

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 983 630**

51 Int. Cl.:

C07K 14/47 (2006.01)

C12N 5/16 (2006.01)

C12N 15/02 (2006.01)

C12N 5/077 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.02.2018** **PCT/US2018/017991**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.08.2018** **WO18152103**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.02.2018** **E 18708011 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2024** **EP 3583117**

54 Título: **Método in vitro para fusionar dos o más células, método in vitro para administrar un gen de interés y composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad**

30 Prioridad:

14.02.2017 US 201762458634 P

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

24.10.2024

73 Titular/es:

**CHILDREN'S HOSPITAL MEDICAL CENTER
(100.0%)
MLC 7032, 3333 Burnet Avenue
Cincinnati, OH 45229-3039, US**

72 Inventor/es:

MILLAY, DOUGLAS

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 983 630 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

Método in vitro para fusionar dos o más células, método in vitro para administrar un gen de interés y composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de los EE. UU. núm. 62/458.634, presentada el 14 de febrero de 2017 titulada "INDUCTION OF CELL FUSION BY A NOVEL FUSION FACTOR".

Derechos gubernamentales

Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno bajo NIH R01AR068286 otorgado por los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

Antecedentes

La fusión de las membranas plasmáticas parece necesaria para numerosos procesos biológicos de la concepción hasta el desarrollo del músculo esquelético, osteoclastos, trofoblastos y células gigantes. La regulación molecular de la fusión no se entiende todo lo bien que podría ser y la reconstitución de la fusogenicidad no se ha logrado con proteínas de mamíferos. Específicamente, no se han identificado ciertos factores que participan en la coalescencia de la membrana. También, los descubrimientos de proteínas de fusión específicas y el desarrollo de sistemas de reconstitución han sido históricamente útiles para descifrar múltiples tipos de fusión de membranas; sin embargo, faltan estos sistemas para la fusión celular de mamíferos.

La fusión de mioblastos es un proceso altamente regulado esencial para la formación muscular durante el desarrollo y la regeneración. Si bien se ha demostrado que numerosas proteínas contribuyen a la fusión de mioblastos de mamíferos, la myomaker es la única proteína específica del músculo conocida absolutamente necesaria para este proceso. La expresión de myomaker en fibroblastos o células estromales mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés) induce su fusión con células musculares. Los fibroblastos que expresan myomaker no se fusionan entre sí, indicando que estas células albergan la capacidad de fusionarse, pero solo en presencia de una célula fusogénica (tal como una célula muscular). Por lo tanto, parece que se requieren factores miocíticos adicionales que confieren fusogenicidad para la reconstitución de fusión en los fibroblastos myomaker+.

Yan-Mei Chen y col.: "Molecular Cloning and Functional Analysis of ESGP, an Embryonic Stem Cell and Germ Cell Specific Protein", ACTA BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA SINICA, vol. 37, núm. 12, 1 de diciembre de 2005 (2005-12-01), páginas 789-796, describe la identificación de varios genes corriente abajo Oct-4 putativos de las células madre embrionarias (ES) de ratón usando el método de hibridación supresora-sustractiva. En este estudio, uno de los genes nuevos que codifican una proteína específica de células ES y células germinales (ESGP) se clonó mediante una amplificación rápida de los extremos de ADNc. WO 2007/128984 A2 describe un método para la detección de la presencia o el riesgo de cáncer en un paciente, que comprende, con referencia a un control normal, la etapa para: (i) detectar el nivel de expresión de un gen caracterizado por secuencias dadas, en una muestra aislada de un paciente, en donde un nivel de expresión aumentado del gen caracterizado por cualquiera de una secuencia dada, o un nivel de expresión reducido del gen caracterizado por cualquiera de las secuencias dadas, indica la presencia o el riesgo de cáncer en el paciente del que se aisló la muestra.

Douglas P. Millay y col.: "Structure-function analysis of myomaker domains required for myoblast fusion", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 113, núm. 8, 8 de febrero de 2016 (2016-02-08), páginas 2116-2121, describe el enfoque para explorar la estructura y las propiedades bioquímicas de myomaker al alterar la expresión de myomaker en las líneas celulares musculares C2C12. El artículo presenta un modelo de topología de myomaker dentro de la membrana y describe la base mecánica de la función de los mioblastos.

WO 2014/210448 A1 se refiere a composiciones y métodos relacionados con la fusión de células musculares inducida por myomaker. La sección de métodos de este artículo se refiere a la generación de ratones con myomaker-/- y a métodos moleculares como la PCR en tiempo real, hibridaciones en el sitio, y así sucesivamente.

S. M. Abmayr y col.: "Myoblast fusion: lessons from flies and mice", DEVELOPMENT, vol. 139, núm. 4, 24 de enero de 2012 (24 de enero de 2012), páginas 641-656, describe un estudio en el que los datos indican que la mayoría de myomaker está incrustado en la membrana plasmática con siete regiones que abarcan la membrana y una cola C-terminal intracelular requerida. El estudio describe que la función de myomaker se conserva en otros ortólogos de mamíferos; sin embargo, los miembros de la familia relacionados (TMEM8a y TMEM8b) no presentan actividad fusogénica.

Pengpeng Bi y col.: "Control of muscle formation by the fusogenic micropeptide myomixer", SCIENCE, vol. 356, núm. 6335, 21 de abril de 2017 (21 de abril de 2017), páginas 323-327, concluyen en su estudio que el par Myomixer-Myomaker controla la etapa crítica de formación de miofibras durante el desarrollo muscular.

Qiao Zhang y col.: "The microprotein Minion controls cell fusion and muscle formation", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 8, 1 de junio de 2017 (2017-06-01), página 15664, describe

5 Malgorzata E. Quinn y col.: "Myomerger induces fusion of non-fusogenic cells and is required for skeletal muscle development", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 8, 1 de junio de 2017 (2017-06-01), página 15665, describe un estudio que identifica al myomerger como una proteína de fusión de mioblastos fundamental y establece un sistema que comienza a reconstituir la fusión de células de mamíferos.

10 Sampath y col.: "Myoblast fusion confusion: the resolution begins", SKELETAL MUSCLE, vol. 8, núm. 1, 31 de enero de 2018 (31 de enero de 2018), revisa los hallazgos con respecto a la biología de Myomaker y Minion-Myomerger, coloca estos hallazgos en el contexto de las vías conocidas en la fusión de mioblastos de mamíferos y resalta las áreas que requieren investigación adicional.

15 WO 2018/087720 A1 proporciona composiciones, métodos y usos terapéuticos relacionados con la proteína fusogénica MINION (microproteína inductora de fusión).

WO 2018/156397 A1 describe la actividad promotora fusogénica de la proteína de Myomixer.

20 Ciertas realizaciones de la invención abordan una o más de las deficiencias descritas anteriormente. Por ejemplo, algunas realizaciones de la invención según las reivindicaciones independientes incluyen polipéptidos que comprenden un polipéptido de myomerger. Otras realizaciones de la invención según las reivindicaciones independientes incluyen moléculas de ácido nucleico de myomerger que codifican polipéptidos que comprenden un polipéptido de myomerger. Aun otras realizaciones de la invención según las reivindicaciones independientes incluyen células modificadas que comprenden una molécula de ácido nucleico de myomerger y un polipéptido de myomerger. Aun otras realizaciones de la invención según las reivindicaciones independientes incluyen métodos para usar células modificadas. También se describen realizaciones adicionales de la invención según las reivindicaciones independientes en la presente descripción.

Resumen

30 La invención comprende un método in vitro para fusionar dos o más células según la reivindicación 1, un método in vitro para administrar un gen de interés según la reivindicación 5 y una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad según la reivindicación 10. Las realizaciones preferidas de la invención se describen en las reivindicaciones dependientes.

35 Ilustrativamente, el polipéptido de myomerger puede ser un polipéptido de myomerger silvestre o un polipéptido de myomerger mutante, y puede comprender al menos una modificación de aminoácidos en relación con un polipéptido de myomerger silvestre. En aun otros ejemplos, el polipéptido puede comprender al menos una modificación de aminoácidos en relación con un polipéptido de myomerger silvestre y la al menos una modificación de aminoácidos es una inserción, una eliminación o una sustitución. El polipéptido de myomerger de una primera célula y un polipéptido de myomerger opcional de una segunda célula se seleccionan de las sec. con núms. de ident.: 36-38. En ciertos ejemplos, el polipéptido de myomerger silvestre se selecciona de las sec. con núms. de ident.: 36-38. La secuencia de polipéptidos tiene al menos un 80 % de identidad de secuencia con una o más de la sec. con núm. de ident.: 36, sec. con núm. de ident.: 37 y sec. con núm. de ident.: 38. La secuencia de polipéptidos puede tener ilustrativamente al menos un 90 % de identidad de secuencia con un polipéptido de myomerger silvestre.

45 La molécula de ácido nucleico de myomerger codifica un polipéptido de myomerger. La secuencia de ácido nucleico de myomerger de una primera célula tiene al menos un 80 % de identidad con una o más secuencias seleccionadas de las sec. con núms. de ident.: 43-45. La molécula de ácido nucleico de myomerger está en una primera célula que es una célula modificada y una célula no muscular.

50 La composición farmacéutica inventiva es una primera célula que es una célula modificada que comprende un ácido nucleico de myomerger, un primer polipéptido de myomerger, un primer polipéptido de myomaker y un gen de interés, y en donde la primera célula es una célula no muscular. La composición farmacéutica inventiva también comprende una segunda célula que comprende un segundo polipéptido de myomaker y que comprende, opcionalmente, un segundo polipéptido de myomerger, en donde la secuencia de ácido nucleico de myomerger tiene al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con núm. de ident.: 43, sec. con núm. de ident.: 44 o sec. con núm. de ident.: 45; y la primera secuencia de polipéptidos de myomerger y la segunda secuencia de polipéptidos de myomerger tienen cada una al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con núm. de ident.: 36, sec. con núm. de ident.: 37 y sec. con núm. de ident.: 38.

60 El método in vitro inventivo para fusionar dos o más células comprende poner en contacto la primera célula con una segunda célula para formar una tercera célula. La tercera célula es una célula multinucleada. En ciertas realizaciones, la segunda célula comprende el segundo polipéptido de myomerger. En algunas realizaciones, la segunda célula es una célula muscular, preferentemente un mioblasto.

65 El método in vitro inventivo para administrar un gen de interés comprende poner en contacto la primera célula con la segunda célula in vitro, que se fusionan para formar una tercera célula. La tercera célula es una célula

multinucleada y el gen de interés se administra a la tercera célula tras la fusión de la primera célula con la segunda célula. En algunas realizaciones, la segunda célula comprende el segundo polipéptido de myomerguer. En algunos casos, la puesta en contacto ocurre *ex vivo*. En otras realizaciones, la segunda célula subexpresa el gen de interés, no expresa el gen de interés o expresa una versión defectuosa del gen de interés.

Breve descripción de las figuras

Las siguientes figuras forman parte de la presente especificación y se incluyen para demostrar además ciertos aspectos. La invención puede entenderse mejor por la referencia a una o más de estas figuras en combinación con la descripción de realizaciones específicas presentadas en la presente descripción.

FIGURA 1: Inducción de la fusión de fibroblastos por myomerguer. (A) Expresión de genes regulados por MyoD en fibroblastos myomaker⁺. Análisis por qRT-PCR de los genes indicados 72 horas después de la expresión en fibroblastos. Para *Gm7325*, usamos cebadores específicos para el transcrito largo. (B) Esquema que muestra un ensayo funcional para detectar genes musculares que podrían activar la fusión de fibroblastos myomaker⁺ GFP⁺. Imágenes representativas de células y núcleos GFP⁺ después de la expresión de los genes indicados. Las flechas representan células con múltiples núcleos. (C) Diagrama que muestra el locus de *Gm7325* en el cromosoma 17. El transcrito corto se genera mediante el empalme del exón 1 (no codificante) con el exón 3, llevando a una proteína de 84 aminoácidos. El transcrito largo se produce mediante el empalme del exón 2 con el exón 3 y da como resultado una proteína de 108 aminoácidos. (D) La pista del navegador del genoma de la UCSC muestra múltiples transcritos y la conservación a través de especies de vertebrados. El transcrito corto está muy conservado en múltiples especies, incluyendo humanos, pero no está presente en el pez cebra. El exón corriente arriba que produce el transcrito más largo no está muy conservado. Nótese que esta anotación muestra el gen en la cadena inversa. (E) Los transcritos myomerguer cortos (S) o largos (L) se expresaron en fibroblastos 10T 1/2 myomaker⁺ y ambos indujeron la fusión (n=3). (F) Myomerguer también indujo la fusión de fibroblastos NIH/3T3 myomaker⁺ (n=3) y células estromales mesenquimales myomaker⁺ (n=3). (G) Ilustración del enfoque de mezcla celular para mostrar la fusión entre las poblaciones de fibroblastos. La colocalización de GFP y NLS-TdTomato (NLS-Tom) en el núcleo representa la fusión. Las imágenes representativas muestran la fusión de fibroblastos myomaker⁺ myomerguer⁺ pero no fibroblastos myomaker⁺ infectados vacíos. Las flechas indican la fusión entre los fibroblastos GFP⁺ y NLS-Tom⁺. (H) El porcentaje de núcleos en los sincitios después de la expresión de vacío o myomerguer (n=3). Los datos se presentan como media ± SEM. *P<0,05 se comparó con vacío usando una prueba t no apareada. Las flechas indican la fusión. Barras de escala, 50 µm.

FIGURA 2: Papel del myomerguer y myomaker en la fusión celular. (A) Diagrama que muestra el enfoque de mezcla celular para evaluar la fusión entre las poblaciones de fibroblastos. La colocalización de GFP y NLS-TdTomato (NLS-Tom) en el núcleo representa la fusión (flechas). Las imágenes representativas muestran la fusión de fibroblastos GFP⁺ myomaker⁺ myomerguer⁺ con fibroblastos NLS-Tom⁺ myomaker⁺, pero no fibroblastos NLS-Tom⁺ myomerguer⁺. (B) Cuantificación del porcentaje de sincitios NLS-Tom⁺ GFP⁺ y del porcentaje de núcleos en sincitios (n=3). La línea punteada en el panel derecho representa la fusión lograda cuando ambas células expresan tanto myomaker como myomerguer (de la Figura 1B). (C & D) Experimento de fusión heteróloga entre mioblastos C2C12 y fibroblastos GFP⁺ infectados con vacío, myomaker o myomerguer. Imágenes inmunofluorescentes representativas para visualizar la colocalización de la miosina y la GFP (flechas), indicando la fusión. Cuantificación del porcentaje de células de miosina⁺ GFP⁺ (n=3). Los datos se presentan como media ± SEM. *P<0,05 se comparó con los fibroblastos NLS-Tom⁺ myomerguer⁺ en (B) o vacíos en (C). #P<0,05 entre myomaker y myomerguer. Una prueba t no apareada se usó para determinar la significación. Barras de escala, 50 µm (A) y 100 µm (C).

FIGURA 3: Diseño de cebadores de qRT-PCR y comparación de variantes de proteínas myomerguer y expresión específica de los músculos y regulación del myomerguer. (A) Esquema que muestra la ubicación de los cebadores para distinguir los transcritos cortos y largos. (B) qRT-PCR para transcritos largos (L) y cortos (S) del *Gm7325* de varios tejidos posnatales (P) del día 5. (C) Inmunoelectrotransferencia para myomerguer que compara el músculo P5 con el músculo P28. (D) Inmunoelectrotransferencia para myomerguer que compara diafragmas WT con *mdx*^{4cv} (8 semanas de edad). (E) Inmunoelectrotransferencia para myomerguer que compara plantares simulados con plantares sobrecargados mecánicamente (MOV) (3 meses de edad). (F) qRT-PCR para variantes de transcritos del *Gm7325* y myomaker en células C2C12 en los días de diferenciación indicados (n=3 para cada intervalo de tiempo). (G) Inmunoelectrotransferencia para myomerguer durante la diferenciación de mioblastos C2C12. GAPDH se usó como un control de carga. (H) Alineación de secuencias de ambos productos proteínicos myomerguer de ratón con múltiples ortólogos de mamíferos usando Clustal Omega. Una región hidrófoba potencial está resaltada en gris. (I) Inmunoelectrotransferencia de células C2C12 infectadas con vacío, myomerguer corto (S), myomerguer largo (L) del día 2 de la diferenciación. El myomerguer migra como una sola banda de alrededor de 12 kDa cuando se produce endógenamente (al vacío). La sobreexpresión de myomerguer-S conduce a un aumento en la banda endógena y una banda inferior también se detecta sugiriendo que los transcritos myomerguer pueden someterse a un procesamiento intrincado del ARNm o modificaciones postraslacionales. (J) Gráfico que muestra las regiones de myomerguer-S y myomerguer-L según lo predicho por SignalP y Phobius. (K) Fraccionamiento de lisados C2C12 del día 2 de la diferenciación seguido de inmunoelectrotransferencia. (L) Inmunotinción representativa de fibroblastos infectados con vacío, myomerguer corto (S), o myomerguer largo (L). Barra de escala, 10 µm.

FIGURA 4: Alteración de CRISPR/Cas9 del locus de *Gm7325* y función del myomerguer en la fusión de mioblastos *in vitro*. (A) Esquema que muestra el locus de *Gm7325* y la localización específica de los ARN_g. (B) Estrategia de genotipificación para células C2C12 inactivadas de myomerguer. Los productos de PCR inactivados y WT se secuenciaron

y el resultado se muestra en (A). El uso de dos ARN_g da como resultado sitios de corte reproducibles que llevan a una eliminación de 166 pares de bases tanto en las células C2C12 como en los ratones. Se observa el sitio de iniciación de la traslación (ATG, verde) para myomerger-S y el sitio de terminación (TGA, rojo) tanto para myomerger-S como myomerger-L. (C) Inmunoelectrotransferencia para myomerger en las células C2C12 inactivadas de myomerger y WT del día 2 de la diferenciación. GAPDH se usó como un control de carga. (D) Imágenes de inmunofluorescencia representativas del día 2 y día 4 de la diferenciación para las células C2C12 inactivadas de myomerger y WT. Las células inactivadas de myomerger se diferencian, pero no se fusionan. (E) Cuantificación del índice de diferenciación, el porcentaje de núcleos en las células de miosina⁺ ($n=4$). ns, no significativas. (F) El porcentaje de células de miosina⁺ que contienen 1-2, 3-8 o ≥ 9 núcleos después de 4 días de diferenciación, como un indicador de fusogenicidad ($n=3$). (G) qRT-PCR para los transcritos miogénicos indicados ($n=4$). (H) Las células C2C12 inactivadas de myomerger se infectaron con vacío, myomerger-S o myomerger-L y se indujeron para diferenciarse. Tanto el myomerger-S como myomerger-L rescataron la falta de fusión en las células inactivadas de myomerger. Cuantificación del índice de fusión, calculada como el porcentaje de células de miosina⁺ con ≥ 3 núcleos. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. * $P<0,05$ se comparó con vacío usando una prueba t no apareada. (I) La inmunoelectrotransferencia para myomerger muestra una expresión apropiada después de la transducción de células inactivadas de myomerger. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. * $P<0,05$ se comparó con WT usando una prueba t no apareada. Barra de escala, 50 μ m.

FIGURA 5: Análisis de la colocalización de myomaker y myomerger. (A) Imágenes de inmunofluorescencia representativas de células C2C12 inactivadas de myomerger y WT del día 2 de la diferenciación que indican que la pérdida de myomerger no altera la expresión o localización de myomaker. (B) Inmunofluorescencia para myomerger y myomaker en las células indicadas el día 2 de la diferenciación. Estas dos proteínas de fusión presentan diferentes patrones de localización. Barras de escala, 10 μ m A y 5 μ m B.

Figura 6: Examen del músculo inactivado de myomerger y función del myomerger en la fusión de mioblastos y la formación muscular durante el desarrollo embrionario. (A) Genotipificación del único fundador que alberga la mutación del *Gm7325* generada a través de mutagénesis Cas9. (B) Imágenes de montaje completo representativas de embriones E17.5 inactivados de myomerger y WT que muestran una formación del músculo esquelético inadecuada en los embriones inactivados ($n=4$). (C) Inmunoelectrotransferencia en los lisados de la lengua de ratones inactivados de myomerger y WT que muestran la falta de myomerger en las muestras inactivadas. GAPDH se usó como un control de carga. (D) Imágenes de inmunofluorescencia para miogenina de los miembros superiores E15.5 inactivados de myomerger y WT que demuestran que myomerger no parece ser necesario para la activación miogénica ($n=3$). (E) Inmunofluorescencia de miosina en los músculos del tronco E15.5 indicados ($n=3$). Se observaron miofibras multinucleadas (las flechas del mismo color muestran los núcleos dentro de una miofibra) en las secciones WT. Los miocitos inactivados de myomerger eran miosina⁺ con sarcómeros pero permanecieron mononucleados. (F) Los miembros superiores E15.5 ($n=3$) inmunoteñidos con un anticuerpo de miosina demuestran que los mioblastos inactivados de myomerger se diferencian pero no pueden fusionarse. Las flechas del mismo color muestran núcleos dentro de la misma fibra (G, H e I). Se evaluó la expresión de miogenina y miosina y la multinucleación en miembros superiores E17.5 de ratones inactivados de myomerger y WT. Las flechas del mismo color en (I) muestran núcleos dentro de una miofibra. Observamos miocitos en muestras inactivadas de myomerger que contenían dos núcleos (flechas). Los núcleos etiquetados con las flechas amarillas y rosadas se encuentran dentro de diferentes miofibras. Barras de escala - 1 mm: B; 50 μ m: paneles superiores E, paneles izquierdos F, H; 10 μ m: paneles inferiores D, E, paneles derechos F, G, I.

Descripción detallada

Si bien las realizaciones que abarcan los conceptos inventivos generales pueden adoptar diversas formas, diversas realizaciones se describirán en la presente descripción, entendiendo que la presente descripción debe considerarse meramente ilustrativa.

Las realizaciones de los métodos según la invención incluyen polipéptidos que comprenden un polipéptido de myomerger. Otras realizaciones de los métodos según la invención incluyen las moléculas de ácido nucleico de myomerger que codifican polipéptidos que comprenden un polipéptido de myomerger.

Polipéptidos, moléculas de ácido nucleico y composiciones

El polipéptido de myomerger puede definirse como un polipéptido que (a) induce la fusogenicidad (p. ej., al inducir la fusión de fibroblastos que expresan myomaker), (b) puede conferir actividad fusogénica a células normalmente no fusogénicas, (c) se expresa durante la miogénesis de desarrollo, (d) se expresa durante la miogénesis regenerativa, (e) se expresa solo durante la miogénesis de desarrollo, (f) se expresa solo durante la miogénesis regenerativa, o (g) combinaciones de estos. El término “polipéptido de myomerger” abarca “polipéptidos de myomerger silvestre” (es decir, polipéptidos de myomerger que se encuentran en la naturaleza sin ninguna modificación intencionada por el hombre) y “polipéptidos de myomerger mutantes” (p. ej., con una o más modificaciones realizadas en un polipéptido de myomerger silvestre). Los ejemplos no limitantes de polipéptidos de myomerger silvestre se encuentran en la Tabla 1A. En otros ejemplos, el polipéptido de myomerger tiene al menos una modificación de aminoácidos en relación con un polipéptido de myomerger silvestre. Un polipéptido de myomerger silvestre puede, en algunos ejemplos, ser un polipéptido de myomerger de cualquier animal, incluyendo, pero no se limitan a, un conejo, un perro, un cerdo o un

elefante. La Tabla 1A proporciona ejemplos no limitantes de polipéptidos de myomerger silvestre, donde las sec. con núms. de ident.: 32 - 35 no forman parte de la invención. Las Tablas 1B y 1C proporcionan ejemplos no limitantes de secuencias de ácidos nucleicos relacionadas (incluyendo los codones de iniciación y terminación), donde las sec. con núms. de ident.: 39 - 42 y las sec. con núm. de ident.: 46 - 49 no forman parte de la invención.

5

Tabla 1A

Fuente	Secuencia de polipéptidos
Ratón (largo)	MPEESCTVKLIQLKTGEYRGAGPAMPVPLLPMVLRSLLSRLLLPVAR LARQHLLPLLRLARRLSSQDMREALLSCLLFVLSQQQPPDSGEASR VDHSQRKERLGPQK (Sec. con núm. de ident.: 32)
Ratón (corto)	MPVPLLPMVLRSLLSRLLLPVARLARQHLLPLLRLARRLSSQDMRE ALLSCLLFVLSQQQPPDSGEASRVDHSQRKERLGPQK (Sec. con núm. de ident.: 33)
Humano	MPTPLLPLLLRLLSCLLLPAARLARQYLLPLLRLARRLGSQDMRE ALLGCLLFILSQRHSPDAGEASRVDRLEERRERLGPQK (Sec. con núm. de ident.: 34)
Gato	MPAPLLPLLLRTLMSRLLLPATRLARRHLLPLLRLARRLGSQDVRE ALLGCLLFILSQRPPDAEEVSRVAGQERRERLAPPK (Sec. con núm. de ident.: 35)
Conejo	MPAPLLPLLLRTLMSRLLLPAAARLARRHLLPLLRLAQRLLGSQGTREA LLGCLLFVLSQRQPPDASGEASRVDPPEKKERLGRQK (Sec. con núm. de ident.: 36)
Perro	MPAPLLPLLLRTLVSRLLLPAARLARRHLLPLLRLGLARRLGSQEVRE ALLGCLLFILSQRHPPDAEEASRVAGQERKERLAPPK (Sec. con núm. de ident.: 37)
Elefante	MPVPLLSLLLRALLSRLLLPAAARLARQHLLPLLRLARRLGSQDMRQ ALLGCLLFVLSQQHPPDAGEASREALSERRGRLAPQK (Sec. con núm. de ident.: 38)

Tabla 1B

Fuente	Secuencia de ácido nucleico del ADNc
Ratón (largo)	atgcc agaagaaagc tgcactgtaa aactaatcca gttgaaaact ggggagtaca gaggtgcagg tccgtccatg cccgttccat tgcctccgat ggtgcttcca tccgtgctgt cccgcctgct gctgcctgtt gccgcctgg cccggcagca cctcctgcc ttgctgcgcc ggctggcccg ccgactgagc tcccaagaca tgagagagcg tctgtgagc tctgtgctt ttgtcctcag ccagcaacag ccaccggatt ctggagagcg ctcagagtg gaccactcc agaggaagga gagattggcg cccagaagt ga (Sec. con núm. de ident.: 39)
Ratón (corto)	atgcccg tccattgct cccgatggg ctccatcgc tctgtcccg cctgtgctg cctgttccc gccgtggccg gcagcactc ctgcccttgc tgcgcggct ggcccgccga ctgagctccc aagacatgag agaggctctg ctgagctgct tctctttgt cctcagccag caacagccac cggattctgg agaggcctcc agagtggacc actccagag gaaggagaga ttgggcccc agaagtga (Sec. con núm. de ident.: 40)
Humano	atgccac gccactgct ccgtgctgc ttgattgct gctgtcctgc ctgtgctgc ctgtgcgcc cctggcccg caataactcc tgcctctgct gcgcgattg gccgcgccg tgggtccca ggacatgca gaggttgc tgggtgct gctgttca tctagccagc gacactgcc agacgtggg gaggcctcaa gattggacc cctggagagg agggagaggt taggccccca aaagtga (Sec. con núm. de ident.: 41)

Fuente	Secuencia de ácido nucleico del ADNc
Gato	atgcccgcc tccactgctc ccaactgctc ttcgaacct gatgtccgc ttgctgtgc ctgccacccg cctggccgc cggcaacct tgcctctct ggcgcgactg gcccgccgc tggctcgca ggaatgtga gaagcttgc tggcctgct gtgttcac ctagccaga gccgcgcgc cgaactgag gaggtctca gattggctgg ccaggagagg agggagaggc tagctcccc aaaatga (Sec. con núm. de ident.: 42)
Conejo	atgcc tgcctccctg ctgccctgc tgcctggaac gctgctgtc cgtctgtgc tgcctgtgc cgcctggcc cgcctggcacc tctgctctc gctgcgcga ctggctaac gctgggtgc ccaggcgacg cgcagagctt tgcctggctg ttgtctgtt gctctcagc agagacagcc gccagatgcc tctggggagg cctccagagt ggaccacgc gagaggaagg agaggttagg ccgcaaaag tga (Sec. con núm. de ident.: 43)
Perro	atgc ctgctccact gctccactg ctgctgcga cgtggtgtc tgcctgtgc ctgctgtgc ccgcctggc ccggcgccac ctctgctgc tgcctgtgc actggccgc cgcctaggct cgcagagagt tcagagagt tgcctggct gctgtgtt catctcagc cagagacac cgcctggcgc cagagagcc tccagagtgc ctggccagga gaggaaggag aggttagct ccccaaatg a (Sec. con núm. de ident.: 44)
Elefante	atgcccgcc cgtgctctc gctgctgtc cgcctgctc tgcctgctc gctgctgtc gctgctgctc tgcctgcca gcactctgc cctctctgc gccactgc tgcctgctc ggctccagg acatgcgaca ggctctctg ggaatgtgc tctgtgtc cagccagca caccgcgcg acgtgtgga ggctccaga gaggcctct cagagaggag agggaggcta gcccccaaa agtga (Sec. con núm. de ident.: 45)

Tabla 1C (exones en minúsculas)

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
Humano (cadena +): el codón de iniciación está en negrita y subrayado ; el codón de terminación está en negrita y en <i>cursiva</i>	ctgcccgggtgagagctgcccgtggattgggtggggctaggggaactcagaggtcagggagt gt cagggcaggggtggatcagagagccccaaaagaaaaattgagaattgcctggcagagaaac tc ctgctagactgagggagaaagggttaggggaactccaggggcattgaggctgtgcaagag ga gggggtgactagaggaaggagggggccagggagcagtaggaattgcctggagctgggaa cg gcaagctgtaggtcttgggtttactcttgccttgggttcagctctcccatctgtgctatg gt gagaaaccttctgctcagctgccttcccaagagaaagggttcattgaaagcaaaaat ga octacaaattgaggtcagagcaggaagggtgttaactgaaggagggggagctcctgc cc accccatgtctcttccaggtgagggcagaaactagagcatgcaagcctaaggctgtgtgt gt cttccagagcactgactcactggccctgccatgcccacgcactgctcccgctgtgtc tt cgattgtgtgtgtctgctgt tg ccctgt tg ggctgt ga gtggacgcctgtgagaggaggagagggttagggcccccaaaagttagggccacaagtcct gg cagcagctgtatccaaaaatgctttcttttggagtaggataatcctggcaccagcac tg accgaagcctgcccagtgagcagaagatatagtggggtgtgtcatgagagggatctg cc acagacatgctctccactcccaacagaaatgtctttcttggagaagtgcttgcctct ag cacaacactgattattgcccctctgtctctccagcagttctctcccaagaccactcta at

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	cacctctggcctcaggcgggaggggaactaacaacccacccacccctgcccctccctgca aa tgggaacatcaaggttcccagtgcttaactgagggacaagtgcacatttagcagagag gc aagatttgaatccagactgtcttccagactcaggacctaccttaaaataatatctgag tt gcttatggaggcagacctgcctgcaaagcccagcactcagcaagtgcctcaataaataat tt gatttgaattctttc (Sec. con núm. de ident.: 46)
Humano (cadena -, complemento inverso)	gaaagaattcaaatcaaatattttattgagcacttgcctgagtgctgggctttgcaggca gg tctgcctccataagcaactcagatatttttaaggtaggtcctgagtcctggaagaca gt ctggattcaaatcttgcctctctgtataattgtcacttgcctcagttaagcactgg ga accttgatgttccattttgcaggagggcaggggtgggtgggtggttagttcccctccc gc ctgaggccagaggtgattaggagtggtctttgggaggaaactgctggaggacagagggg ca ataatcagttttgtgtagatgcaaggcattcttccagaaagacatttctgttgggag tg gagaggcatgtctgtggcagatccctctcatgcacaacccctcactatatcttctgtcc ac tgggcaggcttcgggtcagtgctgggtgccaggattatccctactccaaaagaaagcattt tg tggatcacagctgctgccaggacttgtggcctcacttttgggggcctaacctctccctc ct ctccaggcgggtccactcttgaggcctccccagcgtctggcgagtgctgcgtggctgaga at gaacagcagacagcccagcaaaagcctctctgcctgtcctgggagcccaggcggcgggoc aa tgggcgcagcaggggcaggaggtatttggggggccaggcggggcagcaggcagcagcagg ca ggacagcagcaatcgaagcagcagcgggagcagtggggtgggcatggcagggccagtg ag tcagtgcctgggaagacaacacagacttttaggcctgcctgctcctgcttctgctcacc tg gcaagcagcatgggggtggggcaggacttccccctcccttcagtttacaccttccctgctcc tg acctcaatttggtaggtcatttttgcctttcatgaagccctttctcttggcaggcagct ga ggcaggaaggttctcaccatagcacagatgggggagactgaaccaaggcagagtaaac ca agacctacagcttgcctgtcccagctccaggcattccctactgctccctggccccctccc tt cctctagtcacccccctcctcttgcacagcctcaatgccccctggaggtccctaaccctt ct ccctcagcttagcaggagttcttctccaggcaattctcaatttttcttttggggctcc tg atccacccctgacctgacactccctgacctctcagctccctacccccaccaatccaagg ca gctctcacggggcag (Sec. con núm. de ident.: 47)
Ratón (cadena +)	ccaataacaacacactgtcctcgtttattgactacctgctgctgctaccagctttgaa gt actcattcttttaacgggaagcaagggttataattttaaggtagacgggacagtttgg at

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	ttaaataaccacctcttagctaaattgtcttgagtcataagtgaacatcatctcttaao tg accttgataacccgcatttgcagggtccacccctggaggccagagataaggcagaggggagc tg cagagaggaaggggtcaatcaacacaaatctgtagccctgctaggagctaggggagtgggga ac tggtcagggtcagagccctcttgcactcagcccggaactgtcttcgccactgggcagtc tg ccgtccatgcccgtggttgccgacccgacgcttggaactaacccggtccaaaagtacttt ga tgggcgttggtgtttccaggaccggtggcctcactcttggggggcccaatctctctctc ct ctgggagtggtccactcttgaggccctctccagaatccgggtggctgtgtgtggctgagg ac aaagagcagacagctcagcagagccctctctcatgtcttgggagctcagtcggcgggcc ag ccggcgcagcaagggcaggaggtgtgcggggccaggcgggcaacaggcagcagcagg cg ggacagcagcgatcgaagcaccatcgggagcaatggaaacgggcagtgccaggacctgca cc TGC AAAGGGAACCCGGGTTT TAGACTGTACCTCAGGCACGCACCTCACCTGGCAAAGC AG GGTCCGGGGGTGTGGAGTCCTCCCTTCAGCTTATACctctgtactccccagttttcaa ct ggattagttttacagtgccagctttctcttggcatgaaagctggttaaggagttcactc ac tggtatcacagatgggaagggagcccagggtggaaggtgggtggggaactGAGGCTAGG GC CTTTTCAGAAACCCACTTCCTTTAATCCCTCCCTCCCTTTGCATACTCTGACctgaag cc tgaactctctgcccctctgtctcaccagttctaaccgggcagtgccagctctcaccagt ca gaactgtccagaatcaatttcaggatgcttttgcctgcggtggattcagcatcact (Sec. con núm. de ident.: 48)
Ratón (cadena -, complemento inverso) - el codón de iniciación está en negrita y subrayado; el codón de terminación está en negrita y en cursiva	agtgatgtgaatccacccgaggcaaaagcatcctgaaattgattctgagcagttctg ac tgggtgagagctgccactggccggttagaactggtgagcaggagggcaagaagttcagg ct tcagGTCAGAGTATGCCAAAGGGAGGGAGGGATTAAAGGAAGTGGGTTCTGGAAAGGC CC TAGCCTCagtcccccaccaccttccagccctgggctcccttcccatctgtgataaacagt ga gtgaactccttaaccagcttttcatgccagaagaaagctgcactgtaaaactaatccag tt gaaaaotggggagtagacagagGTATAAGCTGAAGGGAGGACTCCACACCCCCGCACCT GC TTTGCCAGGTGAGGTGCGTGCCCTGAGGTACAGTCTAAAACCCGGGTTCCCTTTGCAGg tg caggtoctgcc<u>atg</u>cccggtccattgtctccgatgggtgcttccgatcgtgtgtccg cc tgctgctgacctgttgcccgccctggcccgccagcacctcctgccttctgtgcgcgggt gg cccgccagctgagctcccaagacatgagagaggctctgctgagctgctgtgtctttgt cc tcagccagcaacagccacccgattctggagaggccctccagagtggaacctccagag ga aggagagattggggccccagaag <i>tga</i>ggccacgggtcctggaaacagcaacgcccac aa agtacttttggagccgggttagtccaggcgtcggtccgcacgcacgggcattggacggca ga ctgcccagtgggcggaagacagtcggggctgagtgcaagagggctctgacctgaacagt tc ccactccctagctccatgacaggctacagattgtgttgattgaccttctctctgca gc

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
5	tccctctgtccttatctctctggcctccagggtggacctgcaaatgagggtatcaagggtca gt taagagatgatgtttcacttagactcaagacaatttagctaagagggtggtattttaa cc aaactgtcccggtotaccttaaaattataagcccttgccttccggttaaagaatgagtao tt tcaaaagcttggtacgcagcaggttagtcaataaacgaggacagtggtgttatttgg (Sec. con núm. de ident.: 49)
10	

Una o más modificaciones, en algunos casos, pueden incluir una inserción, una eliminación, una sustitución o combinaciones de estas. Ilustrativamente, una o más modificaciones de un polipéptido de myomerger silvestre pueden comprender una inserción, tal como, pero no se limitan a, una inserción en el terminal C o en el terminal N del polipéptido de myomerger silvestre. En algunos ejemplos, una inserción puede incluir (p. ej., en el terminal C, en el terminal N o en otro lugar en el polipéptido) aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9, aproximadamente 10, aproximadamente 11, aproximadamente 12, aproximadamente 13, aproximadamente 14, aproximadamente 15, aproximadamente 16, aproximadamente 17, aproximadamente 18, aproximadamente 19 o aproximadamente 20 aminoácidos (p. ej., aminoácidos naturales o aminoácidos modificados o inusuales).

En algunos ejemplos, el polipéptido no abarca uno o más polipéptidos de origen natural (p. ej., no abarca uno o más de los polipéptidos de myomerger silvestre). En otros ejemplos, el polipéptido no abarca ninguno de los polipéptidos de myomerger silvestre. En algunos ejemplos, el polipéptido no abarca ningún polipéptido de origen natural (p. ej., no abarca ninguno de los polipéptidos de myomerger silvestre o ningún otro polipéptido de origen natural).

Ilustrativamente, una o más modificaciones de un polipéptido de myomerger silvestre pueden incluir una o más sustituciones, una o más inserciones, o una o más eliminaciones (o combinaciones de estas) de uno o más aminoácidos en una región hidrófoba de un polipéptido de myomerger silvestre, en una región de señal de un polipéptido de myomerger silvestre, en una región transmembrana de un polipéptido de myomerger silvestre, o en una combinación de los mismos. En algunos ejemplos, una o más modificaciones de un polipéptido de myomerger silvestre pueden incluir una o más sustituciones o una o más eliminaciones (o combinaciones de estas) de uno o más aminoácidos en una región hidrófoba de un polipéptido de myomerger silvestre, en una región de señal de un polipéptido de myomerger silvestre, en una región transmembrana de un polipéptido de myomerger silvestre, o en una combinación de los mismos.

En algunos ejemplos, el polipéptido puede tener una secuencia de polipéptidos con una identidad de secuencia de aminoácidos con un polipéptido de myomerger silvestre (p. ej., sec. con núm. de ident.: 36) de aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,1 %, aproximadamente 99,2 %, aproximadamente 99,3 %, aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. En algunos ejemplos, la secuencia de polipéptidos tiene una identidad de secuencia de aminoácidos con una sec. con núm. de ident.: 36 de aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,1 %, aproximadamente 99,2 %, aproximadamente 99,3 %, aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. La identidad de secuencia de aminoácidos (p. ej., la identidad porcentual) puede determinarse por cualquier método adecuado, tal como usando el software BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, Clustal Omega o Megalign. A menos que se indique lo contrario, la identidad de secuencia de aminoácidos (p. ej., la identidad porcentual) se determina usando BLAST-2.

En algunos ejemplos, el polipéptido tiene (p. ej., según se compara con un polipéptido de myomerger silvestre o según se compara con la ausencia de un polipéptido de myomerger) una mayor capacidad para activar la fusión, una menor capacidad para activar la fusión, una mayor capacidad para conferir fusogenicidad, una mayor capacidad de conferir fusogenicidad, un mayor nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, un menor nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, un mayor nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), un menor nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), un mayor nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), una disminución de la inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), una mayor afinidad por las membranas, un

mayor nivel de asociación con el compartimento de membrana o combinaciones de estos. En otros ejemplos, el polipéptido tiene (p. ej., según se compara con un polipéptido de myomerger silvestre o según se compara con la ausencia de un polipéptido de myomerger) una mayor capacidad para activar la fusión, una mayor capacidad para conferir fusogenicidad, un mayor nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, un mayor nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), un mayor nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), una mayor afinidad por las membranas, un mayor nivel de asociación con el compartimento de membrana o combinaciones de estos.

Algunos ejemplos incluyen moléculas de ácido nucleico que pueden codificar el polipéptido ("moléculas de ácido nucleico de myomerger"). Ilustrativamente, la molécula de ácido nucleico de myomerger puede incluirse en un vector (p. ej., un vector viral, un vector retroviral, un vector lentiviral, un vector adenoviral, un vector viral adenoasociado, un vector herpesviral, un vector viral quimérico, un plásmido, un cósmido, un cromosoma artificial, un bacteriófago, un virus animal, un virus vegetal, un vector de expresión, un vector conjugativo o un vector no conjugativo). La molécula de ácido nucleico de myomerger está en una primera célula que es una célula no muscular.

Ilustrativamente, la molécula de ácido nucleico de myomerger puede comprender una o más secuencias de ácido nucleico que no se usan para codificar el polipéptido (p. ej., uno o más intrones). Por ejemplo, la molécula de ácido nucleico de myomerger puede comprender una secuencia de ácido nucleico según se encuentra en la naturaleza (p. ej., que incluye intrones). La molécula de ácido nucleico de myomerger puede diferir de la una o más moléculas de ácido nucleico en la naturaleza porque la molécula de ácido nucleico de myomerger no incluye uno o más intrones. En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico de myomerger es una molécula de ADNc ("molécula de ADNc myomerger"). En ciertos ejemplos, la molécula de ADNc myomerger es idéntica a una molécula de ácido nucleico que se encuentra en la naturaleza. En otros ejemplos, la molécula de ADNc myomerger no es idéntica a una molécula de ácido nucleico que se encuentra en la naturaleza (p. ej., debido a que la molécula de ADNc myomerger no incluye uno o más intrones en la molécula de ácido nucleico que se encuentra en la naturaleza).

La molécula de ácido nucleico de myomerger tiene una identidad de secuencia con una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de myomerger silvestre (p. ej., sec. con núm. de ident.: 43) de aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,1 %, aproximadamente 99,2 %, aproximadamente 99,3 %, aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. En algunas realizaciones, la secuencia de moléculas de ácido nucleico de myomerger tiene una identidad de secuencia con una sec. con núm. de ident.: 43 de aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,1 %, aproximadamente 99,2 %, aproximadamente 99,3 %, aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. Los ejemplos no limitantes de polipéptidos de myomerger silvestre y moléculas de ácido nucleico de myomerger silvestre pueden encontrarse en la Tabla 1. La identidad de secuencia de ácido nucleico (p. ej., la identidad porcentual) puede determinarse por cualquier método adecuado, tal como usando el software BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, Clustal Omega o Megalign. A menos que se indique lo contrario, la identidad de secuencia de ácido nucleico (p. ej., la identidad porcentual) se determina usando BLAST-2.

En algunos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomerger codifica un polipéptido que tiene una o más modificaciones al polipéptido de myomerger silvestre en una región hidrófoba, en una región de señal, en una región transmembrana o en una combinación de las mismas.

La molécula de ácido nucleico de myomerger puede elaborarse usando cualquier técnica adecuada tal como, pero no se limita a, la síntesis química, producción enzimática o producción biológica. La síntesis química de una molécula de ácido nucleico puede incluir, por ejemplo, una molécula de ácido nucleico elaborada por síntesis química *in vitro* usando la química de fosfotriéster, fosfito o fosforamidita y técnicas de fase sólida, o mediante intermedios de desoxinucleósido H-fosfonato. Las moléculas de ácido nucleico producidas enzimáticamente pueden lograrse usando cualquier método adecuado que incluye, pero no se limita a, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Las moléculas de ácido nucleico producidas biológicamente pueden lograrse usando cualquier método adecuado que incluye, pero no se limita a, un ácido nucleico recombinante producido (es decir, replicado) en una célula viva, tal como un vector de ADN recombinante replicado en bacterias.

Las modificaciones o cambios realizados en la estructura de las moléculas de ácido nucleico y/o polipéptidos están incluidos dentro de algunas realizaciones de la presente invención. En ciertas realizaciones, un polipéptido puede modificarse (p. ej., por una o más inserciones, una o más eliminaciones o una o más sustituciones [p. ej., sustituciones conservadoras]). En algunos ejemplos, el polipéptido que se modificó no tiene una pérdida apreciable

(p. ej., una disminución en una función de menos de aproximadamente 1 %, menos de aproximadamente 5 %, menos de aproximadamente 10 %, menos de aproximadamente 25 %, menos de aproximadamente 50 %, menos de aproximadamente 75 %, menos de aproximadamente 90 %, menos de aproximadamente 95 %, menos de aproximadamente 99 % o menos de aproximadamente 100 %) de una o más funciones elegidas del polipéptido no modificado, tales como, por ejemplo, la capacidad para formar un poro en una célula (p. ej., en una membrana celular), la capacidad para realizar cambios en el citoesqueleto de la célula (p. ej., reorganizar el citoesqueleto, rediseñar el citoesqueleto, realizar cambios en el citoesqueleto para permitir que la célula se fusione), la capacidad para activar la fusión de dos células, la capacidad de hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerger), la capacidad para conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunos ejemplos, el polipéptido que se modificó conserva niveles deseados (p. ej., al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 99 %) de una o más funciones del polipéptido no modificado, tales como, por ejemplo, la capacidad para formar un poro en una célula (p. ej., en una membrana celular), la capacidad para realizar cambios en el citoesqueleto de la célula (p. ej., reorganizar el citoesqueleto, rediseñar el citoesqueleto, realizar cambios en el citoesqueleto para permitir que la célula se fusione), la capacidad para activar la fusión de dos células, la capacidad para hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerger), la capacidad para conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunos ejemplos, el polipéptido después de la modificación tiene un mayor nivel de una o más funciones en comparación con el polipéptido no modificado. Las moléculas de ácido nucleico pueden diseñarse para codificar tal polipéptido modificado.

Un “polipéptido funcional” se define como un polipéptido (p. ej., un polipéptido de myomerger o un polipéptido modificado) que tiene niveles deseados (p. ej., al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 99 %, según se compara con otro polipéptido, tales como un polipéptido de origen natural) de una o más funciones tales como, por ejemplo, la capacidad para formar un poro en una célula (p. ej., en una membrana celular), la capacidad para realizar cambios en el citoesqueleto de la célula (p. ej., reorganizar el citoesqueleto, rediseñar el citoesqueleto, realizar cambios en el citoesqueleto para permitir que la célula se fusione), la capacidad para activar la fusión de dos células, la capacidad para hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerger), la capacidad para conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunos ejemplos, el polipéptido funcional tiene un mayor nivel de una o más funciones en comparación con otro polipéptido (p. ej., un polipéptido de origen natural). Las moléculas de ácido nucleico pueden diseñarse para codificar polipéptidos funcionales.

Un polipéptido “funcionalmente equivalente” (p. ej., un polipéptido de myomerger) se define como un polipéptido que se ha modificado (p. ej., por una o más inserciones, una o más eliminaciones, o uno o más sustituciones (p. ej., sustituciones conservadoras)) de un polipéptido original (p. ej., un polipéptido de myomerger silvestre) y que el polipéptido modificado conserva niveles deseados (p. ej., al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 99 %) de una o más funciones del polipéptido original, tales como, por ejemplo, la capacidad de formar un poro en una célula (p. ej., en una membrana celular), la capacidad de realizar cambios en el citoesqueleto de la célula (p. ej., reorganizar el citoesqueleto, rediseñar el citoesqueleto, realizar cambios en el citoesqueleto para permitir que la célula se fusione), la capacidad de activar la fusión de dos células, la capacidad de hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerger), la capacidad de conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula

comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunos ejemplos, el polipéptido funcionalmente equivalente tiene un mayor nivel de una o más funciones en comparación con el polipéptido original. Las moléculas de ácido nucleico pueden diseñarse para codificar polipéptidos funcionalmente equivalente.

En ciertas realizaciones, cuanto más corta sea la longitud de un polipéptido, menores serán las modificaciones (p. ej., sustituciones) que pueden realizarse dentro del polipéptido mientras conservan, por ejemplo, un nivel deseado de una función elegida. En algunos casos, los dominios más largos pueden tener un mayor número de tales cambios mientras conservan, por ejemplo, un nivel deseado de una función elegida. En otros ejemplos, un polipéptido de longitud completa puede tener más tolerancia a un número fijo de cambios mientras conserva, por ejemplo, un nivel deseado de una función elegida, en comparación con una menor longitud de ese polipéptido.

El diseño de sustituciones puede adoptar muchas formas, que incluyen, pero no se limitan a, las descritas en la presente descripción. En algunos ejemplos, el índice hidropático de aminoácidos puede considerarse para diseñar sustituciones. En el índice hidropático, a cada aminoácido se le asigna un índice hidropático sobre la base de sus características de hidrofobicidad o carga, de la siguiente manera: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9); o arginina (-4,5). En algunos casos, ciertos aminoácidos pueden sustituirse por otros aminoácidos que tienen un índice hidropático similar. Al realizar cambios basados en el índice hidropático, la sustitución de aminoácidos con índices hidropáticos puede realizarse con aminoácidos que tienen una diferencia de índice de no más de ± 2 , no más de ± 1 o no más de $\pm 0,5$.

En algunos ejemplos, las sustituciones también pueden realizarse basadas en los valores de hidrofiliidad. Según se detalla en la patente de los EE. UU. núm. 4.554.101, los siguientes valores de hidrofiliidad se han asignado a los residuos de aminoácidos: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0 ± 1); glutamato (+3,0 ± 1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5 ± 1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptófano (-3,4). Al realizar cambios basados en los valores de hidrofiliidad similares, la sustitución de aminoácidos con valores de hidrofiliidad puede realizarse con aminoácidos que tienen un valor de no más de ± 2 , no más de ± 1 o no más de $\pm 0,5$.

Una “sustitución conservadora” en una secuencia de aminoácidos o polipéptido indica que un residuo de aminoácidos dado se reemplaza por un residuo que tiene características fisicoquímicas similares (p. ej., no más de ± 1 cuando se basa en el índice hidropático o no más de ± 1 cuando se basa en los valores de hidrofiliidad). Los ejemplos de sustituciones conservadoras incluyen (a) la sustitución de un residuo alifático por otro con un residuo alifático, (b) la sustitución de uno de Ile, Val, Leu o Ala por otro de He, Val, Leu o Ala, (c) la sustitución de uno de Gly, Ile, Val, Leu o Ala por otro de Gly, Ile, Val, Leu o Ala, (d) la sustitución de un residuo polar por otro residuo polar, (e) la sustitución de uno de Lys y Arg por otro de Lys y Arg, (f) sustitución de uno de Glu y Asp por otro de Glu y Asp, (g) sustitución de uno de Gln y Asn por otro de Gln y Asn, (h) sustitución de un residuo que contiene hidroxilo o azufre con otro residuo que contiene hidroxilo o azufre, (i) sustitución de uno de Ser, Cys, Thr o Met con otro de Ser, Cys, Thr o Met, (j) sustitución de un residuo aromático con otro con un residuo aromático, (k) sustitución de uno de Phe, Tyr o Trp con otro de Phe, Tyr, o Trp, (l) sustitución de un residuo básico por otro residuo básico, (m) sustitución de uno de His, Lys o Arg con otro de His, Lys o Arg, (n) sustitución de un residuo ácido/de amida con otro residuo ácido/de amida, (o) sustitución de uno de Asp, Glu, Asn o Gln con otro de Asp, Glu, Asn o Gln, (p) sustitución de un residuo con otro residuo de un tamaño similar, y (q) sustitución de uno de Ala, Gly o Ser con otro de Ala, Gly o Ser. En algunos ejemplos, cada aminoácido en una región hidrófoba de un polipéptido puede sustituirse con sustituciones conservadoras (p. ej., cualquier combinación de sustituciones conservadoras que se relacionan con residuos hidrófobos).

Si bien la discusión se ha centrado en los cambios de aminoácidos, se apreciará que estos cambios pueden ocurrir por la alteración del ADN codificante; teniendo en cuenta también que el código genético está degenerado y que dos o más codones pueden codificar el mismo aminoácido. Una tabla de aminoácidos y sus codones se presenta más abajo para uso en tales ejemplos, así como para otros usos, tales como en el diseño de sondas y cebadores y lo similar.

Tablas A y B. Designaciones de aminoácidos y tabla de codones

Tabla A - Designaciones de aminoácidos			Tabla B - Codones para aminoácidos
Alanina	Ala	A	GCA GCC GCG GCU
Cisteína	Cys	C	UGC UGU
Ácido aspártico	Asp	D	GAC GAU
Ácido glutámico	Glu	E	GAA GAG
Fenilalanina	Phe	F	UUC UUU
Glicina	Gly	G	GGA GGC GGG GGU
Histidina	His	H	CAC CAU

Tabla A - Designaciones de aminoácidos			Tabla B - Codones para aminoácidos
Isoleucina	Ile	I	AUA AUC AUU
Lisina	Lys	K	AAA AAG
Leucina	Leu	L	UUA UUG CUA CUC CUG CUU
Metionina	Met	M	AUG
Asparagina	Asn	N	AAC AAU
Prolina	Pro	P	CCA CCC CCG CCU
Glutamina	Gln	Q	CAA CAG
Arginina	Arg	R	AGA AGG CGA CGC CGG CGU
Serina	Ser	S	AGC AGU UCA UCC UCG UCU
Treonina	Thr	T	ACA ACC ACG ACU
Valina	Val	V	GUA GUC GUG GUU
Triptófano	Trp	W	UGG
Tirosina	Tyr	Y	UAC UAU

El término “codón funcionalmente equivalente” se usa en la presente descripción para referirse a los codones que codifican el mismo aminoácido, tales como los seis codones para arginina o serina.

En ciertos casos, la molécula de ácido nucleico puede diseñarse por ingeniería genética para contener distintas secuencias mientras, al mismo tiempo, conserva la capacidad de codificar un polipéptido deseado. En algunos ejemplos, esto puede lograrse debido a la degeneración del código genético (es decir, la presencia de múltiples codones) que codifican los mismos aminoácidos. En otros casos, puede lograrse al incluir, añadir o excluir intrones en la molécula de ácido nucleico.

En ciertos ejemplos, una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción puede introducirse en una secuencia de ácido nucleico mientras se mantiene la capacidad de esa molécula de ácido nucleico para codificar un polipéptido deseado. En otros ejemplos, un sistema CRISPR (p. ej., un sistema CRISPR que comprende uno o más de plantilla de reparación de ARN guía, ARNcr, ARNtracr, ARNgu, ADN, y proteína Cas, tal como, pero no se limita a, CRISPR/Cas9) puede usarse para introducir una molécula de ácido nucleico mientras se mantiene la capacidad de esa molécula de ácido nucleico para codificar un polipéptido deseado.

También se entenderá que las secuencias de aminoácidos (p. ej., polipéptidos) y las secuencias de ácidos nucleicos pueden incluir residuos adicionales, tales como aminoácidos de terminal N o C o secuencias 5' o 3' adicionales, y aun así ser esencialmente según se establece en una de las secuencias descritas en la presente descripción, siempre que la secuencia cumpla con los criterios establecidos anteriormente, tal como incluir el mantenimiento de la actividad biológica donde se refiere a la expresión de polipéptidos. La adición de secuencias terminales se aplica particularmente a secuencias de ácidos nucleicos que pueden, por ejemplo, incluir varias secuencias no codificantes que flanquean cualquiera de las porciones 5' o 3' de la región codificante o pueden incluir varias secuencias internas (es decir, intrones) que pueden ocurrir dentro de los genes.

Algunos ejemplos dependen de o usan la síntesis de polipéptidos *en cyto*, mediante la transcripción y traslación de moléculas de ácido nucleico apropiadas (p. ej., secuencias de ácido nucleico según se describe en la presente descripción). Estos polipéptidos incluirán los veinte aminoácidos “naturales” y las modificaciones postraslacionales de estos. La síntesis de péptidos *in vitro* permite el uso de aminoácidos modificados o inusuales. En algunos ejemplos, el polipéptido abarca modificaciones (p. ej., una o más sustituciones o una o más inserciones) que incluyen uno o más aminoácidos modificados o inusuales. Una tabla de aminoácidos ilustrativos, pero no limitantes, modificados o inusuales se proporciona en la Tabla C.

Tabla C - Aminoácidos modificados o inusuales			
Abr.	Aminoácido	Abr.	Aminoácido
Aad	Ácido 2-aminoadípico	EtAsn	N-etilasparagina
BAad	Ácido 3-aminoadípico	Hyl	Hidroxilisina
BAla	Beta-alanina, ácido beta-amino-propiónico	AHyl	Alo-hidroxilisina
Abu	Ácido 2-aminobutírico	3Hyp	3-hidroxiprolina
4Abu	Ácido 4-aminobutírico, ácido piperidínico	4Hyp	4-hidroxiprolina
Acp	Ácido 6-aminocaproico	Ide	Isodesmosina
Ahe	Ácido 2-aminoheptanoico	Aile	Alo-isoleucina
Aib	Ácido 2-aminoisobutírico	MeGly	N-metilglicina, sarcosina
BAib	Ácido 3-aminoisobutírico	Melle	N-metilisoleucina
Apm	Ácido 2-aminopimélico	MeLys	6-N-metilisina
Dbu	Ácido 2,4-diaminobutírico	MeVal	N-metilvalina

Tabla C - Aminoácidos modificados o inusuales

<u>Abr.</u>	<u>Aminoácido</u>	<u>Abr.</u>	<u>Aminoácido</u>
Des	Desmosina	Nva	Norvalina
Dpm	Ácido 2,2'-diaminopimérico	Nle	Norleucina
Dpr	Ácido 2,3-diaminopropiónico	Orn	Ornitina
EtGly	N-etilglicina		

La materia descrita actualmente incluye además un método para producir un polipéptido (p. ej., un polipéptido de myomerger mutante o un polipéptido de myomerger silvestre). Cualquier método adecuado puede usarse para elaborar los polipéptidos que incluyen, pero no se limitan a, la expresión a través de cualquier técnica biológica molecular adecuada (p. ej., usando un sistema de expresión procariótica o eucariótica), el aislamiento de una fuente en la naturaleza o la síntesis química. Los sistemas de expresión eucariótica incluyen sistemas basados en plantas; sistemas celulares de insectos mediante baculovirus recombinantes; sistemas de insectos completos mediante baculovirus recombinantes; sistemas de levadura diseñados por ingeniería genéticamente, que incluyen, pero no se limitan a, *Saccharomyces sp.* y *Picchia spp.*; y sistemas celulares de mamíferos que incluyen, pero no se limitan a, células C2C12, fibroblastos 10T 1/2, fibroblastos NIH/3T3, células madre mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés), células madre hematopoyéticas, células de ovario de hámster chino u otras líneas celulares comúnmente usadas para la expresión a escala industrial de proteínas recombinantes. En algunos ejemplos, los sistemas de expresión basados en plantas útiles pueden incluir sistemas de plantas transgénicas. En algunos ejemplos, los sistemas de expresión basados en plantas útiles pueden incluir sistemas de plantas transplastómicas.

En algunos ejemplos, un método para producir el polipéptido incluye proporcionar una célula huésped que comprende una molécula de ácido nucleico, según se describe en la presente descripción, unida operativamente a un promotor operable bajo condiciones donde se expresa el polipéptido codificado; y recuperar el polipéptido de la célula huésped.

Polipéptidos de myomaker y moléculas de ácido nucleico de myomaker

La primera célula y la segunda célula comprenden cada una un polipéptido de myomaker. Ilustrativamente, el polipéptido de myomaker puede ser la proteína myomaker descrita en WO 2014/210448 A1. En otros ejemplos, el polipéptido de myomaker es la proteína myomaker descrita en la Tabla 10A de WO 2014/210448 A1. El término “polipéptido de myomaker” abarca “polipéptidos de myomaker silvestres” (es decir, polipéptidos de myomaker que se encuentran en la naturaleza sin ninguna modificación intencionada por el hombre) y “polipéptidos de myomaker mutantes” (p. ej., con una o más modificaciones realizadas en un polipéptido de myomaker silvestre). Los ejemplos no limitantes de polipéptidos de myomaker silvestre se encuentran en la Tabla 10A de WO 2014/210448 A1 o en la Tabla 2A. En otros ejemplos, el polipéptido de myomaker tiene al menos una modificación de aminoácidos en relación con un polipéptido de myomaker silvestre. Un polipéptido de myomaker silvestre puede, en algunos ejemplos, ser un polipéptido de myomaker de cualquier animal que incluye, pero no se limita a, un mamífero, una rata, un gato, un conejo, un humano, una vaca, un pollo, un pavo, un mono, una musaraña arbórea, un perro, un cerdo, una musaraña, un elefante o una zarigüeya. La Tabla 2A proporciona ejemplos no limitantes de polipéptidos de myomaker silvestre y las Tablas 2B y 2C proporcionan ejemplos no limitantes de secuencias de ácido nucleico relacionadas (incluyendo los codones de iniciación y terminación).

Tabla 2A

Fuente	Secuencia de polipéptidos
Humano	MGTLVAKLLLPTLSSLAF LPTVSIAAKRRFHMEAMVYLFTLFFVAL HHACNGPGLSVLCFMRHDILEYFSVYGTALSMWVSLMALADFDEP KRSTFVMFGVLTIAVRIYHDRWGYGVYSGPIGTAILHAAKWLQKM KEKKGLYPDKSVYTQQIGPGLCFGALALMLRFFEDWDYTYVHSF YHCALAMSFVLLL PKVNKKAGSPGTPAKLDCSTLCCACV (Sec. con núm. de ident.: 50)
Perro	MGTLAAKLLLPTLSSLAF LPTVSIAAKRRFHMEAMVYLFTMFFVAL HHACNGPGLSVLCFMRHDVLEYFSVYGTALSMWVSLMALADFDE PKRSTFVMFGVLTIAVRIYHDRWGYGVYSGPIGTAVLIATKWLQQ MKEKKSLYPDKSVYTQQIGPGLCFGALALMLRFFEDWDYTYVHS FYHCALAMSFVLLL PKVNKKAGSAGPPAKLDCSTLCCACI (Sec. con núm. de ident.: 51)

Fuente	Secuencia de polipéptidos
Cerdo	MGTVMAKLLLPTLSSLAFLPTVSI AAKRRFHMEAMVYLFTTFFVAF YHACHGPGGLAMICFLRLDILEYFSVYGTALSMWVSLMALADFD KRSTFVMFGVLTIAVRIYHDRWGYGVYSGPIGTAAIIIAAKWLQ MKDQRRLYPDKSVYTQQIGPGLCFGALALMLRFFFEWDYTYVHS FYHCALAMSFVLLLPKANKKAGSAGPPAKLDCSTLCCACI (Sec. con núm. de ident.: 52)
Ratón	MGTVMAKLLLPTLSSLAFLPTVSIATKRRFYMEAMVYLFTMFFVAF SHACDGPGLSVLCFMRRDILEYFSIYGTALSMWVSLMALADFD QRSTFTMLGVLTIIVRTFHDRWGYGVYSGPIGTATLIIAVKWLKK MKEKKGLYPDKSIYTQQIGPGLCFGALALMLRFFFEWDYTYVHS FYHCALAMSFVLLLPKVNKKAGNAGAPAKLTFSTLCCTCV (Sec. con núm. de ident.: 53)
Zarigüeya	MGTLVTKLLLPTISSLAFLPTISIAAKRRFHMEAMVYLFTMFFIATYH ACDGPGLSVLCFMRDILEYFSIYGTALSMWVSLMALAEFD TFVMFGVLTIAVRIYQDRWGYGVYSGPIGTAVLIIATKWLQKME KKGLYPDKSVYTQQIGPGFCFGALALMLRFFFQEWDTYTYVHSFYH CSLAMS FVLLLPKVNKKAGNAGTPAKLDCSTLCCACI (Sec. con núm. de ident.: 54)
Pez cebra	MGAFIAKMLLPTISSLVFVPAASVAAKRGFHMEAMVYFFTMTFTAI YHACDGPGLSILCFMKYDILEYFSVYGTALSMWVTLALGDFDEPK RSSLTMFVGLTAAVRIYQDRLGYGIYSGPIGTAVFMITVKWLQKM KEKKGLYPDKSVYTQQVPGCCFGALALMLRFYFEWDYAYVHS FYHVS LAMSFILLPKKNRYAGTGRNAAKLNCYTLCCCV (Sec. con núm. de ident.: 55)

Tabla 2B

Fuente	Secuencia de ácido nucleico del ADNc
Humano	ttggggac gctggtggcc aagctgctcc tgcceacct cagcagctg gecttctcc :cactgicag catcgcgcc aagagcggt tccacatgga ggccatggc tacctctca :cctgttctt cgtggcgct caccatgect gcaatggacc cggcttgtct gtgctgtgt catcgctca cgacatctg gagtattica gtgtctacgg gacagccctg agcatgtggg ctcgtgat ggcactggcc gactcgacg aaccaagag gtcaacatt gtgatgttcg :cgtctgac cattgctgt cggatctacc atgaccgatg gggctacggg gtgtactegg :cccacatgg cacagccatc ctcacatcg cggcaaagt gctacagaag atgaaggaga igaagggcct gtaccagac aagagcgtct acaccagca gataggcccc ggccctctgt cggggcgct ggccctgatg ctacgcttct tctttgagga ctgggactac acttatgtcc icagcttcta ccactgtgcc ctggctatgt cctttgtct gtgctgccc aaggtaaca igaaggctgg atccccggg accccggcca agctggactg ctccacctg tgcgtgtctt gtgtctga (Sec. con núm. de ident.: 56)

Fuente	Secuencia de ácido nucleico del ADNc
Perro	ttgggga cgtcgcggc gaagctctc ctgccaccc tccagagctt ggccttctc >ccaccgtca gcctgcggc caagcggcgg ttccacatgg aggcctatgt ctacctctc iccatgttct tctggcact ccaccacggc tgaacgggc cggggctatc ggtgctctc tcatgcgc accagctct ggagctctc agcgtctatg ggacggcact gagcatgtg gtctcgtga tggcactggc tgaactgac gaaccaaga ggtcgaactt tgtgatgtt ggcgtctga ccatgcggc ggcgatctac catgaccgtt ggggctacgg ggtgtactc ggcctatgt gcacggctgt cctcatcacc gccacaaagt ggtcgcagca gatgaaggag agaagagtc tgaaccgga caagagtgc tacaccacgc agataggccc tggcctctg ttggggcac tggccttat gctgccttc tttttgagg actgggatta cacctatgc cacagctct iccactgtc cctggcctg tcttctctc tctgctccc caaggtcac aagaagctg gaagcgggg gccctctgc aagctagact gctctacct ttgctgtgt tgcactga (Sec. con núm. de ident.: 57)
Cerdo	ttgg ggaacgtcat ggccaaactg ctgctacca cgtcagcag cctggcctc ctcaccaagg cagcatgc tccaagcgg cgttccaca tggaggccat ggtctatctc ttaccacgt ctctgtggc gttctaccac gctgcccac ggcggggcct ggctatgac tcttctctc gcttgacat cctggagtat ttacagctt accgaaccgc cctgagcatg tgggtctgc gatggcgtt ggtgacttc gacgagccca agaggctgac ttctgtatg tttggcgtc gaccatgc cgtgggac taccagacc gctggggcta cggcgtgtac tggggccca cggcacgc cgcctcacc atcgcggcca agtggctgca gcagatgaag gaccaacggc gctgtatcc agacaagagc gtgtacacac agcagatagg ccccgccctc tcttccggg gctggcctt catgtgcgc ttttctctg aggagtggga ttacacctac gtcacagct ctaccactg cgcctggcc atgtctctg tctgctgtt gcccaaggcc aacaagaagg tgggaagc agggccaccc gccaaactg actgtccac cctctgtgt gctgtatct ga (Sec. con núm. de ident.: 58)
Ratón	ttgg ggaacgtgt agccaaactg ctctgcta cctcagcag cctggcctc ctcggacag gagcatgc taccagagg cgttctaca tggaggccat ggtctacctc ttaccatgt ctgtgtggc gttctccat gctgtgatg ggcctggtt gctgtgtg tcttcatgc gctgtacat tctggagtac ttacgcatct atggaacagc cctgagcatg tgggtctccc tcatggcact ggcgacttt gatgaacccc agagatgac cttcacaatg cttggcgtc ttaccatgc tgtgggact ttcatgacc gctggggta cgggggtatc tccggccca taggcacggc caccctacc attgtgtaa agtggctgaa gaagatgaa gagaagaagg gctgtaccc cgacaagagc atctacccc agcagatagg ccccgccctg tcttggggg ccttggcct gatgttoga ttctcttg aggaatggga ttacacctac gtcacagct tctaccactg tgcctggcc atgtctctg tctgtgtgt gcccaaggc aacaagaagg cttgggaagc aggggcccc gccaaactg ccttctccac cctctgtgc actgtgtgt ga (Sec. con núm. de ident.: 59)

Fuente	Secuencia de ácido nucleico del ADNc
Zarigüeya	atggg gactcttgt accaagtgc ttctccac aatcagcage ctgccttcc tecccacat cagcatcgt gctaagagga gattccacat ggaagccaig gtctacctet tcaccatgt cttcatagca atafatcatg catgtgacgg gccaggccta tcagtgcctat gcttcatgcy ctatgacata ctggagtatt tcagcatcta tgggacagca ctgagcatgt ggggtgcatt aatggcactg gcagagtgc atgaacaaa aaggicaacc ttgtiaatgt ttggcgtgt gactatlgcc gtgaggatct accaagaccg ggggggatal ggggtataci cggggectat tggcacagct gtccttatca ttgcaacaaa atggctgcaa aagatgaaag agaagaaggg tctgtaccct gacaagagtg tgtacacca acagataggc cctggtttct gttttggagc gttagcactg atgctgcgtt tcttttcca ggagtgggat tacacctatg ttacagctt ctaccactgt tcaciageca tctctttgt ctgtctgtg cccaaggtaa acaagaaagc tgggaatgct gggacacctg ccaaattgga ctgtctaca ctctgtgtg ctgtcatctg a (Sec. con núm. de ident.: 60)
Pez cebra	atgggag cgtttatgc caagatgtg ctgcccacta ttgacagttt ggtgtttgtg cctgcagcca gctgtgctgc aaagaggggc ttccacatgg aggccatggt ctatttctc acaatgttct tcaccgcgt ttaccacgca tgtgacggtc cgggcttgc cattctctgt ttcatgaagt atgacattct ggagfacttc agcgtgtacg ggacagccat ctccatgtgg gtcacgttac tggcgttgg ggatttcgat gagccaaac gctcttgcct caccatgttt ggggtgtga ccgcagctgt gaggatttac caggaccgac tgggctacgg catttactcc ggccccatcg ggacagctgt ctttatgac acagtcaaat ggttacagaa aatgaaggaa aagaaggcc ttatccaga caaaagtgt tacactaac aagtgggccc aggggtgtgc ttcgggtctc ttgtttgat gctctgttc tatittgagg agtgggacta cgcttatgtt cacagtctt accacgtgc tctggccatg tctttatc tctgtgtgc caagaagaac cgttatgctg gaacgggacg taacgcagcc aaactcaact gtacacct ctgtgtgtg gtatga (Sec. con núm. de ident.: 61)

Tabla 2C (exones en minúsculas)

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
Humano (cadena +)	caagtgtgagctggggagggcaggggctcagagccgggctgggcgagcatcagacac aa gcacagcacagggtggagcagtcacagcttggccggggtccccgggatccagccttct tg ttgaccttgggcagcagcagaacaaaggacatagccagggcacagtggtagaagctgt gg acataagtgtagtcccagtcCTGCGGGGGCAAGCGGTCACTCTGGGGCCTCAGCCCC CT

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CCCCGAGGCTCCTCCCTCTCCAAGACCCAGCAGAGCCCTTCAGGCCCCCGCCTCTGC CA GGGCACTGGGACACCTGCAGGAAGCCTCCCCACGGTCGCGCTCACAGTGGTTTTTCT CT CCACCTAAACCCAGAGCAGTGAGGGCCTGTGCCATCCTCCAGGCTGCACTCCTTCCTT CT TCCCCATCCCCCTCTCTCTGCTGTCTTCTCTTCCTCCATCCTTCTCTCCCTCCTACCC TC CCTCCCTCCATCTCCCCCTCTTTTCTCTCCTTATCCCTCTTCCCTGTTCTCCTCCCTCC CT CCTCCACTTTCTCCCTCCTTCCTTCCTGTCTCCTCCCTCCCICCTCCCTCCTCCA GG TGTTGGGCACCTGCCCCAGGCGTCTCCAGGCTGTGCTGCCGTCTGAGATGCCAGCTG TC TGTAGGCAGCCAGCTTTGGTCTCTGTGACCTCCAGGTCCACACAGGCCATGGTGCTGG TG GTGCTGGGACGGCATTGCCCCGACATAGCCCTGGGAGGGGCTAGTGAGCAGGGACT AA TACCAGACTTTGGCCTGGGGCTGTGAGAGTCCCCCAGCGTGGGCACAGCCCTGGTAT CC CAGCTGAGCAGAGCCATGCCGAGTGGGCTCTGGGGACAGGACACCTCCCCGCTGGGC TT GGTACctcaaagaagaagcgtagcatcagggccagcgccccaagcagagggccggggc ct atctgctgggtgtagacgctcttgtctgggtacaggcccttcttctccttcatcttct gt agCTGTGAGGACAGGAGGCCACAGCAAAGCTTTTAGGTACAGCACCTGGGGAACGCC CT CCCCAAACCAGCCGAGAGCTGGCCCTGCACAGGCTCACCCAGCCCTCTCCCGGAG GA GAGGAGGCTCAGGAGCCTCCTGCCGCACCCAGCCTCAGATGGCTCTGCTGGACAGGG CC CTTCACGGTGGACCCAGCAGAGACCCAGCCTGGATGGCTGGGAAGGAAGCCACTGG GC CATGTGCCCCACAAAGACCCCGCTGCCCTCCCGCCTCTTTGAGATGTAACAACGCCAC CC TCGCATGTCTCCTCCTCCCTGGAGGGGAGCTCTGGGGGGACTAGACTCCATGATTGCT TA CCAAGGAAAGTACTGGAGTACTTGGGACCTGCCAGCCAGTGTGGCCCATGGGGATGG CA CTTGTGGTGATCCCTGAGCCATGGACAAGCATCGTTTGCTTTCTAGTTAAAGGACCT AT CTCACTCTTCATTAGACAAACTTGGCCAGCACTGCTTCTCAGGTCCTCAGTGTAGGA AG GCTCGCGTGGGCGTTTCCACTTACAGAGGGGTTTGCAATCCGAGGAAGATGCGGGAAG TG TGGGGCCACATCCCTGGAGCCGGCCTTGTGTTTTCTAGGCCACITCACATGGAGTCTA TT TGGGATTTTCAAGGGCAGTTGTTTCCTGGAATGAGGGTGGATTITTTCTCCCTGAGCCT GG TCCCCCTCTTGGGAGGGGCTGGGGAACGACAGCCTTGTTGGGGAGGAAGGAGGGAGGGT TG GGTGATGGCGGCCTCGGAGTGGGGCCAGACCCGTGGGGGTACACTCAGGAGGCTATAG AT TTCAGTGGAATCAACTGTTAGACACACAGCGTGTGGCACAAGCCCCCTGGGGGTGGGG CA GCACCCCATAACTGCACCCATTGCTGAGTGGCCTATGCAAAGAGCACAAAGAGCCTTA TG CTGGGTCAGGTCAGGTTTTGCCACCCAGTGAATTATGAATTGAIGCCCGGCTTTCCAT TT TCTGGAATTCCATTGCCAACAAGGAATTGAGCACCTGCAGTCCIGCAGTGGCCTGAAG

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	AC AGCTGCACCTCTGACCCCTGGCTGCCGTGGTCAAGGCTCCACCCACCTCTGCCAG CC CTGCAGTAGTAACACCAGGGAGAAGAGAGGTGCCCTGCCCCAGGTACACAGTGGGCC GG CACTATTGAAAGGGCGCCATCACCCAACCTCCCTCCTTCTCTCCTCCGGGGTGCCAT TG CCCAACCCCTCCCAAGAGGGGACGAGGCTCAGGGAGAAAAATCCACCCTCATTCAGG AA ACAATTGCCCTTGAAAATCCTAAATAAACTCCATACTAAATGGICTAGAGACAACAA TT TGAGCCCCAGATGCGGGGAGGGCGGCAGCCCATCCTCGGCTCCGTGTGGCTGGATCTGC AG CCTGAGGGCCTTGGCAGTCTCGTGGCTCTTGGTGGGAAACACAGCAGTGAATTCTCTT CT GGGCAATTACAGTTCAGCCCAGTTCAGACCTGGCCAAGACCAGCGGGAGGAGCAACCT TC AGGGGCAGAAGGAGGCGAGAGGCGGGTGGCCAGGACCCAGGGCCCCAGCACGCTCCTT CC TGCCACCCACCTTGGTCCAGCCACTTATGCCCAGCGCTCCCTCTCTCCCCACCAGGT GA CTCCCAGGGGCCTCCTGGGTGAGCCAGGATTAGTGCTGCTTCTCAGGTTGCAGACA GA AAGCAGGTCTCTGTCTCCTGCTCAAAAAGTCAAGTCCAGCCAGGCGTGGTGGCTCAT GC CTGTAATTCCAGCACTTTGGGAGACTGAGGCAGGCAGATTACCTGAAGTCAGGAGCTC AG GACCAGCCGGGCCAACGTGGTGAAACCCCATCGCTACTAAAAATATAAAATTACCTG GG CGTGATGGCATGCGCCTATAATCCAGCTACTCGGAGGCTGAGACAGGAGAATCGCT TC AACCCGGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATGGCGCCATTGCACTCCAGCCTGGG TG ACAAGAGCAAACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGTCAGGTTCTGGCCCCGCC AC TGCCCTGCCATGACGTCCTGTTAAGTTGCTGAGGCCTCCATGCTTTGGTTCTTCATA GG CCAAATGGCAAATCAGTCCCATGCTCCTTGGCTGTGGGGAGGAAITGGGACGGGCTTTG CA AGCTGCCCACCAGAACTCGAGCGCTCTCCCAACAGCCGTGGGCCCTCCTGCACTGAGA GC TGCCCTCTGTCTTGTGCTGGGTGTCTGCGGCTCTGGCCGGGGCTGGCAGTGTGGCTGGG CT GGACCAGGCCAGGTCTCTCTTGGCACTTGAAACTGACCCCTGAGACTTCAGGTCCACT CC AAAGAGGTGAAATGCAGCACAGGGATGTTAGGCGGTGCCTGGGCTGCTGCAGGCCTG GA GAGCAGGCTCAGGCTGAGCCTGCTGGCTCCCAGGTCTGGGAGACCTTGCAAGGGT GA GCTCCCTCCTGCTCTGGGTCCAGGAGATGCCCCGGGTCTATTTTCCCTAAGATCC CT CTTTAGCTTGGCGAGTTTGAGTGGGGTTTGGTCCCTGAGCCAGGAGGGTCTTGGTAG GA CGGAGAGAGCAGGGAGCACTGAAGACCACGTGAGGGCCTTGCTGCTCTGCAAGGGGCT GT CTGTGCTAGAAGGTCTGGCCAGGCTGCCTCACTGTCATACCACACTCTCCCTCCTGG CT AGAACCAAGCTCGAGGCTCACTCCCTCCAGGAAGTCTTCCAGATTACCCAGGGCCAT TT TCCAAGTTGATGTTGCATCTCTAAAGCAGCTGGTAGTAAGAGCGGTGATGAGAGTGAT AA

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CAAATAGCTCTTATGTGCGGAGCACATTGGAAGCCAGGCTCCAIGCCAGGACTTCAGG TG CCTGATCTCAGTGAGTCTTTGAACCACCCCATGAGACAGSCAGGGGGCTGTAATGACA AC ACCTGCTTTTACAGGTACGGGCGTGGAGGTGAGACATTGGGTAACCTGGGGCTCAGTCTG GA GCTGGTGAGTACAGACAAGCGTCACACACAGTCTACACAGCCGGAGCACCTCATGGCT AT TTTCTACGTGGTTTTGTCTGAATTCTGTCATCCACCCATTTCCTATGAGGGCAGGAGG TA AATGAAGATCCGAGGCAGGAGGAGTCAGACAGGGGAGAGSTGACGGGCCTCCTGGGTC CC CGTTTCATCGAGGCTCGCGCAGTACGCACccactttgccgcgatgatgaggatggctgt gc cgatggggcccgagtacaccccgtagcccatcggtcatggtagatccgcacagcaat gg tcaggacgcgcgaacatcacaaatgttgacctcttgggttcgtcgaagtccggccagtgc TG CAGGCCCCCAGGCACACACAGCCCGACCTCACTCCTCTCTCTTCTCCTCCTCCTGCTACC CC CCCACCCCCCAGCCCCCAGGAGGCATCCTGTAGATGCCCTCTCTCGGTGTCCCTCAG CC AGCGAGACCTCTCAGCCCCAGCCTCGTCATGCACGGCTCTCAATTCAGCCAGTTTGAG AG GACAGGCAGCCTGCTGCTTCCCATGGACACAGCAGCTTGATGTGCTCCCAGCACC TC ATTTTAATAAACAGACCACAGCTGGTTGTGGTGGCTCAGSTCTGCAATCCAGTGCTT TG GGAGGCAGAGGCAGGAGGATCGTCTGAGACCAGGAGTTCAAGACTAGCCTGGGCAACA TA GCGGGACCCCATCTCCACAAAAAATTCCGTGGGTGTCTGTGTCATGCCTGTCTATCC CA GCTACTTGGGAGGCTGAGGTGGGAGGATGGCTTGAGGCTGTGAGTTGAGGCTGCAGT GA GCCGTGTTTGTGCCACTGTACTCTGGCCTGAGTGACAGASTGAGACCCTGTGGCTAAA AA TCAATAATCACTATGCAAAGTGAATAGGATCGAATCTATCCCAIAGGATCACAGGACA AA GACACTAAGATTCAAGAGAAGAAATGAAGCCCCTCACAGSCCCGGTTAGATGGCAAGG AG CCTCAGGTCTATGGGACCTTGCCACAGACAACAGTTACGTGGAAAAAACATGGTGGG AA AGGGGGCTTATGAACAGTCCCGTCTTCCAGGCTGGATATCACCCGTGTGTGTGGATGT TT GTATGACAGTCTGGGAAGCCAACCCCTGAGCAGTGAACAGCGGTCTCTCCAGGGAA GG AGTGACGGGAGGGAGCCCTTTCACCTTTTTCTTTGTATGCTCTGCTGTTGAAATGTG TC ACAACAAGCTTTTACTAAATGAGTCATTTTAAAAGGATATAAAAAATCGGCATCAGGG CA TTTAAGAGGTGCATATTCTTTTCATAGATTAAAGCACAAACCTGAAACCCAGACAAGG GA AGACATTCTTGGGGCTGGGAGTGAGTGGGGATAGAGGGCTGCAGCGGGACTGGTTTGA GG CTGGGTGTGCGGACACTGGGGAGCCGGTCTTGTCCGCAAGGCITGTCTGCAGGGGTT GA CCACTCACcccatcagcgagaccacatgctcagggtgtcccgtagacactgaaatac tc caggatgtcgtgacgcatgaagcacagcacagacaagccgggtccattgcaggcatgg tg qaqCTGCCAGAAAACCCACAGGTGGTCACAGCACAAAGAAGCCAGAGCTGGTCCCCGA

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	GC CACGCCCCCAGACTGCCAGCTCACTTGCTGGCTGTGACAACTCACTTTGGCCACTCA CT TAATGACTGTGTGCTCAGTCTCCCCGTCTGAAAAATGGGGTACTGCCGAGCACTCC CG CAGAGGGTCTGTGGGGATTAAGTGGCACATGCCAGCGAGGTGTTTAGGGGCTGGGGT GT GCCAAGGGTTCACTCAATGTCACCTCAGCAGAATTCGCTCATCTGCACTGGCAGGACT GG GCGGAGACTGAGTGGTCACTCAGGTGAAGCCCGCTTAGGTGGGGCGGTCTCCGGGAGG GA CCCTACACGGCTCTCCCCGGACCTTCAGCATCTGTGCTTCCTTGAAGCACACAGCTGC GT GTTCACTCGCCAATCTTTGGATGTGAGGTGAGAGCCTCTCTGGGGGCTCCTTTGCTCT TT GGGGGCTCCTGGGGCCTTCTCTTGCACAAATTACCCCTCTGATGACTGGTCTACACTG CA GCAGCGTTCTCAGGCTTGAGTGGGCATCAGAACGCCCTGGGGCCTGTATTAGACACAGG TT ACTGAGCCCTGCCTAGGGTTGCTGATTAGGGAGGGCTGGGTTGGGTAGAAAATGTGCA TT TTGAACACATTCCCTGTGGCACTGCTGAGGCTGGCAGGGGCCACACTGAGAGCCGGGC TG TAGCTCCTGGTTTCTGTTGCCTTAACGTGGACGAAGATCTCTGAGACCCCTTGCAGA AG CTGAACACAGCCCCCTAGGCTCATCCATCTCTGCCCTATACTCTCGTCGTGCGCTCCC CA ACCCCCACTTTCATGGCAATTTTAAAGGCAAAAGGCTTATAGGGAGTGTTTTCAAAGC AG TCAACTACTTTTCTACGGAAAACAACCTCTCTCCTTTTGCATTCGATTTTCATCATT TT AGGTAATATTTAATTACATGACATAATTATTTTGACAGGTTCAACTGGCACAAACAAG CT TGGGAAACAGCACGGTGGACTCTTGGTCAGCCAGCTCAGCGGGAGGAGCAGGCGTGC TG GAAAGCAGCCCGTGTCTGGAGGCGACAGGGACAGCACAGAGGGAGCGGGGGCCCTGGG TG ATCTGGGGGGCAGGCAATTGCGGGTCAAAGTGGAGTGCTTCTACTGATGGCAATTGTA CA CGGCCTAAAGTGACGGTGCACCTAGGAGGCATTAATAGGGATCCAGCATCTAAAATGA GG GAGGCGGGGTCCTGCTTCTCTCTGTTCTTGTGAGGCTCATCCAGAAGACTATGCCGA GC TCTGTGTGGTGCACCTTTCTTGAAGTGAGACTGGGAAAGACGCGGCAGAGGAGGGTG AC CAGCGGTGGACATGACTGTTTACCTTGGGGACAGGGAAGCTTCAGGAGGGGCTGATC AA GGTGCTTACACCTCTGTGGGAAAGAGGAGCGAGGAAGACTCCGGCCCTAGGCTGTTCT CC TGTTCTCCTGGCTTCTTCCCATCCCCACCCAGCCCATCACCTGCTGTCTGTGTGC CT CAATGTAGCACAGATGGTCATGTGTGATTAAGGCATTCACTGTGAGATTGTGATAAGG CC TGTCCTTGGCCCTGCCAGGAGCAGGAATGGCTCTGTCTGGTCCAGTTGCATGGACG GC TCCCAGCATAGAGTGCTTGTGTCATGTGTTGAGGGAGGGGACGCCAGGCTCTGAGAA TT CTAAAGGACAGCCAGCTCACCCCTGGGGACCCAGAGCCTCTGCCACTAGGCCCTTGGCT CC TCCAATGGTGGGAACTTAGCTCCATTGACAGATGGGGAAAGTGAAGTTGAGAGCAG CA

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CTGCCTGCCCAAAGAGGTGAAACAGAGCAGTGCTTGGCACCTGGCCACTTCCTCCCAT CC TGCACTGCAGGGGGCAGACCTGGCCAGCCGGGGCACTGGTGGGGTGGGTGCGGCTGA GG GCCTGGGGGGTCAGAGCTCAGGCTCGGGGAGTCTGACTTTGCAGATGTTCCAGTGGG GG CTCAGGTGAGTGGCTGTGCGGGGGGGGCTCCTCTGTTGTGTGGGGACAAGCACACTG TC TCCGTGGGGTTTGCACCCATAGCAAGGTGTCCGGCACAGAGATGGAGATTGTCACGGG AG GGGCCTGATTGGAAGGGAAGGGACGCCATGCGGGTGGCAGAACITTTGGAGGGACTGA G! GTGGCTTTGAGTTCAGAAGACGTTTGTACAAAGAGGCAGCTGCCCTGCCACTCTGGG TG GGGCAGGGTGGGGCTCTGAGACCAGTGCAGAGGCAGCTGCGGGGCCAGCCTAGGCC AG GCAGGGAGGTGTGGCTGGTGGGTGCTTGTGGTTTGTGGCTAGGTCTAACAGGAGC CT TGAGAACAAGACCTCAGCTTTTCTCCCTGCGCTAAGGCCATGGGACCTGCAGAGAAAT CC TGGCTCTGCTCTGGGCTTCAGTCTCTCATCTGCCCAAGAGGCTTCCAGCCCTAGCCC AG GCTGGAGTCCAGAGGAGCGAATGCAGTGGCATTTGGGTGAGTCAGGAGCTCTGGAGA GC TTGATGGTCACAGTGACACAAGTACTCTGTCTCTCTGGGATTIGGTTCTTCATCTG CC AAATGGGAATCAAGATCCTAGGCTTGTGGGAAGGTGAAAAGGCTGAATCAGACACTG TG CACAGAGCGCTAGCCGAGTCTCTGCCCTGGGTACTGGCGCTCGAGGTGGACTCAGA AG CTCCAGGGCATCTGGTTCCACAAGGACCCAGCCTGTCCAGGCCACTGTCCCCCTG GG AGTGGCACACACTGGAGGGAATGCCTCGCTCCAGCCACACGTCACACTCAGCTTC TG CCATTGCGGGCAAAATTGGACTTGACCAATTGAGGATACAAGCATAACATGTGAATAT AT GCTTGCAACACACGTGTGAGCTCACGGGCTCACCCTGCTCAGGACTCCCTCTGTGCA CT CACATGCACTTGGCATTCTTGGCCATAGAGGCCCTGCTGCTGGAGAAGGAGGCTGTCT GG GGAGAGGAGGTGGAGTTTTCACAGGTGGGGCCAGCACTGCCCCAAGAGGAGGCTAG TG GGACGCTTGCTCCCCAGAGCAGGTGTGCTGCTGGGGATTGGGCTGTGAGTGAAGGAG GG GTGTGATGGAAGGTGAGCAAGGAAGGCTTCGGGAGAGCAAGAGGTGGGGCACCATTG TG GGAGTCCAGGAGTGAAGGATGTTAGTGGAGAAAGTCGGAAGACCCAGAGGCAAGAA GG CAGGGGGTACCGAGACATATAAATGATGGCTGAATGGCGAGATGGTAATAGACGAATA GA TCACAGGTAGATGGATGCGTAGATAGAGAGATAGATGGAGAGAGAGAGAGAGAGAG AG AGAGAGAGAGAGAGACAAGCTGGAGAAGGTGGATAGCTAAAGCCAGAGAGACACATGG AG AGTCAGGGGACTAAAACCAGGGAGGTTGGGACCAAGAGCTTTAGAGAGAGTGAATTCC AT GGGGATCGAGTTCAGAAATCAAAAGAGAACCAGACAGAGAGAGAAAGGAAAAAAGA GA AACAGAGAAAACCTAGACACAGAAAACCAATACGAGAAACACAGAGTGAAGAGACCCA GA AAGAGAGAGAGAGAAGACAGGGGAGACAGGGGTCCAGAAACAGCGACCTCAGAAACA

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	AG GACAGATGGGGTTCTGSGGCTCCACTGAAAGCCGGATAAGATCACCCAAATGACAGGT AC CAGGAACAGAGAGCAGGAGAGAGCCAGAGAGAGAGCAAGCGGAGACAGTCAGCCAGC CA GACACRTAAATAGAAAGAGAAAGACGGACCCACAGAGAGAGAAAGTAGGCCCCAGAGA GG GAGAGACCAGCAGGCCCTCCTGAACCAGAGCAGCTCCAGGATTCTGGAATCAGACTCA CT CACCCAGGCCCTTCACACTCCCTGAACCCCTGCAGACCCCTTCCAGGCCCTGGCTTSCCC CA CTCATCTCTGCTCCATCGTGGCTATGGGTAGAGCTCGAAGAGAGGTGGGGAGGGGAG GT GGCCCCATGGGCAGCCGTGGGGGCTTTGATTAGCAGCTGAGAAAAGGGSCACGCTGGA AG GGTTTATCCTCAACTCAATGGCCCTGCTTCACCCAGGCTTGGTCTCACACAGGCAGT GA TCCCAGAGCAACTTCCTGGCAGAGTGGGAAACTGAGGTCCAGATAGGGGAAGGGAC TC CCCTAGTCCCTCTCTCTTCAGTCTCCAGACCCACCTGGGCTGCTGTTTCATTTTCAA AT CACTTCTGCTCATCACCCAAATACAAGAACGCTGTGGACAGAGAGCCTCTCTCTACCT CC AGGATGGGGCTGTGTGGGACTTCCTCCAGCCCCCAGACTCACGgccaagagaaca gg gtgaagaggttagaccatggcctccatgtggaaccgctcttggccgcatgctgacag tg gggaggaaggccaggtgctgaggggtgggcaggagcagcttggccaccagcgtcccca tg ggccaggaggaaagcaactggctggggtggggaggggtgctgggtgctccaggtccccagc ac aggagcacgaagtgggaaggccagctcccttgggcagggc (Sec. con núm. de ident.: 62)
Humano (cadena -, complemento inverso) - el codón de iniciación está en negrita y subrayado; el codón de terminación está en negrita y en cursiva	gccttgcccaaaggagctggccttcccacttcgtgctcctgtgctggggacctggga ca ccagcacccctccccacccagccagtgctttcctcctggccc <u>atg</u> gggacgctggtgg cc aagctgctcctgcccaccctcagcagcctggccttctccccactgtcagcatcgcg cc aagaggcggttccacatggaggccatggtctacctcttccacctgttcttcgtggcgG TG AGTCTGGGGGCTGGGAGGAAGTCCCACACAGGCCCCATCCTGGAGGTAGAGGAGAGGC TC TCTGTCCACAGCGTTCTTGATTGGGTGATGAGCAGAAGTGATTGAAAATGAAACAG CA GGCCCAGGTGGGGTCTGGAGACTGAAGAGAGAGGACTAGGGGAGTCCCTTCCCCTATC TG GACCTCAGTTTTCCCATCTGTGCCAGGAAGTTGCTCTGGGATCACTGCCTGTGTGAGA CC AAGCCTGGGGTGAAGCAGGGCCATTGAGTTGAGGATAAACCTTCCAGCGTGCCCCTT TT CTCAGCTGCTAATCAAAGCCCCCACGGCTGCCCATGGGGCCACCTCCCCTCCCCACCT CT CTTCGAGCTCTACCCATAGGCCACGATGGAGCAGAGATGAGTGGGGCAAGCCAGGCCT GG GAAGGGGTCTGCAGGGTTGAGGGAGTGTGAAGGCCCTGGGTGAGTGAGTCTGATTCCAG AA TCCTGGAGCTGCTCTGGTTCAGGAGGGCCTGCTGGTCTCTCCCTCTCTGGGGCCTAC TT CTCTCTCTGTGGGTCCGTCTTTCTCTTTCTATTTATGTGTCTGGCTGGCTGACTGTCT

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CC
	CCTTCCTCTCTCTCTGGCTCTCTCCTGCTCTCTCTTTCCIGGTACCTGTCATTGCGTG
	AT
	CTTATCCGGCTTTTCAGTGGAGCGCCAGAACCCCATCTGTCTTGTCTCTGAGGTGGC
	TG
	TTTCTGGGACCCCTGTCTCCCTGTCTTCTCTCTCTCTCTTTCTGGGTCTCTTTCACT
	CT
	GTGTTTCTCGTATTGGTTTTCTGTGTCTAGTTTCTCTGTCTTCTCTTTTCTCTTTC
	TC
	TCTCTGTCTGGTTCTCTTTTGATTCTGGAACGATCCCATGGAATCACTCTCTC
	TA
	AAGCTCTTGGTCCCACCCTCCCTGGTTTTAGTCCCTGACTCTCCATGTGTCTCTCTG
	GC
	TTTAGCTATCCACCTTCTCCAGCTTGTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTC
	TC
	TCTCCATCTATCTCTCTATCTACGCATCCATCTACCTGTGATCTATTCGTCTATTACC
	AT
	CTCGCCATTGAGCCATCATTTATATGTCTCGGTACCCCTGCCCTCTTGCCCTCTGGGT
	CT
	TTCCGACTTTCTCCACTAACATGCCCTCACTCCTGGACTCCACAAGTGGTGCCCCAC
	CT
	CTTGCTCTCCCGAAGCCTTCTTGCTCACCTTCCATCACACCCCTCCTTCACTGACAG
	CC
	CAATCCCCAGCATGACACCTGCTCTGGGGAGGCAAGCGTCCCACTAGCCCTCCTTCTTG
	GG
	GCAGTGCTGGGCCCCAACCTGTGAAAACCTCCACCTCCTCTCCCCAGACAGCCTCCTTCT
	CC
	AGCAGCAGGGCCTCTATGGGCAAGAATGCCAAGTGCATGTGAGTGCACAGAGGGAGTC
	CT
	GAGCGGGTGAGGCCCCGTGAGCTCACACGTGTGTTTGCAASCATATAATTCACATGTTAT
	GC
	TTGTATCCTGAATTGGTCAAGTCCAATTTTGCCCGCAATGGCAGAAGCTGAGTGTGCA
	CG
	TGTGGGCTGGGAGCGAGGCATTCCCTCCAGTGTGTGCCACTCCAGGGGTGACAGTGG
	CC
	TGGGACAGGCTGGGTCTTTGTGGAACCAGATGCCCTGGAGCTTCTGAGTCCACCTCG
	AG
	CGCCAGTACCCAGGGCAGAGGACTCGGCTAGGCGCTCTGTGCACAGTGTCTGATTACAG
	CC
	TTTTCACCTTCCCCACAAGCCTAGGATCTTGATTCCCATTTGGCAGATGAAGAAACCA
	AA
	TCCCAGAGAGACAGAGTCACTTGTGTCACTGTGACCATCAAGCTCTCCAGAGCTCCTG
	AC
	TCACCCAAATGCCACTGCATTCTCTCTCTGGGACTCCAGCCTGGGCTAGGGCTAGGA
	AG
	CCTCTTGGGCAGATGAGAGACTGAAGCCCAGAGCAGAGCCAGGATTTCTCTGCAGGTC
	CC
	ATGGCCTTAGCGCAGGGAGAAAAGCTGAGGTCTTGTCTCAAGGCTCCTGTTAGACCT
	AG
	CCCAGCAAACCAAGCACCACCCAGGCCACACCTCCCTGCTGGGCCTAGGCTGGCC
	CC
	GCAGCTGCCTCTGCACTGGTCTCAGAGGCCCCACCCTGCCCCACCAGAGTGGCAGGG
	GC
	AGCTGCCTCTTGTGACAAACGTCTTCTGAACTCAAAGCCACACTCAGTCCCTCCCAA
	GT
	TCTGCCACCCGATGGCGTCCCTTCCCTTCCAATCAGGCCCTCCCGTGACAATCTCC
	AT
	CTCTGTGCCGGACACCTTGCTATGGGTGCAAACCCACGGAGACAGTGTGCTTGTCCC
	CA
	CACAACAGAGGAGGCCCCCCCCCGACAGCCACTCACCTGAGCCCCCACTGGGAACATC
	TG

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CAAAGTCAGACTCCCCGAGCCTGAGCTCTGACCCCCAGGCCCTCAGCCGCAACCACC CC ACCAAGTCCCCGGCTGGGCCAGGTCTGCCCCCTGCACTGCAGGATGGGAGGAAGTGGC CA GGTGCCAAGCACTGCTCTGTTTCACCTCTTTGGGCAGGCAGTGCTGCTCTGAAGTTCA CT TTCCCCATCTGTGGAATGGAGCTAAGTTCCCACCATTGGGAGGAGCCAAGGGCCTAGT GG CAGAGGCTCTGGGTCCCCAGGGTGAGCTGGCTGTCCTTTAGAAITCTCAGAGCCTGGC GT CCCCCTCCCTGAACACATGCAGCAAGCACTCTATGCTGGGAGCCGTCATGCAACTGG GA CCAGACAGAGCCATTCTGCTCCTGGCAGGGCAAGGGCACAGGCCTTATCACAATCTC AC AGTGAATGCCTTAATCACACATGACCATCTGTGCTACATTGAGGCACACAGACAGCAG GT GATGGGGCTGGGGTGGGGGATGGGAAGAAGCCAGGAGAACAGGAGAACAGCCTAGGGC CG GAGTCTTCCTCGCTCCTCTTTCCCACAGAGGTGTAAGCACCTTGATCAGGCCCTCCT GA AGCTTCCCTGTCCCCAAGGTAAACAGTCATGTCCACCGCTGGTCACCTCCTCTAGCC GC GTCTTTCCAGTCTCACTTCAAGAAAGGTGCACCACACAGAGCTCGGCATAGTCTTCT GG ATGAGCCTGACAAGAACAGAGAGAAGCAGGACCGCCGCTCCCTCATTTTAGATGCTG GA TCCCTATTAAATGCCTCCTAGGTGCACCGTCACTTTAGGCCGTGTACAATTGCCATCAG TA GAAGCACTCCACTTTGACCCCGAATTGCCTGCCCCCAGATCAGCCAGGGCCCCCGCT CC CTCTGTGCTGTCCCTGTGCGCTCCAGACACGGGCTGCTTTCCAGCAGCCTGCTCCTC CC GCTGAGCTGGGCTGACCAAGAGTCCACCGTGCTGTTTCCCAAGCTTGTTTGTGCCAGT TG AACCTGTCAAATAAATTATGTATGTAATTAAATATTACCTAAAATGATGAATGCCA AT GCAAAAGGAGAGAGAGTTGTTTTCCGTAGAAAAGTAGTTGACTGCTTTGAAACACTC CC TATAAGCCTTTTGCTTAAAAATTGCCATGAAAGTGGGTGTTGGGGAGGCGACGACGA GA GTATAGGGCAGAGATGGATGAGCCTAGGGGGCTGTGTTTCTGAGCTTCTGCAAGGGGTCT CA GAGATCTTCGTCCACGTAAAGGCAACAGAAACCAGGAGCTACAGCCCGGCTCTCAGTG TG GGCCCTGCCAGCCTCAGCAGTGCCACAGGGAATGTGTTCAAAATGCACATTTTCTACC CA ACCCAGCCCTCCCTAATCAGCAACCCTAGGCAGGGCTCAGTAACCTGTGTCTAAACAA GG CCCCAGGCGTTCTGATGCCCACTCAAGCCTGAGAACGCTGCTGCAGTGTAGACCAGTC AT CAGAGGGGTAAATTTGTGCAAGAGAAGGCCCCAGGAGCCCCCAAAGAGCAAAGGAGCCC CC AGAGAGGCTCTGACCTCACATCCAAAGATTGGCGAGTGAACACGCAGCTGTGTGCTTC AA GGAAGCACAGATGCTGAAGGTCCGGGGAGAGCCGTGTAGGGTCCCTCCCGGAGACCGC CC CACCTAAGCGGGCTTCACCTGAGTGACCACTCAGTCTCCGCCAGTCTTCCAGTGCA GA TGAGCGAATTCTGCTGAGGTGACATTGAGTGAACCTTGGCACACCCAGCCCCATAA CA CCTCGCTGGCATGTGCCACTTAATCCCCACAGGACCTCTGCGGGAGTGCTCGGCAGT

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	AC CCCCATTTTTCAGACGGGACACTGAGCCACACAGTCATTAACIGACTCCCCAAAGTG AC TTCTCAGAGCCAGCAAGTGACCTGGCAGCTCTGGGGGCCGTGGCTCGGGGACCAGCTCT GG CCTCTTTGTGCTGTGACCACCTGTGGGTTTTCTGGCAGctccaccatgctgcaatgg ac ccggcttgctctgtctgtctgtcttcacgtcagacatcctggagtatcttcagtgtcta cg ggacagccctgagcatgtgggtctcgc-gatggGTGAGTGGTCAACCCCTGCAGACAA GC CTTGGGACAAGGACCGGCTCCCCAGTGTCCGCACACCCAGCTCAAACCACTCCCGC TG CAGCCCTCTATCCCCACTCACTCCAGCCCCAGGAATGTCTTCCCTGTCTGGGTTTC AG GGTTGTGCTTAATCTATGAAAAAGAAATATGCACCTCTTAAATGCCCTGATGCCGATTT TT TATATCCTTTTAAATGACTCATTTAGTAAAAGCTTGTTGTGACACATTTCAACAGCA GA GGCATACAAAGGAAAAAGTGAAAGGGCTCCCTCCCGTCACTCCCTCCCTGGGAGGACC GC TGTTCACTGCTCAGGGGGGTTGGCTTCCCAGACTGTCATACAAACATCCACACACACG GG TGATATCCAGCCTGGAAGACGGGACTGTTTATAAGCCCCCTTTCCACCATGTTTTTTT TC CACGTAAGTGTGTCTGTGGCAAGGTCCCCATGACCTGAGGCTCCTTGCCATCTAACCC GG GCCTGTGAGGGGCTTCATTTCTTCTCTTGAATCTTAGTGTCTTGTCTGTGATCCTA TG GGATAGATTGATCCTATTCACTTTGCATAGTGATTATTGATTITTAGCCACAGGGTC TC ACTCTGTCACTCAGGCCAGAGTACAGTGGCACAAACACGGCTCACTGCAGCCTCGAAC TC ACAGCCTCAAGCCATCCTCCACCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATGACAGGCATGC AC CACGACACCCACCGAATTTTTTGTGGAGATGGGGGTCCCGCTAIGTTGCCAGGGCTAG TC TTGAACTCCTGGTCTCAGACGATCCTCCTGCCTCTGCCTCCCAAAGCACTGGGATTGC AG ACCTGAGCCACCACAACCAGCTGTGGTCTGTTTATTAAAATGAGGTGCTGGGAGCACA AT CCAAGCTGCTGTGTCATGGGGAAGCAGCAGGCTGCCTGTCTCTCAAACCTGGCTGGA AT TCAGACCCCTCCATGACCAGGCTGGGCCTCAGGGTCTCGCTGGCTGAGGGGACACCGA GA GAGGGCATCTACAGGATGCCTCCTGGGGGCTGGGGGGTGGGGGGTAGCCAGGAGGAG CA AGAGAGACCACTCACCTCCCCCTGTGTCTCCCTGGCCCCCTCCAGcaactggccgacttc ga cgaacccaagaggtcaacatttgatgttcggcgctcctgaccattgctgtgctggatc ta ccatgaccgatggggcLacgggglgLaLcggggcccaLcggcacagccatcctcaltc at cgcggcaagtggGTGCGTACTGCGCGAGCCTCGATGAACGGGGACCCAGGAGGCCCCG TC ACCTCTCCCTGTCTGACTCCTCCTGCCTCGGATCTTCATTTACCTCCTGCCCTCATA GG CAAATGGGTGGATGCAGGAATTGAGCAAAACACGTAGAAAATAGCCATGAGGTGCTC CG GCTGTGTAGACTGTGTGTGACGCTTGTCTGTACTCACCAGCTCCAGACTGAGCCCAAG TT

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	ACCCAATGTCTCACCTCCACGCCCGTACCTGTAAAGCAGGTGTGTGTCATTACAGCCCC CT GCCTGTCTCATGGGTGGTTCAAAGACTCACTGAGATCAGGCACCTGAAGTCCTGGCA TG GAGCCTGGCTTCCAATGTGCTCCGCACATAAGAGCTATTTGTTATCACTCTCATCACC GC TCTTACTACCAGCTGCTTTAGAGATGCAACATCAACTTGGAAAATGGCCTGGGGTAAT CT GGGAAGACTTCCTGGAGGGAGTGAGCCTCGAGCTTGGTTCTAGCCAGGAGGGAGAGTG TG GTATGACAGTGAGGCAGCCTGGGCCAGACCTTCTAGCACAGACAGCCCCCTGCAGAGC AG CAAGGCCCTCACGTGGTCTTCAGTGCTCCCTGCTCTCTCCGTCTACCAAGACCCTCC TG GCTCAGGGACCAACCCCACTCAAACCTCGCCCAAGCTAAAGAGGGATCTTAGGGAAAA AT AGACCCGGGGCATCTCCTGGGACCCAGAGCAGGAGGGAGCTCACCCCTTGCAAGGGTC TC CCAGACCTGGGGAGCCAGCAGGCTTCAGCCTGAGCCTGCTCTCCAGGCTGCAGCAGC CC AGGCACCGCTGAACATCCTGTGCTGCATTTACCTCTTTGGAGTGGACCTGAAGTC TC AGGGTCAGTTTCAAGTGCCAAGAGAGGACCTGGCCTGGTCCAGCCCAGCCACACTGCC AG CCCCGGCCAGAGCCGAGGACACCCAGCAAGACAGAGGGCAGCCTCAGTGCAGGAGG GC CCACGGCTGTGGGGAGAGCGCTCGAGTTCTGGTGGGCAGCTTGCAAAAGCCGTCCTCAA TC CTCCCCACAGCCAAGGAGCATGGGACTGATTTGCCATTTGGCCTATGAAGGAACCAAA GC ATGGAGGCCTCAGCAACTTAACAGGACGTGATGGCAGGGCAGTGGCGGGGCCAGAACC TG ACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACGGAGTTTGTCTTGTACCCAGGCTGGAGTGC AA TGGCGCCATCTTGGCTCACTGCAACCTCCGCCTCCCGGGTTGAAGCGATTCTCTGTG TC AGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTATAGGCGCATGCCATCACGCCAGGTAATTTTATA TT TTTAGTAGCGATGGGGTTTACCACGTTGGCCCGGCTGGTCTGAGCTCCTGACTTCA GG TAATCTGCCTGCCTCAGTCTCCCAAAGTGCTGGAATTACAGGCATGAGCCACCACGCC TG GCTGGACTTGACTTTTTGAGCAGGAGACAGAGGACCTGCTTTCGTCTGCAACCTGAG GA AGCAGCACTAATCCTGGGCTGACCCAGGAGGCCCTGGGAGTCACCTGGTGGGGAGAG AG GGAGCGCTGGGCATAAGTGGGCTGGACCAAGGTGGGTGGCAGGAAGGAGCGTGCTGGG GC CCTGGGTCCTGGCCACCCGCCTCTCGCCTCCTTCTGCCCCGTAAGGTGCTCCTCCCG CT GGTCTTGGCCAGGTCTGAACTGGGCTGAACTGTAATTGCCAGAGAAGAAATCACTGC TG TGTTTCCACCAAGAGCCACGAGACTGCCAAGGCCCTCAGGCTGCAGATCCAGCCACA GG AGCCGAGGATGGGCTGCCCGCCTCCCCGCATCTGGGGCTCAAATGTTGTCTCTAGA CC ATTTAGTATGGAGTTTATTTAGGATTTTCAAGGGCAATTGTTTCTGGAATGAGGGTG GA TTTTTCTCCCTGAGCCTCGTCCCTCTTGGGAGGGGTTGGGCAATGGCAGCCCGGGAG GA AGAAGGAGGGAGGGTTGGGTGATGGCGCCCTTCAATAGTGCCAGGCCCACTGTGTGA

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CC TGGGCCAGGCACCTCTCTTCTCCCTCGTCTTACTACTGCAGGCTGGCCAGACCTGGG CT GGCAGCCCTTGACCACCGCACCCAGGGTCACACGGTCCAGCTGTCTTCAGGCCACTGCA GG ACTGCAGGTGCTCAATTCTTGTGGCAATGGAATCCAGAAAATGGAAAGCCGGGCA TC AATTCATAATTCACTGGGTGGCAAAACCTGACCTGACCCAGCATAAGGCTCTTTGTGC TC TTTGCATAGGCCACTCAGCAATGGGTGCAGTTATGGGGTGTCTGCCCCACCCCCAGGG GC TTGTGCCACACGCTGTGTGTCTAACAGTTGATTCCTACTGAAATCTATAGCTCTCTGAG TG TACCCCCACGGGTCTGGCCCCACTCCGAGGCCGCCATACCCAACCTCTCTCTTCC TC CCCAACAAGGCTGTCGTTCCTCAGCCCCCTCCAAGAGGGGACCAGGCTCAGGGAGAAA AA TCCACCCTCATTCAGGAAACAACCTGCCCTTGAAAATCCCAAATAGACTCCATGTGAA GT GGCCTAGAAAACACAAGCCGGCTCCAGGGATGTGGCCCCACACTTCCGCATCTTCC TC GGAATGCAAAACCCCTCTGTAAGTGGAAACGCCACGCGAGCTTCCTAAGCACTGGGA CC TGAGAAGCAGTGCTGGCCAAGTTTGTCTAATGAAGAGTGAGATAGGTCTCTTAAGTAG GA AAGCAAACGATGCTTGTCCATGGCTCAGGGATCACCACAAGTGCCATCCCCATGGGCC AC ACTGGGCTGGCAGGTCCCAAGTACTCCAGTACTTTCTCTTGGTAAGCAATCATGGAGTC TA GTCCCCCAGAGCTCCCCCTCAGGGAGGAGGAGACATGCGAGGGTGGCGTTGTACAT CT CAAAGAGGCGGGAGGGCAGCGGGTCTTTGTGGGGCACATGGCCAGTGGCTTCCTTC CC AGCCATCCAGGCTGGGGTCTCTGCTGGGTGCGACCGTGAAGGGCCCTGTCCAGCAGAA GC CATCTGAGGCTGGGTGCGGCAGGAGGCTCCTGAGCCTCCTCTCCTGCCGGGAGAGGGC TG GGGTGAGCCTGTGCGAGGGCCAGCTCTCGGGCTGGTTTGGGGAGGGGCGTTCCCCAGTG CT GTGACCTAAAAGCTTTGCTGTGGCCTCCTGTCTCCTCACAGctacaqaagatqaagqaga ag aagggcctgtaccagacaagagcgtctacaccagcagatagggcccggcctctgct tc ggggcgctggccctgatgctacgcttctcttttgaggTACCAAGCCAGCGGGAGGT GT CCTGTGCCCCAGAGCCCACTCGGCATGGCTCTGCTCAGCTGGGATACCAGGGCTGTGC CC ACGCTGGGGGACTCTGACAGCCCCAGGCCAAAGTCTGGTATTAGTCCCTGCTCACTA GC CCCTCCCAGGGCTATGTGCGGGGCAATGCCGTCCCCAGCACCACCAGCACCATGGCCT GT GTGGACCTGGAGGTCACAGAGACCAAGCTGGCTGCCTACAGACAGCTGGCATCTCAG AC GGCAGCACAGCCTGGGAGACGCTGGGGCAGGTGCCAACACCTGGAGGAGGGAGGGA GG GAGGGGAGGAGACAGGGAAGGAAGGAGGGAGAAAGTGGAGGAGGGAGGGAGGAACAGG GG AAGAGGGATAAGGAGAGAAAAGAGGGGGAGATGGAGGGAGGGAGGGTAGGAGGGAGAG AA GGATGGAGGAAGGAAGGACAGCAGAGAGAGGGGATGGGSAAGAAGGAAGGAGTGACG CC

[illegible]

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CCCAGCTAAGGGGTTTTCTCTGTAAACCTTGGTTTCATAGGCCCTGTGTGTTCAAGC TT GGTAAGATGGAGTGTACATGGAATAGATGGGAGTCCCATGGTTCCTCACTGGAATGC AC ATCCTTGGGGCCCAAAGGTATTTTAGGTATTCAAGATTGTTCAAGTTTCAGTGGGGAA GA TCATTATAAATACCACTGTCAAGTGTGCACAGAGGGCACAGGACAGCAGCCCTGACTG AG TGATGTGCACAGTGGGCACAGGACAGCGGCCCTAATTGCACACCTCACTAAATACATT AT ATGTACAAATGCTGTCAATGGCCTCGTGCAAATCAGGGCAAGCITTTGTCACTCTGAGT GA TGATATGTTGCTGTTTCCAAGTGTTCATAAACTTGCCATTAGTAACAGGAGTGGAGGT CC CAGTGAGCAGTGCCAGTGACATGGGCACCGCCTATTAGCCTGAGTGTAGGCCGTATGA CC ATCAATCACACAGTTCTAACAAGTGGGGCCCCAGAGAGGAGAAGAATATTGAAGATCAC CC ATGGGCCCCTGTCTTGCCCCGGGAACCCCTATTTCCCATTTCACTCAGCTTCTTCTCCC CA AATGTTGTATTATGTTCTTTCTGAAAGGGTGAGACATGGGAAAGAATTGTACTCC GT TCTAAGAAGTAAGTCCAAACCACCTGCCTATCTAAGATCTAGGAGATGGGGTCTGTGC CC CAGGCATGGGTGGCTGCAGCCCCTCACTCCATTCTCACCAGAGACCTGGGGAGGCTG GC ATTTTAGTGGAGGGGGGCACTGGGCACATGTATGCTATCCTGGCTAAT'AAAAATCCCATC AG GATGGGTGTGCTGGGCTTGGACACCAGCATTCAAGAGGCAGAGGCGGGCAGATCTCTA TG AGTTTGAAGCCATCCAGAGATACAAAGTGAGAGTCTATCTTTAAAAACAAACAAACA AC AAACAAACAAACAAACAATCAAGTCAGATCCAGAACCAGTGAAGAGCAGCAAGGGGCC AT GATAGGCAAGACAAAGAGGCAGTTATCAGAGCAAGCCTTCTGTGTTTATGCATTCCAGC TT GTTAACTAGCCATGCAGAAGCCCAACACCTCTGCCTTGGGTCAGAGAGGGCCAGCTTC GG CTCCTCAAACCTGGAGTGGGATGGAAGCTTCTCCCCTCGAAAGTCAAGCACAGCTGCCA TT ACCTACTAGGGCTGCAGGTTAGGCTGCTGAGCTCTGTGCATTTCAAGTTTCATCCTTAA CT TAAAAATCAGAATAAGCCCGGGTTCTCGGAGCCCACAGGAGTAGGATGTGGCTTGGAA GC TTCTCCTCCCTGACTATACCTGTCCCCACTTTGCTGAAGATGGATCAGAGCTCTCCACC CC TGGCCCTGCCACTCCCCTCTGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGA CA CAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGA CA GACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACA GA CACAGACACAGACACAGACACAGGCATAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACA GA CACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACA GA CACAGACGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGAC AC AGACACAGACACAGACACAGACGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACA CA CAGACGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAG

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	AC ACAGACACACACACACACACATGACACACACACAGACCACACACACACTCACAG AC ACAGACACAGACGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGA CG ACACAGACACAGACACAGACACAGACGACACAGACACAGACACAGACACAGACACA CA GACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGA CG ACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACATAGACACAGACACAG AG ACACAGACACAGACAACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACTCAGA CA CAGACACAGACACAGACACAGACACAGACACAGACTCAGACTCAGACTCAGACTCAGA CT CAGACTCAGACTCAGACTCAGACTCAGACACACAGTCACACAGACACACACAGACACA CA CAGACACACACACAAAGGCACACACACACACAAAGGCACACACACACACACACCCC AC CGCCTGCCCCAATCTGCACTGCTGTAGCTCTACTTCCAGGAACCTGCAAGATCCCAA TG GTGCTTCCTGCATGAGGTAGCAGAGGTGAGAACTTGAAGCCTGAGTGCTGTCTGCT TG GTCTGAAGCCTGCTGGCCTGGAAGGTCTGTGTTTTGGGCCTAACTGCTCTGGGTGGAG CT CAGAAAACATCCCTGGGTCTTTCCTGCTATTGGGAAATTTGTTACAGATGGCTAACTT AG GTGGGTTTTAGGCCATGGAGGTGAGAGGGCCTTGAGACCATAGAGGGGTTAGGAGCCT AT ACAGCAGAGTAGATGCCAAGCGCCAGGCCCTCCTCTAGGCCTCCCACTCAATACCCTG CT TCACCCCCACCTCACACCTTCCTTCCTCATGAGAACCATTTCCAAGGCTTGCTTCTTT CG GGAAGACTATCCAGATTAACCTATCTGCTCTCCAACTGGTATATACCTGTAAGCAG TG TTGTCTCTCAGAATGATAATGATAGTGATCTTATGTTGATGAAAAGACTGACAGTGAC AG TCATGATGACAAAAGGTCTCCTCAGCTCTGGGTATATTAAAAAICACACCTGTGCCTG TG CCTGTGCTTAGAAGCATTCTTTATGGGTATTTGGATGCAGAGCAGAGGTCAAGAGAAA AG GAGTTTTGGCTTTATCCAGGACCAATAAACAGCAGGGCATGGGACCCGAGCATGAGC CA CCATTTTTAGGAATTTTAGGGTTTTTGCCCAATTCTTACTAATTCACCTGCATATAA GG ATATGGGGTATAGGACCTACATAGGAGAAACCAAGATCAGGGAAGAAATGCAGGTTT CG TGGTCTCCGACAGTGGAGATACTGGAAGTACTCACccactttacagcaatgatgaggg tg gcogtgcctatgggacggagtataccccgtaacccagcggtcatgaaaagtccgca ca gcgatgglaaggacgccaagcatLgLgaaggLcgaLcLclggggLlcaLcaaagLcgg cc agtgCTGGGAGAGGCATAGCTATGCTGAGCAGCGTCCCTCACATGGCTGTGCCTCCA TC CTTGGGAACCTATTGGTATGTCCTCTCAATCTGTAGGGCCAGCCTGGTTTCCATAAGG TC TGAATTTTGGTTATTTGGAGGGAGTGGGTGATGCTGCTTCCCTGGAGCAGGGTGGCTG AA ATAAACTGGTAGACTGAGTGACCAGCATTTCCCTAGGAATCCTGAGACAAAAGTGTTAA GA

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CTAATGATTGGTGCGCAGAGCTGAGTCTCAGGAGGGACCCCGGGACTGCATCCCTGGG AG ACAAGGGTGAGCTTGCTTGGTTTCTCCCTTTTCTCTTTTCCCTTCCCTTCCCTTTCTTTT CC CTTTCTTTGCTCTCTCCCTCCTTCTCTCCCTGTCTCCCTTCCCTCCCTCCCTCCCTGTCT TC CTTTCCTTTCTTCTTCCCTCATCCTTTCTGCTTTCTACTTTTCTCTATCTCTTCCCTT TT TTTTTTTCAAATTTTGCAAGTTGCTGGTAATGGAATGAAGGGCCTATTGATTACCAGG CG AGCGATCTGCCATTGAGCTGTATATACCCAGGTCCAAGGTGAGGATTTTGAATGGTC TG CCTTCCTAATACACAGAGCTGAGCTGACCATGAGGGCAAATGCTCCTCTGAGCCTGG AG GACAAGCTGGGAGGCTAGGTCCAGGATGCCTTTGGCCTCTCCTTTGTATGCTTCTGTT TT TTAAATGTCACAAGTGCTAACTACTGGAGTCACCTAAGGATGGTGAAATGAGAGTGCT AG GCATCAGAGAAATGTGCATGTCTCTTTAAGCAGATTAAGCTCTGCAAAGCAGCAAGGA GG GAGGATCTCAGAGAGGGGCTGGGTACTGGCTGGGGTTCAAGGACTGGCTCCACCCATT GG CCAAGATGGCCACTTACccatcagggagacccacatgctcagggctgttccatagatg ct gaagtactccagcatgtcacggcgcatgaagcacagcacagacaaaccaggcccatca ca ggcatgggagaaCTGTAGGGAAATCACATGAGGTGAGCAGGCAGTGGGCAGCCCAAGGA GT GGGTGAGAACTGGTCCCAAGGCTCAGGTTCACTAGCTGTGAGCCCTTAATGGTTTTGT AC CTCAGCCTCCTCCCTCACACTATCAGAGCCCTTGTGGAGATTAAACAGGTGAGTCCAT CT AGCCTGGGAGTGCAAAAGTCTTTGTAAATATCCCTTTCACTCAGCACTGGCCCAAG GC TGGTGAGAAGCATGCTCAGAAGGGCATCCTTAAGACCACTTACacctttgcccataga ct gaactgaaagtgtacacattcctatgccagtcctttgcataggagccttttatcctggac cc ctgtctctccataaaagagggaagccctagattcccccaagcaagtgtgatTCTGA CA CACTGGTTTTCTTTCCCCCATATGCCAGCAGGTGTGTCCCTGACTCGTAGTTGAATAGA TT TGCTTCTAAGCAAAAGGTTCTATATGCAGGATTTCCAAGCAGACAACTTATTTCTTGC AG AAAACAACCTTGCTCTCCCTTTGCTTCACATTTTCATCATTTTAAGTAATATTTAATTAC AT GACATAATTATTTTGACAAGTGCAACTGGCACAAACAAGCCAGCAGCCAGCACAAATG AG CTCTTGGTAAGCCCAACTTAGCAGGAGGGAGCAGGCAAGCTGGAAAACAGCCTTGTCT GG AGGCAGCAGGGGCACCAACGAGGGAGGCAGGCGGAGAGCTGGGGACCCCTGGATGATGG AT GTATCAGTCAAGCACATAGGGCCTACTTAGAAGCTCAGAGACCTCCTGCTGGTCACAG TT GCACATGGACTCTGTCAATCAATAGAGAGCATCCAGGGGAAGGGAGGAGGTGGTCCAG CC TCTGTGTTGGGTGAGCCCCAGCCTTGAGCTTTGGGTTCTGCACCTTTTAAAAGGGAGA TT GGTGAAGAGGAGGTTAACCAACTAGGTATGAGCTCAGGAAAAGACAAGCTTTGGGTTG GG CCAGACCAAGGTACGCAAGTGGAGAAGGAAAGGAAGTCAAGCTCTGGGAGGGGACTCTG

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CT CTTCTGGCTCCTTACAGAACCACATGACCCACCCACCCACCTGAGCCCATCATCT GT AGCATCTTGCTTCCTTCTCTTGTATAGGCCCCCATGAATGAGTAAACTTACTTACTG TG AGATCCTGGGAAACACTCATGCCTTCCCCACGAGGAGAAGAGCTTCTTAGGCTTGA TC TCAACATAGAATACTTGGCTACATGTGAAGGCCAGAGGAGCAGGCTTCTAACAAGGG AT CTAACTGTCTCAGGCCCTGAGGATTAATTTTTTGGGGGGTGGGTGACCTGTGTGACA GT GAACTTCCCTGGGGAACCTCCTGCCCAAGGAGGCAGGGGCAAGGCTGTGATGTGTACC CT TTCTCCCCAGAGGCAGGGAGATCTGCTCCAGCTGGTGCCAGGCTAGGACACAGCTGGG TG TGACAGGAGCCCTAACCTGCTGTCTCAGCTCAGAGCTGGCAGAGGGGCCAGGTTCTCT CA GGTCTCTCAGGCCACCTTGTCTAATGGCATGAGAACACCTGTCTGTGGGGCTTACA AG GGGACCCTAACGATAACTGCGGAGCATGGCACCACACTGCAAAATGAAATGCTGT TT AAAGTTTGCTTTCATTAATCAAACCTTCCCCAACCTGAAACCAAGTAAATATGTGCG TT ATGGGCATTTAAACAATGTGCTTGGCTTGGCCAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG AA TTCAATCGATCTTATTATGCTTTGCATTTCTGGTGGAGGACTCTAGTGAGTCTTTGTG AC TCTTTCATGCCGACTCAGAACAGTATATGTTTGTGTGAGATGTGGTGACCAGGTCTA AG ACCACGTGTGTTAGAAACAGCAAGGTATGGAGACCATGTTGAAAGCAAATGTGGGTG TA GGCTGATAATATCTGATTGTGGATTGTGTGCTACTGAGTCAAAGGGCCAGAGAGACA GC TGTCTGCTATAAAGCCTAAGACTCAGATCCATTCTTTTGTCCCTGTTTGTGTGTC TG TTCAGCAAGTAGAAAGGATGATATTGTCTAAGATTCTTAGATTAGAACCTGATTTTAG AT TAGATGACTATCAGGTTAGAACAGGAGAGGGCAGAATTCTTTGGAATACATCAGATCC AC CCGCTGTGTAAGTACACCAAGAGTCATTCTTCTATTAGCAGCAGCATAACCATACAA CT GGTAGTTGTCTATGGAGAGTCTTACAGCAGCCACGTGGAAGGCAGAACTCTGTGAGGAA CA GATTGTGGCTTTGAGGCCAGAGGACATTTGTCTAAGAGACAGCTGGCCCTGCCACTC TG GGTGGGTGTGGCAGGGTGGGCCTCCAAGGCCAGTGCAGAGGCAGCTGTAGGCCAATT AG ACCCAGGCAGGCAGGGGTGACCTGATTGGGGCTGTGATTTGCTGGACTGTATCTAACA CA GGCCTTGGGAACAAGACCCTGGCTTATGTCTTGGCCGTGGGGTCTCATCTTGGCTCT GA CCTTGGCCAGGTCTCAAGAGGAACAAATGACAGTGTGGGACAAAGTACTGTGGGGCAG AC CAGGATCTGAGTGTTCATGGTGACACTGGTGGCCAGTTTCTCTGAGACTCAGTTTCC TC TTCTATCAAATTGAAATCACTATGTAGGCTCGTGGGTGATAAGAGTCCAACCCAC CA TGGTTGCTTTCTTGTGACTTATCATTTGGCCTAATGTCTCTCCCTTACTGAAGTGAAGTC AA GAGCCATAGAGTTTCCAGTTCTTGGGTTACCTATGGGACCAACCACAACCAGGAGGTA GA

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CAGGTGCCAAGCCCTCCCCACTGTTCTCAGCCACATGCATTGTGGCTTCTCCACC AC TAGAAAGTCATGCCAGCTGACTCAGGATATGGAACACGCATGTGAGCACAGATGTGTG AG TTTGTGGGCTCACTCATTGAGAGCCAGCTGGATACCTTCACATACTCTATGCCCTTGC CT TACTGAGACCTGCTGCAGGAAGGGCAGGCCTAAGGAGAGGATGCTAGTCTCTAAAAGT TT GGCTCTGCTCTAAGGAGGAGACTAGCAGGCTGCTTGCCAAACCTGAGCATGTATCCTA CC AGTGTGTGGGCTCACACCAGACAACTAGTGAGGCATAGTGTGATGAGAGAGAAACG AA CCTTACAGACTGCTAAAAGAGACAGTCTCACTCCTGCTTACAGCATAGCTGACAGGGC CA TCATGAGAGGTACTCAGAAGGACTAAAGGGCAAAGTGAGAGGAGGCCTTTAAGACAGA GA GTAGATGGGTAGATGAATGGACAGGGAGAGAGATGGTTGCTTAGCAGATAATAGAGAA AT GATAGACAGATAGACAGACAGACAGATGATGGATAGACATAGAACAAGACAATGA TA AATGAATAGATGATAGACAAAGGAGATAGAGAGACAGAAGCAAGTTGAATGGGCAGGA AG ATAAAGTCAGGAAGACACAGAGCTCTGGTCAAGAACCCAGGGGAGAGCAGACCAGGGA GA AGACGACAGTCAACTCCTCGCGCACTCTAACTCTAGAAATCACAAAAAACAAAAAA AA AAAAACCCAAAAAACAAACAAACAAACAAAAAATTTGGATACAGGCAGGAAGAA GG AAGAGATAGAGACTGGGAGAACTAGACACAGAACCAAGTCAAAGAAGCAGAGGGAGAG AG ACCCATGGCGGGAATAAGAGAGAGCAGAAACCCAGACACAAGGCTTCAGCAAAGCTGG GC CAGTGCCAGACATGCCCCGAACGAACGACAGAGGAGTCACCCAGTACTGTTGCCTGGG AA CAGAGTGGAGAAGGAACCTAAGAGGCAGCCAGCCAGCTAGACACATAACAGGAAGAGAA AG AAGGACTCAGGGAGAGGCTGGCTCCTCTCAGTGGGGGTAGTTCCAAATTCTGGAGCTG CA GTCACCCAGGCTCTACCTTCTCTGAACCTAGTAGATCCATTCCTAGGCCTGCTCAC TC ACCTTGTTCCTCCTCAGCTGAGCAACTCATGGAACAACGTTGGTAGAAAGGAGAGAGA GT CTGAGGAGCACCAGGCTTGACCTTAACTGACACCGGGCTCTCATGGGCCTGGCCTCAG TC TCAGGTGTCAATCACCCCTCAAATGTCTGGCGCACATGGAGAACTGAGGTCCACA GA GGAAGACAGATTCCAGGAACCTTCTCTTCCAGTCACCAACCCCACTGCTCCCCCAGA CC CAGACTCTTCTCTTCCAAATCCTGTTCTTGCATCACCTGGCAGGACAAATGGTGGT AA CCCTCCCGTGAGGACTTCCTCCTAATTTCTCCTTCCACACTTACcggcacaagaac at ggtgaagaggttagaccatggcctccatgtagaaacgcctcttgtagcgatgctcact gt cgggaggaagggcaggtgctgagggtaggcaggagcagtttggtacaaactgtcccc at ggaccaggaggaaggcactgactggggagaaggtggtaaggccccctggtctccag gg caggaagaaaaagagcccacttctttgcttctccagcagccctgaccgcagctgtggc ag
	caccacaaaggagggttaagtgtc (Sec. con núm. de ident.: 64)

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
Ratón (cadena -, complemento inverso) - el codón de iniciación está en negrita y subrayado; el codón de terminación está en negrita y en cursiva	gagcacttaagccctccttggtgggtgctgccacagctgcgggcaggggtgctggagaa gc aaagaagtgggtctctttttcttctcctgcctggagaccaggggggcctttaccaccttc tc cccagtcagtgccctcctcctggtcc<u>atg</u>gggacagttgtagccaaactgctcctgcc ta ccctcagcagcctggccttcctcccgacagtgcgcatcgctaccaagaggcgtttcta ca tggaggccatgggtctacctcttcaccatgttctttgtggcgGTAAGTGGAAGGAGG AA ATTAGGAGGAAGTCTCACGGGAGGGTTACCAACCATTTGTCTGTGCCAGGTGATGCAG AA ACAGGATTTGGAAGAGAAAGAGTCTGGGTCTGGGGGAGCAGTGGGGGTGGTGA CTGGG AA GAGAAGGTTCTGGAATCTGTCTTCTCTGTGGACCTCAGTTTCTCCATGTGCCCCAG AC ATTTGAGGGGGGTGATTGACACCTGAGACTGAGGCCAGGCCCATGAGAGCCCGGTGTC AG TTAAGGTCAAGCCTGGTGCTCCTCAGACTCTCTCTCCTTTCTACCAACGTTGTTCCAT GA GTTGCTCAGCTGAGGAGGAACAAGGTGAGTGAGCAGGCCTAGGAATGGATCTACTAGG TT CAGGAAAGGTAGAGGGCCTGGGTGACTGCAGCTCCAGAATTTGGAAC TACCCCACTG AG AGGAGCCAGCCTCTCCCTGAGTCTTCTTCTCTCTCTGTTATGTGTCTAGCTGGCTG GC TGCCTCTTAGTTCCTTCTCCACTCTGTTCCAGGCAACAGTACTGGGTGACTCCTCTG TC GTTGCTCGGGGCATGTCTGGCACTGGCCAGCTTTGCTGAAGCCTTGCTGTCTGGGTT TC TGCTTCTCTTATTCGCCGCATGGGTCTCTCTCCCTCTGCTTCTTTGACTGGTTCTGT GT CTAGTTTCTCCAGTCTCTATCTCTTCTCTCTCTCTGCTGTATCCAACTTTTGTGTT TG TTTGTTTGTGTTGTTTTTGGGGTTTTTTTTTTTTTTTGTGTTTCTGATTCTAGAGTTA CA CTCCCCGAGGAGTCACTCTCTCTCTCTCCCTGGTCTGCTCTCCCTGGGTCTTGA CC AGAGCTCTGTGTCTTCTGACTTTATCTTCTGCCCATTCAACTTGCTCTGTCTCTC TA TCTCCTTTGTCTATCATCTATTCATTTATCATTTGTCTTGTCTATGTCTATCCAT CA TCTGTCTGTCTGTCTATCTGTCTATCATTTCTCTATTATCTGCTAACCAACCATCTCT CT CCCTGTCCATTCATCTACCCATCTACTCTCTGTCTTAAAGGCCTCCTCTCACTTTGCC CT TTAGTCCTTCTGAGTACCTCTCATGATGGCCCTCTCAGCTATCCTCTAACCAGGAGTC AC ACTGTCTCTTTTACCACTCTGTAACCTTCGTTTCTCTCTCATCACACTATGCCTCACT AG TTTGTCTGGTGTGAGGCCACACACTGGTAGGATACATGCTCAGGGTTGGCAAGCAGC CT GCTAGTCTCCTCCTTAGAGCAGAGCCAACTTTTAGAGACTAGCATCCCTCTCCTTAGG CC TGCCCTTCCTGCAGCAGGTCTCAGTAAGGCAAGGCATAGAGTATGTGAAGGTATCCA GC TGGCTCTCAATGAGTGAGCCCAAACTCACACATCTGTGCTCACATGCGTGTTCAT AT CCTGAGTCAGCTGGCATGACTTTCTAGTGGTGGGAGAAGCCACAATGCATGTGGGCTG

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	AG AACACTGGGGCAGGCCTTGGCACCTCTCTACCTCCTGCTTGTCTGCTGCTCCCATAGCTA AC CCAAGGAACCTGGAACTCTATGGCTCTTGAGTTCACTTCAGTAGGGGAGGACATTAGG CC AATGATAAGTCACAAGAAAGCAACCATGGTGGGGTTGGACTCATTATCACCCACGAGC CT AACATAGTGATTTCAATTTGATAGAAGAGGAACTGAGTCTCAGAGAACTGGGCCAC CA GTGTCACCATGAACACTCAGATCCTGGTCTGCCCCACAGTACTTTGTCCCACACTGTC AT TTGTTCTCTCTTGAGACCTGGCCAAGGTGAGAGCCAAGATGAGACCCACGGTCAAGGA CA TAAGCCAGGGTCTTGTTCCCAAGGCCTGTGTTAGATACAGTCCAGCAAATCACAGCCC CA ATCAGGTCACCCCTGCCTGCCTGGGTCTAATTGGCCTACAGCTGCCTCTGCACTGGCC TT GGAGGCCCCACCCTGCCACACCCACCCAGAGTGGCAGGGCCAGCTGTCTCTTATGACA AA TGTCTCTGGCCTCAAAGCCACAATCTGTTCTCTCACAGAGTTCTGCCTTCCACGTGGC TG CTGTAGGACTCTCCATGACAACTACCAAGTTGTATGGTATGCTGCTGCTGAATAGAAGA AT GACTCTTGGTGTGAGTTACACAGCGGGTGGATCTGATGTATTCCAAAGAATTCTGCCC TC TCCTGTTCTAACCTGATAGTCATCTAATCTAAAATCAGGTTCTAATCTAAGAATCTTA GA CAATATCATCCTTTCTACTTGCTGAACAGCACAAACAGGGACAAAAGAATGGGA TC TGAGTCTTAGGCTTTTATAGCAGACAGCTGTCTCTCTGGCCCTTTGACTCAGTAGCAC AC AAATCCACAATCAGATATTATCAGCCTACACCCACATTTTGCTTTCAACATGGTCTCC AT ACCTTGCTGTTTCTAACACACGTGGTCTTAGACCTGGTCACCACATCTCACAAAACA TA TACTGTTCTGAGTCGGGCATGAAAGAGTCACAAAGACTCACTAGAGTCCCTCCACCAGA AA TGCAAAGCATAATAAGATCGATTGAATTGTTTTTCCCAGAGGTGAGCTAATTCTGCCC AG GGCAAGCACATTTGTTTAAATGCCCATACGCACATATTAACCTGGTTTCAGGTTGGGG GA AAGTTTGATTAAATGAAAGCAAAC'TTAAACAGCATTTCAATTTTIGCAGTGTGGGGTGC CA TGCTCCGAGTTATCGTTAGGGTCCCTTGTAAGCCCCACAGAACAGGTGTTCTCATG CC ATTAGACAAGGTGGGCCTGAGAGACCTGAGAGAACCTGGGCCCTCTGCCAGCTCTGA GC TGACAGCAGGGTTAGGGCTCCTGTACACCCAGCTGTGTCTAGCCTGGCACCAGCTG GA CCAGATCTCCCTGCCTCTGGGGAGAAAGGTACACATCACAGCCTTGCCCCCTGCCTCC TT GGGCAGGAGGTTCCCCAGGGAAGTTCAGTGTACACAGGTACCCACCCCCCAAAAAA TT AATCCTCAGGGCCTGAGGACAGTTAGATCCCTTGTTAGAAAGCCTGCTCCTCTGGCCT TC ACATGTAGCCAAGTATTCTATGTTGAGATCAAGCCTAAGGAAGCTCTCTCCTCGTGG GG GAAGGCATGAGTGTTTCCCAGGATCTCACAGTAAGTAAGTTTACTCATTTCATGGGGG CC TATACAAGAGAAGGAAGCAAGATGCTACAGATGATGGGCTCAGGTGGGGTGGGGTGGG GT

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	CATGTGGTTCTGTAAGGAGCCAGAAGAGCAGAGTCCCCTCCCAGAGCTGAGTTCCTTT CC TTCTCCACTTGCGTACCTTGGTCTGGCCCCAACCCTAAAGCTTGTCTTTTCTGAGCTCA TA CCTAGTTGGTTAACCTCCTCTTCACCAATCTCCCTTTTAAAAAGGTGCAGAACCCAAAG CT CAAGGCTGGGGCTGACCCAACACAGAGGCTGGACCACCTCCTCCCTTCCCCTGGATGC TC TCTATTGATTGACAGAGTCCATGTGCAACTGTGACCAGCAGGAGGTCTCTGAGCTTCT AA GTAGGCCCTATGTGCTTGACTGATACATCCATCATCCAGGGTCCCCAGCTCTCCGCCT GC CTCCCTCGGTGGTGCCCTGCTGCCTCCAGACAAGGCTGTTTTCCAGCTTGCTGCTC CC TCCTGCTAAGTTGGGCTTACCAAGAGCTCATTGTGCTGGCTGCIGGGCTTGTGTGTC CA GTTGCACCTTGTCAAATAATTATGTCTATTAATAATTACCTAAATGATGAAAT GT GAAGCAAAGGGAGAGCAAGTTGTTTCTGCAAGAAATAAGTTGICTGCTTGGAAATCC TG CATATAGAACCTTTTGTCTAGAAGCAAATCTATTCAACTACGAGTCAGGGACACACCT GC TGGCATATGGGGGAAAGAAACCAGTGTGTGAGAAatcagcacttgcttggggggaatct aa gggtcttctcttttatggagagacaggggtccaggataaaaggctcctatgcaaagac tg gcataggaatgtgtacactttcagtcagtcagtcagtcagtcagtcagtcagtcagtcagtc GA TGCCCTTCTGAGCATGCTTCTCACCAGCCTTGGGCCAGTGTGAGTCTGAAAGGGATA TT TACAAAGACTTTTGCACCTCCAGGCTAGATGGACTCACCTGTTTAACTCTCCACAAGGG CT CTGATAGTGTGAGGCAGGAGGCTGAGGTACAAAACCATTAGGGGCTCACAGCTAGTGA AC CTGAGCCTTGGGACCAGTCTCACCCTCCTGGGCTGCCACTGCCTGCTGACCTCA TG TGATTTCCCTACAGttctcccatgcctgtgatgggcctggtttgtctgtgtgtgtgtt ca tgggcctgacattctggagtaacttcagcatctatggaacagccctgagcatgtgggt ct ccctgatggGTAAGTGGCCATCTTGGCCAATGGGTGGGAGCCAGTCTGAACCCAGC CA GTACCCAGCCCCCTCTCTGAGATCCTCCCTCCTTGCTGCTTTGCAGAGCTTAATCTGCT TA AAGAGACATGCACATTTCTCTGATGCCTGCACTCTCATTTCCACCATCCTTAAGTGAC TC CAGTAGTTAGCACTTGTGACATTTAAAAAACAGAAGCATAACAAGGAGAGGCCAAAGG CA TCCTGGACCTAGCCTCCCAGCTGTCTCCAGGCTCAGAGGAGCATTTGCCCTCATGG GT CAGCTCAGCTCTGTGTATTAGGAAGGCAGACCATTCAAATCCTCACCTTGGACCTGG GG TATATACAGCTCAATGGCAGATCGCTCGCCTGGTAATCAATAGGCCCTTCATTCCATT AC CAGCAACTGCAAAATTTTGAAGAAAAAGGAAGGAGATAGAGAAAAGTAGAAAGCA GA AAGGATGAAGGAAGAAGAAAGGAAGGAGACAGGGAGGGAGGGAGGAAGGGAGACAGG GA GAGAAGGAGGGAGAGAGCAAAAGAAAGGGGAAAGGAAGGGAAGGGAAGGAGAGAAA GG GAGAAACCAAGCAAGCTCACCCCTTGTCTCCAGGGATGCAGTCCCGGGTCCCTCCTG

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	AG ACTCAGCTCTGCCGACCAATCATTACTCTTAACACTTTTCTCTCAGGATTCCTAGGAA AT GCTGGTCACTCAGTCTACCACTTTATTTTCAGCCACCTGCTCCAGGGAAGCAGCATCA CC CACTCCCTCCAAATAACCAAAATTCAGACCTTATGGAACAGGCTGGCCCTACAGAT TG AGAGGACATACCAATAGGTTCCCAAGGATGGAGGCACAGCCATGTGAGGGACGCTGCT CA CCATAGCTATGCCTCTCCCCAGcactggccgactttgatgaaccccagagatcgacct tc acaatgcttggcgctccttaccatcgctgtgcggacttttcatgaccgctgggggttacg gg gtatactccgggtcccatagggcagggccaccctcatcattgctgtaaagtggGTGAGTA CT TCCAGTATCTCCACTGTGCGAGACCACGGAACTGCATTTCTTCCCTGATCTTGGTTT CT CCTATGTAGGGTCTATACCCCATATCCTTATATGCAGGTGAATTAGTAAGAATTGGG CC AAAAACCCCTAAATTCCTAAAAATGGTGGCTCATGCTCGGGTCCCATGCCCTGCTGGT TT ATTGGTCTCGGATAAAGCCAAAACCTCTTTTCTCTTGACCTCTGCTCTGCATCCAAAT AC CCATAAGAATGCTTCTAAGCACAGGCACAGGCACAGGTGTGATTTTAAATATACCCA GA GCTGAGGAGACCTTTTGTATCATGACTGTCACTGTCACTCTTTTTCATCAACATAAGA TC ACTATCATTATCATTCTGAGAGACAACACTGCTTACAGGTATAATACCAGTTTGGAGA GC AGATAGGTTAATCTGGATAGTCTTCCCGAAAGAAGCAAGCCTTGGAATGGTTCTCAT GA GGAAGGAAGGTGTGAGGTGGGGGTGAAGCAGGGTATTGAGTGGGAGGCCTAGAGGAGG GC CTGGCGCTTGGCATCTACTCTGCTGTATAGGCTCCTAACCCCTCTATGGTCTCAAGGC CC TCTCACCTCCATGGCCTAAACCCACCTAAGTTAGCCATCGTGAACAAATTTCCCAAT AG CAGGAAAGACCCAGGGATGTTTTCTGAGCTCCACCCAGAGCAGTTAGGCCCAAAACAC AG ACCTTCCAGGCCAGCAGGCTTCAGACCAAGCAGACAGCACTCAGGCTTCAAGTTCTCA CC TGTCTGCTACCTCATGCAGGAAGCACCATTTGGGATCTTGAGGTTCTGGAAGTAGA GC TACAGCAGTGCAGATTGGGGCAGGCGGTGGGGTGTGTGTGTGTGTGTGTGCCTTTGTG TG TGTGTGTGCCTTTTG TC TGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGTG TC TGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTG TC TGTGTCTGTGTTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTG CT GTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTG TC TGTGTCTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTG TC GTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTG TG TCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTGTCTGTG TG

[illegible]

Fuente	Secuencia de ácido nucleico genómico
	GT TACACAGAGGAAAACCCCTTAGCTGGGAAAACCTGATCACGTCTGCCACTGAGTGCCTAA AG CCCGCCAGATGCGGGCAGTAGAGGACCCAGGSGAAATTTGGCCACAGAGTCCCATCAG TC AGGCATACAGAGGAATGGGGTAGGGCTCTTCTACAGTTCAATGGAGGGTCCCTTCCT GT GCTGCACCCCAAGAACTTTGATGTCCCCACCTTGTGCCTGCAGctgsagaagatgaaa ga gaagaggggctgtaccccgacaagagcatctaccccagcagatagggcccgggctg tg ctttggggccctggccctgatgcttcgattcttcttttgagGTACCTGCCCTATGGGGA AG GGGASCAGAGGCTCTGGAATAGTTAACTAACAGCCACATATGGAGGCTCCAGTTG TA AATTCCTGTCTCTTGAGGATGGTACTCACCATCCCCAGTGTACTAGCCTCACTGCCTG AG TGGCAAACTCAGGCCCTGACTTTAGGAAGCCTGCACCCCAAGATGCACGCATCTCCTGG AA GGAACAGGAGCTGGTGGCCAGCACCAGGAGSCATGGAAACAGAGCAAGGCAGCAAGC CT TTCTGCCACCTTCTCAGGGTGGGCTGGCTGCAGAGGCACCAAAATGGCTAGGACTTGG TT TAGSGAAGGGATGGAGGCCCGACTGACTCAATTCTCCTCCACAGgaatgggattacac ct acgtccacagcttttaccactgtgcccctggccatgtctcttctgctgtgtgcccac gg tcaacaagaaggctgggacgcagggygcccccgccaagctgaacctctccacacctctg ct gcaacttggtgtctgaactataccccccccacacacacacacacacacaggccctgcccctcc tg cctggcagtcctgctgtctctcccaaggtaacttctctatactttgttatgctggcctgta ca tgagaastggtcttctctcacccccagagacccagcaggccctgtgcattctgctgag tg ctgcttagggaaccactgggtctgtgtttccaccagttgcttccactctgttcaggaaaaa aa agaacttttatcccccaaggccctcacacccataggtgtgcctggcagagaacctagac ca gtaastaccagcagcatgcagggttatctattttccagggtcctgctgtgcagsatcg tc tgctttccctaggaaaactgggattgcccttttaaccctgccaggctctgaaagctc tc cacttaggaagctggagccagogaaccttgcataccctgctcagtgagtcacatcccttc tg cagggttttccgatcaagccatccacagtaaacctcttgatcagccactagtcattagctt cg cctaacatacattctagttccctggaa (Sec. con núm. de ident.: 65)

Una o más modificaciones, en algunos casos, pueden incluir una inserción, una eliminación, una sustitución o combinaciones de estas. En algunos ejemplos, el polipéptido no abarca uno o más polipéptidos de origen natural (p. ej., no abarca uno o más de los polipéptidos de myomaker silvestre). En otros ejemplos, el polipéptido no abarca ninguno de los polipéptidos de myomaker silvestre. En algunos ejemplos, el polipéptido no abarca ningún polipéptido de origen natural (p. ej., no abarca ninguno de los polipéptidos de myomaker silvestre o ningún otro polipéptido de origen natural).

En algunos ejemplos, una o más modificaciones de un polipéptido de myomaker silvestre pueden incluir una o más sustituciones, una o más inserciones, o una o más eliminaciones (o combinaciones de estas) de uno o más aminoácidos en una región hidrófoba de un polipéptido de myomaker silvestre, de uno o más aminoácidos en una región hidrófila de un polipéptido de myomaker silvestre, o en una combinación de los mismos. En algunos ejemplos, una o más modificaciones de un polipéptido de myomaker silvestre pueden incluir una o más sustituciones o una o más eliminaciones (o combinaciones de estas) de uno o más aminoácidos en una región hidrófoba de un polipéptido de myomaker silvestre, de uno o más aminoácidos en una región hidrófila de un polipéptido de myomaker silvestre, o en una combinación de los mismos.

En algunos ejemplos, el polipeptido de myomaker puede tener una secuencia de polipéptidos con una identidad de secuencia de aminoácidos con un polipéptido de myomaker silvestre (p. ej., sec. con núm. de ident.: 50 o sec. con núm. de ident.: 53) de aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99.1 %, aproximadamente 99.2 %, aproximadamente 99.3 %,

aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. En algunas realizaciones, la secuencia de polipéptidos de myomaker tiene una identidad de secuencia de aminoácidos con una sec. con núm. de ident.: 50 o sec. con núm. de ident.: 53 de aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,1 %, aproximadamente 99,2 %, aproximadamente 99,3 %, aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. La identidad de secuencia de aminoácidos (p. ej., la identidad porcentual) puede determinarse por cualquier método adecuado, tal como usando el software BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, Clustal Omega o Megalign. A menos que se indique lo contrario, la identidad de secuencia de aminoácidos (p. ej., la identidad porcentual) se determina usando BLAST-2.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican el polipéptido de myomaker se denominan “moléculas de ácido nucleico de myomaker”. En ciertos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker se incluye en un vector (p. ej., un vector viral, un vector retroviral, un vector lentiviral, un vector adenoviral, un vector viral adenoasociado, un vector herpesviral, un vector viral quimérico, un plásmido, un vector de expresión, un vector conjugativo o un vector no conjugativo). En ciertos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker está en el mismo vector que la molécula de ácido nucleico de myomaker. En ciertos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker está en una célula, tal como una célula de insecto (p. ej., una célula Sf9) o una célula de mamífero (p. ej., una célula humana, una célula de rata, una célula de ratón, una célula muscular, una célula no muscular, un mioblasto, un fibroblasto, una célula C2C12, un fibroblasto 10T 1/2, una célula NIH/3T3, una célula CHO, una célula madre mesenquimal (MSC), una célula madre hematopoyética, una célula sanguínea, una célula de médula ósea o una célula madre adiposa). En ciertos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker está en la misma célula que la molécula de ácido nucleico de myomaker.

En otros ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker comprende una o más secuencias de ácido nucleico que no se usan para codificar el polipéptido de myomaker (p. ej., uno o más intrones). Por ejemplo, la molécula de ácido nucleico de myomaker puede incluir una o más moléculas de ácido nucleico según se encuentra en la naturaleza (p. ej., que incluye intrones). En ciertos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker difiere la una o más moléculas de ácido nucleico en la naturaleza porque la molécula de ácido nucleico de myomaker no incluye uno o más intrones. En algunos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker es una molécula de ADNc (“molécula de ADNc de myomaker”). En ciertos ejemplos, la molécula de ADNc de myomaker es idéntica a una molécula de ácido nucleico que se encuentra en la naturaleza. En otros ejemplos, la molécula de ADNc de myomaker no es idéntica a una molécula de ácido nucleico que se encuentra en la naturaleza (p. ej., debido a que la molécula de ADNc de myomaker no incluye uno o más intrones en la molécula de ácido nucleico que se encuentra en la naturaleza).

En algunos ejemplos, la secuencia de moléculas de ácido nucleico de myomaker tiene una identidad de secuencia con una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de myomaker silvestre (p. ej., sec. con núm. de ident.: 56, sec. con núm. de ident.: 59, sec. con núm. de ident.: 62, sec. con núm. de ident.: 63, sec. con núm. de ident.: 64 o sec. con núm. de ident.: 65) de aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,1 %, aproximadamente 99,2 %, aproximadamente 99,3 %, aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. En algunos ejemplos, la secuencia de moléculas de ácido nucleico de myomaker tiene una identidad de secuencia con una sec. con núm. de ident.: 56, sec. con núm. de ident.: 59, sec. con núm. de ident.: 62, sec. con núm. de ident.: 63, sec. con núm. de ident.: 64 o sec. con núm. de ident.: 65 de aproximadamente 90 %, aproximadamente 91 %, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93 %, aproximadamente 94 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,1 %, aproximadamente 99,2 %, aproximadamente 99,3 %, aproximadamente 99,4 %, aproximadamente 99,5 %, aproximadamente 99,6 %, aproximadamente 99,7 %, aproximadamente 99,8 %, aproximadamente 99,9 %, aproximadamente 99,95 %, aproximadamente 99,99 %, menor que aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 % o al menos aproximadamente 99,5 %. Los ejemplos no limitantes de polipéptidos de myomaker silvestre y moléculas de ácido nucleico de myomaker silvestre pueden encontrarse en la Tabla 2. La identidad de secuencia de ácido nucleico (p. ej., la identidad porcentual) puede determinarse por cualquier método adecuado, tal como usando el software BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, Clustal Omega, CRISPor Megalign. A menos que se indique lo contrario, la identidad de secuencia de ácido nucleico (p. ej., la identidad porcentual) se determina usando BLAST-2.

En algunos ejemplos, la molécula de ácido nucleico de myomaker codifica un polipéptido de myomaker que tiene una o más modificaciones al polipéptido de myomaker silvestre en una región hidrófoba, en una región hidrófila o en una combinación de las mismas.

- 5 La molécula de ácido nucleico de myomaker puede elaborarse usando cualquier técnica adecuada tal como, pero no se limita a, las encontradas en WO 2014/210448 A1, síntesis química, producción enzimática o producción biológica. La síntesis química de una molécula de ácido nucleico puede incluir, por ejemplo, una molécula de ácido nucleico elaborada por síntesis química *in vitro* usando la química de fosfotriéster, fosfito o fosforamidita y técnicas de fase sólida, o mediante intermedios de desoxinucleósido H-fosfonato. Las moléculas de ácido nucleico producidas
- 10 enzimáticamente pueden lograrse usando cualquier método adecuado que incluye, pero no se limita a, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Las moléculas de ácido nucleico producidas biológicamente pueden lograrse usando cualquier método adecuado que incluye, pero no se limita a, un ácido nucleico recombinante producido (es decir, replicado) en una célula viva, tal como un vector de ADN recombinante replicado en bacterias.
- 15 Pueden usarse las modificaciones o cambios realizados en la estructura de las moléculas de ácido nucleico de myomaker y/o de los polipéptidos de myomaker. En ciertos ejemplos, un polipéptido de myomaker puede modificarse (p. ej., por una o más inserciones, una o más eliminaciones o una o más sustituciones [p. ej., sustituciones conservadoras]). En algunos ejemplos, el polipéptido de myomaker que se modificó no tiene una pérdida apreciable (p. ej., una disminución en una función de menos de aproximadamente 1 %, menos de aproximadamente 5 %, menos de aproximadamente 10 %, menos de aproximadamente 25 %, menos de aproximadamente 50 %, menos de aproximadamente 75 %, menos de aproximadamente 90 %, menos de aproximadamente 95 %, menos de aproximadamente 99 % o menos de aproximadamente 100 %) de una o más funciones del polipéptido de myomaker no modificado tales como, por ejemplo, la capacidad para activar la fusión de dos células, la capacidad de hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerge), la capacidad para conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunos ejemplos, el polipéptido de myomaker que se modificó conserva niveles deseados (p. ej., al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 99 %) de una o más funciones del polipéptido de myomaker no modificado tales como, por ejemplo, la capacidad para activar la fusión de dos células, la capacidad para hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerge), la capacidad para conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunos ejemplos, el polipéptido de myomaker después de la modificación tiene un mayor nivel de una o más funciones en comparación con el polipéptido de myomaker no modificado. Las moléculas de ácido nucleico
- 45 pueden diseñarse para codificar tal polipéptido de myomaker modificado.

- Un “polipéptido de myomaker funcional” se define como un polipéptido de myomaker (p. ej., un polipéptido modificado) que tiene niveles deseados (p. ej., al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 99 %) según se compara con otro polipéptido de myomaker, tal como un polipéptido de myomaker de origen natural) de una o más funciones tales como, por ejemplo, la capacidad para activar la fusión de dos células, la capacidad para hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerge), la capacidad para conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunos ejemplos, el polipéptido de myomaker funcional tiene un mayor nivel de una o más funciones en comparación con otro polipéptido de myomaker (p. ej., un polipéptido de myomaker de origen natural). Las moléculas de ácido nucleico pueden diseñarse para codificar polipéptidos de myomaker funcionales.
- 60

- Un “polipéptido de myomaker funcionalmente equivalente” se define como un polipéptido de myomaker que se ha modificado (p. ej., por una o más inserciones, una o más eliminaciones, o uno o más sustituciones (p. ej., sustituciones conservadoras)) de un polipéptido de myomaker original y que modificó el polipéptido de myomaker conserva niveles deseados (p. ej., al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente
- 65

50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 99 %) de una o más funciones del polipéptido de myomaker original tales como, por ejemplo, la capacidad para activar la fusión de dos células, la capacidad para hacer que una célula sea capaz de fusionarse (p. ej., una proteína confiere propiedades de fusión a una célula si, tras añadir la proteína, la célula es capaz de fusionarse con otra célula si esa otra célula comprende un myomaker y myomerger), la capacidad para conferir fusogenicidad a una célula (p. ej., una proteína confiere propiedades fusogénicas a una célula si, tras añadir la proteína, la célula se fusionará con otra célula si esa otra célula comprende myomaker), el nivel de expresión durante el desarrollo embrionario, el nivel de expresión durante la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), el nivel de inducción de la miogénesis en organismos adultos (p. ej., más antiguos que los embrionarios), la afinidad por las membranas o el nivel de asociación con el compartimento de membrana. En algunas realizaciones, el polipéptido de myomaker funcionalmente equivalente puede tener un mayor nivel de una o más funciones en comparación con el polipéptido de myomaker original. Las moléculas de ácido nucleico pueden diseñarse para codificar polipéptidos de myomaker funcionalmente equivalentes.

En ciertos ejemplos, cuanto más corta sea la longitud de un polipéptido de myomerger, menores serán las modificaciones (p. ej., sustituciones) que pueden realizarse dentro del polipéptido mientras conservan, por ejemplo, un nivel deseado de una función elegida. En algunos casos, los dominios más largos pueden tener un mayor número de tales cambios mientras conservan, por ejemplo, un nivel deseado de una función elegida. En otros ejemplos, un polipéptido de longitud completa puede tener más tolerancia a un número fijo de cambios mientras conserva, por ejemplo, un nivel deseado de una función elegida, en comparación con una menor longitud de ese polipéptido.

El diseño de sustituciones puede adoptar muchas formas, que incluyen, pero no se limitan a, las descritas en la presente descripción. En algunos ejemplos, el índice hidropático de aminoácidos puede considerarse para diseñar sustituciones. En el índice hidropático, a cada aminoácido se le asigna un índice hidropático sobre la base de sus características de hidrofobicidad o carga, de la siguiente manera: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9); o arginina (-4,5). En algunos casos, ciertos aminoácidos pueden sustituirse por otros aminoácidos que tienen un índice hidropático similar. Al realizar cambios basados en el índice hidropático, la sustitución de aminoácidos con índices hidropáticos puede realizarse con aminoácidos que tienen una diferencia de índice de no más de ± 2 , no más de ± 1 o no más de $\pm 0,5$.

En algunos ejemplos, las sustituciones también pueden realizarse basadas en los valores de hidrofiliidad. Según se detalla en la patente de los EE. UU. núm. 4.554.101, los siguientes valores de hidrofiliidad se han asignado a los residuos de aminoácidos: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0 ± 1); glutamato (+3,0 ± 1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5 ± 1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptófano (-3,4). Al realizar cambios basados en los valores de hidrofiliidad similares, la sustitución de aminoácidos con valores de hidrofiliidad puede realizarse con aminoácidos que tienen un valor de no más de ± 2 , no más de ± 1 o no más de $\pm 0,5$.

Una “sustitución conservadora” en una secuencia de aminoácidos o polipéptido indica que un residuo de aminoácidos dado se reemplaza por un residuo que tiene características fisicoquímicas similares (p. ej., no más de ± 1 cuando se basa en el índice hidropático o no más de ± 1 cuando se basa en los valores de hidrofiliidad). Los ejemplos de sustituciones conservadoras incluyen (a) la sustitución de un residuo alifático por otro con un residuo alifático, (b) la sustitución de uno de Ile, Val, Leu o Ala por otro de He, Val, Leu o Ala, (c) la sustitución de uno de Gly, Ile, Val, Leu o Ala por otro de Gly, Ile, Val, Leu o Ala, (d) la sustitución de un residuo polar por otro residuo polar, (e) la sustitución de uno de Lys y Arg por otro de Lys y Arg, (f) sustitución de uno de Glu y Asp por otro de Glu y Asp, (g) sustitución de uno de Gln y Asn por otro de Gln y Asn, (h) sustitución de un residuo que contiene hidroxilo o azufre con otro residuo que contiene hidroxilo o azufre, (i) sustitución de uno de Ser, Cys, Thr o Met con otro de Ser, Cys, Thr o Met, (j) sustitución de un residuo aromático con otro con un residuo aromático, (k) sustitución de uno de Phe, Tyr o Trp con otro de Phe, Tyr, o Trp, (l) sustitución de un residuo básico por otro residuo básico, (m) sustitución de uno de His, Lys o Arg con otro de His, Lys o Arg, (n) sustitución de un residuo ácido/de amida con otro residuo ácido/de amida, (o) sustitución de uno de Asp, Glu, Asn o Gln con otro de Asp, Glu, Asn o Gln, (p) sustitución de un residuo con otro residuo de un tamaño similar, y (q) sustitución de uno de Ala, Gly o Ser con otro de Ala, Gly o Ser. En algunas realizaciones, cada aminoácido en una región hidrófoba de un polipéptido puede sustituirse con sustituciones conservadoras (p. ej., cualquier combinación de sustituciones conservadoras que se relacionan con residuos hidrófobos).

Si bien la discusión se ha centrado en los cambios de aminoácidos, se apreciará que estos cambios pueden ocurrir por la alteración del ADN codificante; teniendo en cuenta también que el código genético está degenerado y que dos o más codones pueden codificar el mismo aminoácido. Las Tablas A y B de aminoácidos y sus codones se presentan en la presente descripción para uso en tales ejemplos, así como para otros usos, tales como en el diseño de sondas y cebadores y lo similar.

El término “codón funcionalmente equivalente” se usa en la presente descripción para referirse a los codones que codifican el mismo aminoácido, tales como los seis codones para arginina o serina.

En ciertos casos, la molécula de ácido nucleico puede diseñarse por ingeniería genética para contener distintas secuencias mientras, al mismo tiempo, conserva la capacidad de codificar un polipéptido deseado. En algunos ejemplos, esto puede lograrse debido a la degeneración del código genético (es decir, la presencia de múltiples codones) que codifican los mismos aminoácidos. En otros casos, puede lograrse al incluir, añadir o excluir intrones en la molécula de ácido nucleico.

En ciertos ejemplos, una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción puede introducirse en una secuencia de ácido nucleico mientras se mantiene la capacidad de esa molécula de ácido nucleico para codificar un polipéptido deseado. En otros ejemplos, un sistema CRISPR (p. ej., un sistema CRISPR que comprende uno o más de plantilla de reparación de ARN guía, ARNcr, ARNtracr, ARNgu, ADN, y proteína Cas, tal como, pero no se limita a, CRISPR/Cas9) puede usarse para introducir una molécula de ácido nucleico mientras se mantiene la capacidad de esa molécula de ácido nucleico para codificar un polipéptido deseado.

También se entenderá que las secuencias de aminoácidos (p. ej., polipéptidos) y las secuencias de ácidos nucleicos pueden incluir residuos adicionales, tales como aminoácidos de terminal N o C o secuencias 5' o 3' adicionales, y aun así ser esencialmente según se establece en una de las secuencias descritas en la presente descripción, siempre que la secuencia cumpla con los criterios establecidos anteriormente, que incluyen el mantenimiento de la actividad biológica donde se refiere a la expresión de polipéptidos. La adición de secuencias terminales se aplica particularmente a secuencias de ácidos nucleicos que pueden, por ejemplo, incluir varias secuencias no codificantes que flanquean cualquiera de las porciones 5' o 3' de la región codificante o pueden incluir varias secuencias internas (es decir, intrones) que pueden ocurrir dentro de los genes.

Algunos ejemplos usan la síntesis de polipéptidos *en cyto*, mediante la transcripción y traslación de moléculas de ácido nucleico apropiadas (p. ej., secuencias de ácido nucleico según se describe en la presente descripción). Estos polipéptidos incluirán los veinte aminoácidos “naturales” y las modificaciones postraslacionales de estos. La síntesis de péptidos *in vitro* permite el uso de aminoácidos modificados o inusuales. En algunas realizaciones, el polipéptido de myomaker abarca modificaciones (p. ej., una o más sustituciones o una o más inserciones) que incluyen uno o más aminoácidos modificados o inusuales. Una tabla de aminoácidos ilustrativos, pero no limitantes, modificados o inusuales se proporciona en la Tabla C.

En la presente descripción también se describe un método para producir un polipéptido de myomaker (p. ej., un polipéptido de myomaker mutante o un polipéptido de myomaker silvestre), que no forma parte de la invención. Cualquier método adecuado puede usarse para elaborar los polipéptidos de myomaker que incluyen, pero no se limitan a, la expresión a través de cualquier técnica biológica molecular adecuada (p. ej., usando un sistema de expresión procariótica o eucariótica), el aislamiento de una fuente en la naturaleza o la síntesis química. Los sistemas de expresión eucariótica incluyen sistemas basados en plantas; sistemas celulares de insectos mediante baculovirus recombinantes; sistemas de insectos completos mediante baculovirus recombinantes; sistemas de levadura diseñados por ingeniería genéticamente, que incluyen, pero no se limitan a, *Saccharomyces sp.* y *Pichia spp.*; y sistemas celulares de mamíferos que incluyen, pero no se limitan a, células C2C12, fibroblastos 10T 1/2, fibroblastos NIH/3T3, células madre mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés), células madre hematopoyéticas, células de ovario de hámster chino u otras líneas celulares comúnmente usadas para la expresión a escala industrial de proteínas recombinantes. En algunos ejemplos, los sistemas de expresión basados en plantas útiles pueden incluir sistemas de plantas transgénicas. En algunos ejemplos, los sistemas de expresión basados en plantas útiles pueden incluir sistemas de plantas transplastómicas.

En algunos ejemplos, un método para producir el polipéptido de myomaker incluye proporcionar una célula huésped que comprende una molécula de ácido nucleico de myomaker, según se describe en la presente descripción, unida operativamente a un promotor operable bajo condiciones donde se expresa el polipéptido de myomaker codificado; y recuperar el polipéptido de myomaker de la célula huésped.

Células que incluyen células modificadas

Los métodos y la composición farmacéutica según la invención incluyen células modificadas. Ilustrativamente, una célula modificada es una célula que comprende una o más modificaciones de una célula, donde al menos una de la una o más modificaciones fue implementada por un humano (p. ej., mediante actividad humana, ya sea directa o indirectamente). Ilustrativamente, la célula que va a modificarse puede ser una célula no modificada o puede ser una célula que se ha modificado anteriormente (p. ej., modificado según se describe en la presente descripción). Una célula puede modificarse de cualquier manera deseada, que incluye pero no se limita a (a) añadir una molécula de ácido nucleico tal como, pero no se limita a, una o más moléculas de ácido nucleico descritas en la presente descripción, (b) disminuir el efecto de una o más moléculas de ácido nucleico (p. ej., una molécula de ácido nucleico de origen natural o una molécula de ácido nucleico añadida) tal como un gen, (c) añadir uno o más polipéptidos que incluyen, pero no se limitan a, los polipéptidos descritos en la presente descripción, (d) disminuir el efecto de uno o más polipéptidos (p. ej., un polipéptido de origen natural o un polipéptido añadido), o (e) una combinación de los mismos. En algunos casos, una célula modificada puede dar como resultado una modificación adicional de otra célula modificada.

Añadir una molécula de ácido nucleico para modificar una célula puede lograrse usando cualquier método adecuado que incluye, pero no se limita a, una o más de transformación (como se usa en la presente descripción, los métodos de transfección están incluidos por el término transformación), transformación viral (p. ej., usando un vector viral,

un vector retroviral, un vector lentiviral, un vector adenoviral, un vector adenoviral, un vector adenoviral, un vector viral adenoasociado, un vector herpesviral, un vector viral quimérico, un plásmido, un cósmido, un cromosoma artificial, un bacteriófago, un virus, un virus animal, un virus vegetal, un vector de expresión, un vector conjugativo, o un vector no conjugativo), inyección, microinyección, electroporación, sonicación, tratamiento con iones de calcio, precipitación con fosfato de calcio, tratamiento con PEG-DMSO, tratamiento con DE-Dextran, transformación mediada por liposomas o una transformación mediada por receptores. Añadir un polipéptido para modificar una célula puede lograrse usando cualquier método adecuado que incluye, pero no se limita a, uno o más de inyección, microinyección, electroporación, sonicación, tratamiento con iones de calcio, precipitación con fosfato de calcio, tratamiento con PEG-DMSO, tratamiento con DE-Dextran o mediado por liposomas. La molécula de ácido nucleico añadida puede ser parte de un vector (p. ej., un vector viral, un vector retroviral, un vector lentiviral, un vector adenoviral, un vector viral adenoasociado, un vector herpesviral, un vector viral quimérico, un plásmido, un cósmido, un cromosoma artificial, un bacteriófago, un virus animal, un virus vegetal, un vector de expresión, un vector conjugativo o un vector no conjugativo), un plásmido, un cósmido, un cromosoma artificial, un bacteriófago, un virus, un virus animal o un virus vegetal. En algunos ejemplos, la molécula de ácido nucleico añadida es exógena; "exógena" significa (a) que la molécula de ácido nucleico añadida se origina de fuera de la célula (p. ej., es extraña a la célula) o (b) que la molécula de ácido nucleico añadida puede encontrarse dentro de la célula, pero la molécula de ácido nucleico añadida se coloca en la célula donde no se encuentra normalmente (p. ej., una parte diferente del cromosoma o en un plásmido añadido). En algunos ejemplos, el polipéptido añadido es exógeno; "exógeno" en este contexto significa que el polipéptido añadido se origina de fuera de la célula (p. ej., es externo a la célula).

En algunos ejemplos, la modificación de la célula puede ser la disminución del efecto de una molécula de ácido nucleico en la célula; la molécula de ácido nucleico puede añadirse a la célula o no, o puede ser exógena. Disminuir el efecto de una molécula de ácido nucleico incluye, pero no se limita a, disminuir (p. ej., terminar) la expresión de un polipéptido (p. ej., myomaker, myomerge o ambos) o expresar una forma menos activa de un polipéptido (p. ej., al cambiar la secuencia de aminoácidos del polipéptido o expresar solo un fragmento de un polipéptido). Disminuir el efecto de una molécula de ácido nucleico puede lograrse usando cualquier método adecuado que incluye, pero no se limita a, la retirada de la molécula de ácido nucleico (p. ej., de un cromosoma o de un plásmido), la retirada de una o más partes de la molécula de ácido nucleico (p. ej., de un cromosoma o de un plásmido), alterar la secuencia de ácido nucleico de la molécula de ácido nucleico, disminuir o prevenir la transcripción de la molécula de ácido nucleico (p. ej., mediante un represor, inhibidor, bloqueador [p. ej., mediante una molécula que bloquea parte de la transcripción], o estabilización de una forma no transcriptora), o disminuir o prevenir la traslación (p. ej., mediante un inhibidor o un inhibidor de ARN).

La célula que va a modificarse puede ser cualquier célula adecuada que incluye, pero no se limita a una célula de insecto (p. ej., una célula Sf9), una célula de vertebrado o una célula de mamífero (p. ej., una célula humana, una célula de rata, una célula de ratón, una célula muscular, una célula no muscular, un mioblasto, un fibroblasto, una célula C2C12, un fibroblasto 10T 1/2, una célula NIH/3T3, una célula CHO, una célula madre mesenquimal (MSC), una célula madre hematopoyética, una célula sanguínea, una célula de médula ósea, una célula madre o una célula madre adiposa). En ciertos ejemplos, una célula no modificada puede ser cualquier célula adecuada que incluye, pero no se limita a, una célula de insecto, una célula de vertebrado o una célula de mamífero (p. ej., una célula humana, una célula de rata, una célula de ratón, una célula muscular, una célula no muscular, un mioblasto, un fibroblasto, una célula NIH/3T3, una célula CHO, una célula madre mesenquimal (MSC), una célula madre hematopoyética, una célula sanguínea, una célula de médula ósea, una célula madre o una célula madre adiposa).

En algunos ejemplos, una célula modificada puede ser, pero no se limita a, una célula animal modificada, una célula de vertebrado modificada, una célula de mamífero modificada, una célula humana modificada, una célula de rata modificada, una célula de ratón modificada, una célula muscular modificada, una célula no muscular modificada, un mioblasto modificado, un fibroblasto modificado, una célula C2C12, una célula C2C12 modificada, un fibroblasto 10T 1/2, un fibroblasto 10T 1/2 modificado, una célula NIH/3T3 modificada, una célula CHO modificada, una célula madre mesenquimal (MSC) modificada, una célula madre hematopoyética modificada, una célula sanguínea modificada, una célula de médula ósea modificada, una célula madre modificada o una célula madre adiposa modificada. En otras realizaciones, la célula modificada es una célula no muscular modificada (p. ej., un fibroblasto modificado, un fibroblasto 10T 1/2, un fibroblasto 10T 1/2 modificado, una célula NIH/3T3 modificada, una célula CHO modificada, una célula madre mesenquimal (MSC) modificada, una célula madre hematopoyética modificada, una célula sanguínea modificada, una célula de médula ósea modificada, una célula madre modificada o una célula madre adiposa modificada).

La primera célula es una célula modificada y es una célula no muscular con una molécula de ácido nucleico de myomerge añadida (p. ej., donde la molécula de ácido nucleico de myomerge es exógena).

Composiciones que incluyen composiciones farmacéuticas

Uno o más polipéptidos (p. ej., un polipéptido de myomerge en peso o polipéptido de myomerge mutante) o una o más moléculas de ácido nucleico de myomerge (p. ej., en forma de una molécula de ácido nucleico desnuda, un vector, un virus, un plásmido o cualquier forma adecuada) pueden ser parte de una composición y pueden estar en una cantidad (en peso de la composición total) de al menos aproximadamente 0,0001 %, al menos aproximadamente 0,001 %, al menos aproximadamente 0,10 %, al menos aproximadamente 0,15 %, al menos aproximadamente 0,20 %, al menos aproximadamente 0,25 %, al menos aproximadamente 0,50 %, al menos aproximadamente 0,75 %, al menos

aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99,99 %, no más de aproximadamente 75 %, no más de aproximadamente 90 %, no más de aproximadamente 95 %, no más de aproximadamente 99 % o no más de aproximadamente 99,99 %, de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 % o de aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 %. Un polipéptido de myomaker puede ser parte de la composición (p. ej., junto con un polipéptido de myomerger en la composición o una molécula de ácido nucleico de myomerger en la composición) en cualquier cantidad indicada en la presente descripción (p. ej., indicada anteriormente). En ciertas realizaciones, las células, tales como las células modificadas (p. ej., según se describe en la presente descripción) pueden ser parte de la composición en cualquier cantidad indicada en la presente descripción (p. ej., indicada anteriormente).

Uno o más polipéptidos (p. ej., un polipéptido de myomerger silvestre o polipéptido de myomerger mutante) o una o más moléculas de ácido nucleico de myomerger (p. ej., en forma de una molécula de ácido nucleico desnuda, un vector, un virus, un plásmido o cualquier forma adecuada) pueden purificarse o aislarse en una cantidad (en peso de la composición total) de al menos aproximadamente 0,0001 %, al menos aproximadamente 0,001 %, al menos aproximadamente 0,10 %, al menos aproximadamente 0,15 %, al menos aproximadamente 0,20 %, al menos aproximadamente 0,25 %, al menos aproximadamente 0,50 %, al menos aproximadamente 0,75 %, al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99,99 %, no más de aproximadamente 75 %, no más de aproximadamente 90 %, no más de aproximadamente 95 %, no más de aproximadamente 99 %, no más de aproximadamente 99,99 %, de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 % o de aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 %. En algunos ejemplos, aislada o purificada significa que las impurezas (p. ej., los componentes celulares o componentes de solución no deseados si se sintetizan químicamente) se eliminaron mediante una o más de cualquier técnica adecuada (p. ej., cromatografía en columna, HPLC, centrifugación, fraccionamiento, gel, precipitación o salazón).

Algunos ejemplos de la composición farmacéutica de la invención comprenden uno o más polipéptidos (p. ej., un polipéptido de myomerger silvestre o un polipéptido de myomerger mutante) y una o más moléculas de ácido nucleico de myomerger (p. ej., en forma de una molécula de ácido nucleico desnuda, un vector, un virus, un plásmido o cualquier forma adecuada). La composición es una composición farmacéutica, tal como composiciones que son adecuadas para la administración a animales (por ejemplo, mamíferos, primates, monos, seres humanos, caninos, porcinos, ratones, conejos o ratas). En algunos ejemplos, puede haber efectos secundarios inherentes (p. ej., puede dañar al paciente o puede ser tóxico o perjudicial hasta cierto grado en algunos pacientes).

En algunos ejemplos, uno o más polipéptidos (p. ej., un polipéptido de myomerger silvestre o polipéptido de myomerger mutante) y una o más moléculas de ácido nucleico de myomerger (p. ej., en forma de una molécula de ácido nucleico desnuda, un vector, un virus, un plásmido o cualquier forma adecuada) pueden ser parte la composición farmacéutica y pueden estar en una cantidad (en peso de la composición total) de al menos aproximadamente 0,0001 %, al menos aproximadamente 0,001 %, al menos aproximadamente 0,10 %, al menos aproximadamente 0,15 %, al menos aproximadamente 0,20 %, al menos aproximadamente 0,25 %, al menos aproximadamente 0,50 %, al menos aproximadamente 0,75 %, al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99,99 %, no más de aproximadamente 75 %, no más de aproximadamente 90 %, no más de aproximadamente 95 %, no más de aproximadamente 99 %, no más de aproximadamente 99,99 %, de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 % o de aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 %. Un polipéptido de myomaker es parte de la composición farmacéutica (p. ej., junto con un polipéptido de myomerger en la composición o una molécula de ácido nucleico de myomerger en la composición farmacéutica) en cualquier cantidad indicada en la presente descripción (p. ej., indicada anteriormente). La primera célula modificada (p. ej., según se describe en el presente documento) es parte de la composición farmacéutica en cualquier cantidad indicada en la presente descripción (p. ej., indicada anteriormente).

En algunos ejemplos, la composición farmacéutica puede presentarse en una forma de dosificación que sea adecuada para la vía de administración tópica, subcutánea, intratecal, intraperitoneal, oral, parenteral, rectal, cutánea, nasal, vaginal u ocular. En otros ejemplos, la composición farmacéutica puede presentarse en una forma de dosificación que sea adecuada para la administración parenteral, una administración mucosal, administración intravenosa, administración subcutánea, administración tópica, administración intradérmica, administración oral, administración sublingual, administración intranasal o administración intramuscular. La composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, tabletas, cápsulas, píldoras, polvos granulados, suspensiones, emulsiones,

soluciones, geles (que incluye hidrogeles), pastas, ungüentos, cremas, emplastos, empapados, dispositivos de suministro, supositorios, enemas, inyectables, implantes, pulverizadores, aerosoles u otras formas adecuadas.

En algunos ejemplos, la composición farmacéutica puede incluir uno o más ingredientes del formulario. Un “ingrediente del formulario” puede ser cualquier ingrediente adecuado (p. ej., adecuado para el (los) fármaco(s), para la dosis del (los) fármaco(s), para el momento de liberación del (los) fármaco(s), para la enfermedad, para el estado de la enfermedad o para la vía de administración) que incluye, pero no se limita a, agua (p. ej., agua hervida, agua destilada, agua filtrada, agua libre de pirógenos o agua con cloroformo), azúcar (p. ej., sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, xilitol o jarabes elaborados de los mismos), etanol, glicerol, glicoles (p. ej., propilenglicol), acetona, éteres, DMSO, tensioactivos (p. ej., tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, tensioactivos zwitteriónicos o tensioactivos no iónicos [p. ej., polisorbatos]), aceites (p. ej., aceites animales, aceites vegetales (p. ej., aceite de coco o aceite de cacahuete) o aceites minerales), derivados de aceite (p. ej., oleato de etilo, monoestearato de glicerilo o glicéridos hidrogenados), excipientes, conservantes (p. ej., cisteína, metionina, antioxidantes (p. ej., vitaminas (p. ej., A, E o C), selenio, palmitato de retinilo, citrato de sodio, ácido cítrico, cloroformo o parabenos, [p. ej., metil parabeno o propil parabeno]) o combinaciones de estos. En algunas realizaciones, la concentración de cualquier ingrediente del formulario individual en una composición (p. ej., composición farmacéutica) puede ser en una cantidad (en peso de la composición total) de al menos aproximadamente 0,0001 %, al menos aproximadamente 0,001 %, al menos aproximadamente 0,10 %, al menos aproximadamente 0,15 %, al menos aproximadamente 0,20 %, al menos aproximadamente 0,25 %, al menos aproximadamente 0,50 %, al menos aproximadamente 0,75 %, al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99,99 %, no más de aproximadamente 75 %, no más de aproximadamente 90 %, no más de aproximadamente 95 %, no más de aproximadamente 99 %, no más de aproximadamente 99,99 %, de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 % o de aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 %. En algunos ejemplos, la concentración de al menos un ingrediente del formulario no es la misma que la que se encuentra en el sistema natural en el que se encuentra el polipéptido (p. ej., el polipéptido de myomerger silvestre). En algunas realizaciones, la concentración de al menos un ingrediente del formulario no es la misma que la que se encuentra en uno o más sistemas naturales (p. ej., cualquier sistema natural que se encuentre en la naturaleza) en los que se encuentra la molécula de ácido nucleico que codifica el polipéptido (p. ej., el polipéptido de myomerger silvestre).

En ciertas ejemplos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse para liberar el ingrediente activo (p. ej., uno o más compuestos de la Fórmula (I)) sustancialmente inmediatamente después de la administración o en cualquier momento sustancialmente predeterminado o tiempo después de la administración. Tales formulaciones pueden incluir, por ejemplo, formulaciones de liberación controlada tales como diversas composiciones y recubrimientos de liberación controlada.

Otras formulaciones (p. ej., formulaciones de una composición farmacéutica) pueden, en ciertos ejemplos, incluir aquellas que incorporan el fármaco (o formulación de liberación controlada) en alimentos, productos alimenticios, piensos o bebidas.

Métodos para usar células que incluyen células modificadas

Los métodos según la invención incluyen células, tales como células modificadas.

El método in vitro inventivo para fusionar dos o más células comprende poner en contacto una primera célula con una segunda célula para formar una tercera célula, donde la primera célula es una célula modificada (p. ej., según se describe en la presente descripción). En ciertos ejemplos, el término “fusionar” (y términos relacionados tales como “que fusiona/n”, “fusión”, etc.) significa combinar dos células para formar una una tercera célula. La fusión da como resultado una célula multinuclear (p. ej., sincitio). La primera célula comprende un primer polipéptido myomerger y un primer polipéptido de myomaker. La segunda célula comprende un segundo polipéptido de myomaker y un segundo polipéptido myomerger. La tercera célula es una célula multinucleada.

La primera célula es una célula no muscular. En algunos ejemplos, la segunda célula puede ser cualquier célula adecuada que incluye, pero no se limita a una célula de insecto (p. ej., una célula Sf9), una célula de vertebrado, o una célula de mamífero (p. ej., una célula humana, una célula de rata, una célula de ratón, una célula muscular, una célula no muscular, un mioblasto, un fibroblasto, una célula C2C12, un fibroblasto 10T $\frac{1}{2}$, una célula NIH/3T3, una célula CHO, una célula dendrítica, una célula cancerosa, una célula madre mesenquimal (MSC), una célula madre hematopoyética, una célula sanguínea, una célula de médula ósea, una célula madre o una célula madre adiposa). En algunos ejemplos, la primera célula y la segunda célula son del mismo tipo de célula (p. ej., una fusión celular homotípica que en ciertos casos puede formar un sincitio). En otras realizaciones, la primera célula y la segunda célula son diferentes tipos de células (p. ej., fusión celular heterotípica). La fusión celular puede, en algunos casos, dar como resultado una fusión nuclear. En otros casos, la fusión celular no da como resultado una fusión nuclear.

En algunos ejemplos, la segunda célula puede ser una célula modificada que puede ser, pero no se limita a, una célula animal modificada, una célula de vertebrado modificada, una célula de mamífero modificada, una célula humana modificada, una célula de rata modificada, una célula de ratón modificada, una célula muscular modificada, una célula no muscular modificada, un mioblasto modificado, un fibroblasto modificado, una célula C2C12, una célula C2C12

modificada, un fibroblasto 10T $\frac{1}{2}$, un fibroblasto 10T $\frac{1}{2}$ modificado, una célula NIH/3T3 modificada, una célula CHO modificada, una célula dendrítica modificada, una célula cancerosa modificada, una célula madre mesenquimal (MSC) modificada, una célula madre hematopoyética modificada, una célula sanguínea modificada, una célula de médula ósea modificada, una célula madre modificada o una célula madre adiposa modificada. En otros ejemplos, la primera célula y la segunda célula pueden ser una célula modificada que es una célula no muscular modificada (p. ej., un fibroblasto modificado, un fibroblasto 10T $\frac{1}{2}$, un fibroblasto 10T $\frac{1}{2}$ modificado, una célula NIH/3T3 modificada, una célula CHO modificada, una célula dendrítica modificada, una célula cancerosa modificada, una célula madre mesenquimal (MSC) modificada, una célula madre hematopoyética modificada, una célula sanguínea modificada, una célula de médula ósea modificada, una célula madre modificada o una célula madre adiposa modificada).

En ciertos ejemplos del método, la primera célula es una célula no muscular y, opcionalmente, la segunda célula también es una célula no muscular. En otros ejemplos del método, la primera célula es una célula no muscular y la segunda célula es una célula muscular.

En algunos casos del método, la segunda célula es una célula muscular aislada (p. ej., un mioblasto). En aun otros ejemplos del método, la segunda célula es una célula muscular o es una célula que es parte de un músculo, tejido muscular o tejido no muscular. En algunas realizaciones, el músculo, tejido muscular o tejido no muscular están enfermos. En otras realizaciones, el músculo, tejido muscular o tejido no muscular (p. ej., enfermo o no enfermo) es parte del sistema circulatorio (p. ej., el corazón), el sistema respiratorio (p. ej., el diafragma), la cabeza, el cuello, el sistema gastrointestinal (p. ej., la lengua, los músculos esofágicos o los músculos intestinales), los músculos esqueléticos o el tracto genitourinario.

La puesta en contacto de las células en el método puede ocurrir de cualquier manera adecuada tal como, pero no se limita a, aquellas descritas en la presente descripción. La puesta en contacto ocurra *in vitro*.

La invención también incluye un método para administrar un gen de interés que comprende poner en contacto una primera célula con una segunda célula *in vitro*, que se fusionan para formar una tercera célula. En ciertos ejemplos, el término “fusionar” (y términos relacionados tales como “que fusiona/n”, “fusión”, etc.) significa combinar dos células para formar una tercera célula. La fusión da como resultado una célula multinuclear (p. ej., sincitio). La primera célula es una célula modificada (p. ej., según se describe en la presente descripción) y comprende (a) un gen de interés y (b) un primer polipéptido de myomerger y un primer polipéptido de myomaker. La segunda célula comprende un segundo polipéptido de myomaker y, opcionalmente, un segundo polipéptido myomerger. La tercera célula es una célula multinucleada. En algunos ejemplos, la primera célula y la segunda célula son del mismo tipo de célula (p. ej., una fusión celular homotípica que en ciertos casos puede formar un sincitio). En aun otros ejemplos, la primera célula y la segunda célula son diferentes tipos de células (p. ej., fusión celular heterotípica). La fusión celular puede, en algunos casos, dar como resultado una fusión nuclear. En otros casos, la fusión celular no da como resultado una fusión nuclear.

En ciertas realizaciones, el gen de interés codifica un polipéptido terapéutico, una proteína terapéutica o un oligopéptido terapéutico, donde el gen de interés puede ser parte de un tratamiento de una enfermedad. En otros ejemplos, el gen de interés puede ser ADN genómico o puede ser ADNc.

En ciertas realizaciones, la segunda célula puede subexpresar el gen de interés, no expresa el gen de interés, expresa una versión defectuosa del gen de interés o una combinación estos. En otras realizaciones, la segunda célula no expresa el gen de interés.

En ciertos ejemplos del método, la primera célula es una célula no muscular y la segunda célula es una célula no muscular. En otros ejemplos del método, en donde la primera célula es una célula no muscular y la segunda célula es una célula muscular.

En algunos casos del método, la segunda célula es una célula muscular aislada (p. ej., un mioblasto). En aun otras realizaciones del método, la segunda célula es una célula muscular o es una célula que es parte de un músculo, tejido muscular o tejido no muscular. En algunas realizaciones, el músculo, tejido muscular o tejido no muscular están enfermos. En otras realizaciones, el músculo, tejido muscular o tejido no muscular (p. ej., enfermo o no enfermo) es parte del sistema circulatorio (p. ej., el corazón), el sistema respiratorio (p. ej., el diafragma), la cabeza, el cuello, el sistema gastrointestinal (p. ej., la lengua, los músculos esofágicos o los músculos intestinales), los músculos esqueléticos o el tracto genitourinario.

La puesta en contacto de las células en el método puede ocurrir de cualquier manera adecuada tal como, pero no se limita a, aquellas descritas en la presente descripción. La puesta en contacto ocurra *in vitro*. En otras realizaciones ilustrativas, el contacto puede ocurrir *ex vivo*.

Los animales incluyen, pero no se limitan a, mamíferos, primates, monos (por ejemplo, macaco, macaco Rhesus o macaco cola de cerdo), humanos, caninos, felinos, bovinos, porcinos, aves (por ejemplo, pollos), ratones, conejos, y ratas. Como se usa en la presente descripción, el término “sujeto” se refiere tanto a sujetos humanos como animales.

En ciertos ejemplos, el método inventivo para la administración de un gen de interés puede ser parte de un tratamiento de una enfermedad. En algunos ejemplos, la enfermedad puede ser una enfermedad tal como, pero no se limita a, enfermedades donde las células subexpresan el gen de interés, no expresan el gen de interés, expresan una versión

defectuosa del gen de interés o una combinación de los mismos. En algunos ejemplos, la enfermedad puede ser una enfermedad relacionada no muscular tal como, pero no se limita a, enfermedades no musculares donde las células subexpresan el gen de interés, no expresan el gen de interés, expresan una versión defectuosa del gen de interés o una combinación de los mismos. En algunos ejemplos, la enfermedad puede ser una enfermedad relacionada muscular tal como, pero no se limita a, enfermedades donde las células subexpresan el gen de interés, no expresan el gen de interés, expresan una versión defectuosa del gen de interés o una combinación de los mismos. En ciertos ejemplos, la enfermedad tratada puede ser una miopatía, distrofia muscular, esclerosis lateral amiotrófica (ELA o también llamada enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo II (también llamada enfermedad de Pompe), rabdomiosarcoma (RMS), sarcopenia o una combinación de las mismas. En algunos ejemplos, la enfermedad puede ser cáncer. Como se usa en la presente descripción, el término “tratar” (y sus variaciones, tales como “tratamiento”) debe considerarse en su contexto más amplio. En particular, el término “tratar” no implica necesariamente que un animal se trate hasta la recuperación total. Por consiguiente, “tratar” incluye la mejora de los síntomas, el alivio de los síntomas o los efectos asociados con una afección, la disminución de la gravedad de una afección o la prevención, la mejora preventiva de los síntomas o de cualquier otra manera la reducción del riesgo de desarrollar una afección particular. Como se usa en la presente descripción, la referencia a “tratar” un animal incluye, pero no se limita al tratamiento profiláctico y al tratamiento terapéutico. Cualquiera de los métodos o composiciones (p. ej., composiciones farmacéuticas) descritas en la presente descripción puede usarse para tratar a un animal.

En aun otros ejemplos, la administración del gen de interés puede ocurrir por cualquier vía de administración adecuada. Las vías de administración pueden ser, pero no se limitan a, la vía oral, la vía parenteral, la vía cutánea, la vía nasal, la vía rectal, la vía vaginal, y la vía ocular. En otros ejemplos, las vías de administración pueden ser la administración parenteral, una administración mucosal, la administración intravenosa, la administración subcutánea, la administración tópica, la administración intradérmica, la administración oral, la administración sublingual, la administración intranasal o la administración intramuscular (p. ej., inyección intramuscular). La administración, que no es incluida por el método reivindicado de la invención, puede comprender una inyección o una inyección intramuscular. En cierto, la administración comprende una inyección que comprende la primera célula, la segunda célula o ambas (p. ej., en una composición o en una composición farmacéutica). En otros ejemplos, la administración comprende una inyección intramuscular que comprende la primera célula, la segunda célula o ambas (p. ej., en una composición o en una composición farmacéutica).

En aun otros ejemplos, la administración puede comprender además una o más de las etapas de contacto.

La materia objeto de la presente divulgación se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos específicos pero no limitantes. Los siguientes ejemplos pueden incluir compilaciones de datos que son representativos de datos recopilados en varios momentos durante el curso del desarrollo y la experimentación relacionados con la presente descripción.

Ejemplos

Materiales y métodos

Cultivo celular

Las células C2C12, los fibroblastos 10T 1/2 y los fibroblastos NIH/3T3 se adquirieron de American Type Culture Collection y se propagaron en DMEM (Gibco) que contenía 10 % de suero de crecimiento bovino (BGS, por sus siglas en inglés) inactivado por calor y complementado con antibióticos. Las células C2C12 se diferenciaron al cambiar a los medios que contenían un 2 % de suero de caballo (HS) inactivado por calor y antibióticos. Las MSC fueron un regalo de Jose Cancelas. GONZALEZ-NIETO y col., “Connexin-43 in the osteogenic bn niche regulates its cellular composition and the bidirectional traffic of hematopoietic stem cells and progenitors” Blood (2012) vol. 119, pág. 5144-5154.

Análisis bioinformático

Los datos de micromatrices del GEO DataSet GSE34907³⁴ se interrogaron usando el análisis GEO2R para identificar 1826 genes que muestran un aumento mayor que 1 log de cambio múltiplo en los fibroblastos que expresan MyoD. En paralelo, un perfil transcripcional de fibroblastos 10T 1/2 transducidos con virus vacíos se generó usando el análisis de ARN-seq (diseño de genoteca de extremos emparejados usando la plataforma de secuenciación Illumina) y una lista de todos los genes con valores RPKM por debajo de 1,5 compilados usando el software Strand NGS (ver. 2.6. Versión: Ratón de mm10 (UCSC) usando anotaciones de transcrito Ensembl). Estas dos listas de genes se compararon después para generar un recuento final que comprende 531 genes que se regularon positivamente en los fibroblastos que expresan MyoD y tenían una expresión detectable baja o nula en los fibroblastos 10T 1/2. Finalmente, los 100 genes principales fueron interrogados en busca de genes que contienen dominios transmembrana y que no se estudiaron anteriormente para determinar su función durante la fusión de mioblastos.

Animales

Usamos una estrategia de localización específica de ARNgu dual para crear ratones *Gm7325*^{-/-}. Seleccionamos los ARNgu según las puntuaciones en y fuera del objetivo de la herramienta web CRISPOR. (HAEUSSLER y col. “Evaluation of off-target and on-target scoring algorithms and integration into the guide rna selection tool crispor” Genome Biol (2016) vol. 17,

artículo 148 [12 páginas].) Los ARNg seleccionados fueron 5'-GCAGCGATCGAAGCACCATC-3' (sec. con núm. de ident.: 1) y 5'-GAGGCCTCTCCAGAATCCGG-3' (sec. con núm. de ident.: 2) que dirigen al exón 3 de *Gm7325*. Los ARNg se sintetizaron *in vitro* usando el kit MEGAShortscript T7 (ThermoFisher) y se purificaron con el kit MEGAclear (ThermoFisher). Los ARNg (50 ng/ul de cada uno) se mezclaron con 100 ng/ul de proteína Cas9 (ThermoFisher) y se incubaron a 37 °C durante 15 minutos para formar un complejo de ribonucleoproteínas. Después, inyectamos la mezcla en el citoplasma de embriones en estadio unicelular del antecedente genético C57BL/6 usando una técnica de microinyección piezo-accionada. (YANG et al., "Generating genetically modified mice using crispr/cas-mediated genome engineering" Nat Protoc (2014) vol. 9, pág. 1956-1968). Los embriones inyectados se transfirieron inmediatamente a la ampolla oviducal de hembras CD-1 pseudopreñadas. Las crías nacidas vivas fueron genotipadas por PCR con cebadores que abarcaban la región mutada (Tabla E1). El alelo editado se confirmó además mediante la secuenciación de Sanger. Se obtuvo un fundador heterocigoto y se apareó con ratones WT C57B16 para generar eventualmente ratones inactivados. No se determinó el género de los embriones analizados. Los ratones *Mdx^{4cv}* se adquirieron de Jackson Laboratory (núm. 002378) y se usaron ratones machos. La sobrecarga muscular del músculo plantar se logró a través de la ablación sinérgica bilateral de los músculos sóleo y gastrocnemio. Específicamente, los músculos sóleo y gastrocnemio se expusieron al realizar una incisión en la cara posterior lateral del miembro inferior. Los tendones distal y proximal del sóleo y del gastrocnemio lateral y medial se cortaron posteriormente y se extirparon cuidadosamente. Todos los procedimientos con animales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales del Cincinnati Children's Hospital Medical Center's.

Tabla E1

Descripción	Cebador directo	Cebador inverso
1. Genotipificación para la mutación de <i>Gm7325</i>	GAAGGGAGGACTCCACA CCC (Sec. con núm. de ident.: 3)	CGCCTGGACTAACC GGC TCC (Sec. con núm. de ident.: 4)
2. Clonación del locus de <i>Gm7325</i> que contiene isoformas cortas y largas	AGTGATGCTGAATCCAC CGCA (Sec. con núm. de ident.: 5)	CCAATAACAACACACTG TCCT (Sec. con núm. de ident.: 6)
3. Clonación del <i>Gm7325</i> - largo	ATGCCAGAAGAAAGCTG CACTG (Sec. con núm. de ident.: 7)	TCACTTCTGGGGGCCCA ATCTC (Sec. con núm. de ident.: 8)
4. Clonación del <i>Gm7325</i> - corto	ATGCCCCGTTCCATTGCTC CCGA (Sec. con núm. de ident.: 9)	TCACTTCTGGGGGCCCA ATCTC (Sec. con núm. de ident.: 10)
5. SYBR de myomerger corto	CAGGAGGGCAAGAAGTT CAG (Sec. con núm. de ident.: 11)	ATGTCTTGGGAGCTCAG TCG (Sec. con núm. de ident.: 12)
6. SYBR de myomerger largo	ACCAGCTTTCATGCCAGA AG (Sec. con núm. de ident.: 13)	ATGTCTTGGGAGCTCAG TCG (Sec. con núm. de ident.: 14)
7. SYBR de myomaker	ATCGCTACCAAGAGGCG TT (Sec. con núm. de ident.: 15)	CACAGCACAGACAAACC AGG (Sec. con núm. de ident.: 16)
8. SYBR de Tm6sf1	TTAGTGGTCCCTGGATGC TC (Sec. con núm. de ident.: 17)	GACGCACCAATGTGAGA AAA (Sec. con núm. de ident.: 18)
9. SYBR de Tspan33	GGGGACGAGTTCTCCTTC G (Sec. con núm. de ident.: 19)	TGCTTCTGCGTGCTTCAT TAG (Sec. con núm. de ident.: 20)
10. SYBR de Tmem182	GGCTCTCTTCGGAGCTTT GG (SEQ ID NO: 21)	GGTGGCTGATTGGTGTA CCAG (Sec. con núm. de ident.: 22)
11. SYBR de miogenina	CTACAGGCCCTTGCTCAGC TC (Sec. con núm. de ident.: 23)	GTGGGAGTTGCATTACAC TGG (Sec. con núm. de ident.: 24)
12. SYBR de Ckm	ACCTCCACAGCACAGAC AGA (Sec. con núm. de ident.: 25)	CAGCTTGAACCTTGTTGT GGG (Sec. con núm. de ident.: 26)
13. SYBR de Myh4	GCAGGACTTGGTGGACA AAC (Sec. con núm. de ident.: 27)	ACTTGGCCAGGTTGACA TTG (Sec. con núm. de ident.: 28)
14. GAPDH SYBR	TGCGACTTCAACAGCAA CTC (Sec. con núm. de ident.: 29)	GCCTCTCTTGCTCAGTGT CC (Sec. con núm. de ident.: 30)

Corrección del genoma mediado por CRISPR en células C2C12

Las células C2C12 de paso bajo recién colocadas se transfectaron con 4 µg de un plásmido pX458 modificado (Addgene, núm. 48138, regalo de Yueh-Chiang Hu), que contenía un Cas9 de alta fidelidad, un esqueleto del ARN_g optimizado y un casete IRES-GFP. Los mismos ARN_g usados para generar animales inactivados se usaron para las células C2C12. 16 µl de lipofectamina 2000 se usó para esta transfección. 5×10^5 células C2C12 se transfectaron en una placa de cultivo de 60 mm. Cuarenta y ocho horas después de la transfección, las células GFP⁺ se clasificaron en placas de 96 pocillos usando FACS. Estas células se mantuvieron en DMEM que contenía FBS al 20 % con antibióticos a densidades subconfluentes. Las líneas celulares se genotiparon al amplificar una región de 420 pb que rodea el sitio de actividad de Cas9 usando los cebadores usados para genotipar los animales con *Gm7325*^{-/-}.

Clonación e infección viral

Inicialmente clonamos una región del locus de *Gm7325*, que contenía toda la información genómica para la expresión de myomerger corto y myomerger largo, del ADN genómico del ratón C57B16. Clonamos secuencias codificantes largas y cortas myomerger del ADNc de células C2C12 en diferenciación. Los cebadores de clonación se enumeran en la Tabla E1. El ADN genómico y ADNc myomerger se clonaron en el vector retroviral pBabe-X usando EcoRI. Los plásmidos retrovirales GFP y myomaker se han descrito anteriormente. (MILLAY y col. "Myomaker is a membrane activator of myoblast fusion and muscle formation" Nature (2013), vol. 499, pág. 301-305.) NLS-TdTomato se subclonó del pQC-NLS-TdTomato (Addgene núm. 37347) en el vector retroviral pMX (Cell Biolabs). Los plásmidos que contenían ADNc para Tmem182, Tspan33 y Tm6sf1 de la Colección de genes de mamíferos se adquirieron de Open Biosystems y se subclonaron en pBabe-X. Diez microgramos de ADN plasmídico retroviral se transfectaron en FuGENE 6 (Roche) en células E de platino (Cell Biolabs), que se colocaron 24 horas antes de la transfección en una placa de cultivo de 10 cm a una densidad de $3-4 \times 10^6$ células por placa. Cuarenta y ocho horas después de la transfección, se recolectaron los medios virales, se filtraron a través de un filtro de jeringa de celulosa de 0,45 µm y se mezclaron con polibreno (Sigma) en una concentración final de 6 µg/ml. Las células diana se colocaron en placas de cultivo de 10 cm a una densidad de 4×10^5 células por placa 16-18 horas antes de la infección. Dieciocho horas después de la infección, se eliminó el virus, las células se lavaron con PBS y se separaron en nuevas placas de 10 cm.

Ensayos de fusión celular

Las células se separaron 18 horas después de la infección retroviral y se separaron nuevamente 24-48 horas después. En la segunda separación, las células se sembraron para el ensayo de fusión en placas de 35 mm ($3-4 \times 10^5$ células por placa) o en láminas ibidi de 8 pocillos (2×10^4 células/pocillo). La fusión se evaluó 24-48 horas después de la colocación en placas. Para la fusión heteróloga, los cultivos de fibroblastos y mioblastos mezclados en una relación de 1:1 ($1,5 \times 10^5$ células para cada uno) se indujeron para diferenciarse 24 horas después de la siembra y la fusión se evaluó el día 4 de la diferenciación.

Extracción de ARN y RT-PCR cuantitativa (qRT-PCR)

El ARN total se extrajo del tejido del ratón o de células cultivadas con TRIZOL (Life Technologies) según el protocolo del fabricante. El ADNc se sintetizó usando un kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems) con cebadores aleatorios. La expresión génica se evaluó usando un enfoque de PCR cuantitativa estándar con la mezcla maestra para PCR Power Sybr® Green (Applied Biosystems). El análisis se realizó en el sistema de PCR en tiempo real StepOnePlus (Applied Biosystems) con cebadores específicos de genes (Tabla E1).

Análisis de Western blot

Las células cultivadas se lavaron dos veces con PBS enfriada con hielo, se rasparon en un tubo cónico, se granularon, se resuspendieron en regulador de lisis (50 mM de Tris-HCl, pH 6,8, 1 mM de EDTA, SDS al 2 %) y se sonicaron durante un total de 15 segundos (tres pulsos de 5 segundos). Los tejidos del músculo esquelético de los ratones se homogeneizaron con un homogeneizador de bolas (TissueLyser II; Qiagen) en regulador de lisis (10 mM de Tris (pH 7,4), 1 mM de EDTA, 1 mM de ditiotretitol, Triton X-100 al 0,5 %, 2,1 mg/ml de NaF) que contiene cócteles de inhibidores de proteasa y fosfatasa (5 µl/ml; Sigma-Aldrich). Tanto las células como los lisados de tejidos se centrifugaron para granular la concentración de proteína y material insoluble se determinó usando el ensayo de proteínas de Bradford. Cantidades iguales de proteína (5 µg para las células y 20 µg para los tejidos) se prepararon con un regulador de carga (1× Laemmli (Bio-Rad) con un agente reductor (5 % de β-mercaptoetanol para las células y 100 mM de DTT para los tejidos). Las muestras se calentaron a 37 °C durante 30 minutos y se separaron en un SDS-PAGE al 20 %. Los geles se transfirieron posteriormente a una membrana de PVDF (Millipore), se bloquearon en leche al 5 % en solución salina regulada con Tris/Tween-20 al 0,1 % (TBS-T) y se incubaron con un anticuerpo de ESGP antiovejas (1 mg/µl; R&D Systems) durante la noche a 4 °C. Después, las membranas se lavaron con TBS-T y se incubaron con el anticuerpo secundario antiovejas para burros Alexa-Fluor 647 (1:5,000; Invitrogen). Las bandas se visualizaron usando el sistema de detección infrarroja Odyssey® (LI-COR Biosciences). GAPDH (1:5000; Millipore) se usó como un control de carga.

Fraccionamiento subcelular

Las células C2C12 se recolectaron el día 2 de la diferenciación en un regulador hipotónico enfriado con hielo (10 mM de Tris-HCl, pH 8, 2 mM de EDTA) y se lisaron usando un homogeneizador Dounce. Después, los lisados se centrifugaron en 800 x g durante 5 minutos a 4 °C para separar los núcleos y los restos celulares. Después, ese sobrenadante se centrifugó en 5000 x g durante 10 minutos para granular la mitocondria y el ER. El ER y las vesículas pesadas se granularon además a través de la centrifugación en 17.000 x g durante 10 minutos. Finalmente, la membrana plasmática, las vesículas ligeras y los orgánulos se granularon en 100.000 x g durante 20 minutos y el sobrenadante de este giro se recolectó como fracción citosólica. Todos los gránulos se resuspendieron en regulador de lisis (50 mM de Tris-HCl, pH 6,8, 1 mM de EDTA, SDS al 2 %) en volúmenes iguales al sobrenadante. Ocho µl de cada fracción se separó por SDS-PAGE y se analizaron para determinar la presencia de myomerger, caveolina-3 y tubulina. El anticuerpo caveolina-3 (BD Transduction Laboratories, núm. 610421) se usó a 1:6700 y la tubulina (Santa Cruz, núm. SC-8035) a 1:50.

Inmunocitoquímica

Las células cultivadas se enjuagaron con PBS y se fijaron en paraformaldehído (PFA)/PBS al 4 % durante 15 minutos a temperatura ambiente. Las células se permeabilizaron posteriormente y se bloquearon en Triton X-100 al 0,01 %/suero de burro al 5 %/PBS durante una hora a temperatura ambiente. El anticuerpo primario diluido en el regulador de permeabilización/bloqueo se incubó durante la noche. Después, las células se lavaron con PBS y se incubaron con anticuerpos secundarios Alexa-Fluor (1:250) durante 1 hora. Un anticuerpo personalizado myomaker se generó a través de YenZym Antibodies LLC. Los conejos se inmunizaron con aminoácidos núm. 137-152 de myomaker de ratón (MKEKKGLYPDKSIYTQ [sec. con núm. de ident.: 31]) después de la conjugación con KLH. Usamos productos purificados por afinidad específica de antígenos en una concentración de 4,3 µg/ml para la inmunotinción. El anticuerpo de Esgp (myomerger) se usó en una concentración de 1 µg/ml. El anticuerpo de miosina antirratón (my32, MA5-11748, ThermoFisher Scientific) se usó a 1:100. La solución Hoechst 33342 (ThermoFisher Scientific) se usó para teñir los núcleos. Se obtuvieron imágenes de las células usando Nikon A1R+ confocal en un microscopio FN1 (placas de 35 mm) o Nikon A1R confocal en un microscopio invertido Eclipse T1 (láminas Ibidi).

Histología e inmunohistoquímica

Para las criosecciones, los embriones se disecaron, se fijaron en PFA/PBS al 4 % durante la noche a 4 °C, se lavaron en PBS, se incubaron en sacarosa/PBS al 30 % durante la noche y, después, en una mezcla 1:1 de formulación de temperatura de corte óptimo (O.C.T.) y sacarosa al 30 % antes de incrustarlos a O.C.T. Las secciones se cortaron en 10 µm y después se permeabilizaron con Triton X-100/PBS al 0,2 %, se bloquearon con BSA al 1 %/suero de cabra inactivado por calor al 1 %/Tween20/PBS al 0,025 % y se incubaron con el anticuerpo primario durante la noche. El anticuerpo de miosina antirratón (my32, MA5-11748, ThermoFisher Scientific) se usó a 1:100, mientras que la miogenina (F5D, hibridomas de desarrollo) se usó en una concentración de 2,56 µg/ml. El anticuerpo secundario Alexa-Fluor de IgG1-488 antirratón de cabra (Invitrogen) se incubó en una dilución de 1:250 durante 1 hora. Las láminas se montaron con VectaShield que contenía DAPI (Vector Laboratories) y se visualizaron usando Nikon A1R confocal en el microscopio invertido Eclipse T1. Las imágenes se analizaron con Fiji.

Análisis estadístico

Para la cuantificación de la fusión celular en las Figuras 1H y 2B, las células con 3 o más núcleos se consideraron células sincitiales. El número de núcleos en las células sincitiales y el número total de núcleos se contaron manualmente. Para cuantificar la fusión entre fibroblastos GFP⁺ myomaker⁺ myomerger⁺ con fibroblastos NLS-Tom⁺ myomaker⁺ o NLS-Tom⁺ myomerger⁺ (Figura 2A), calculamos el porcentaje de células sincitiales NLS-Tom⁺ GFP⁺. En la Figura 2D, el número de miotubos de miosina⁺ (estructuras de miosina con 3 o más núcleos) y miotubos de miosina⁺ GFP⁺ se contaron manualmente. El índice de diferenciación (Figura 4E) se calculó como el porcentaje de núcleos en las células de miosina⁺, y el índice de fusión (Figura 4F) como el porcentaje de células de miosina⁺ con el número de núcleos indicado. Para la Figura 4E, la fusión se expresó como el porcentaje de células de miosina⁺ con ≥ 3 núcleos. Los conjuntos de datos cuantitativos se presentan como medias ± SEM. Para cada cuantificación, al menos 3 experimentos independientes se realizaron por duplicado y 4 a 6 campos se eligieron aleatoriamente para la captura de imágenes. El análisis histológico de los embriones se realizó en 3-4 embriones por genotipo por intervalo de tiempo. Se examinaron múltiples niveles histológicos dentro de cada músculo. Los datos se analizaron usando una prueba t de Student no apareada (de dos colas) con el software GraphPad Prism 6. Un valor de $P < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados

Identificación y actividad fusogénica de myomerger.

Para descubrir factores de fusión potenciales, comparamos los genes inducidos por la expresión de MyoD a su nivel de expresión en fibroblastos 10T ½. De los 100 genes regulados por MyoD principales no expresados en los fibroblastos (datos no mostrados), eliminamos los genes que probablemente no estuvieran directamente involucrados en la fusión (factores de transcripción, genes sarcoméricos y metabólicos) y nos enfocamos en los genes con dominios transmembrana. Este análisis obtuvo los siguientes cinco genes: *Tmem182*, *Gm7325*, *Cdh15*, *Tspan33* y *Tm6sf1*; sin

embargo, el *Cdh15* se omitió del análisis adicional porque se ha mostrado anteriormente que no es necesario para la fusión de mioblastos o la formación muscular. Expresamos retroviralmente cada gen en fibroblastos GFP⁺ myomaker⁺ y evaluamos la fusión. La expresión apropiada en los fibroblastos se verificó a través de un análisis de la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa (qRT-PCR) (Figura 1A). Observamos principalmente las células GFP⁺ mononucleadas en todos los cultivos, excepto cuando el *Gm7325* se expresó, donde estaban presentes células multinucleadas generalizadas (Figura 1B). Basándonos en la capacidad del *Gm7325* para inducir la fusión de fibroblastos myomaker⁺ y en las observaciones descritas más abajo, denominamos myomerger a la proteína.

Los múltiples transcritos del *Gm7325* se anotan en el genoma del ratón, Universidad de California, Santa Cruz. El transcrito más corto contiene un solo exón y produce una proteína con 84 aminoácidos. Por el contrario, el transcrito más largo utiliza un exón corriente arriba con un sitio de iniciación alternativo y da como resultado una proteína de 108 aminoácidos (Figura 1C). El exón codificante único del transcrito corto se conserva en otros genomas de mamíferos, que incluyen los humanos, mientras que el exón alternativo corriente arriba que lleva al transcrito más largo no está muy conservado (Figura 1D). Para el análisis inicial, clonamos el locus de *Gm7325* en un vector retroviral, permitiendo el empalme y la expresión normales de los transcritos tanto cortos como largos. La transducción de fibroblastos myomaker⁺ con myomerger corto (S) o myomerger largo (L) indujo la formación de células multinucleadas, indicando que ambas proteínas son suficientes para la fusión (Figura 1E). Adicionalmente, myomerger y myomaker juntos indujeron la fusión de fibroblastos 3T3 y MSC (Figura 1F), sugiriendo que estos dos genes podrían activar la fusión en una multitud de tipos de células.

Dado que las células multinucleadas pueden surgir de la fusión o replicación asociada con una citocinesis incompleta, diseñamos un sistema para validar que las células multinucleadas observadas en los fibroblastos que expresan tanto el myomerger como el myomaker se generaron a través de la fusión. Diseñamos por ingeniería genética dos líneas celulares de fibroblastos que expresan myomaker, con una expresando GFP y la otra expresando TdTomato de localización nuclear (NLS-Tom). Los fibroblastos GFP⁺ myomaker⁺ y NLS-Tom⁺ myomaker⁺ se infectaron con un retrovirus myomerger o un retrovirus vacío de control, se mezclaron y se evaluó la fusión (Figura 1G). Observamos las células con múltiples núcleos que contenían tanto GFP como NLS-Tom en fibroblastos que expresaban un myomaker y un myomerger que indicaban fusión (Figura 1G). La cuantificación de la fusión reveló que aproximadamente 20 % de los núcleos estaban incluidos en los sincitios en cultivos donde los fibroblastos expresaban tanto myomaker como myomerger (Figura 1H). Estos resultados confirman que las células sincitiales observadas se forman a través de la fusión y que la expresión del myomaker y myomerger es suficiente para conferir fusogenicidad a los fibroblastos no fusogénicos.

También buscamos determinar la biología celular de la fusión inducida por el myomaker y myomerger. Mezclamos fibroblastos GFP⁺ myomaker⁺ myomerger⁺ con fibroblastos NLS-Tom⁺ que expresan myomaker o myomerger (Figura 2A). Aquí observamos la fusión de fibroblastos GFP⁺ myomaker⁺ myomerger⁺ con fibroblastos NLS-Tom⁺ myomaker⁺, pero no NLS-Tom⁺ myomerger⁺ (Figura 2A). Detectamos 10 % de núcleos en los sincitios (Figura 2A), inferior a la fusión observada cuando ambas células expresan myomaker y myomerger (Figura 1H) sugiriendo una mayor eficiencia fusogénica cuando las células expresan ambas proteínas. No obstante, estos datos indican que el myomerger no parece ser suficiente para la fusión en ausencia del myomaker. Esta naturaleza heterotípica de la fusión de fibroblastos (donde el myomaker parece ser necesario en ambas células y el miomerger solo parece ser necesario en una célula) es consistente con nuestro sistema de fusión heteróloga reportada anteriormente entre los mioblastos y los fibroblastos publicado anteriormente. En ese sistema, los fibroblastos myomaker⁺ que no expresan myomerger se fusionan con las células musculares, que expresan tanto myomaker como myomerger. Para confirmar este concepto, utilizamos nuestro sistema de fusión heteróloga donde los fibroblastos se infectaron con GFP y con un retrovirus vacío, myomaker o myomerger, y después se mezclaron con mioblastos C2C12 (Figura 2C). En este ensayo, la fusión se detecta a través de la colocalización de GFP (fibroblastos) con miosina⁺. En comparación con los fibroblastos GFP⁺ infectados vacíos, detectamos un aumento en la fusión entre las células de miosina⁺ con fibroblastos GFP⁺ myomaker⁺ o fibroblastos GFP⁺ miomerger⁺ (Figura 2C y Figura 2D). Sin embargo, la cuantificación de las células GFP⁺ de miosina⁺ reveló que el myomerger no impulsó la fusión de los fibroblastos con las células musculares a los niveles observados con myomaker (Figura 2D). Estos datos confirman que el myomaker parece ser necesario en ambas células de fusión para la fusión *in vitro*, mientras que el myomerger parece ser necesario en una célula de fusión.

Myomerger es específico de los músculos y se asocia con las membranas

Interrogamos más a fondo el patrón de expresión del *Gm7325*. Realizamos qRT-PCR en múltiples tejidos de ratones posnatales (P) del día 5 con cebadores para distinguir los dos transcritos de ratón potenciales (Figura 3A). En tejidos neonatales, detectamos la expresión de ambos transcritos myomerger solo en el músculo esquelético (Figura 3B). A pesar de la evidencia de dos transcritos myomerger, el análisis por inmunotransferencia de lisados del músculo esquelético del ratón P5 usando un anticuerpo disponible comercialmente identificó una sola banda a aproximadamente 12 kDa. Esta banda estuvo ausente en los lisados P28 indicando que el myomerger está regulado negativamente después del desarrollo neonatal (Figura 3C). El músculo esquelético presenta una gran capacidad para regenerarse debido a la presencia de células madre musculares, también conocidas como células satélite. Analizamos la expresión del myomerger en ratones *mdx*^{4cv}, que es un modelo de distrofia muscular en ratón que lleva a ciclos crónicos de degeneración y regeneración. (DURBEEJ y col. "Muscular dystrophies involving the dystrophin-glycoprotein complex: An overview of current mouse models" (2002) Curr Opin Genet Dev, vol. 12, pág. 349-361.) La expresión de myomerger se detectó en los lisados de diafragma de los ratones *mdx*^{4cv}, pero no en los diafragmas de control (Figura 3D). Finalmente, analizamos la expresión de myomerger en un modelo de hipertrofia inducida por

sobrecarga (MOV) del músculo esquelético y observamos una regulación positiva (Figura 3E). Colectivamente, estos datos muestran que el myomerger se expresa durante el desarrollo y se induce durante la miogénesis en adultos.

A continuación, buscamos determinar si el myomerger se regula a medida que los mioblastos se diferencian. En las células C2C12, ambos transcritos del *Gm7325* se elevaron significativamente durante la diferenciación (Figura 3F). Similarmente, los niveles de proteína myomerger fueron bajos en los mioblastos de proliferación (día 0), pero aumentaron tras la diferenciación con la expresión mantenida durante la diferenciación de mioblastos y la fusión en miotubos (Figura 3G). La proteína myomerger de ratón corto, pero no la forma larga, se conserva altamente entre las especies de vertebrados (Figura 3H). Después de la transducción de células C2C12 con vacías, myomerger-S o myomerger-L, detectamos una mayor banda superior en las células que expresaban el myomerger-S o myomerger-L que comigró con la proteína endógena de 12 kDa en las células C2C12 infectadas vacías (figura 3I). Una banda inferior se identificó exclusivamente en los lisados de myomerger-S sugiriendo que el procesamiento postranslacional o de ARNm complejo da como resultado la banda única endógena de 12 kDa observada en las células C2C12 WT y los homogeneizados musculares. Ambas proteínas myomerger albergan una región hidrófoba cercana al terminal N, donde el análisis computacional de esta región parece indicar un péptido señal o dominio transmembrana (Figura 3J). Se descubrió que ambas variantes conferían fusogenicidad. Para entender la localización subcelular, fraccionamos las células C2C12 el día 2 de la diferenciación e identificamos el myomerger en las fracciones de membrana que contienen caveolina-3, una proteína conocida por asociarse con ambas vesículas tanto pesada como ligera (Figura 3K). La inmunotinción de fibroblastos que expresan el myomerger-S o myomerger-L muestra que ambas proteínas presentan una localización difusa y vesicular similar (Figura 3L). Por lo tanto, el myomerger se asocia con los compartimentos de membrana, que es consistente con su capacidad para inducir la fusión.

Papel del myomerger en la fusión de mioblastos

La capacidad del myomerger para inducir la fusión de fibroblastos myomaker, y su expresión específica de los músculos en el ratón, sugiere que el myomerger puede desempeñar una función durante la miogénesis. Para empezar a descifrar la función del myomerger en la miogénesis, evaluamos su función durante la diferenciación de mioblastos. Utilizamos la corrección del genoma CRISPR/Cas9 para alterar el myomerger en los mioblastos C2C12. Dos ARN guía (ARNg) se diseñaron para dirigir el exón más grande del *Gm7325*, que dio como resultado una eliminación de 166 pares de bases alterando, de esta manera, ambos transcritos de ratón (Figura 4A). Las células C2C12 se transfectaron con un plásmido que contenía Cas9 con un IRES-GFP y ARNg myomerger, o se transfectaron solo con Cas9-IRES-GFP como un control. La citometría de flujo de las células GFP⁺ seguida de la genotipificación a través del análisis de PCR reveló la alteración del locus myomerger (Figura 4B). El myomerger no fue detectable en las células C2C12 inactivadas de myomerger que confirman la alteración eficiente del locus (Figura 4C). Las células C2C12 inactivadas de control y myomerger se analizaron por su capacidad para diferenciar y formar miotubos. Los mioblastos WT se diferenciaron, según lo indicado por las células de miosina⁺, y se fusionaron para formar miotubos multinucleados (Figura 4D). Por el contrario, las células C2C12 inactivadas de myomerger presentaron la capacidad para diferenciar pero carecieron de actividad fusogénica para formar miotubos (Figura 4D). De hecho, la cuantificación del índice de diferenciación no reveló ninguna diferencia en el porcentaje de células de miosina⁺ entre los cultivos inactivados de myomerger y WT (Figura 4E). Adicionalmente, la cuantificación de fusión mostró que las células de miosina⁺ inactivadas de myomerger permanecen mononucleadas mientras que las células WT se fusionan (Figura 4F). El análisis de qRT-PCR de los genes miogénicos *Miogenina*, *Myh4*, *Ckm* y *Tmem8c* (myomaker) indicó además que los mioblastos inactivados de myomerger activan el programa de diferenciación (Figura 4G). Curiosamente, los transcritos miogénicos se elevaron en las células inactivadas de myomerger sugiriendo potencialmente un mecanismo de retroalimentación por el cual las células no fusogénicas intentan diferenciarse más (Figura 4G). La infección de las células C2C12 inactivadas de myomerger con el myomerger-S o myomerger-L rescató el defecto de fusión demostrando que el fenotipo en estas células se debe específicamente a la pérdida de myomerger y no a un efecto fuera del objetivo de Cas9 (Figura 4H). El análisis de Western blot de estos lisados muestra la reexpresión de myomerger en las células inactivadas (Figura 4I). Como un mecanismo potencial de la falta de fusión en los miocitos inactivados de myomerger, examinamos la expresión y localización del myomaker. El día 2 de la diferenciación, las células inactivadas de myomerger presentaron una expresión y localización normales del myomaker (Figura 5A). Además, no detectamos la colocalización generalizada entre el myomaker y myomerger sugiriendo que el myomerger no regula directamente la distribución de myomaker (Figura 5B). Estos datos revelan que el myomerger se usa en la fusión de mioblastos *in vitro* a través de un mecanismo que no implica la regulación de los niveles o la localización de myomaker.

Papel de myomerger en la formación muscular *in vivo*

Para examinar la función de myomerger *in vivo*, alteramos el exón 3 usando la misma estrategia CRISPR/Cas9 descrita para los mioblastos C2C12. La inyección de Cas9 y ARNg myomerger en blastocistos dio como resultado la letalidad de 9 de las 10 crías F₀, sugiriendo que la alta eficiencia de Cas9 llevó a la eliminación homocigótica de myomerger. La única cría restante fue heterocigótica para myomerger (Figura 6A) y la secuenciación del producto de PCR mutante reveló la presencia de la misma mutación como se logró en las células C2C12. El fundador heterocigótico se apareó con ratones WT durante múltiples generaciones, que controló los efectos fuera del objetivo potenciales, dado que solo seleccionamos crías con la mutación del *Gm7325*. Los ratones heterocigotos de estas camadas se cruzaron después para generar ratones con *Gm7325*^{-/-}. No observamos ningún ratón *Gm7325*^{-/-} tras genotipificar en P7 sugiriendo que myomerger es esencial para la vida. De hecho, los embriones *Gm7325*^{-/-} E17.5 presentaron un músculo esquelético

mínimo tras un examen macroscópico (Figura 6B). Específicamente, los huesos de los miembros y la caja torácica fueron perceptibles debido a la escasez de músculo circundante como se observó en los embriones WT. Los ratones inactivados de myomerger también mostraron una apariencia encorvada con hocicos alargados, características distintivas de los embriones con una formación muscular inadecuada (Figura 6B). La detección de myomerger por western blot de las lenguas WT y *Gm7325^{-/-}* mostró la eliminación de la proteína myomerger en las muestras inactivadas (Figura 6C). Las secciones de los miembros superiores E15.5 mostraron que los mioblastos inactivados de myomerger expresan miogenina indicando que la especificación y la diferenciación se activaron a pesar de la pérdida de myomerger (Figura 6D). Además, el análisis histológico de múltiples grupos de músculos en E15.5 reveló la presencia de células musculares de miosina⁺ y estructuras sarcoméricas en ratones inactivados de myomerger, (Figura 6E y Figura 6F). Si bien las miofibras multinucleadas estaban presentes en ratones WT, estas estructuras no se detectaron fácilmente en los ratones inactivados de myomerger indicando que la pérdida genética de myomerger hace que los miocitos no sean fusogénicos (Figura 6E y Figura 6F). El análisis de los miembros superiores de los embriones myomerger y E17.5 WT confirma que los mioblastos inactivados de myomerger no pueden fusionarse adecuadamente, aunque detectamos miocitos con dos núcleos (Figura 6G, Figura 6H y Figura 6I). Estos resultados, junto con nuestro análisis *in vitro*, revelan que myomerger se usa en la formación muscular durante el desarrollo de los mamíferos a través de la regulación de la fusión de mioblastos.

Discusión

En resumen, informamos el descubrimiento de un factor adicional específico de los músculos usado en la fusión de mioblastos y la miogénesis de desarrollo. Si bien myomaker y myomerger parecen usarse en la formación muscular, los embriones inactivados miomerger E17.5 presentan más miocitos en comparación con los embriones que carecen de myomaker sugiriendo que estas dos proteínas de fusión de mioblastos pueden tener funciones distintas. No detectamos una gran colocalización que indique que no hay interacción física entre myomaker y myomerger o que cualquier interacción potencial es transitoria o está en ubicaciones celulares discretas.

Nuestros datos de los experimentos de mezcla celular revelan que el myomaker parece ser necesario en ambas células de fusión mientras que el myomerger solo parece ser necesario en una célula de fusión. Esto indica que, para la reconstitución de la fusión celular, ambas células de fusión deben ser competentes para la fusión (susceptibles a fusionarse), mientras que solo una célula necesita volverse fusogénica para permitir la formación sincitial. Teniendo en cuenta este concepto, nuestros datos sugieren que el myomaker permite que la célula se vuelva competente para la fusión, mientras que el myomerger confiere fusogénesis. Los experimentos de mezcla celular también indican que el myomerger puede requerir la actividad del myomaker para la función fusogénica ya que los fibroblastos que expresan myomerger no se fusionan con los fibroblastos que expresan tanto el myomaker como el myomerger. Sin intención de limitarse a la teoría, estos datos sugieren potencialmente que el myomerger actúa corriente abajo del myomaker, donde el myomaker actúa como un iniciador de fusión y el myomerger ejecuta las etapas finales para impulsar la formación sincitial.

Sin intención de limitarse a la teoría, las distintas consecuencias de la expresión del myomaker y myomerger en los fibroblastos son consistentes con la idea de que las dos proteínas regulan diferentes aspectos de la fusión. La fusión de membranas parece ser un proceso complejo que frecuentemente incluye la aposición y anclaje de membranas, la mezcla de las membranas externas (hemifusión), la formación de poros y la expansión de poros. Los fusógenos virales clásicos, así como el Eff-1, son proteínas grandes con ectodominios largos que pueden llevar a cabo todas las etapas necesarias para la fusión. El descubrimiento del myomerger como un factor de fusión de mioblastos adicional podría indicar que en los organismos superiores estas múltiples funciones de las proteínas virales se han delegado a diferentes proteínas de miocitos. Sin intención de limitarse a la teoría, esta estrategia evolutiva, al menos en el caso de la fusión muscular, podría proporcionar más control regulador para verificar que las células son compatibles para la fusión.

Sin intención de limitarse a la teoría, la asociación de myomerger con las membranas podría indicar que funciona para alterar la dinámica de las membranas que supera las barreras termodinámicas para la fusión. Sin intención de limitarse a la teoría, la activación de myomerger de fusión a través de alteraciones del citoesqueleto sería consistente con la inducción de la fusogenicidad, ya que las alteraciones del citoesqueleto proporcionan la tensión necesaria para inducir la fusión de la membrana en varios sistemas.

Los títulos utilizados en la divulgación no pretenden sugerir que toda la divulgación relacionada con el título se encuentre dentro de la sección que comienza con ese título. La descripción para cualquier tema se puede encontrar a lo largo de la especificación.

Se observa que los términos como “preferentemente”, “comúnmente” y “típicamente” no se usan en la presente descripción para limitar el alcance de la invención reivindicada o para implicar que ciertas características son críticas, esenciales o incluso importantes para la estructura o función de la invención reivindicada. Más bien, estos términos están destinados simplemente a resaltar características alternativas o adicionales que pueden o no pueden utilizarse en una realización particular de la presente invención.

Como se usa en la divulgación, “un” o “una” significa uno o más de uno, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Como se usa en las reivindicaciones, cuando se usa junto con la palabra “que comprende”, las palabras “un” o “una” significan uno o más de uno, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Tal como se usa en

la divulgación o las reivindicaciones, “otro” significa al menos un segundo o más, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Como se usa en la divulgación, las frases “tal como”, “por ejemplo” y “por ejemplo” significan “; por ejemplo, pero no se limitan a” en que la lista sigue al término (“tal como”, “por ejemplo” o “por ejemplo”) proporciona algunos ejemplos, pero la lista no es necesariamente una lista completa. La palabra “que comprende” significa que los elementos que siguen a la palabra “que comprende” pueden incluir elementos o etapas adicionales no enumerados; es decir, “que comprende” no excluye etapas o elementos adicionales no enumerados.

A menos que se indique de cualquier otra manera, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como condiciones de reacción, y así sucesivamente usados en la especificación y las reivindicaciones deben entenderse como modificados en todos los casos por el término “aproximadamente”. Por consiguiente, a menos que se indique de cualquier otra manera, los parámetros numéricos expuestos en esta especificación y las reivindicaciones son aproximaciones que pueden variar en dependencia de las propiedades deseadas que se pretenda obtener mediante la materia objeto actualmente descrita.

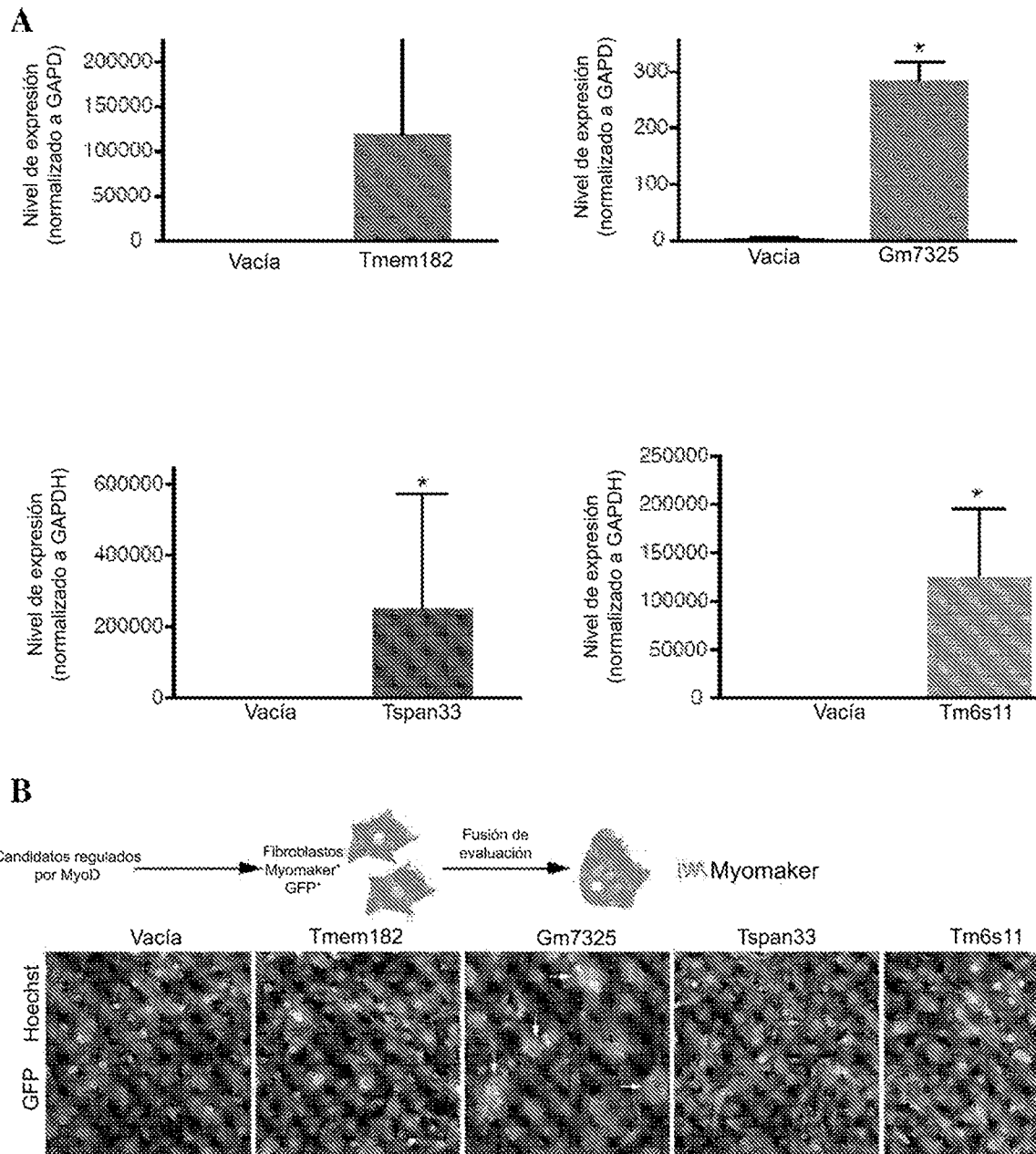
Como se usa en la presente, el término “aproximadamente”, cuando se refiere a un valor o a una cantidad de masa, peso, tiempo, volumen, concentración o porcentaje, pretende abarcar variaciones de, en algunas realizaciones, $\pm 20\%$, en algunas realizaciones $\pm 10\%$, en algunas realizaciones $\pm 5\%$, en algunas realizaciones $\pm 1\%$, en algunas realizaciones $\pm 0,5\%$ y en algunas realizaciones $\pm 0,1\%$ de la cantidad especificada, ya que tales variaciones son apropiadas para realizar el método descrito.

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para fusionar dos o más células que comprende:
 - 5 - poner en contacto una primera célula con una segunda célula para formar una tercera célula; en donde
 - la primera célula es una célula modificada que comprende un ácido nucleico de myomerger, un primer polipéptido de myomerger y un primer polipéptido de myomaker; en donde la primera célula es una célula no muscular;
 - 10 - la segunda célula comprende un segundo polipéptido de myomaker y opcionalmente un segundo polipéptido myomerger;
 - la tercera célula es una célula multinucleada;
 - la secuencia de ácido nucleico de myomerger codifica un polipéptido que comprende el primer polipéptido de myomerger y tiene al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con
 - 15 núm. de ident.: 43, sec. con núm. de ident.: 44 o sec. con núm. de ident.: 45. y
 - la primera secuencia de polipéptidos de myomerger y la segunda secuencia de polipéptidos de myomerger tienen cada una al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con núm. de ident.: 36, sec. con núm. de ident.: 37 y sec. con núm. de ident.: 38.
- 20 2. El método *in vitro* de la reivindicación 1, en donde la segunda célula comprende el segundo polipéptido de myomerger.
3. El método *in vitro* de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la segunda célula es una célula muscular, preferentemente un mioblasto.
- 25 4. El método *in vitro* de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la puesta en contacto ocurre *ex vivo*.
5. Un método *in vitro* para administrar un gen de interés que comprende:
 - 30 - poner en contacto una primera célula con una segunda célula *in vitro*, que se fusionan para formar una tercera célula; en donde
 - la primera célula es una célula modificada que comprende un ácido nucleico de myomerger, un primer polipéptido de myomerger, un primer polipéptido de myomaker y un gen de interés, y en
 - 35 donde la primera célula es una célula no muscular;
 - la segunda célula comprende un segundo polipéptido de myomaker y opcionalmente un segundo polipéptido myomerger;
 - la tercera célula es una célula multinucleada y el gen de interés se administra a la tercera célula tras la fusión de la primera célula con la segunda célula;
 - 40 - la secuencia de ácido nucleico de myomerger tiene al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con núm. de ident.: 43, sec. con núm. de ident.: 44 y sec. con núm. de ident.: 45. y
 - la primera secuencia de polipéptidos de myomerger y la segunda secuencia de polipéptidos de myomerger tienen cada una al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con núm. de
 - 45 ident.: 36, sec. con núm. de ident.: 37 y sec. con núm. de ident.: 38.
6. El método *in vitro* de la reivindicación 5, en donde la segunda célula comprende el segundo polipéptido de myomerger.
- 50 7. El método *in vitro* de la reivindicación 5 o reivindicación 6, en donde la segunda célula es una célula muscular, preferentemente un mioblasto.
8. El método *in vitro* de cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en donde la puesta en contacto es *ex vivo*.
- 55 9. El método *in vitro* de cualquiera de las reivindicaciones 5-8, en donde la segunda célula subexpresa el gen de interés, no expresa el gen de interés o expresa una versión defectuosa del gen de interés.
10. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad, comprendiendo la composición:
 - 60 - una primera célula que es una célula modificada que comprende un ácido nucleico de myomerger, un primer polipéptido de myomerger, un primer polipéptido de myomaker y un gen de interés, y en donde la primera célula es una célula no muscular; y
 - una segunda célula que comprende un segundo polipéptido de myomaker y opcionalmente que comprende un segundo polipéptido de myomerger,
 - 65 en donde

- 5 - la secuencia de ácido nucleico de myomerger tiene al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con núm. de ident.: 43, sec. con núm. de ident.: 44 y sec. con núm. de ident.: 45, y
- 5 - la primera secuencia de polipéptidos de myomerger y la segunda secuencia de polipéptidos de myomerger tienen cada una al menos un 80 % de identidad con una o más de la sec. con núm. de ident.: 36, sec. con núm. de ident.: 37 y sec. con núm. de ident.: 38.
- 10 11. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 10, en donde la enfermedad es una enfermedad del corazón, el diafragma, la cabeza, el cuello, la lengua, los músculos esofágicos, los músculos intestinales, los músculos esqueléticos, o el tracto genitourinario; o se selecciona de: miopatía, distrofia muscular, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo II, rabdomiosarcoma, sarcopenia, y cáncer.
- 15 12. El método *in vitro* de cualquiera de las reivindicaciones 5-9, o la composición farmacéutica para uso de las reivindicaciones 10 u 11, en donde el gen de interés se codifica para un polipéptido terapéutico, una proteína terapéutica o un oligopéptido terapéutico.
13. El método *in vitro* de cualquiera de las reivindicaciones 5-9, o la composición farmacéutica para uso de las reivindicaciones 10 u 11, en donde el primer polipéptido de myomerger y el segundo polipéptido de myomerger inducen cada uno la fusogenicidad y/o confieren actividad fusogénica a células normalmente no fusogénicas.

Figura 1



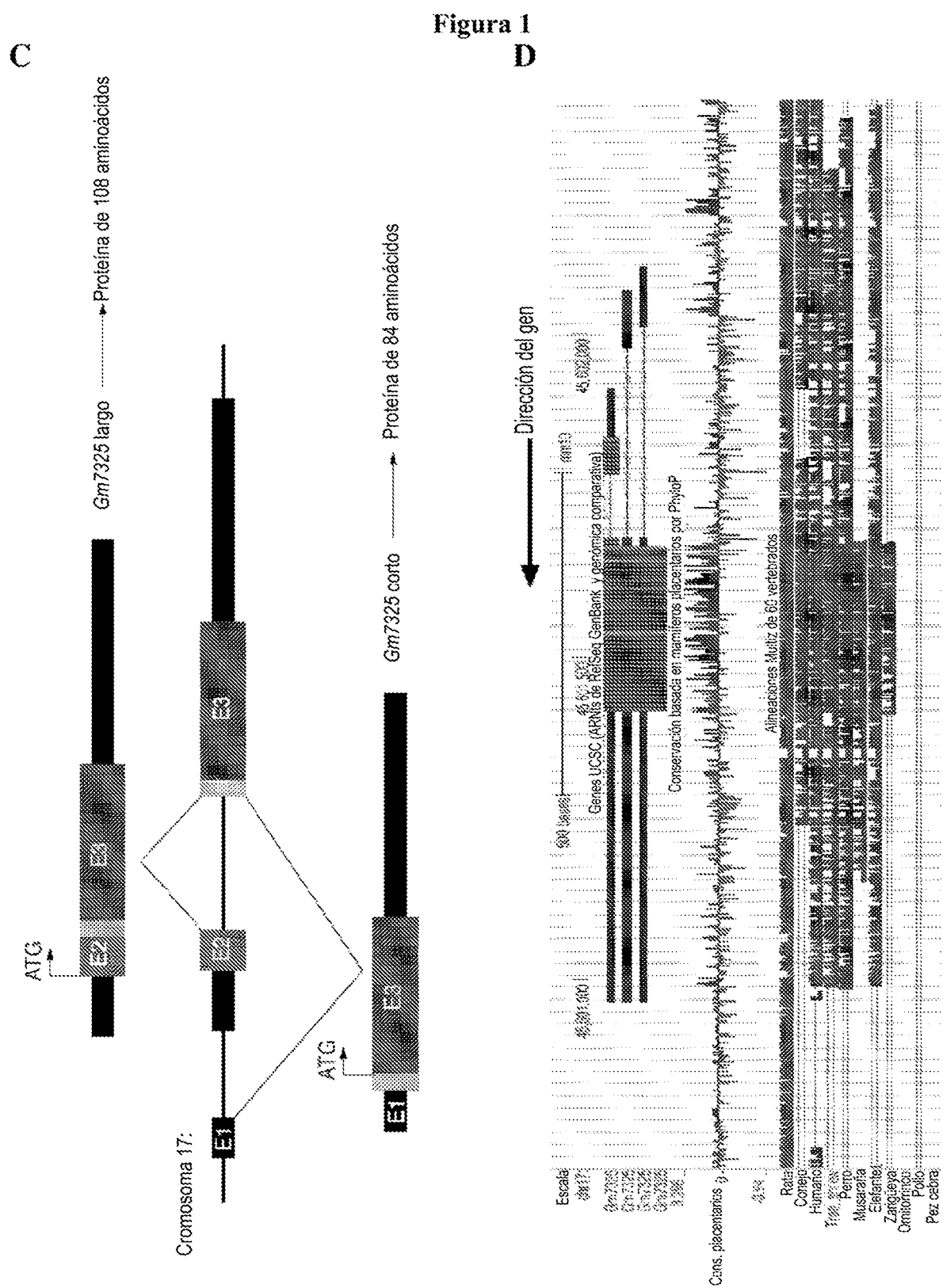


Figura 1

E

Fibroblastos Myomaker⁺ 10T 1/2

Myomergers-S

Myomergers-L

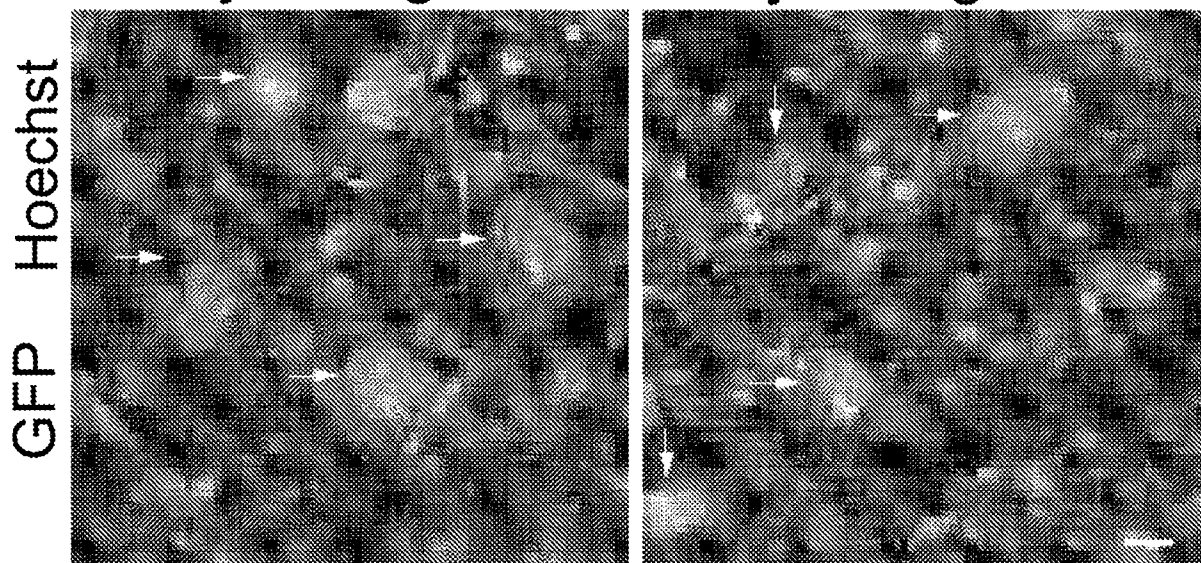


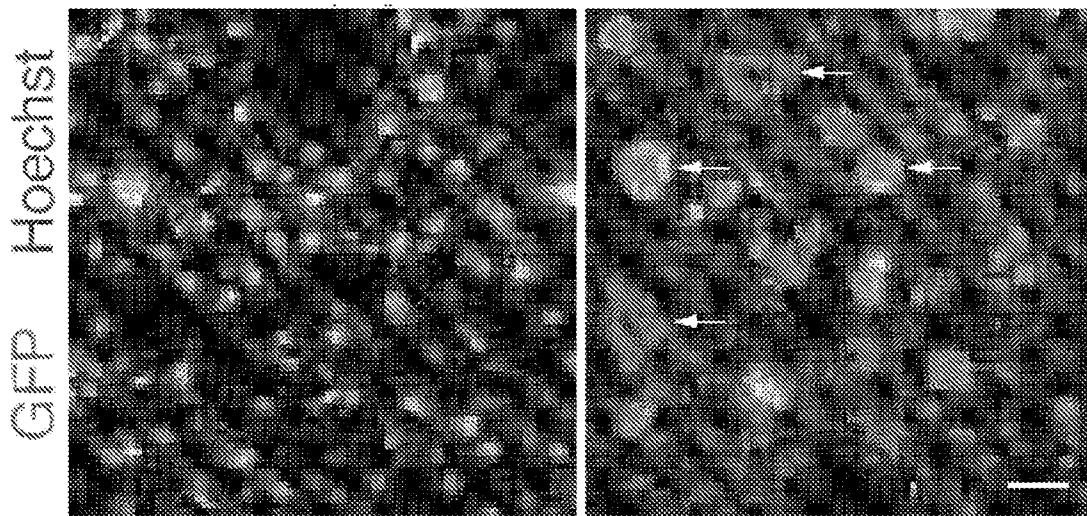
Figura 1

F

Fibroblastos Myomaker⁺ 3T3

Vacía

Myomerge



Células estromales mesenquimales Myomaker⁺

Vacía

Myomerge

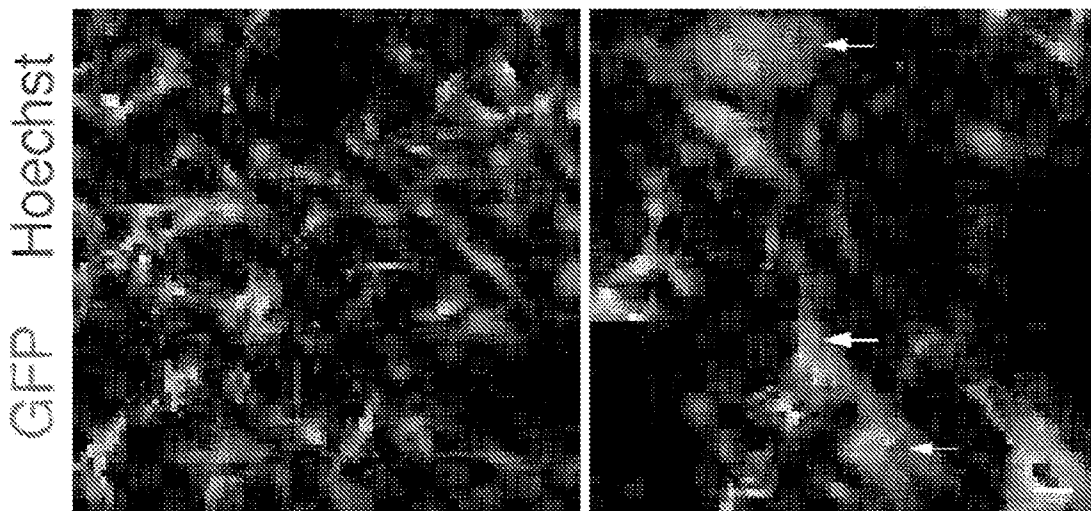
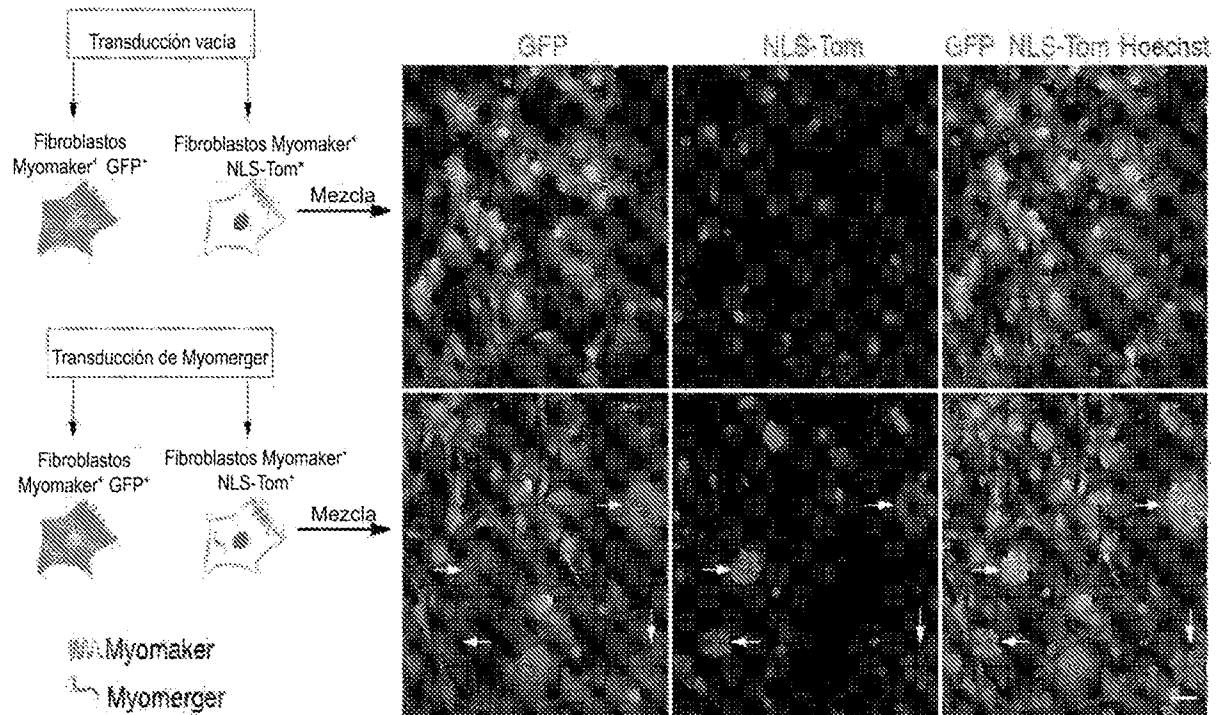


Figura 1

G



H

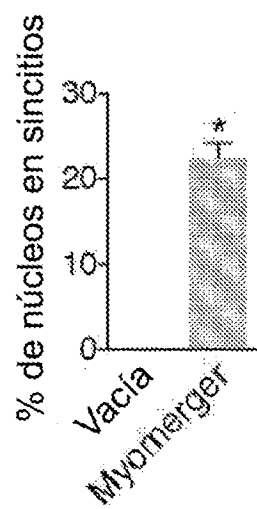
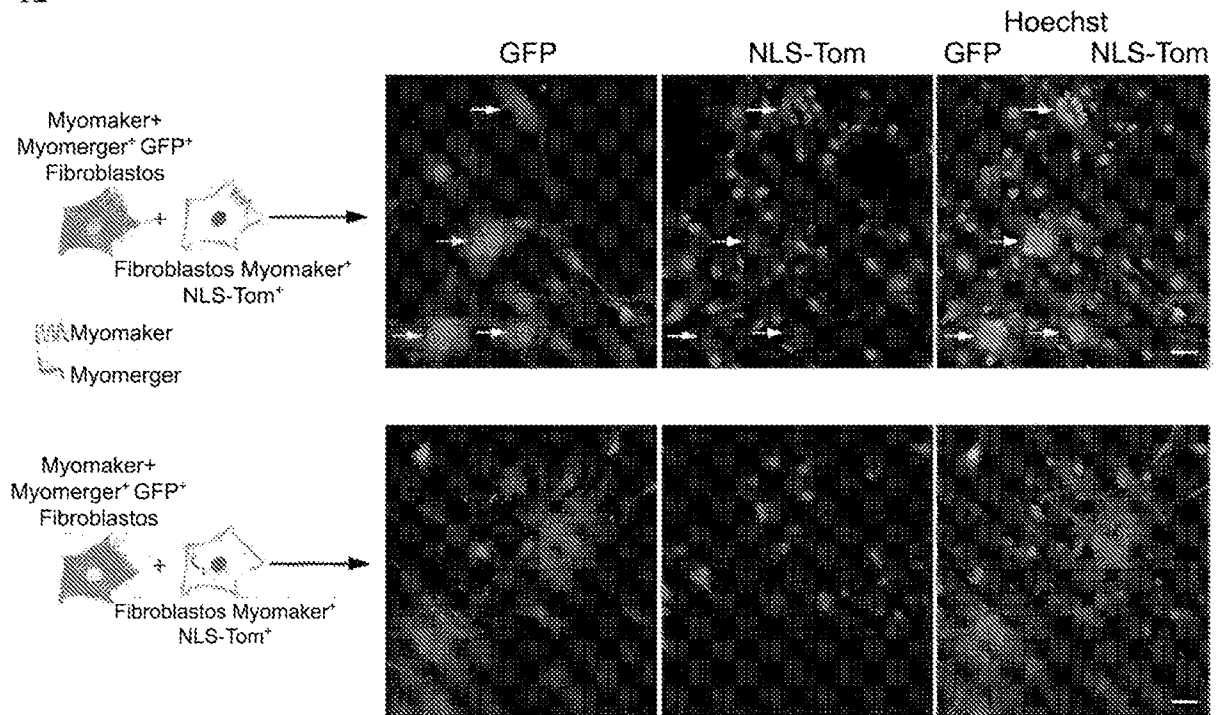


Figura 2

A



B

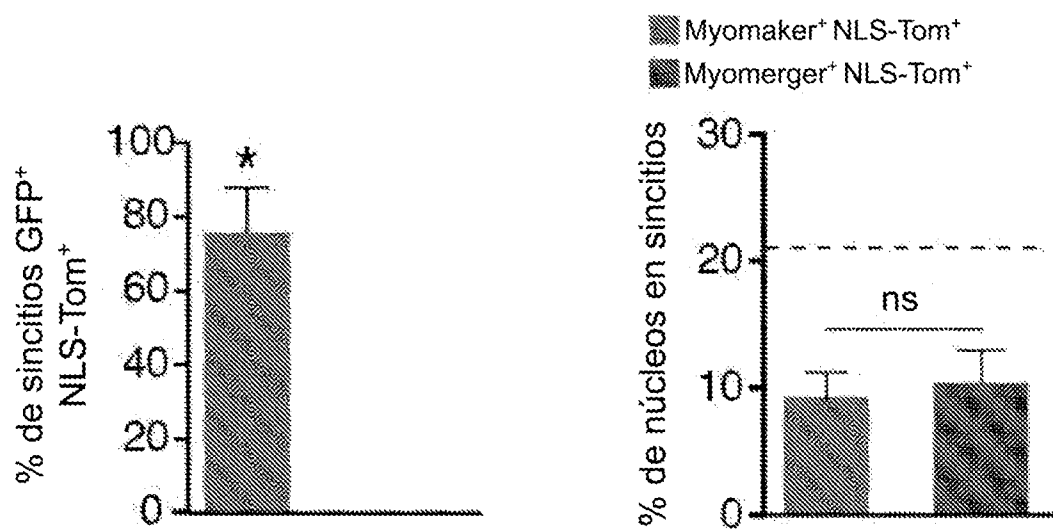


Figura 2

C

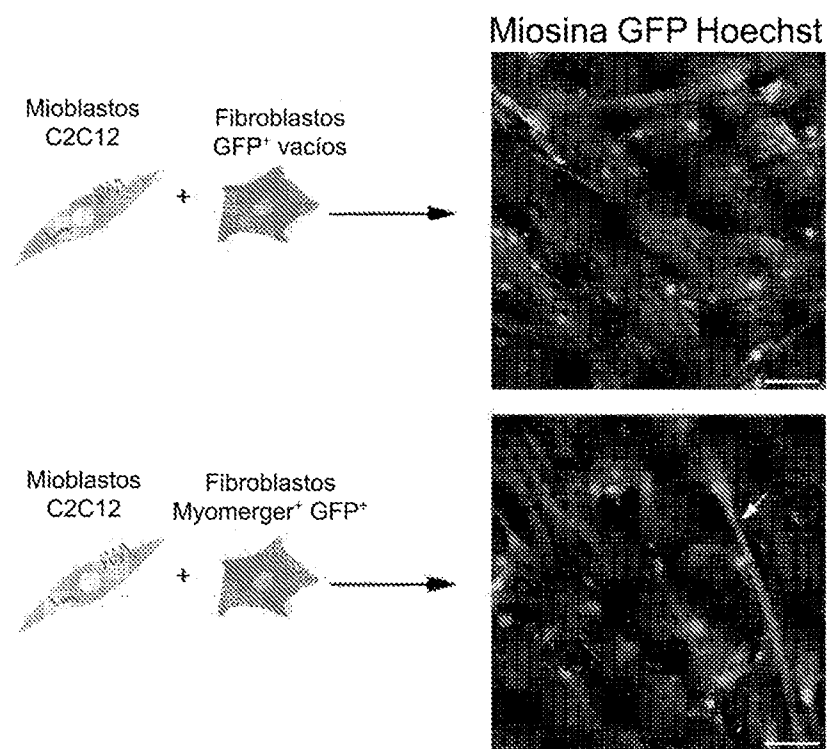


Figura 2

D

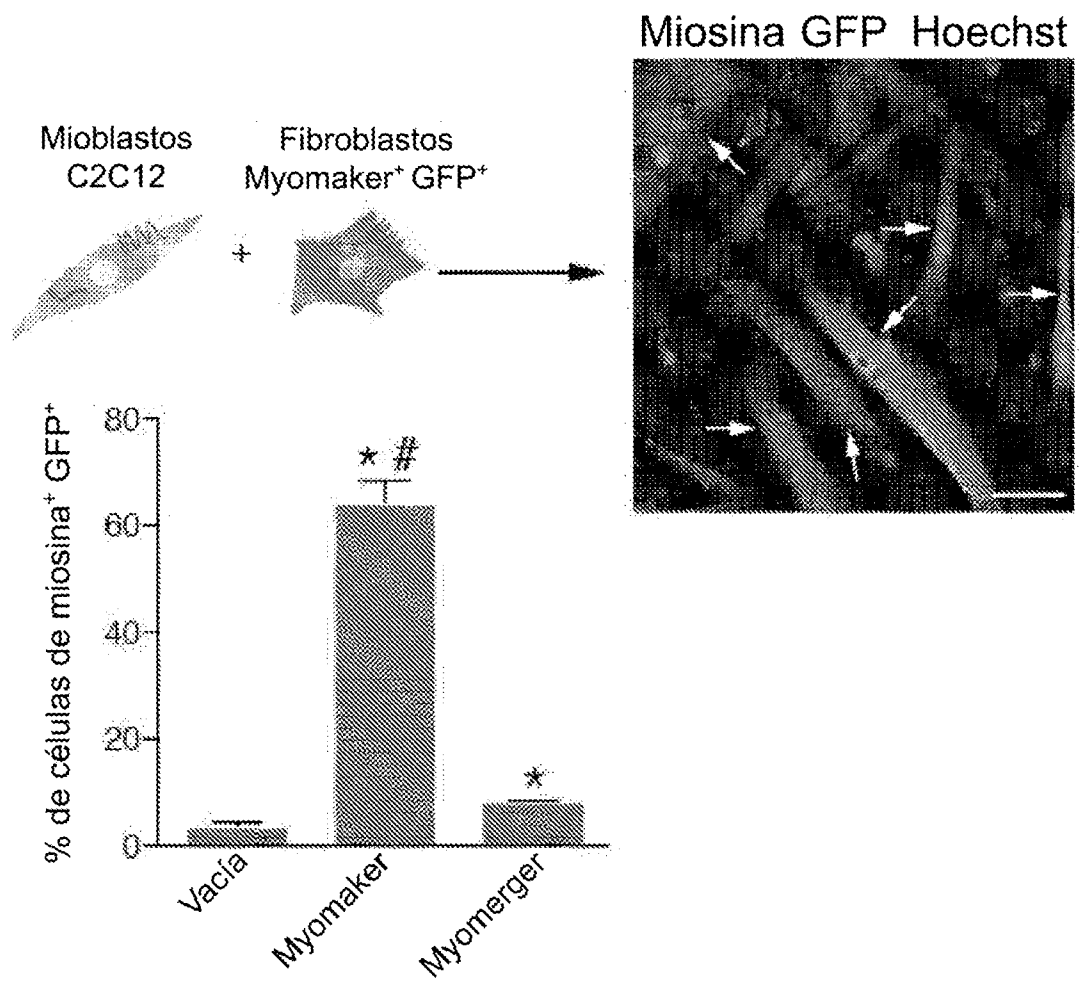


Figura 3



Gm7325 corto: cebadores A + C

Gm7325 largo: cebadores B + C

Ratón (largo)	MPESCTVKLIQLKTGEYKGCAPANVPDLSN	SLGSLLEAVNLSQQLLPDLRL	69
Ratón (corto)	MPESCTVKLIQLKTGEYKGCAPANVPDLSN	SLGSLLEAVNLSQQLLPDLRL	36
Humano	MPESCTVKLIQLKTGEYKGCAPANVPDLSN	SLGSLLEAVNLSQQLLPDLRL	36
Gato	MPESCTVKLIQLKTGEYKGCAPANVPDLSN	SLGSLLEAVNLSQQLLPDLRL	36
Conejo	MPESCTVKLIQLKTGEYKGCAPANVPDLSN	SLGSLLEAVNLSQQLLPDLRL	36

Región
hidrofoba

Ratón (largo)	ARRLSQDNREALLSCLLFVLSQQQPPD~SGEASRVDSQREKIGPQK	108	Sec. con núm. de ident.: 32
Ratón (corto)	ARRLSQDNREALLSCLLFVLSQQQPPD~SGEASRVDSQREKIGPQK	94	Sec. con núm. de ident.: 33
Humano	ARRLSQDNREALLSCLLFVLSQQQPPD~SGEASRVDSQREKIGPQK	94	Sec. con núm. de ident.: 34
Gato	ARRLSQDNREALLSCLLFVLSQQQPPD~SGEASRVDSQREKIGPQK	94	Sec. con núm. de ident.: 35
Conejo	ARRLSQDNREALLSCLLFVLSQQQPPD~SGEASRVDSQREKIGPQK	94	Sec. con núm. de ident.: 36

H

Figura 3

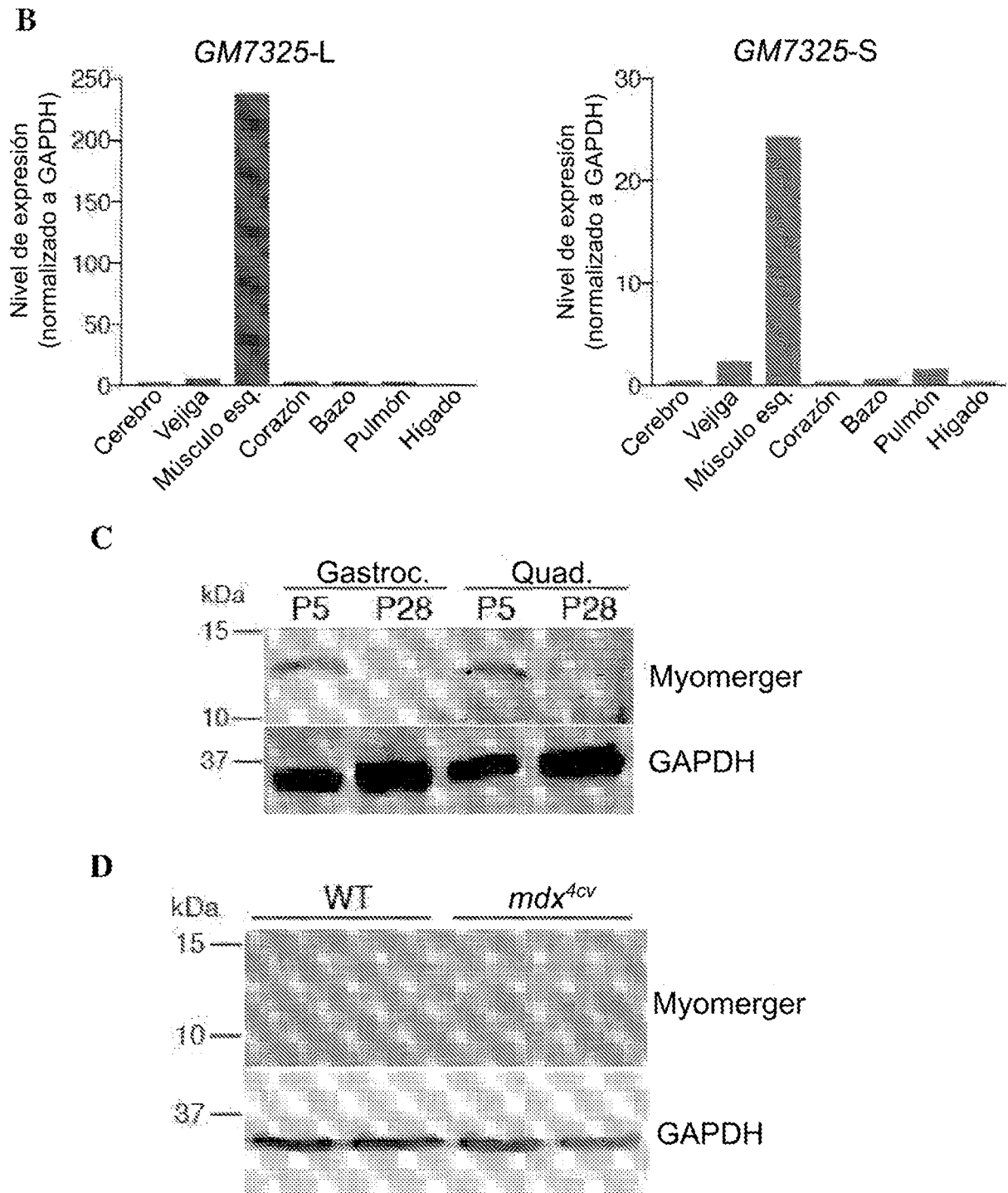


Figura 3

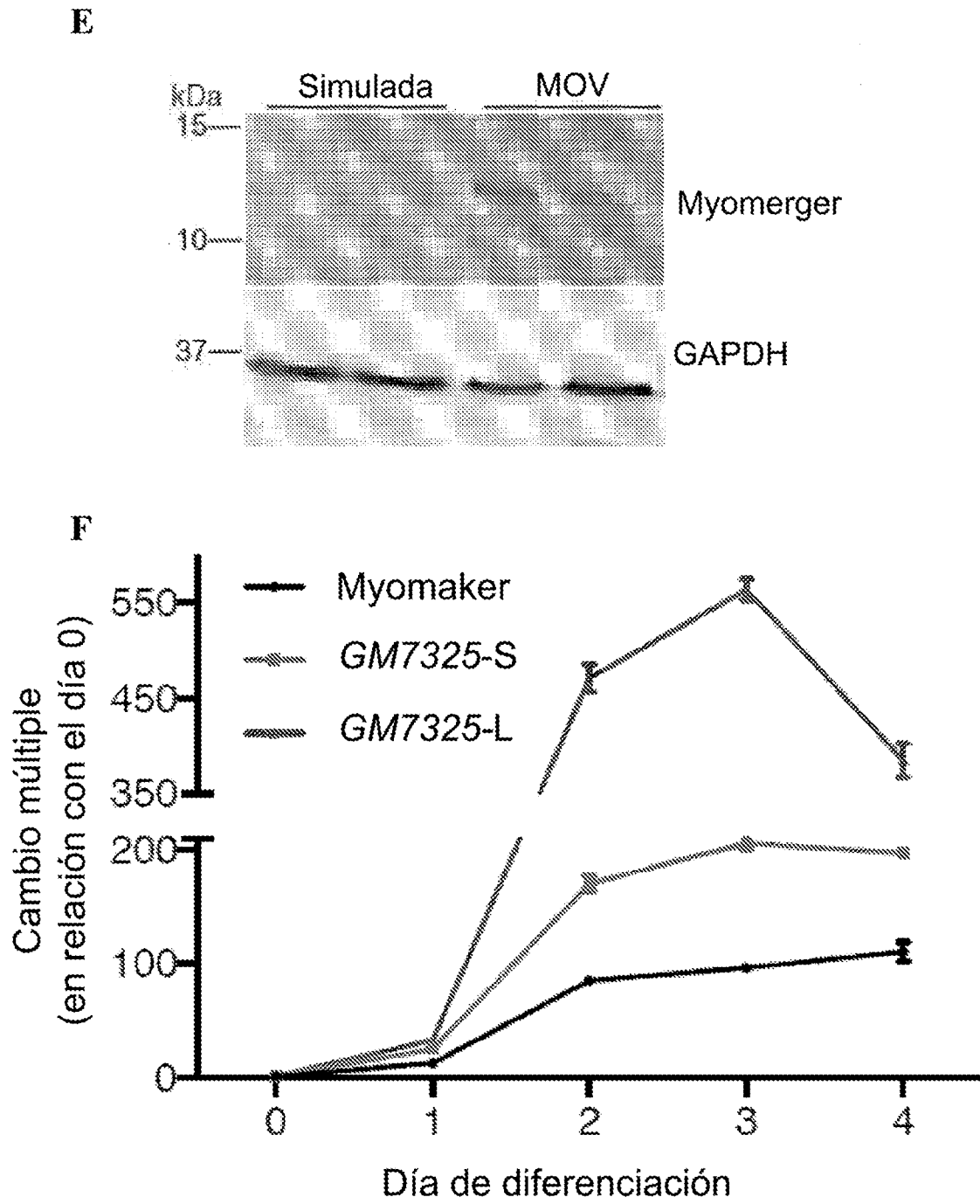


Figura 3

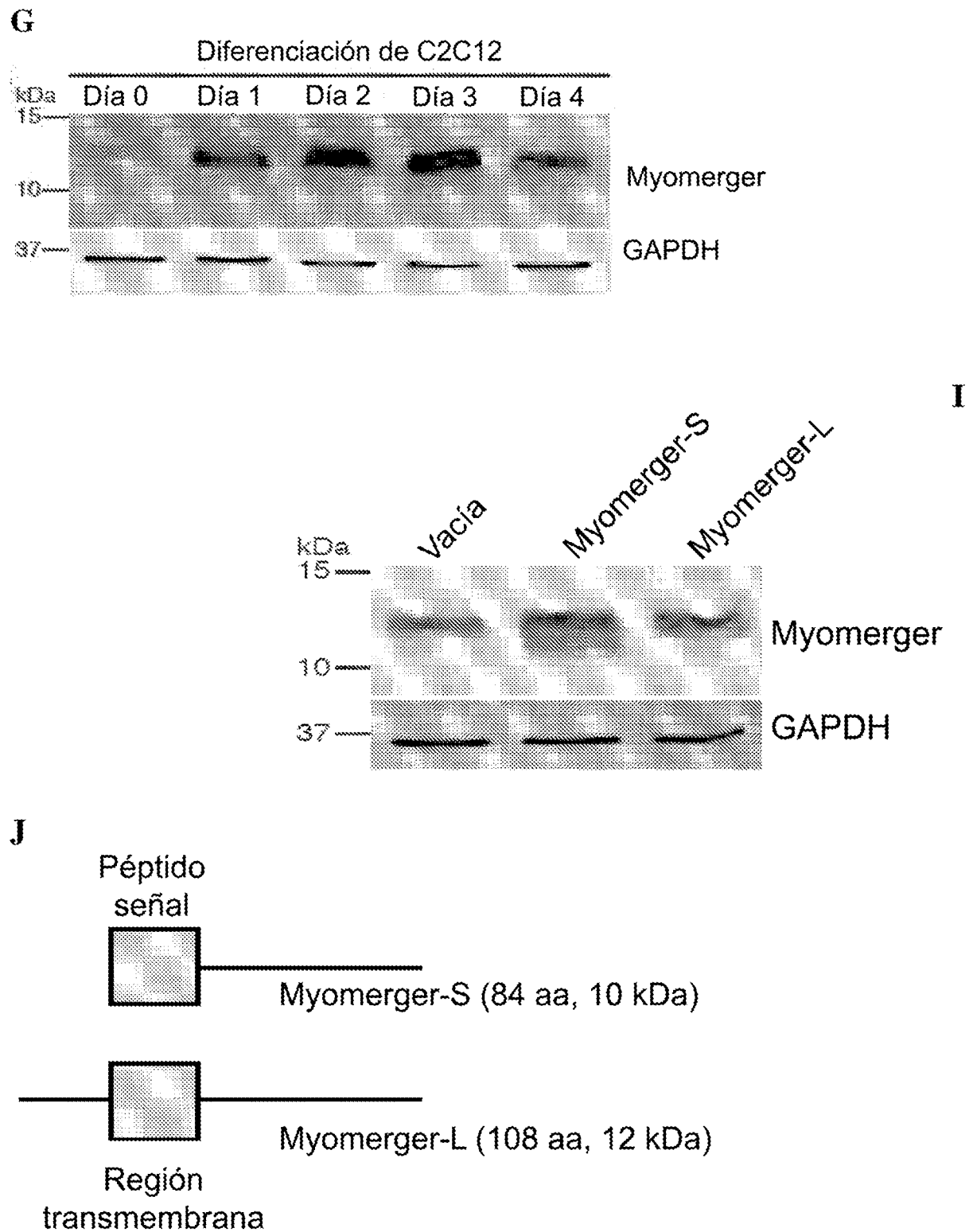
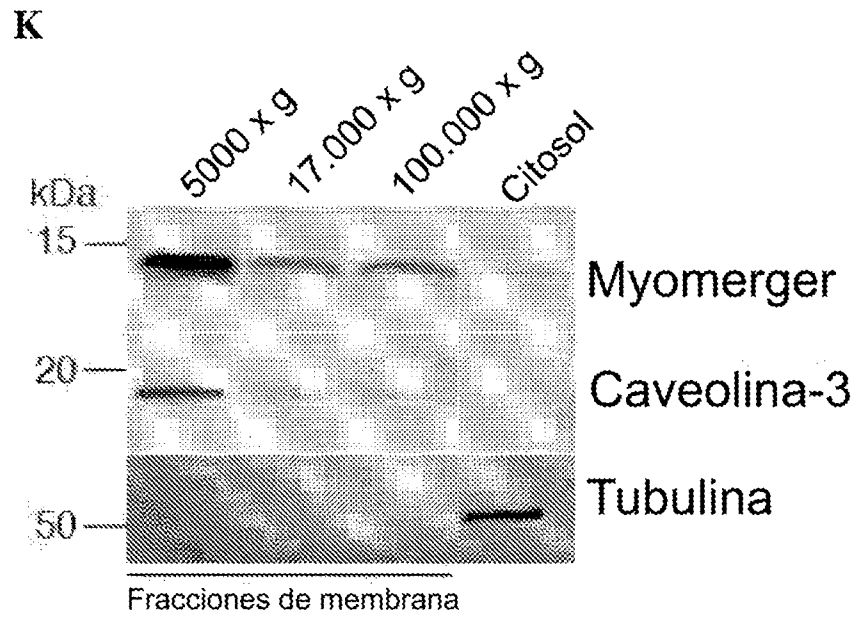


Figura 3



L

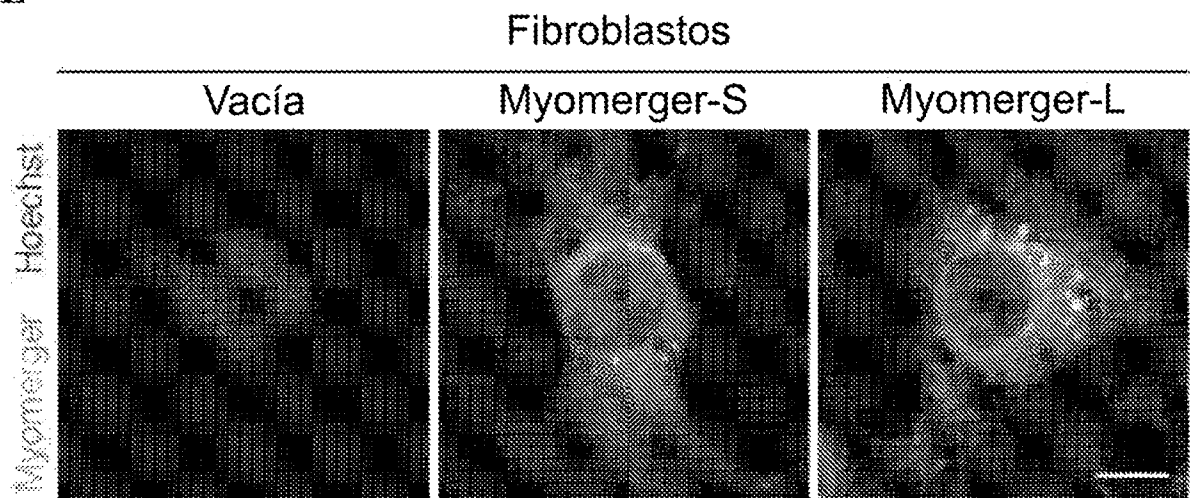


Figura 4

[illegible]

Figura 4

B

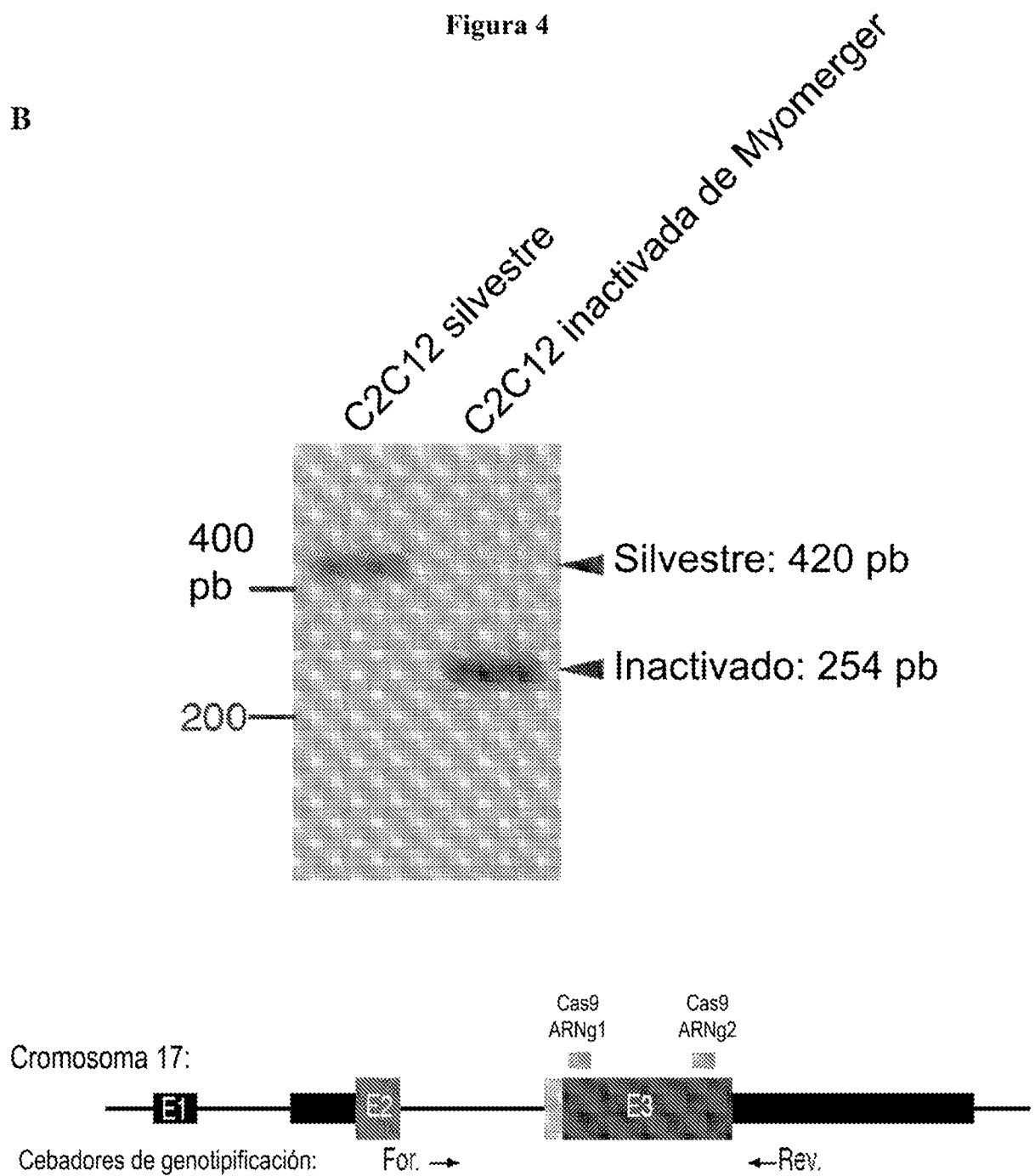


Figura 4

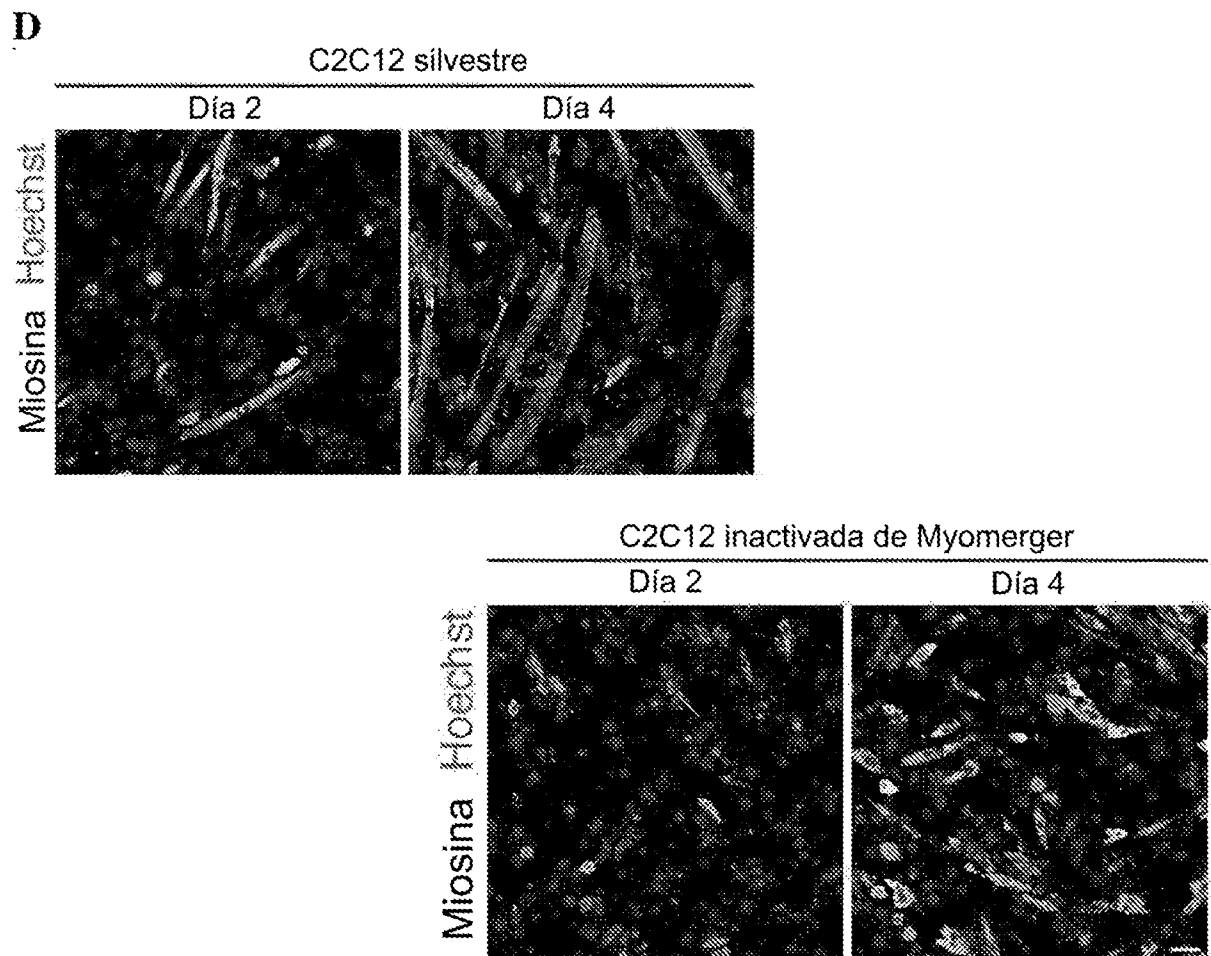
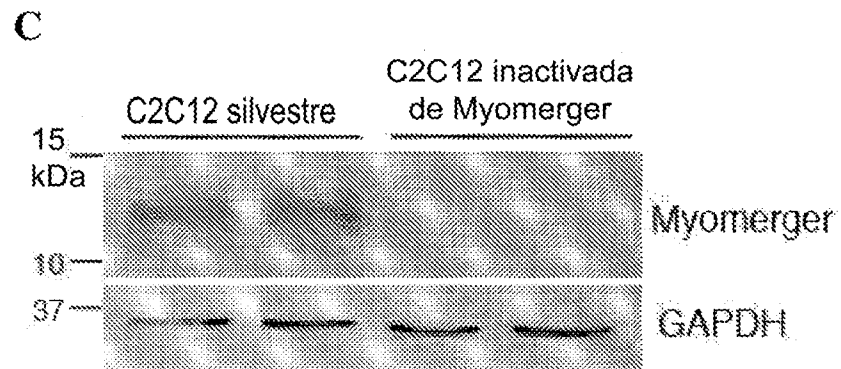


Figura 4

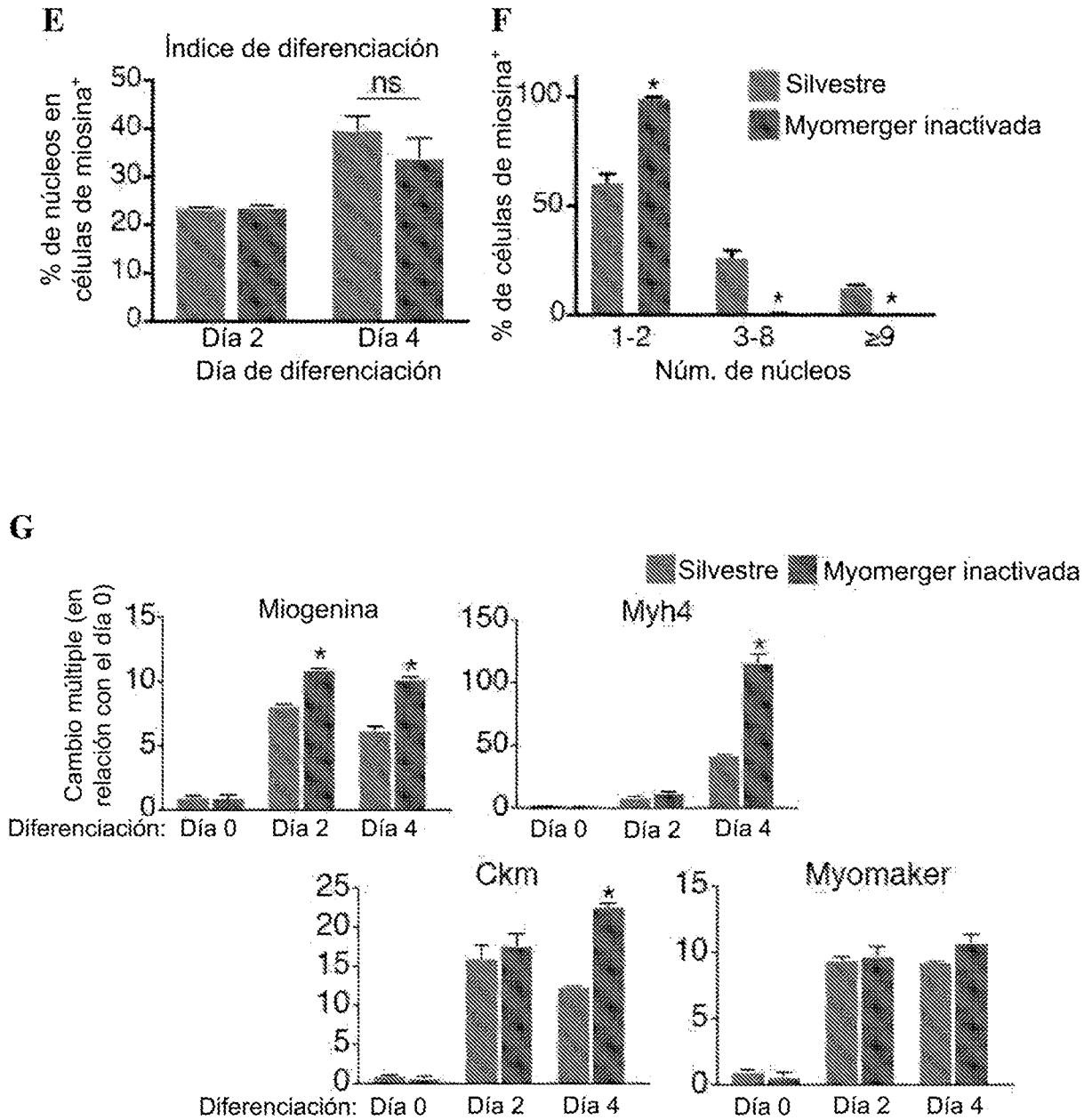


Figura 4

H

C2C12 inactivada de Myomerger

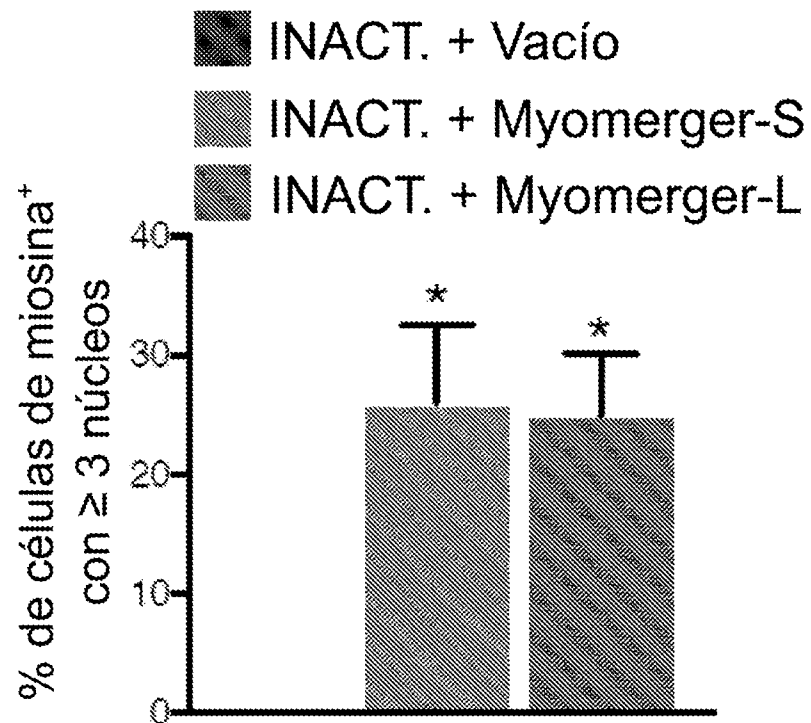
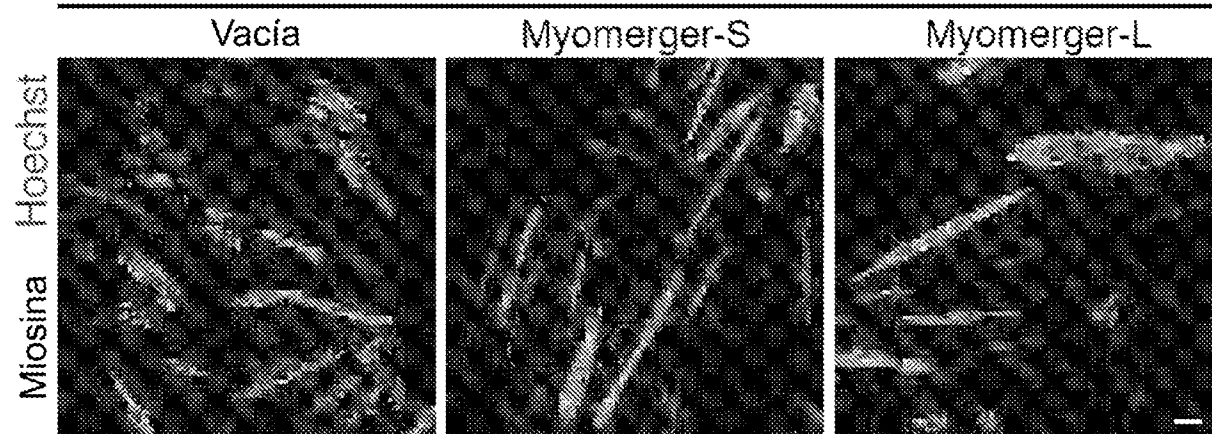


Figura 4

I

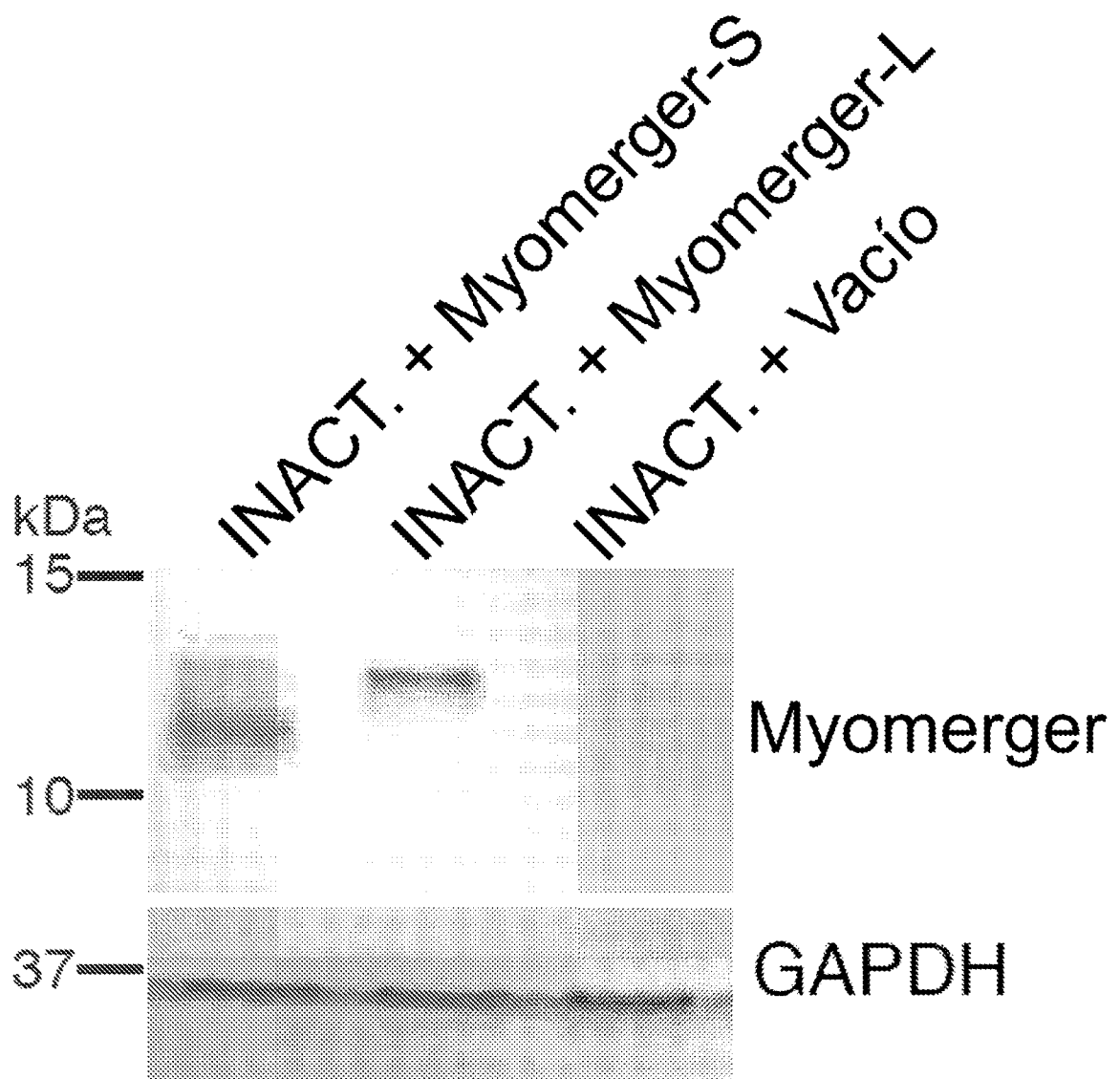


Figura 5

A

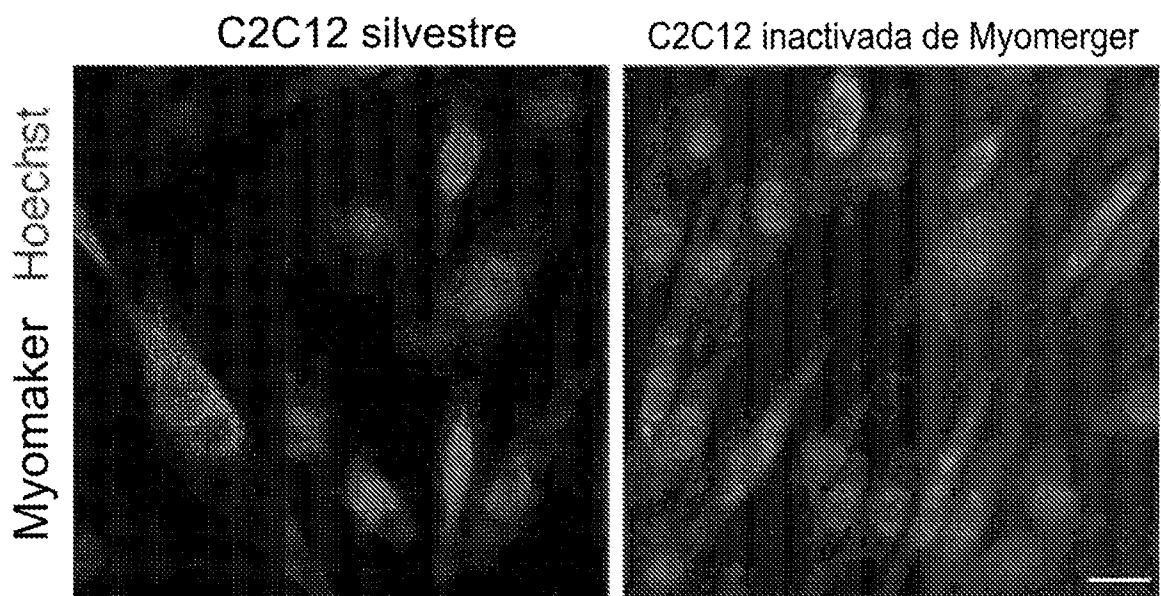


Figura 5

B

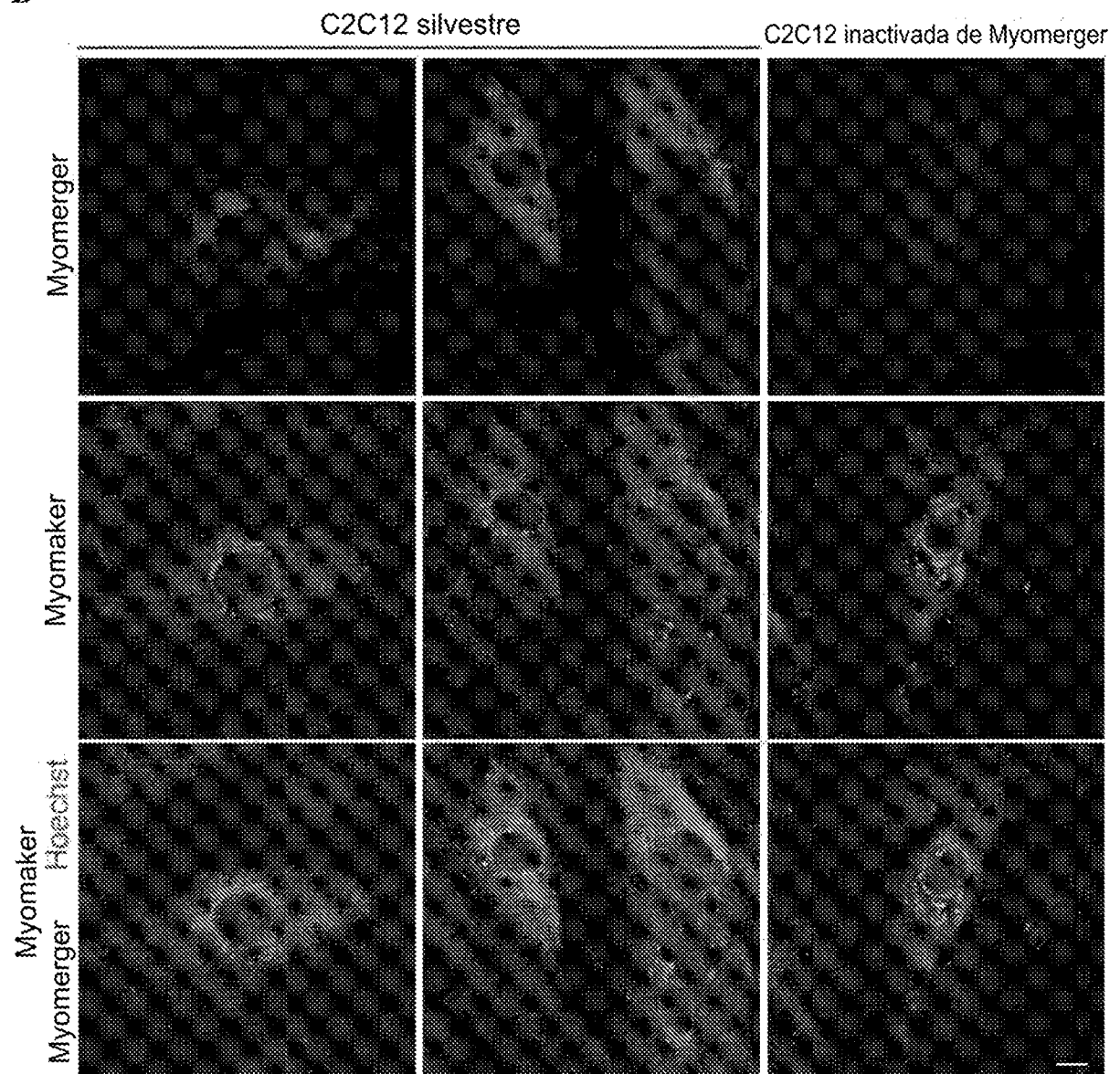
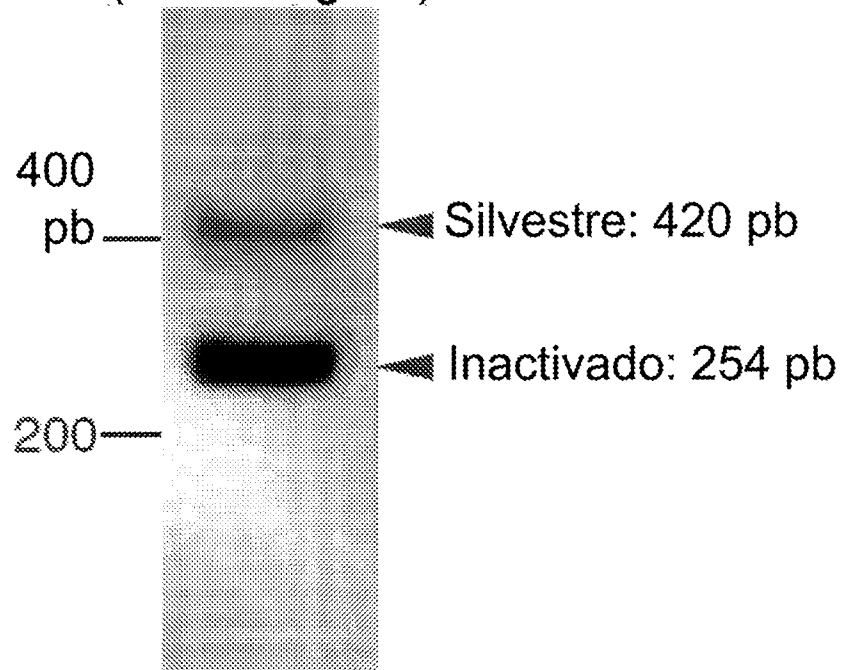


Figura 6

A

Fundador Myomerges
(heterocigoto)



B

Silvestre

Myomerges inactivada

E17.5

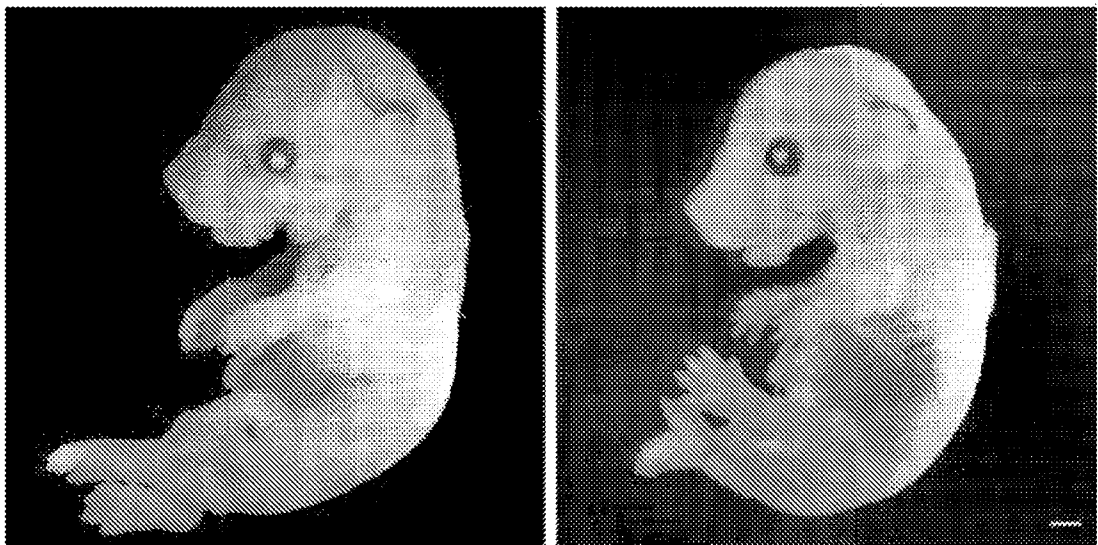
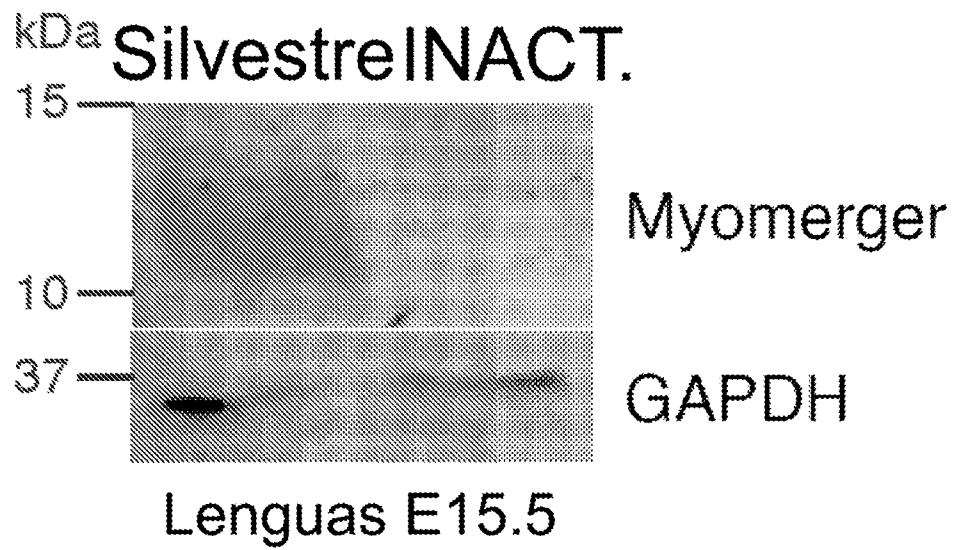


Figura 6

C



D

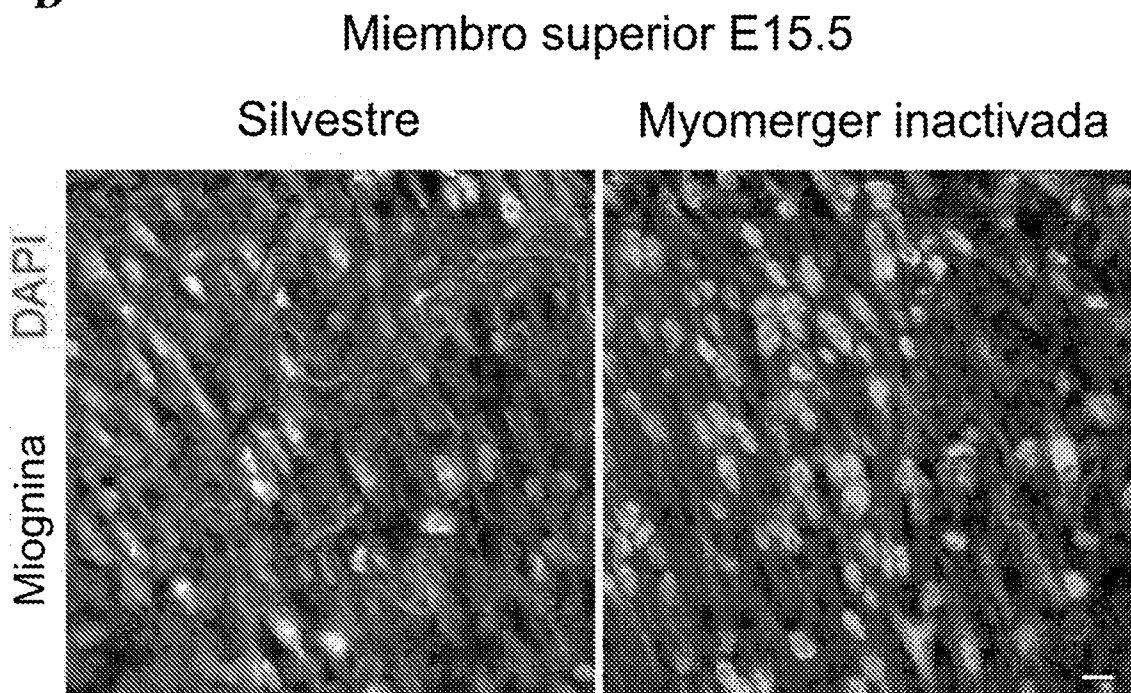
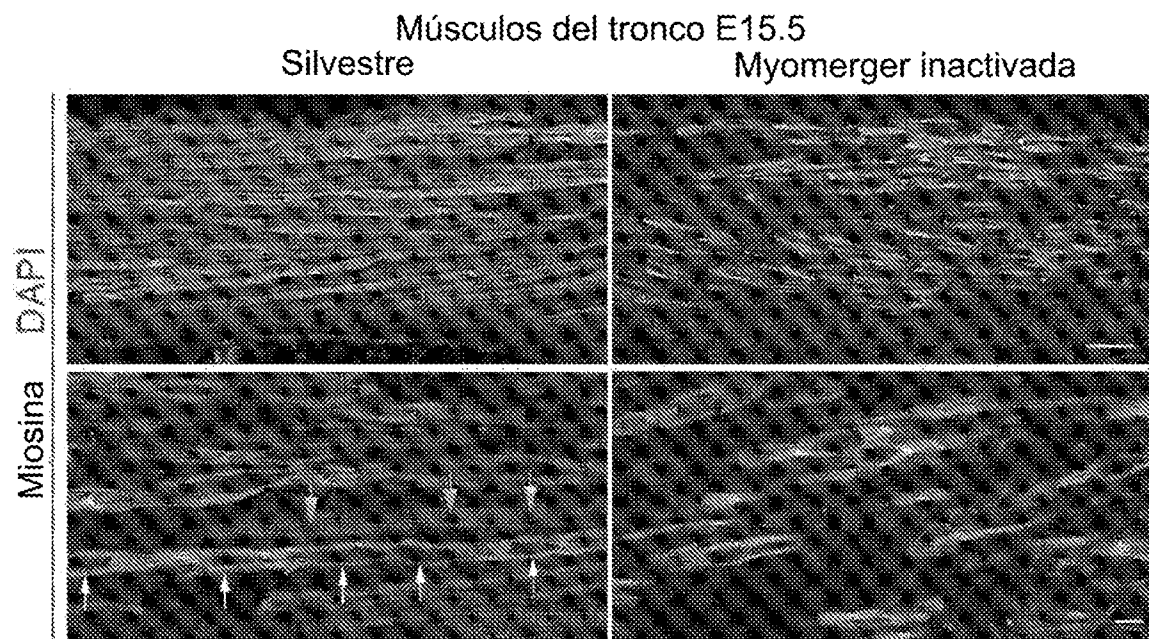


Figura 6

E



F

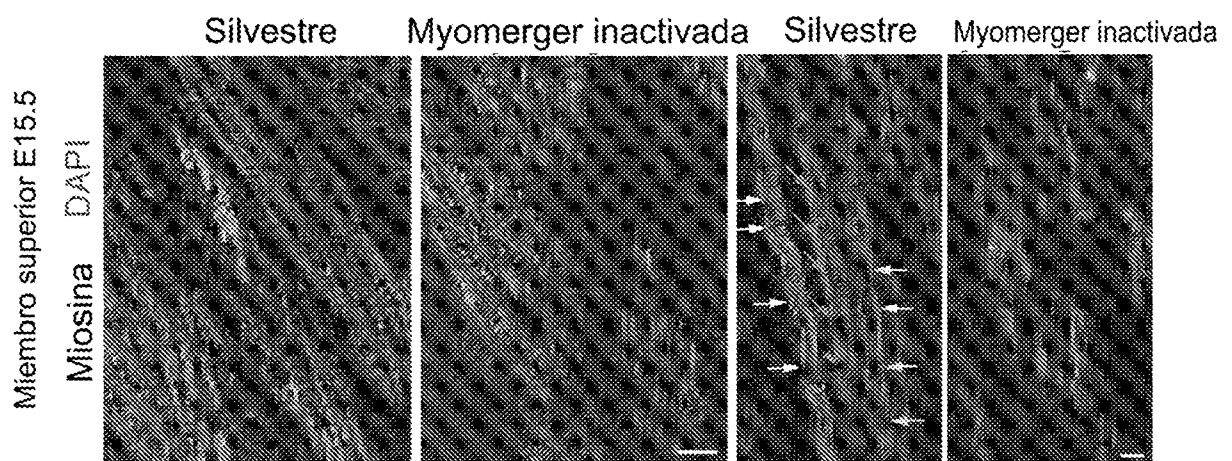


Figura 6

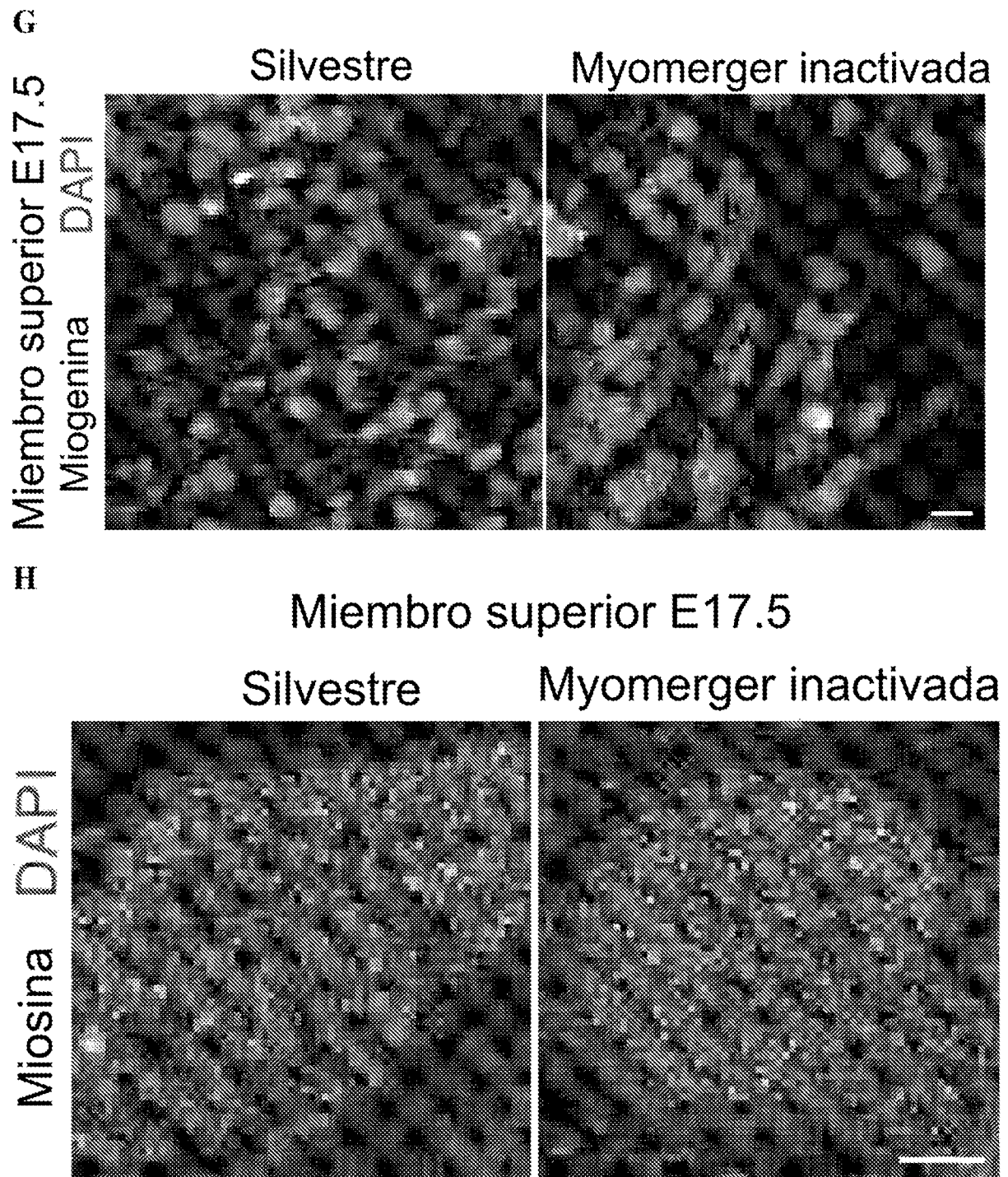


Figura 6

I

Miembro superior E17.5

