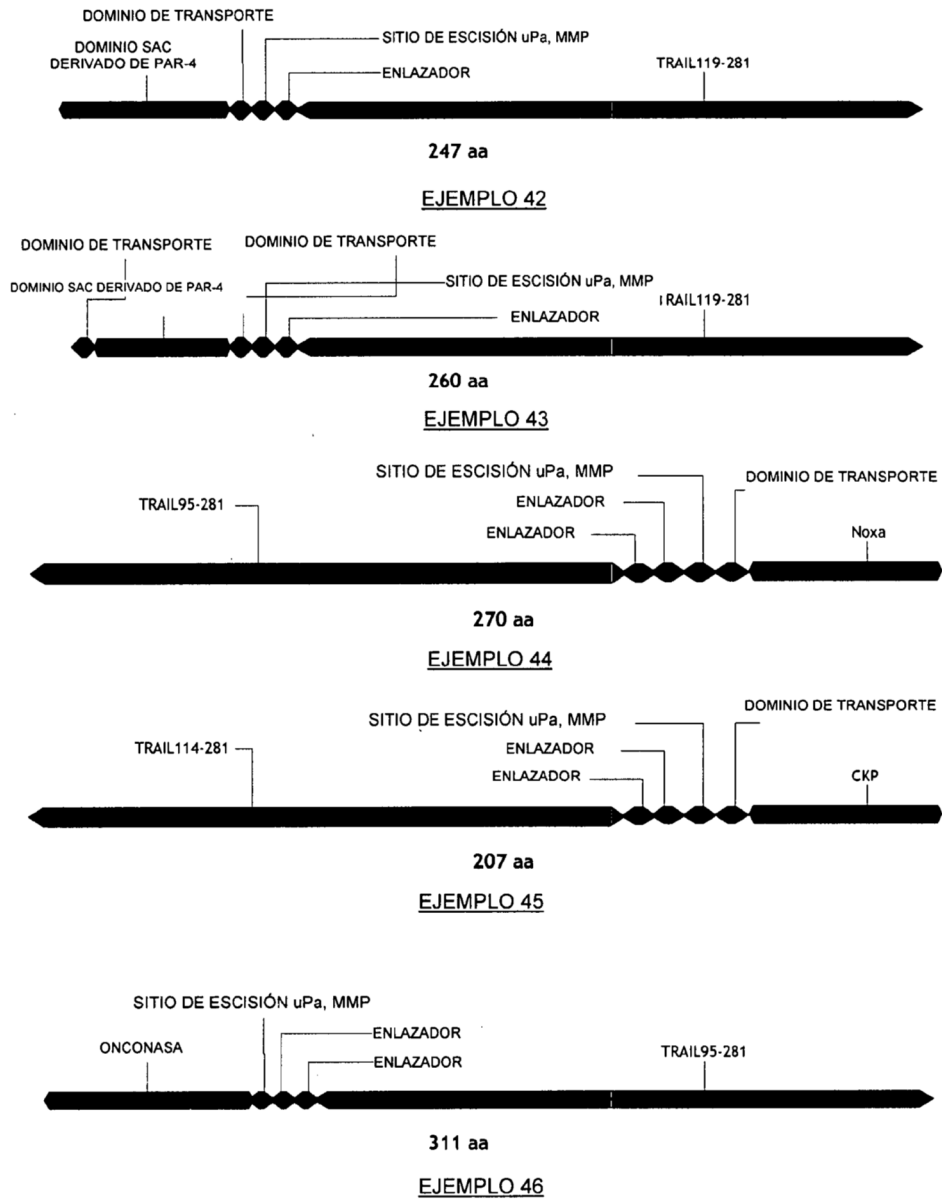
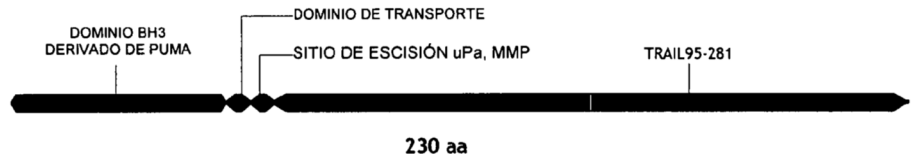
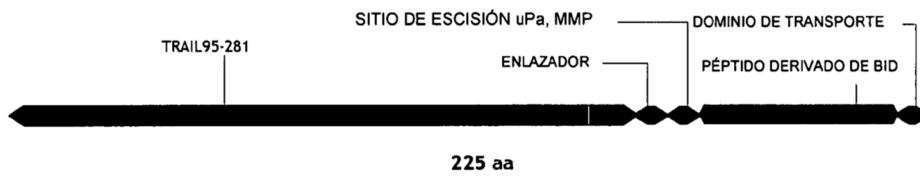


FIG. 9



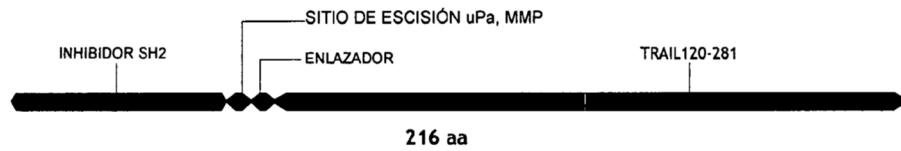
EJEMPLO 47



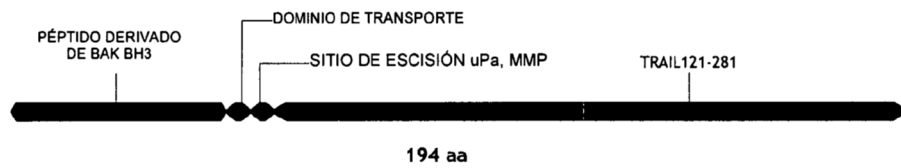
EJEMPLO 48



EJEMPLO 49

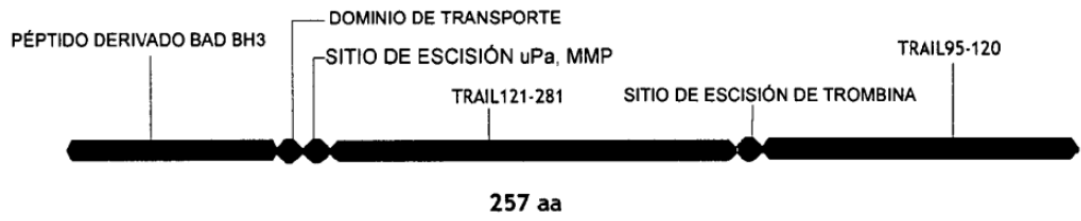


EJEMPLO 50

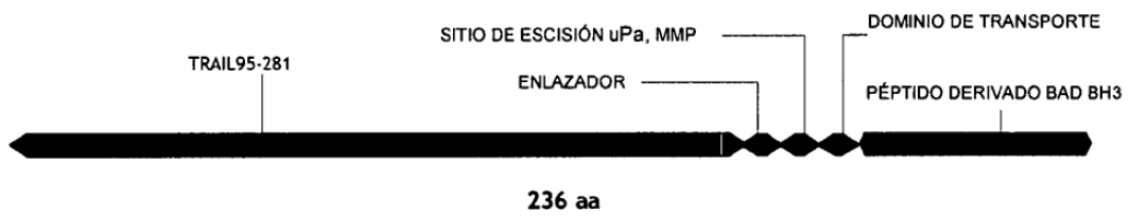


EJEMPLO 51

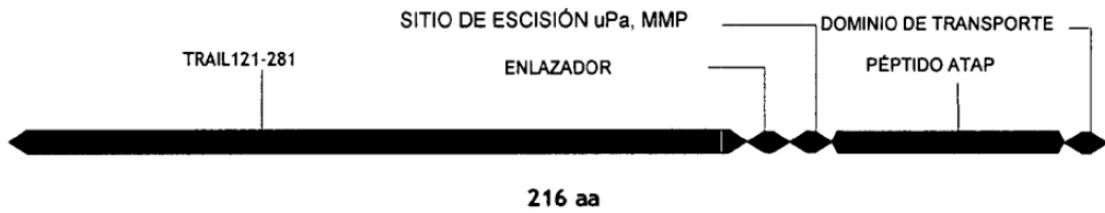
FIG. 10



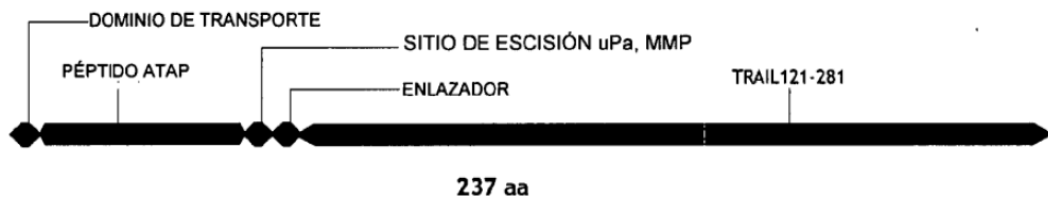
EJEMPLO 52



EJEMPLO 53



EJEMPLO 54



EJEMPLO 55

FIG. 11

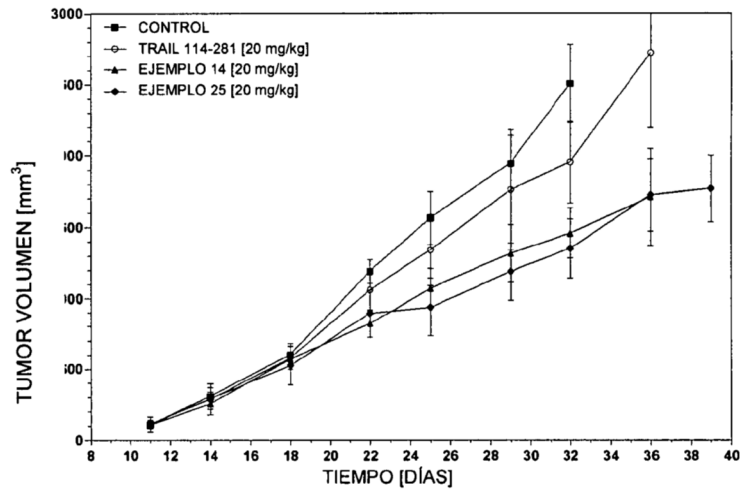


FIG. 12

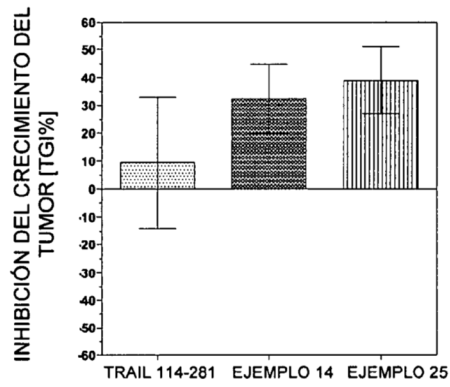


FIG. 13

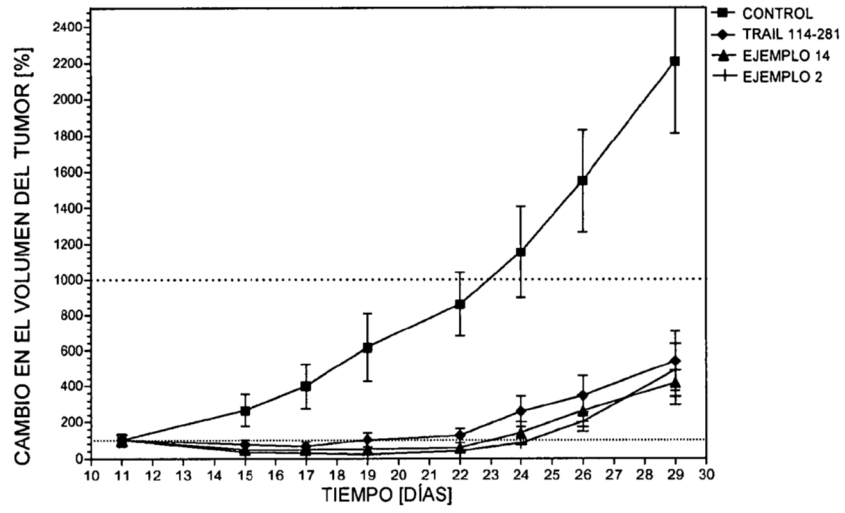


FIG. 14

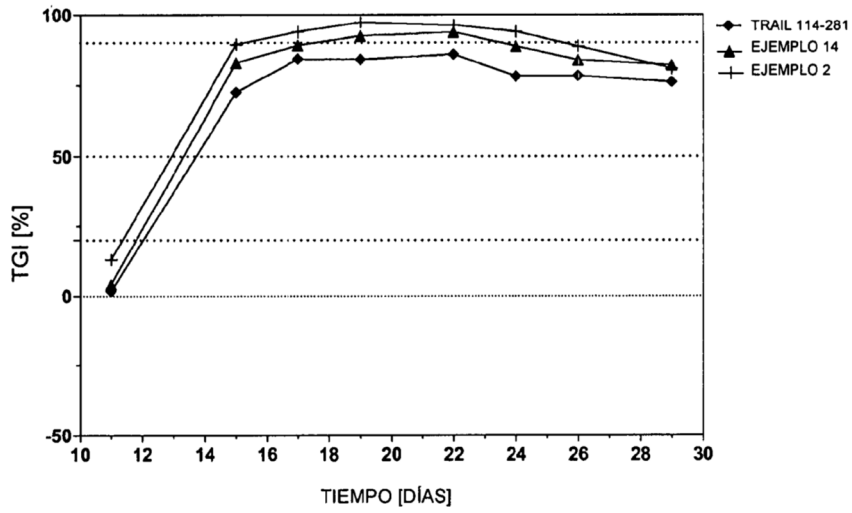


FIG. 15

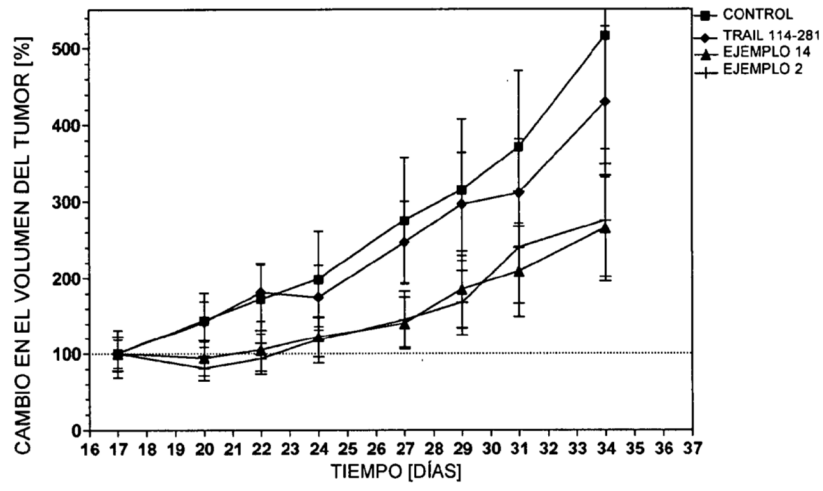


FIG. 16

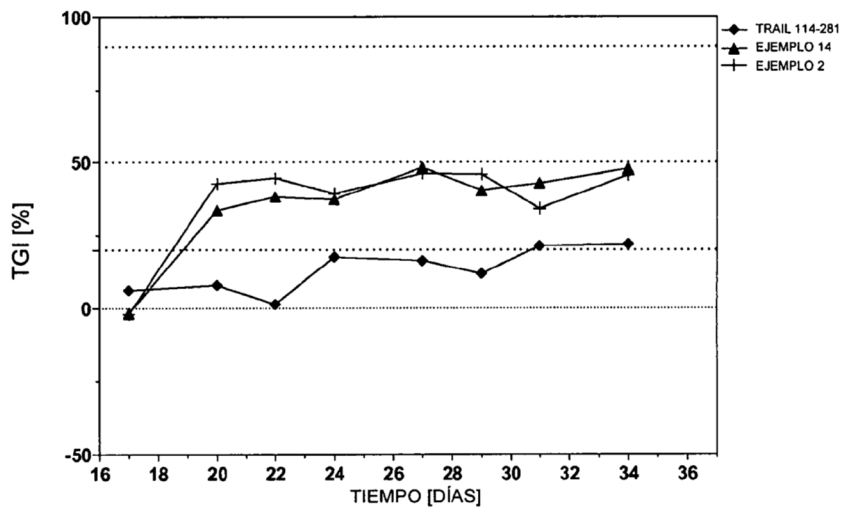


FIG. 17

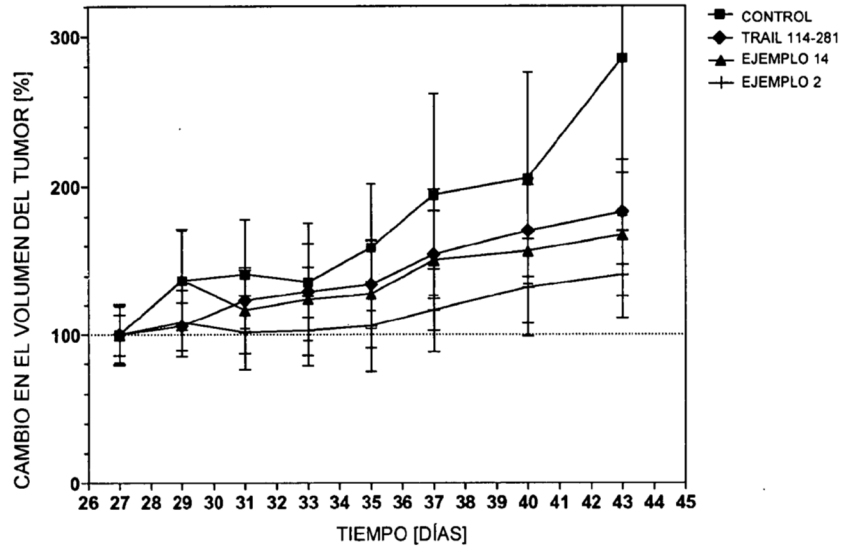


FIG. 18

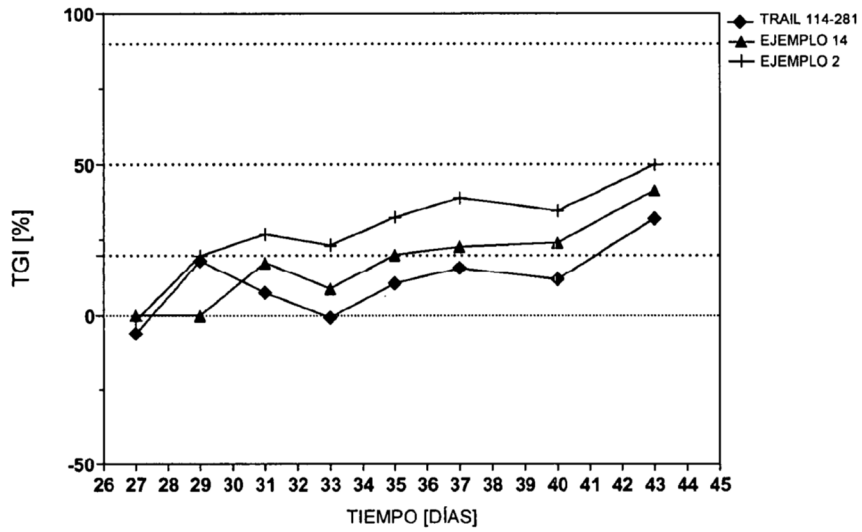


FIG. 19

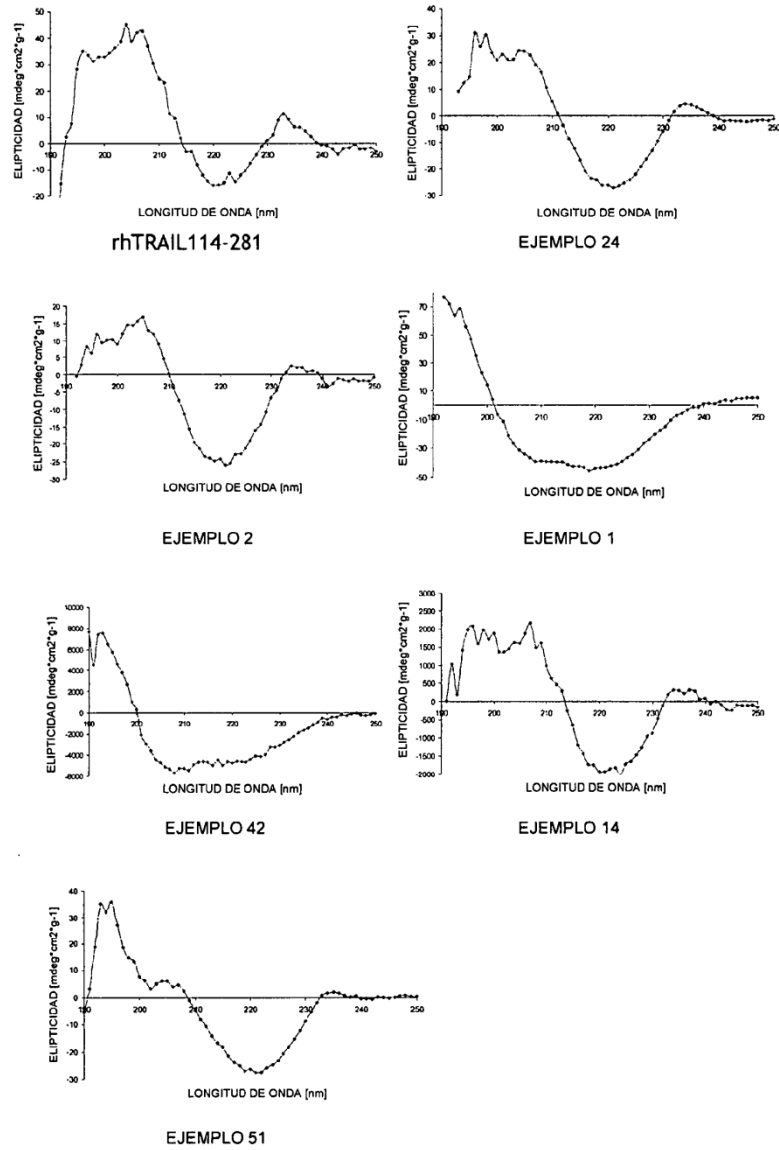


FIG. 20