

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 885 684**

51 Int. Cl.:

**C12P 19/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.06.2015 PCT/FR2015/051557**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2015 WO15193588**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.06.2015 E 15732869 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.06.2021 EP 3158076**

54 Título: **Variantes de exoglucanasas con actividad mejorada y sus usos**

30 Prioridad:

**20.06.2014 FR 1455701**

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

**15.12.2021**

73 Titular/es:

**IFP ENERGIES NOUVELLES (33.3%)  
1 & 4 avenue de Bois-Préau  
92500 Rueil-Malmaison, FR;  
PROTEUS (33.3%) y  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (33.3%)**

72 Inventor/es:

**PERSILLON, CÉCILE;  
ULLMANN, CHRISTOPHE;  
AYRINHAC, CÉLINE;  
BONZOM, OLIVIER;  
MARGEOT, ANTOINE;  
MATHIS, HUGUES;  
FORT, SÉBASTIEN;  
ARMAND, SYLVIE y  
PRADEAU, STÉPHANIE**

74 Agente/Representante:

**VEIGA SERRANO, Mikel**

ES 2 885 684 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

Variantes de exoglucanasas con actividad mejorada y sus usos

5 **Sector de la técnica**

La posibilidad de producir etanol a partir de celulosa ha recibido mucha atención debido a la disponibilidad de grandes cantidades de materia prima, así como por el interés del etanol como carburante. Las materias primas naturales celulósicas para dicho proceso están indicadas por el término "biomasa". Numerosos tipos de biomasa, por ejemplo, 10 madera, residuos agrícolas, cultivos herbáceos y residuos sólidos municipales, se han considerado como materias primas potenciales para la producción de biocarburante. Estas materias están constituidas principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina.

15 **Estado de la técnica**

La celulosa es un polímero constituido por moléculas de glucosa unidas por enlaces beta 1-4, que son muy resistentes a la degradación o a la despolimerización. Una vez que la celulosa se convierte en glucosa, ésta es fácilmente fermentada en biocarburante, por ejemplo, etanol, utilizando una levadura.

20 Los métodos más antiguos estudiados para convertir la celulosa en glucosa se basan en la hidrólisis ácida. Ese proceso puede realizarse en presencia de ácidos concentrados o diluidos. No obstante, varios inconvenientes, tales como la deficiente recuperación del ácido cuando se utilizan ácidos concentrados y la baja producción de glucosa en el marco del uso de ácidos diluidos, son perjudiciales para la economía del proceso de hidrólisis ácida.

25 Para superar los inconvenientes del proceso de hidrólisis ácida, los procesos de conversión de la celulosa se han dirigido más recientemente a la hidrólisis enzimática, con la ayuda de enzimas de tipo celulasa. Esta hidrólisis enzimática de la biomasa lignocelulósica (por ejemplo, la celulosa) presenta, no obstante, el inconveniente de ser un procedimiento industrial costoso. Por ello, es necesario utilizar cepas de microorganismos secretores de celulasas 30 como hongos *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Humicola*, *Fusarium*, así como bacterias tales como *Thermomonospora*, *Bacillus*, *Cellulomonas* y *Streptomyces*. Las enzimas secretadas por estos microorganismos poseen tres tipos de actividades útiles en la conversión de celulosa en glucosa y se dividen en tres grupos: las endoglucanasas, que atacan las fibras de celulosas al azar de forma interna, las exoglucanasas que atacarán los extremos de las fibras liberando celobiosa y las beta-glucosidasas que hidrolizarán esta celobiosa en glucosa. Otras clases de enzimas tales como 35 hemicelulasas o la clase de enzimas recientemente descubierta de polisacáridos monooxigenasas también pueden desempeñar un papel en la eficacia de la hidrólisis.

Existe un gran interés industrial en reducir el costo de la hidrólisis enzimática, y esta reducción implica el uso de una dosis reducida de enzimas y, por tanto, cócteles enzimáticos más eficaces. En consecuencia, varias solicitudes de 40 patente describen enzimas naturales con capacidades superiores a las de *Trichoderma reesei*, o variantes mejoradas por ingeniería genética. Se pueden citar las solicitudes de patente US2010304464, WO2010066411, WO2014078546, WO2012149403 y WO2013029176 en lo concerniente a las exoglucanasas, las solicitudes WO2007109441, WO2012149192 y WO2010076388 en lo concerniente a las endoglucanasas, las solicitudes WO2010029259, WO2010135836 o WO2010022518 en lo concerniente a las beta-glucosidasas, o incluso las solicitudes WO12135659, 45 WO12149344 en lo concerniente a los polisacáridos monooxigenasas. También se pueden citar los siguientes números de acceso en lo concerniente a las exoglucanasas BBG53179, BAG13668. En cuanto a la referencia ASR93979, se describe una enzima que tiene una actividad lignocelulósica.

El número de acceso Uniprot I1RIJ1 hace referencia a una proteína que tiene una supuesta actividad glucanasa.

50 La solicitud de patente FR2782323 describe un procedimiento de producción *in vitro* de secuencias polinucleotídicas recombinadas.

La solicitud WO2014081884 describe proteínas secretadas modificadas.

55 Las enzimas que hidrolizan la biomasa lignocelulósica se clasifican en el sistema CAZy (Cantarel, B. L., Coutinho, P. M., Rancurel, C., Bernard, T., Lombard, V., y Henrissat, B. (2009). The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic acids research*, 37, D233-8) en criterios principalmente estructurales. Las exoglucanasas pueden pertenecer a las familias GH 6, 7, 9, 48 y 74.

60 Para que una hidrólisis de la biomasa lignocelulósica sea eficaz y económicamente rentable, la mezcla enzimática debe constar de proporciones equilibradas de enzimas que tienen actividades enzimáticas diversas, entre otras, pero no exclusivamente, del tipo exoglucanasas, endoglucanasas, xilanasas y beta-glucosidasas. Como ejemplo, en las mezclas nativas de *Trichoderma reesei*, se observa generalmente la presencia de 60-70 % de exoglucanasas, 15- 65 20 % de endoglucanasas, algunos porcentajes de hemicelulasas y aproximadamente 5-10 % de beta-glucosidasas. Esta mezcla es adecuada para hidrolizar la mayoría de sustratos pretratados (p. ej., tipo paja de trigo explotada al

vapor en condiciones ácidas) con rendimientos aceptables. La proporción ya considerable de exoglucanasas en la mezcla indica que será difícil aumentar la cantidad de estas enzimas sin perjudicar a las otras actividades. El genoma de *Trichoderma reesei* consta de dos exoglucanasas, una procedente de la familia 6 (CBH2, cel6a) y la otra procedente de la familia 7 (CBH1, Cel7a). Estas se hidrolizan en celobiosa, respectivamente, los extremos no reductores (EC3.2.1.176) y reductores (EC3.2.1.91) de la celulosa.

La hidrólisis y la fermentación se pueden llevar a cabo según diferentes esquemas. El más común consiste en una hidrólisis y una fermentación separadas (HFS) (SHF - *Separate Hydrolysis and Fermentation*). Este método permite optimizar cada etapa manteniendo condiciones óptimas de reacción. Esta fermentación se efectúa de manera extemporánea, a una temperatura comprendida entre aproximadamente 28 °C y aproximadamente 30 °C, mientras que la hidrólisis tiene lugar generalmente a una temperatura de al menos 45 °C. No obstante, en HFS, los azúcares liberados al final de la reacción están presentes a una concentración muy alta y producen una inhibición de las enzimas, ralentizando la eficacia del procedimiento. Para evitar estos inconvenientes, se puede considerar otro tipo de procedimiento. En la SFS, las dos etapas (hidrólisis y fermentación de hexosas) tienen lugar de manera simultánea, evitando la acumulación de azúcares en concentraciones inhibitorias para las enzimas. Los costos de inversión también se reducen gracias al uso de un solo reactor. La tasa de hidrólisis es más elevada en respuesta a la ausencia de inhibición ya que los azúcares liberados se utilizan inmediatamente para la fermentación de etanol. En este método, la temperatura del reactor constituye necesariamente un término medio entre las temperaturas óptimas de hidrólisis y fermentación, normalmente entre aproximadamente 30 °C y aproximadamente 35 °C. No obstante, a tal temperatura, la actividad de las enzimas celulolíticas disminuye un 30 % aproximadamente.

La SFS también permite la expresión de enzimas que degradan la celulosa en el organismo que fermenta los azúcares, lo que permite limitar, o en un caso extremo, suprimir el uso de enzimas producidas en una etapa separada.

En consecuencia, la obtención de enzimas que mantienen una actividad exoglucanasa eficaz a temperaturas óptimas de hidrólisis y fermentación (es decir, entre 30 °C y 50 °C), mientras se mantiene la proporción del conjunto de enzimas de la mezcla, sería una ganancia significativa para el procedimiento de conversión de biomasa lignocelulósica en biocarburante.

### Objeto de la invención

Los inventores han desarrollado un polipéptido que tiene una actividad exoglucanasa mejorada, en concreto con respecto a la actividad exoglucanasa de la proteína de referencia CBH2 de secuencia SEQ ID NO: 2. CBH2 corresponde a la exoglucanasa 2 de *Trichoderma reesei*.

Para ello, los solicitantes han tenido el gran mérito de encontrar, después de numerosas investigaciones, un polipéptido aislado o purificado que tiene una actividad exoglucanasa mejorada con respecto a la actividad exoglucanasa de la proteína de referencia CBH2 (SEQ ID NO: 2).

La descripción se refiere por tanto a un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en:

i. una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 14 SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26 y SEQ ID NO: 28; y

ii. una secuencia de aminoácidos que presenta un porcentaje de residuos idénticos con respecto a la secuencia SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 14 SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26 y SEQ ID NO: 28, (porcentaje de identidad), de al menos 70 %, preferentemente de al menos 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 %.

La invención está definida por las reivindicaciones.

Preferentemente, el polipéptido descrito anteriormente se caracteriza por que su expresión en un organismo fermentativo es al menos igual a la expresión de la proteína de referencia CBH2 (SEQ ID NO: 2).

Según la invención, el porcentaje de identidad de una secuencia dada con respecto a SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 o 28 corresponde al número de residuos idénticos entre esta secuencia dada y SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 o 28 dividido por el número de residuos en SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 o 28.

El polipéptido de la invención tiene una actividad exoglucanasa mejorada de al menos 10 %, preferentemente de al menos 20 %, preferentemente de al menos 30 %, incluso más preferentemente de al menos 40 %, a una temperatura de aproximadamente 35 °C y/o aproximadamente 50 °C, con respecto a la actividad exoglucanasa del polipéptido CBH2 de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2.

Los expertos en la materia podrán, por ejemplo, determinar el aumento, o en otras palabras, la mejora de la actividad enzimática ya sea usando un sustrato como la celulosa Avicel®, la celulosa PASC o con un sustrato cromogénico (p-

nitrofenil glicósido), por ejemplo, pNP lactosa. La actividad enzimática se revelará, respectivamente, por un ensayo colorimétrico de los azúcares reductores o bien del nitrofenol liberado.

5 Un ejemplo de protocolo que un experto en la materia podrá utilizar para determinar si un polipéptido según la invención presenta una actividad enzimática mejorada con respecto a la de la proteína de referencia CBH2 (SEQ ID NO: 2), es el siguiente:

- preparación de un cultivo madre de *Y. lipolytica* que expresa una enzima recombinante según la invención durante toda la noche a 28 °C;
- 10 - siembra de un medio de expresión con un volumen de cultivo madre que permite tener una densidad óptica a 600 nm igual a 0,2 al inicio del cultivo;
- cultivo de dichas células a 28 °C durante 96 horas;
- 15 - centrifugación a 8000 rpm durante 5 minutos;
- incubación de 100 µl de sobrenadante con 100 µl de tampón citrato fosfato 0,1 M pH 6 que contiene 1 % de celodextrinas (CD) reducidas durante 4 horas a 35 °C y 50 °C;
- 20 - extracción de 100 µl de reacción;
- adición de 100 µl de reactivo DNS;
- incubación durante 5 minutos a 100 °C;
- 25 - incubación durante 3 minutos en hielo;
- centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm;
- 30 - lectura de la DO a 540 nm en 150 µl.

La invención también tiene por objeto un ácido nucleico purificado o aislado que codifica al menos un polipéptido como se ha descrito anteriormente según la invención La TABLA 1 a continuación comprende las identificaciones de las secuencias nucleicas y peptídicas del gen de referencia CBH2 de *T. reesei*, las supuestas exoglucanasas de *Nectria haematococca* (NH) y de *Giberella zeae* (GZ), así como de los polipéptidos y polinucleótidos de la invención.

**TABLA 1**

Clones	Ácido nucleico	Polipéptido
CBH2 (salvaje)	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2
35B7	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
95B7	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
100F11	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
139F12	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 10
157B11	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12
161A1	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14
161C12	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 16
189H8	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
196D9	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20
198E11	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 22
251B4	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 24
251C4	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
382A2	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
Gen GZ	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 30
Gen NH-7	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32

40 La invención también tiene por objeto un ácido nucleico purificado o aislado que codifica al menos un polipéptido como se ha descrito anteriormente, según la invención.

Preferentemente, dicho ácido nucleico purificado o aislado se puede seleccionar entre las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25 y SEQ ID NO: 27.

Según la invención, el ácido nucleico como se ha descrito anteriormente puede unirse operativamente a un promotor, un terminador o cualquier otra secuencia necesaria para su expresión en una célula hospedadora.

5 La invención también trata sobre un vector que comprende al menos un ácido nucleico como se ha descrito anteriormente, según la invención.

Según la invención, se entiende por "vector" cualquier secuencia de ADN en la cual es posible insertar fragmentos de un ácido nucleico foráneo, permitiendo los vectores introducir ADN foráneo en una célula hospedadora. Se puede citar de manera no exhaustiva como vectores: plásmidos, cósmidos, cromosomas artificiales de levaduras (YAC),  
10 cromosomas artificiales de bacterias (BAC), cromosomas artificiales derivados del bacteriófago P1 (PAC) o vectores derivados de virus.

El vector según la invención podrá portar igualmente un marcador de selección. Se entiende por "marcador de selección" un gen cuya expresión confiere a las células que lo contienen una característica que permite seleccionarlas.  
15 Se trata, por ejemplo, de un gen de resistencia a los antibióticos.

La invención tiene también por objeto una célula hospedadora aislada que comprende al menos uno de los polipéptidos como se ha descrito previamente, según la invención, al menos uno de los ácidos nucleicos como se ha descrito anteriormente, según la invención, o al menos uno de los vectores como se ha descrito anteriormente, según la  
20 invención.

Los expertos en la materia podrán introducir uno de los polipéptidos, uno de los ácidos nucleicos o uno de los vectores, tales como los descritos anteriormente, en la célula huésped, por métodos convencionales bien conocidos. Por ejemplo, se puede citar el tratamiento con cloruro de calcio, la electroporación, el uso de una pistola de partículas.  
25

Según un modo de realización, el experto en la materia podrá introducir en la célula huésped y por métodos convencionales, varias copias de un ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una actividad exoglucanasa mejorada según la invención.

30 Según un modo de realización, la célula hospedadora aislada como se ha descrito anteriormente según la invención se selecciona entre *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Neurospora*, *Humicola*, *Myceliophthora*, *Chrysosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Thermomonospora*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Streptomyces*, *Yarrowia*, *Pichia* y *Saccharomyces*.

35 Según un modo de realización preferido, la célula hospedadora aislada como se ha descrito anteriormente según la invención se selecciona entre *TTrichoderma reesei*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma koningii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus phoenicis*, *Myceliophthora thermopila*, *Chrysosporium lucknowense*, *Neurospora crassa*, *Humicola grisea*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium oxalicum*, *Escherichia coli*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium saccharolyticum*, *Clostridium benjerinckii*, *Clostridium butylicum*, *Pichia pastoris*, *Yarrowia lipolytica* y *Saccharomyces cerevisiae*.  
40

Según un modo de realización preferido, la célula hospedadora aislada como se ha descrito anteriormente según la invención se selecciona entre *Trichoderma reesei* y *Saccharomyces cerevisiae*.

45 La invención también tiene por objeto el uso de uno cualquiera de los polipéptidos de descritos anteriormente, según la invención, para la hidrólisis de celulosa.

La invención también tiene por objeto el uso de uno cualquiera de los polipéptidos de descritos anteriormente, según la invención, para la producción de biocarburante.  
50

Según la invención, el término biocarburante puede definirse como cualquier producto procedente de la transformación de biomasa y que puede ser utilizado con fines energéticos. Por un lado, y sin pretender limitar, se pueden citar, como ejemplo de biogás, productos que pueden ser incorporados (eventualmente después de una transformación posterior) a un carburante o ser un carburante por sí mismos, tales como alcoholes (etanol, butanol y/o isopropanol, según el tipo de organismo fermentativo utilizado), disolventes (acetona), ácidos (butírico), lípidos y sus derivados (ácidos grasos de cadena corta o larga, ésteres de ácidos grasos), así como hidrógeno.  
55

De manera preferente, el biocarburante según la invención es un alcohol, por ejemplo, etanol, butanol y/o isopropanol. Más preferentemente, el biocarburante según la invención es etanol.  
60

En otro modo de realización, el biocarburante es biogás.

En otro modo de realización, el producto es una molécula de interés para la industria química, como, por ejemplo, otro alcohol tal como 1,2-propanodiol, 1,3-propanodiol, 1,4-butanodiol, 2,3-butanodiol, ácidos orgánicos como ácido acético, propiónico, acrílico, butírico, succínico, málico, fumárico, cítrico, itacónico o hidroxiácidos como ácido glicólico, hidroxipropiónico o láctico.  
65

A continuación se describe un modo de realización de producción de un cóctel enzimático útil para la hidrólisis de lignocelulosa.

5 Las cepas de hongos filamentosos, preferentemente *Trichoderma*, más preferentemente *T. reesei*, capaces de expresar al menos un polipéptido según la invención se cultivan en fermentadores, en presencia de un sustrato de carbono, tal como lactosa o glucosa, seleccionado para el crecimiento del microorganismo. En un modo de realización, este sustrato de carbono, según su naturaleza, se introduce en el fermentador antes de la esterilización o se esteriliza por separado y se introduce en el fermentador después de la esterilización de este último para obtener una  
10 concentración inicial de 20 a 35 g/l.

Luego se añade una solución acuosa que contiene el sustrato seleccionado para la producción de las enzimas. Una composición enzimática que actúa sobre la biomasa lignocelulósica producida por los hongos se recupera finalmente por filtración del medio de cultivo. En esta composición, se encuentran, en concreto, beta-glucosidasa, endoglucanasa y exoglucanasa según la invención.  
15

En un modo de realización, la solución acuosa que contiene el sustrato seleccionado para la producción de las enzimas se prepara a una concentración de 200-250 g/l. Esta solución contiene además preferentemente un sustrato inductor tal como lactosa. Esta solución acuosa se inyecta después del agotamiento del sustrato de carbono inicial para proporcionar una cantidad optimizada, comprendida entre 35 y 45 mg/g de células ("fed batch" (proceso semicontinuo)). Durante esta fase de "proceso semicontinuo", la concentración residual de azúcar en el medio de cultivo es inferior a 1 g/l y las enzimas que actúan sobre la biomasa lignocelulósica son secretadas por el hongo. Estas últimas pueden recuperarse por filtración del medio de cultivo.  
20

25 La invención tiene por objeto una composición enzimática apta para actuar sobre la biomasa lignocelulósica, produciéndose dicha composición enzimática por hongos filamentosos y comprendiendo al menos un polipéptido que tiene una actividad exoglucanasa mejorada con respecto a la actividad exoglucanasa de la proteína de referencia CBH2. Por "hongos filamentosos", se entiende en concreto *Trichoderma*, más preferentemente *T. reesei*.

30 Finalmente, la invención tiene por objeto un procedimiento de producción de biocarburante a partir de biomasa que comprende las siguientes etapas sucesivas:

- se pone en suspensión en fase acuosa la biomasa a hidrolizar;
  - se hidroliza la biomasa lignocelulósica en presencia de una composición enzimática como se ha descrito anteriormente para producir un hidrolizado que contiene glucosa;
  - se fermenta en presencia de un organismo fermentativo la glucosa del hidrolizado para producir un mosto de fermentación;
  - se separa el biocarburante del mosto de fermentación.
- 35

40 En un modo de realización, la biomasa a hidrolizar se pone en suspensión en fase acuosa a razón de 6 a 40 % de materia seca, preferentemente de 20 a 30 %. El pH se regula entre 4 y 5,5, preferentemente entre 4,8 y 5,2 y la temperatura entre 40 °C y 60 °C, preferentemente entre 45 °C y 50 °C. La reacción de hidrólisis se inicia por la adición de la composición enzimática que actúa sobre la biomasa lignocelulósica; la cantidad habitualmente utilizada es de 10 a 30 mg de proteínas excretadas por gramo de sustrato pretratado o menos. La reacción dura generalmente de 15 a  
45 48 horas. La reacción es seguida por un análisis de los azúcares liberados, en concreto la glucosa. La solución de azúcares se separa de la fracción sólida no hidrolizada, constituida esencialmente de lignina, por filtración o centrifugación y luego se trata en una unidad de fermentación.

Después de la etapa de fermentación, el biocarburante se separa del mosto de fermentación, por ejemplo, por  
50 destilación.

Otro objeto de la invención es un procedimiento de producción de biocarburante a partir de la biomasa, caracterizado por que comprende las siguientes etapas sucesivas:

- se pone en suspensión en fase acuosa la biomasa a hidrolizar;
  - se añade simultáneamente a la suspensión una composición enzimática que actúa sobre la biomasa lignocelulósica como se ha definido anteriormente, y un organismo fermentativo y se fermenta la mezcla para producir un mosto de fermentación;
  - se separa el biocarburante del mosto de fermentación.
- 55

60 Preferentemente, la composición enzimática y el organismo fermentativo se añaden simultáneamente y luego se incuban a una temperatura comprendida entre 30 °C y 35 °C para producir un mosto de fermentación.

65 Según este modo de realización, la celulosa presente en la biomasa se convierte en glucosa, y al mismo tiempo, en el mismo reactor, el organismo fermentativo (por ejemplo, una levadura) convierte la glucosa en el producto final según un procedimiento de SFS (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*, sacarificación y fermentación

simultáneas) conocido por los expertos en la materia. Según las capacidades metabólicas e hidrolíticas del organismo fermentativo, el buen desarrollo de la operación puede requerir la adición de una cantidad mayor o menor de mezcla celulolítica exógena.

- 5 En otro modo de realización, el organismo fermentativo produce el polipéptido objeto de la invención por secreción o en la superficie de su célula, opcionalmente junto con otras enzimas que actúan sobre la biomasa lignocelulósica, limitando o suprimiendo así la necesidad de enzimas producidas por el hongo filamentoso. Preferentemente, el organismo fermentativo es una célula hospedadora como se ha descrito anteriormente, según la invención.
- 10 Preferentemente, las células hospedadoras con la composición enzimática y/o el organismo fermentativo, se añaden y luego se incuban a una temperatura comprendida entre 30 °C y 35 °C para producir un mosto de fermentación.

El uso del polipéptido que presenta una mejor actividad exoglucanasa según la presente invención presenta así la ventaja de obtener un mejor rendimiento de producción de glucosa mientras se emplea menos enzima que antes, lo que también presenta una ventaja económica.

### Descripción de las figuras

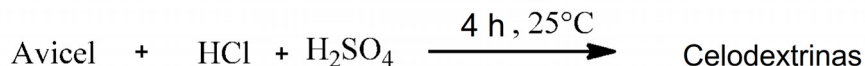
Otros aspectos, objetos, ventajas y características de la invención, se presentarán tras la lectura de la siguiente descripción no restrictiva y que describe modos de realización preferidos de la invención dados mediante ejemplos y figuras.

La Figura 1 es un espectro de masas MALDI-TOF que representa las celodextrinas DP3 a DP11 utilizadas para el cribado.

### Descripción detallada de la invención

#### **EJEMPLO 1: Preparación de celodextrinas reducidas (DP 3-11)**

30 **1- Hidrólisis de la celulosa** (Adaptado de Y-H. Percival Zhang, L. R. Lynd Analytical Biochemistry 322 (2003), 225-232.)



35 20 g de celulosa (Avicel. Número CAS 9004-34-6, Sigma-Aldrich Saint-Quentin Fallavier) se añaden por porciones y con agitación vigorosa a 160 ml de una solución enfriada a 0 °C de ácido clorhídrico. Ácido sulfúrico, previamente enfriado, se añade a la solución varias veces (4 x 10 ml). La reacción se mantiene en agitación durante 4 horas a 25 °C antes de verterse en 1,8 l de acetona enfriada a -20 °C. Después de 2 horas de agitación, el precipitado se filtra, se recoge en 400 ml de acetona enfriada y luego se filtra de nuevo. A continuación, se recoge el sólido en 600 ml de agua, y luego se agita durante una noche para solubilizar las celodextrinas. Después de la filtración del sólido, la fracción soluble que contiene las celodextrinas se neutraliza con 300 g de resina Amberlite IRA 400 OH<sup>-</sup>, y luego se liofiliza. El liofilizado se resuspendió después en 500 ml de metanol en presencia de ultrasonidos durante 30 minutos para solubilizar los azúcares de bajo peso molecular antes de filtrarse y después de liofilizarse de nuevo para dar lugar a 6,8 g de celodextrinas de DP 3-11.

45 Para el cribado, se eligió trabajar con sustratos de mayor peso molecular posible para imitar mejor la estructura de la celulosa. Pero las celodextrinas de alto peso molecular no son solubles, lo que impide una buena reproducibilidad de las pruebas.

50 Por tanto, se seleccionó una gama de celodextrinas de DP 5-7, lo que representa un buen término medio entre el alto peso molecular requerido y la solubilidad de las celodextrinas.

La Figura 1 presenta un espectro de masas MALDI-TOF normalmente obtenido según el procedimiento descrito anteriormente.

55 La Figura 1 muestra que los oligosacáridos aislados son en su mayor parte de DP 5-7.

#### **2- Reducción de celodextrinas**

60 Se añaden 400 mg de borohidruro de sodio a 2 g de celodextrinas DP 3-11 diluidos en 120 ml de agua. Después de 3 horas de agitación a temperatura ambiente, la solución se neutraliza por adición de resina Amberlite H<sup>+</sup> IR 120, se filtra, y luego se liofiliza, para dar lugar a 2 g de celodextrinas reducidas de manera cuantitativa. (C. Schou, G. Rasmussen, M-B. Kalltoft, B. Henrissat, M. Schulein Eur. J. Biochem. 217, 947-953 (1993)).

Un análisis con BCA (ácido bicinconínico) de las celodextrinas aisladas permite verificar la reducción total de los extremos reductores (Y.-H. Percival Zhang, L. R. Lynd Biomacromolecules 2005, 6, 1510-1515).

## 5 **EJEMPLO 2: evolución por transposición en L**

La secuencia del gen de la celobiohidrolasa 2 de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 1) se sometió a un giro de transposición en L según el procedimiento patentado descrito en la patente EP1104457 con los genes de una supuesta exoglucanasa de *Gibellera zeae* PH-1 (SEQ ID NO: 29) y de una proteína hipotética NECHADRAFT\_73991 de *Nectria haematococca* mpVI (SEQ ID NO: 31) que presentan respectivamente un 63 % y 69 % de homología con el gen parental CBH2 (SEQ ID NO: 1). La secuencia nucleica que codifica al péptido señal (SEQ ID NO: 33) se deletionó durante la clonación y se reemplazó por la de la levadura, de secuencia SEQ ID NO: 34 (secuencia del péptido señal correspondiente: SEQ ID NO: 35).

### 15 **1- Cribado de alto rendimiento**

Se desarrolló una prueba de cribado de alto rendimiento a fin de seleccionar los mejores clones procedentes de la transposición en L, es decir, aquellos que presentan al menos un 20 % de mejora de la actividad celobiohidrolasa con respecto a la enzima de referencia CBH2 (SEQ ID NO: 2).

La prueba de cribado de alto rendimiento se realizó según las siguientes etapas:

- aislamiento en agar de clones de *Y. lipolytica* que expresan las variantes de la transposición en L de la enzima según la invención y precultivados en medio YNBcasa (base de nitrógeno y levadura 1,7 g/l, NH<sub>4</sub>Cl 10 g/l, glucosa 10 g/l, casaminoácidos 2 g/l, pH7) de dichas colonias durante 36 horas a 28 °C;
- inoculación de un medio YTD (extracto de levadura 10 g/l, triptona 20 g/l, glucosa 2,5 g/l, pH 6,8) con tetraciclina añadida a 12,5 µg/ml al 5 % con el precultivo y luego incubación durante 20 horas a 28 °C;
- inoculación del medio de expresión que contiene el inductor (ácido oleico) a razón de 20 g/l al 10 % con el cultivo precedente y luego incubación durante 96 horas a 28 °C;
- centrifugación durante 5 minutos a 1500 rpm;
- extracción de 100 µl de sobrenadante;
- adición de 100 µl de CD reducidas a 1 g/l en tampón citrato fosfato 0,1 M a pH 6;
- incubación durante 24 horas a 35 °C;
- centrifugación durante 5 minutos a 2500 rpm;
- extracción de 80 µl de sobrenadante;
- adición de 80 µl de reactivo DNS;
- incubación durante 12 minutos a 105 °C y luego 5 minutos en hielo;
- lectura de la densidad óptica (DO) a 540 nm en 120 µl.

En estas condiciones de cribado, se ha descubierto una mejora de la actividad celobiohidrolasa (aumento de la DO a 540 nm) con respecto a la enzima de referencia CBH2 (SEQ ID NO: 2) en varios clones. Entre estos clones se pueden citar los clones 35B7, 95B7, 100F11, 139F12, 157B11, 161A1, 161C12, 189H8, 196D9, 198E11, 251B4, 251C4 y 382A2, que codifican respectivamente las enzimas SEQ ID NO :4, SEQ ID NO :6, SEQ ID NO :8, SEQ ID NO :10, SEQ ID NO :12, SEQ ID NO :14, SEQ ID NO :16, SEQ ID NO :18, SEQ ID NO :20, SEQ ID NO :22, SEQ ID NO :24, SEQ ID NO :26 y SEQ ID NO :28.

## **2- Determinación de la mejora de la actividad celobiohidrolasa**

### **2-1/ Sobre el sustrato celodextrinas reducidas**

A fin de estimar la kcat relativa de las variantes seleccionadas en el primer giro de transposición en L con respecto a la enzima de referencia CBH2 (SEQ ID NO: 2), se procede de la siguiente manera:

- preparación de un cultivo madre de *Y. lipolytica* que expresa una enzima recombinante según la invención durante toda la noche a 28 °C;
- siembra de un medio de expresión con un volumen de cultivo madre que permite tener una densidad óptica a 600 nm igual a 0,2 al inicio del cultivo;
- cultivo de dichas células a 28 °C durante 96 horas;
- centrifugación a 8000 rpm durante 5 minutos;
- incubación de 100 µl de sobrenadante con 100 µl de tampón citrato fosfato 0,1 M pH 6 que contiene 1 % de CD reducidas durante 4 horas a 35 °C y 50 °C;
- extracción de 100 µl de reacción;
- adición de 100 µl de reactivo DNS;
- incubación durante 5 minutos a 100 °C;
- incubación durante 3 minutos en hielo;
- centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm;

- lectura de la densidad óptica a 540 nm en 150  $\mu$ l.

Según la invención, el cálculo de las kcat se realiza de la siguiente manera:

- 5
- trazado de la curva de las DO a 540 nm en función del volumen de sobrenadante de cultivo en el ensayo (en nM);
  - resta del valor del control negativo;
  - división por el coeficiente del intervalo patrón de glucosa (se revelan diferentes cantidades de glucosa con el DNS);
  - división por el tiempo de reacción (240 minutos).

10 La TABLA 2 presenta el valor de las kcat así como los factores de mejora obtenidos para los clones 35B7, 95B7, 100F11, 139F12, 157B11, 161A1, 161C12, 189H8, 196D9, 198E11, 251B4, 251C4 y 382A2 que codifican respectivamente las enzimas SEQ ID NO :4, SEQ ID NO :6, SEQ ID NO :8, SEQ ID NO :10, SEQ ID NO :12, SEQ ID NO :14, SEQ ID NO :16, SEQ ID NO :18, SEQ ID NO :20, SEQ ID NO :22, SEQ ID NO :24, SEQ ID NO :26 y SEQ ID NO :28 con respecto a proteína de referencia CBH2 (SEQ ID NO :2) en estas condiciones experimentales.

15 **TABLA 2: mejora de la actividad celobiohidrolasa sobre CD reducidas**

	Clon	35 °C		50 °C	
		Kcat (min <sup>-1</sup> )	Factor de mejora	Kcat (min <sup>-1</sup> )	Factor de mejora
<b>Clones del primer giro</b>	<b>35B7</b>	0,166	3,8	0,2345	1,6
	<b>95B7</b>	0,287	6,6	0,715	4,8
	<b>100F11</b>	0,0508	1,2	0,1375	0,9
	<b>139F12</b>	0,1719	3,9	0,2328	1,6
	<b>157B11</b>	0,113	2,6	0,2061	1,4
	<b>161A1</b>	0,0577	1,3	0,1175	0,8
	<b>161C12</b>	0,1086	2,5	0,2162	1,4
	<b>189H8</b>	0,0872	2,0	0,1792	1,2
	<b>196D9</b>	0,1055	2,4	0,1969	1,3
	<b>198E11</b>	0,1218	2,8	0,1757	1,2
	<b>251B4</b>	0,0495	1,1	0,0865	0,6
	<b>251C4</b>	0,0623	1,4	0,1315	0,9
<b>382A2</b>	0,315	7,2	0,552	3,7	
<b>Proteína de referencia</b>	<b>cbh2</b>	0,0436	1	0,1501	1

20 Los resultados muestran una mejora de actividad enzimática con respecto a la enzima de referencia CBH2 (SEQ ID No :2) para los clones 35B7, 95B7, 100F11, 139F12, 157B11, 161A1, 161C12, 189H8, 196D9, 198E11, 251B4, 251C4 y 382A2 que codifican respectivamente las enzimas SEQ ID NO :4, SEQ ID NO :6, SEQ ID NO :8, SEQ ID NO :10, SEQ ID NO :12, SEQ ID NO :14, SEQ ID NO :16, SEQ ID NO :18, SEQ ID NO :20, SEQ ID NO :22, SEQ ID NO :24, SEQ ID NO :26 y SEQ ID NO :28 tanto a 35 °C como a 50 °C.

## 2-2/ Sobre el sustrato Avicel

25 La mejora de actividad de los clones 35B7, 95B7, 100F11, 139F12, 157B11, 161A1, 161C12, 189H8, 196D9, 198E11, 251B4, 251C4 y 382A2 que codifican respectivamente las enzimas SEQ ID NO :4, SEQ ID NO :6, SEQ ID NO :8, SEQ ID NO :10, SEQ ID NO :12, SEQ ID NO :14, SEQ ID NO :16, SEQ ID NO :18, SEQ ID NO :20, SEQ ID NO :22, SEQ ID NO :24, SEQ ID NO :26 y SEQ ID NO :28 se confirmó a continuación sobre un segundo sustrato: Avicel.

30 La determinación de la mejora de la actividad sobre este sustrato se efectuó como una medición de punto final según el siguiente protocolo

- 35
- preparación de un cultivo madre de *Y. lipolytica* que expresa una enzima recombinante según la invención durante toda la noche a 28 °C;
  - siembra de un medio de expresión con un volumen de cultivo madre que permite tener una densidad óptica a 600 nm igual a 0,2 al inicio del cultivo;
  - cultivo de dichas células a 28 °C durante 96 horas;
  - centrifugación a 8000 rpm durante 5 minutos;

- incubación de 100 µl de sobrenadante con 100 µl de tampón citrato fosfato 0,1 M pH 6 que contiene 1 % de Avicel durante 18 horas a 35 °C y 50 °C;
- extracción de 100 µl de reacción;
- adición de 100 µl de reactivo DNS;
- 5 - incubación durante 5 minutos a 100 °C;
- incubación durante 3 minutos en hielo;
- centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm;
- lectura de la densidad óptica a 540 nm en 150 µl.

10 La tabla 3 presenta el valor de las DO a 540 nm (después de restar el valor del control negativo) así como el factor de mejora obtenido de los clones 35B7, 95B7, 100F11, 139F12, 157B11, 161A1, 161C12, 189H8, 196D9, 198E11, 251B4, 251C4 y 382A2 en estas condiciones experimentales.

**TABLA 3: mejora de la actividad celobiohidrolasa sobre Avicel**

	Clon	35 °C		50 °C	
		Delta DO 540 nm	Factor de mejora	Delta DO 540 nm	Factor de mejora
Clones del primer giro	35B7	0,0617	1,0	0,0948	0,8
	95B7	0,0396	0,6	0,0555	0,4
	100F11	0,038	0,6	0,0159	0,1
	139F12	0,06	0,9	0,0365	0,3
	157B11	0,0456	0,7	0,0319	0,3
	161A1	0,0508	0,8	0,0237	0,2
	161C12	0,0564	0,9	0,0595	0,5
	189H8	0,0676	1,0	0,0573	0,5
	196D9	0,0565	0,9	0,0874	0,7
	198E11	0,0867	1,3	0,0546	0,4
	251B4	0,0765	1,2	0,0622	0,5
	251C4	0,063	1,0	0,0889	0,7
	382A2	0,2476	3,8	0,2256	1,8
<b>Proteína de referencia</b>	<b>cbh2</b>	0,0644	1	0,1252	1

15 Los resultados de la tabla 3 muestran una mejora de la actividad enzimática con respecto a la enzima de referencia CBH2 (SEQ ID NO: 2) para los clones 198E11 y 251B4 (respectivamente SEQ ID NO: 22 y 24) así como una mejora de la actividad enzimática con respecto a la enzima de referencia CBH2 (SEQ ID NO :2) a 35 °C y a 50 °C para el clon 382A2 (SEQ ID NO: 28).

20 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> IFP Energies Nouvelles *et al*

<120> VARIANTES DE EXOGLUCANASAS CON ACTIVIDAD MEJORADA Y SUS USOS

25

<130> BFF140338

<160> 35

30

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1413

35

<212> ADN

<213> *Trichoderma reesei*

ES 2 885 684 T3

<400> 1

atgattgtcg gcattctcac cacgctggct acgctggcca cactcgcagc tagtgtgcct	60
ctagaggagc ggcaagcttg ctcaagcgtc tggggccaat gtggtggcca gaattggctg	120
ggtccgactt gctgtgcttc cggaagcaca tgcgtctact ccaacgacta ttactcccag	180
tgtcttcccg gcgctgcaag ctcaagctcg tccacgcgcg ccgctcgac gacttctcga	240
gtatcccca caacatcccg gtcgagctcc gcgacgcctc cacctggttc tactactacc	300
agagtacctc cagtcggatc gggaaccgct acgtattcag gcaacccttt tgttggggtc	360
actccttggg ccaatgcata ttacgcctct gaagttagca gcctcgctat tcctagcttg	420
actggagcca tggccactgc tgcagcagct gtcgcaaagg ttccctcttt tatgtggcta	480
gatactcttg acaagacccc tctcatggag caaaccttgg ccgacatccg caccgccaac	540
aagaatggcg gtaactatgc cggacagttt gtggtgtatg acttgccgga tcgcgattgc	600
gctgcccttg cctcgaatgg cgaatactct attgccgatg gtggcgtcgc caaatataag	660
aactatatcg acaccattcg tcaaattgtc gtggaatatt ccgatatccg gaccctcctg	720
gttattgagc ctgactctct tgccaacctg gtgaccaacc tcggtactcc aaagtgtgcc	780
aatgctcagt cagcctacct tgagtgcata aactacgccg tcacacagct gaaccttcca	840
aatgttgoga tgtatttggga cgctggccat gcaggatggc ttggctggcc ggcaaaccaa	900
gaccgggccg ctcagctatt tgcaaatggt tacaagaatg catcgtctcc gagagctctt	960
cgcggttgg caaccaatgt cgccaactac aacgggtgga acattaccag ccccccacg	1020
tacacgcaag gcaacgctgt ctacaacgag aagctgtaca tccacgctat tggacctctt	1080
cttgccaatc acggctggtc caacgccttc ttcatcactg atcaaggctg atcgggaaag	1140
cagcctaccg gacagcaaca gtggggagac tgggtgcaatg tgatcggcac cggatttgg	1200
attcgccat ccgcaaacac tggggactcg ttgctggatt cgtttgtctg ggtcaagcca	1260
ggcggcgagt gtgacggcac cagcgacagc agtgcgccac gatttgactc ccactgtgcg	1320
ctcccagatg ccttgcaacc ggcgcctcaa gctggtgctt ggttccaagc ctactttgtg	1380
cagcttctca caaacgcaa cccatcgttc ctg	1413

5

<210> 2  
 <211> 471  
 <212> PRT  
 <213> *Trichoderma reesei*

10

<400> 2

ES 2 885 684 T3

Met Ile Val Gly Ile Leu Thr Thr Leu Ala Thr Leu Ala Thr Leu Ala  
 1 5 10 15

Ala Ser Val Pro Leu Glu Glu Arg Gln Ala Cys Ser Ser Val Trp Gly  
 20 25 30

Gln Cys Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Pro Thr Cys Cys Ala Ser Gly  
 35 40 45

Ser Thr Cys Val Tyr Ser Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu Pro Gly  
 50 55 60

Ala Ala Ser Ser Ser Ser Ser Thr Arg Ala Ala Ser Thr Thr Ser Arg  
 65 70 75 80

Val Ser Pro Thr Thr Ser Arg Ser Ser Ser Ala Thr Pro Pro Pro Gly  
 85 90 95

Ser Thr Thr Thr Arg Val Pro Pro Val Gly Ser Gly Thr Ala Thr Tyr  
 100 105 110

Ser Gly Asn Pro Phe Val Gly Val Thr Pro Trp Ala Asn Ala Tyr Tyr  
 115 120 125

Ala Ser Glu Val Ser Ser Leu Ala Ile Pro Ser Leu Thr Gly Ala Met  
 130 135 140

Ala Thr Ala Ala Ala Ala Val Ala Lys Val Pro Ser Phe Met Trp Leu  
 145 150 155 160

Asp Thr Leu Asp Lys Thr Pro Leu Met Glu Gln Thr Leu Ala Asp Ile  
 165 170 175

Arg Thr Ala Asn Lys Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val Val  
 180 185 190

Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Leu Ala Ser Asn Gly Glu  
 195 200 205

ES 2 885 684 T3

Tyr Ser Ile Ala Asp Gly Gly Val Ala Lys Tyr Lys Asn Tyr Ile Asp  
 210 215 220  
 Thr Ile Arg Gln Ile Val Val Glu Tyr Ser Asp Ile Arg Thr Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Leu Val Thr Asn Leu Gly Thr  
 245 250 255  
 Pro Lys Cys Ala Asn Ala Gln Ser Ala Tyr Leu Glu Cys Ile Asn Tyr  
 260 265 270  
 Ala Val Thr Gln Leu Asn Leu Pro Asn Val Ala Met Tyr Leu Asp Ala  
 275 280 285  
 Gly His Ala Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Gln Asp Pro Ala Ala  
 290 295 300  
 Gln Leu Phe Ala Asn Val Tyr Lys Asn Ala Ser Ser Pro Arg Ala Leu  
 305 310 315 320  
 Arg Gly Leu Ala Thr Asn Val Ala Asn Tyr Asn Gly Trp Asn Ile Thr  
 325 330 335  
 Ser Pro Pro Ser Tyr Thr Gln Gly Asn Ala Val Tyr Asn Glu Lys Leu  
 340 345 350  
 Tyr Ile His Ala Ile Gly Pro Leu Leu Ala Asn His Gly Trp Ser Asn  
 355 360 365  
 Ala Phe Phe Ile Thr Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr Gly  
 370 375 380  
 Gln Gln Gln Trp Gly Asp Trp Cys Asn Val Ile Gly Thr Gly Phe Gly  
 385 390 395 400  
 Ile Arg Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ser Phe Val  
 405 410 415  
 Trp Val Lys Pro Gly Gly Glu Cys Asp Gly Thr Ser Asp Ser Ser Ala  
 420 425 430  
 Pro Arg Phe Asp Ser His Cys Ala Leu Pro Asp Ala Leu Gln Pro Ala  
 435 440 445  
 Pro Gln Ala Gly Ala Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Val Gln Leu Leu Thr  
 450 455 460

ES 2 885 684 T3

Asn Ala Asn Pro Ser Phe Leu  
465 470

5 <210> 3  
<211> 1353  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<223> Clon 35B7  
<400> 3

```

gcccctcttg ttgaggagcg ccaggccttg gctgcccagt gggcccagtg tgggtgcttc      60
agctggaatg gtgctacctg ctgccagtct ggtagctact gcagcaagat caacgactat      120
tactctcagt gcattcctgg agaaggcccc gccacttcca agtcgagcac tcttcctgct      180
tccaccacaa caactcagcc aacttcactc tcgactgctg gaacctcttc cactaccaag      240
cctcctccag ctggatcggg aacogctacg tattcaggca acccttactc tggggtcaac      300
ctttgggcca atagctatta ccgctctgaa gttaccaacc tcgctattcc taagtgagc      360
ggagccatgg ccaactgctg agcaaaggtc gcagatgttc cctcttttca gtggatggat      420
tctttcgacc acatctccct catggaggac accttggtcg acatccgcaa ggccaacctg      480
gctggcggtg actatgccgg acagtttgtg gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct      540
gccgccgctc cgaatggcga atactctctt gccgatggtg gcgtcgccaa atataaggcc      600
tatatcgcca agattaaggg tattctccag gactattccg ataccggat cattctggtt      660
attgagcctg actctcttgc caacctggtg accaacaatga acgtcccaaa gtgtgccaat      720
gctgcttcag cctacaagga gctcaccatt cacgccctca aggagctgaa ccttccaaat      780
gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt ggatggcttg gctggccggc aaaccaaggc      840
ccggccgcta aactatctgc aagcatctac aaggatgcag gcaagccggc cgctcttcgc      900
ggattggcaa ccaatgtcgc caactacaac gcctggagcc tcagcagcgc tccaccttac      960
acgcaaggcg cctctatcta cgacgagaag agcttcatcc acgctatggg acctcttctt     1020
gagcagaatg gctggcctgg tgcccacttc atcaactgatc aaggtcgatc gggaaagcag     1080
cctaccggac agatccagtg gggagactgg tgcaattcca agggcaccgg atttggtatt     1140
cgcccatccg caaacactgg ggactcgttg ctggatgctt ttgtctgggt caagccaggc     1200
ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt gcggctcgat acgactacca ctgtggtatt     1260
gacggcgccg tcaagccggc gcctgaggct ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag     1320
cttctcacia acgcaaacc atcgttcctg taa                                     1353

```

15 <210> 4  
<211> 450  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>

ES 2 885 684 T3

<223> Clon 35B7

<400> 4

Ala Pro Leu Val Glu Glu Arg Gln Ala Cys Ala Ala Gln Trp Ala Gln  
 1 5 10 15

Cys Gly Gly Phe Ser Trp Asn Gly Ala Thr Cys Cys Gln Ser Gly Ser  
 20 25 30

Tyr Cys Ser Lys Ile Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Ile Pro Gly Glu  
 35 40 45

Gly Pro Ala Thr Ser Lys Ser Ser Thr Leu Pro Ala Ser Thr Thr Thr  
 50 55 60

Thr Gln Pro Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser Ser Thr Thr Lys  
 65 70 75 80

Pro Pro Pro Ala Gly Ser Gly Thr Ala Thr Tyr Ser Gly Asn Pro Tyr  
 85 90 95

Ser Gly Val Asn Leu Trp Ala Asn Ser Tyr Tyr Arg Ser Glu Val Thr  
 100 105 110

Asn Leu Ala Ile Pro Lys Leu Ser Gly Ala Met Ala Thr Ala Ala Ala  
 115 120 125

Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp Met Asp Ser Phe Asp His  
 130 135 140

Ile Ser Leu Met Glu Asp Thr Leu Val Asp Ile Arg Lys Ala Asn Leu  
 145 150 155 160

Ala Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val Val Tyr Asp Leu Pro Asp  
 165 170 175

Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly Glu Tyr Ser Leu Ala Asp  
 180 185 190

Gly Gly Val Ala Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile Ala Lys Ile Lys Gly Ile  
 195 200 205

Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile Leu Val Ile Glu Pro Asp  
 210 215 220

ES 2 885 684 T3

Ser Leu Ala Asn Leu Val Thr Asn Met Asn Val Pro Lys Cys Ala Asn  
 225 230 235 240

Ala Ala Ser Ala Tyr Lys Glu Leu Thr Ile His Ala Leu Lys Glu Leu  
 245 250 255

Asn Leu Pro Asn Val Ser Met Tyr Ile Asp Ala Gly His Gly Gly Trp  
 260 265 270

Leu Gly Trp Pro Ala Asn Gln Gly Pro Ala Ala Lys Leu Phe Ala Ser  
 275 280 285

Ile Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ala Ala Leu Arg Gly Leu Ala Thr  
 290 295 300

Asn Val Ala Asn Tyr Asn Ala Trp Ser Leu Ser Ser Ala Pro Pro Tyr  
 305 310 315 320

Thr Gln Gly Ala Ser Ile Tyr Asp Glu Lys Ser Phe Ile His Ala Met  
 325 330 335

Gly Pro Leu Leu Glu Gln Asn Gly Trp Pro Gly Ala His Phe Ile Thr  
 340 345 350

Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr Gly Gln Ile Gln Trp Gly  
 355 360 365

Asp Trp Cys Asn Ser Lys Gly Thr Gly Phe Gly Ile Arg Pro Ser Ala  
 370 375 380

Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ala Phe Val Trp Val Lys Pro Gly  
 385 390 395 400

Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ala Arg Tyr Asp Tyr  
 405 410 415

His Cys Gly Ile Asp Gly Ala Val Lys Pro Ala Pro Glu Ala Gly Thr  
 420 425 430

Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Thr Asn Ala Asn Pro Ser  
 435 440 445

Phe Leu  
 450

<210> 5  
 <211> 1362

ES 2 885 684 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

5 <220>  
<223> Clon 95B7

<400> 5

```

gtgcctctag aggagcggca agcttgctca agcgtctggg gccaatgtgg tggccagaat      60
tggtcggggtc cgacttgctg tgcttccgga agcacatgcg tctactccaa cgactattac      120
tcccagtgctc ttcccggcgc tgcaagctca agctcgtcca cgcgcgccgc gtcgacgact      180
tctcgagtat cccccacaac atcccggctg agctccgcga cgctccacc tggttctact      240
actaccagag tacctccagt cggatcggga accgctacgt attcaggcaa cccttttgtt      300
ggggtcactc cttgggcaaa tgcataattac gcctctgaag ttagcagcct cgctattcct      360
agcttgactg gagccatggc cactgctgca gcagctgtcg caaaggttcc ctcttttatg      420
tggctagata ctcttgacaa gaccctctc atggagcaaa ccttggccga catccgcacc      480
gccaacaaga atggcggtaa ctatgccgga cagtttgtgg tgtatgactt gccggatcgc      540
gattgcgctg cccttgctc gaatggcgaa tactctattg ccgatggtgg cgtcgccaaa      600
tataagaact atatcgacac cattcgtcaa attgtcgtgg aatattccga tatccggacc      660
ctcctggtta ttgagcctga ctctcttgcc aaccaggtga ccaacatgga tgtcgccaag      720
tgtgccaagg ctcatgatgc ctacatcagc ctgacgaact acgccgtcac agaactgaac      780
cttccaaatg ttgcgatgta tttggacgct ggcaatgcag gatggcttgg ctggccggca      840
aaccaaggcc cggccgctaa actatttgca agcatctaca aggatgcagg caagccggcc      900
gctcttcgcg gattggcaac caatgtcgcc aactacaacg cctggagcct cagcagcgt      960
ccacettaca cgcaaggcgc ctctatctac gacgagaaga gcttcatcca cgctatggga     1020
cctcttcttg agcagaatgg ctggcctggt gccacttca tcaactgatca aggtcgatcg     1080
ggaaagcagc ctaccggaca gatccagtgg ggagactggt gcaattccaa gggcaccgga     1140
tttggatttc gcccatccgc aaacactggg gactcgttgc tggatgcttt tgtctgggtc     1200
aagccaggcg gcgagtctga cggcaccagc gacaccagtg cgaccggata cgactaccac     1260
tgtggtgctt ctgccgcctt gcaaccggcg cctgaggctg gtacctggtt ccaagcctac     1320
tttgagcagc ttctcaagaa cgcaaaccca tcgttcctgt aa                          1362

```

10 <210> 6  
<211> 453  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

15 <220>  
<223> Clon 95B7

20 <400> 6

ES 2 885 684 T3

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

ES 2 885 684 T3

				245						250						255
Thr	Glu	Leu	Asn	Leu	Pro	Asn	Val	Ala	Met	Tyr	Leu	Asp	Ala	Gly	Asn	
			260					265					270			
Ala	Gly	Trp	Leu	Gly	Trp	Pro	Ala	Asn	Gln	Gly	Pro	Ala	Ala	Lys	Leu	
		275					280					285				
Phe	Ala	Ser	Ile	Tyr	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Pro	Ala	Ala	Leu	Arg	Gly	
	290					295					300					
Leu	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	Asn	Tyr	Asn	Ala	Trp	Ser	Leu	Ser	Ser	Ala	
305					310					315					320	
Pro	Pro	Tyr	Thr	Gln	Gly	Ala	Ser	Ile	Tyr	Asp	Glu	Lys	Ser	Phe	Ile	
				325					330					335		
His	Ala	Met	Gly	Pro	Leu	Leu	Glu	Gln	Asn	Gly	Trp	Pro	Gly	Ala	His	
			340					345					350			
Phe	Ile	Thr	Asp	Gln	Gly	Arg	Ser	Gly	Lys	Gln	Pro	Thr	Gly	Gln	Ile	
		355					360					365				
Gln	Trp	Gly	Asp	Trp	Cys	Asn	Ser	Lys	Gly	Thr	Gly	Phe	Gly	Ile	Arg	
	370					375					380					
Pro	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asp	Ser	Leu	Leu	Asp	Ala	Phe	Val	Trp	Val	
385					390					395					400	
Lys	Pro	Gly	Gly	Glu	Ser	Asp	Gly	Thr	Ser	Asp	Thr	Ser	Ala	Thr	Arg	
				405					410					415		
Tyr	Asp	Tyr	His	Cys	Gly	Ala	Ser	Ala	Ala	Leu	Gln	Pro	Ala	Pro	Glu	
			420					425					430			
Ala	Gly	Thr	Trp	Phe	Gln	Ala	Tyr	Phe	Glu	Gln	Leu	Leu	Lys	Asn	Ala	
		435					440					445				
Asn	Pro	Ser	Phe	Leu												
		450														

<210> 7  
 <211> 1323  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Clon 100F11

ES 2 885 684 T3

<400> 7

```

gctcctggtg aagagcgtca gtcttgcagc aacggagtct ggtctcaatg tggtggtcag      60
aactgggtccg gtactccttg ctgcaccagt ggaacaagt gtgtcaaggt caacgacttc      120
tactcccagt gccagcctgg atctgcagac ctttctcca catccacat tgtctccgcg      180
acgaccacca aggctactac tactggtagt ggaggctctg tcacctgcc tcctcctggt      240
gccaccaaca accctttttc tggggtcgat ctgtgggcca ataactatta cgcctctgaa      300
gtagcactc tcgctattcc taagttgagc ggagccatgg cactgctgc agcaaaggtc      360
gcagatggtc cctcttttca gtggatggat acttatgacc acatctcctt catggaggag      420
tctttggccg acatccgcaa ggccaacaag gctggcggtg actatgccgg acagtttgtg      480
gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct gccgctgcct cgaatggcga atactctctt      540
gacaaggatg gcaagaacaa atataaggcc tatatcgcca agattaaggg tattctccag      600
gactattccg ataccggat cattctggtt attgagcctg actctcttgc caacatgggt      660
accaacatga acgtccaaa gtgtgccaat gctgcttcag cctacaagga gtcaccatt      720
cacgccctca aggagctgaa ctttccaaat gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt      780
ggatggcttg gctggccggc aaaccttctt cgggccgctc agctatacgg tcagctctac      840
aaggatgcag gcaagccgtc tcgccttgcg ggattggtca ccaatgtctc caactacaac      900
gcctggaagc tatccagcaa gccagactac acggagagca accccaacta cgacgagcag      960
aagtacatcc acgctctgtc tcctcttctt gaggaggagg gctggcccgg tgccaagttc     1020
atcgtcgatc aaggtcgatc gggaaagcag cctaccggac agaaggcttg gggagactgg     1080
tgcaatgctc ccggcaccgg atttggattt cgccatccg caaacactgg ggactcgttg     1140
ctggatgctt ttgtctgggt caagccaggc ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt     1200
gcgaccgatc acgactacca ctgtggtgct tctgccgctt tgcaaccggc gcctgaggct     1260
ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag cttctcacia acgcaaacc atcgttcctg     1320
taa                                                                 1323

```

5 <210> 8  
 <211> 440  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Clon 100F11

<400> 8

Ala Pro Val Glu Glu Arg Gln Ser Cys Ser Asn Gly Val Trp Ser Gln  
 1 5 10 15

Cys Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Thr Pro Cys Cys Thr Ser Gly Asn

15

ES 2 885 684 T3

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

ES 2 885 684 T3

Ala Gln Leu Tyr Gly Gln Leu Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ser Arg  
 275 280 285

Leu Arg Gly Leu Val Thr Asn Val Ser Asn Tyr Asn Ala Trp Lys Leu  
 290 295 300

Ser Ser Lys Pro Asp Tyr Thr Glu Ser Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Gln  
 305 310 315 320

Lys Tyr Ile His Ala Leu Ser Pro Leu Leu Glu Gln Glu Gly Trp Pro  
 325 330 335

Gly Ala Lys Phe Ile Val Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr  
 340 345 350

Gly Gln Lys Ala Trp Gly Asp Trp Cys Asn Ala Pro Gly Thr Gly Phe  
 355 360 365

Gly Ile Arg Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ala Phe  
 370 375 380

Val Trp Val Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser  
 385 390 395 400

Ala Thr Arg Tyr Asp Tyr His Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Gln Pro  
 405 410 415

Ala Pro Glu Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu  
 420 425 430

Thr Asn Ala Asn Pro Ser Phe Leu  
 435 440

<210> 9  
 <211> 1323  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Clon 139F12

10

<400> 9

ES 2 885 684 T3

gctcctgttg aagagcgtca gtcttgacgc aacggagtct ggtctcaatg tgggtggtcag 60  
aactggtccg gtactccttg ctgcaccagt ggaacaagt gtgtcaaggt caacgacttc 120  
tactcccagt gccagcctgg atctgcagac ccttctccca catccaccat tgtctccgcg 180  
acgaccacca aggctactac tactggtagt ggaggctctg tcacctcgcc tcctcctggt 240  
gccaccaaca accctttttc tggggtcgat ctgtgggcca ataactatta ccgctctgaa 300  
gtagcactc tcgctattcc taagttgagc ggagccatgg ccaactgctgc agcaaaggtc 360  
gcagatgttc cctcttttca gtggatggat acttatgacc acatctcctt catggaggag 420  
tctttggccg acatccgcaa ggccaacaag gctggcggtg actatgccgg acagtttgtg 480  
gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct gccgctgcct cgaatggcga atactctctt 540  
gacaaggatg gcaagaacaa atataaggcc tatatcgcca agattaaggg tattctccag 600  
gactattccg ataccggat cattctgggt attgagcctg actctcttgc caacatggtg 660  
accaacatga acgtcccaa gtgtgccaat gctgcttcag cctacaagga gctcaccatt 720  
cacgccctca aggagctgaa cttccaaat gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt 780  
ggatggcttg gctggccggc aaaccttct cgggccgctc agctatacgg tcagctctac 840  
aaggatgcag gcaagccgtc tcgccttcgc ggattggtca ccaatgtctc caactacaac 900  
gcctggaagc tatccagcaa gccagactac acggagagca accccaacta cgacgagcag 960  
aagtacatcc acgctctgtc tcctcttctt gagcaggagg gctggcccgg tgccaagttc 1020  
atcgtcgatc aaggtcgatc gggaaagcag cctaccggac agaaggcttg gggagactgg 1080  
tgcaatgctc ccggcaccgg atttggtctc cgcccatccg caaacactgg ggacgccttg 1140  
gtcgatgctt ttgtctgggt caagccaggc ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt 1200  
gcggctcgat acgactacca ctgtggtgct tctgccgctt tgcaaccggc gcctgaggct 1260  
ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag cttctcaaga acgcaaacc atcgttcctg 1320  
taa 1323

<210> 10  
<211> 440  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
10 <223> Clon 139F12

<400> 10



ES 2 885 684 T3

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Gly Gly Ser Val Thr Ser Pro Pro Pro Val  
65 70 75 80

Ala Thr Asn Asn Pro Phe Ser Gly Val Asp Leu Trp Ala Asn Asn Tyr  
85 90 95

Tyr Arg Ser Glu Val Ser Thr Leu Ala Ile Pro Lys Leu Ser Gly Ala  
100 105 110

Met Ala Thr Ala Ala Ala Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp  
115 120 125

Met Asp Thr Tyr Asp His Ile Ser Phe Met Glu Glu Ser Leu Ala Asp  
130 135 140

Ile Arg Lys Ala Asn Lys Ala Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val  
145 150 155 160

Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly  
165 170 175

Glu Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Gly Lys Asn Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile  
180 185 190

Ala Lys Ile Lys Gly Ile Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile  
195 200 205

Leu Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Met Val Thr Asn Met Asn  
210 215 220

Val Pro Lys Cys Ala Asn Ala Ala Ser Ala Tyr Lys Glu Leu Thr Ile  
225 230 235 240

His Ala Leu Lys Glu Leu Asn Leu Pro Asn Val Ser Met Tyr Ile Asp  
245 250 255

Ala Gly His Gly Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Leu Pro Pro Ala  
260 265 270

Ala Gln Leu Tyr Gly Gln Leu Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ser Arg  
275 280 285

Leu Arg Gly Leu Val Thr Asn Val Ser Asn Tyr Asn Ala Trp Lys Leu  
290 295 300

Ser Ser Lys Pro Asp Tyr Thr Glu Ser Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Gln  
305 310 315 320

ES 2 885 684 T3

Lys Tyr Ile His Ala Leu Ser Pro Leu Leu Glu Gln Glu Gly Trp Pro  
 325 330 335

Gly Ala Lys Phe Ile Val Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr  
 340 345 350

Gly Gln Lys Ala Trp Gly Asp Trp Cys Asn Ala Pro Gly Thr Gly Phe  
 355 360 365

Gly Leu Arg Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ala Leu Val Asp Ala Phe  
 370 375 380

Val Trp Val Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser  
 385 390 395 400

Ala Ala Arg Tyr Asp Tyr His Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Gln Pro  
 405 410 415

Ala Pro Glu Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu  
 420 425 430

Lys Asn Ala Asn Pro Ser Phe Leu  
 435 440

5 <210> 11  
 <211> 1323  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Clon 157B11  
 <400> 11

ES 2 885 684 T3

gctcctgttg aagagcgtca gtcttgacgc aacggagtct ggtctcaatg tgggtggtcag 60  
aactggtccg gtactccttg ctgcaccagt ggaacaagt gtgtcaaggt caacgacttc 120  
tactcccagt gccagcctgg atctgcagac ccttctccca catccaccat tgtctccgcg 180  
acgaccacca aggctactac tactggtagt ggaggctctg tcacctcgcc tcctcctggt 240  
gccaccaaca accctttttc tggggtcgat ctgtgggcca ataactatta ccgctctgaa 300  
gttagcactc tcgctattcc taagttgagc ggagccatgg ccaactgctgc agcaaaggtc 360  
gcagatgttc cctcttttca gtggatggat acttatgacc acatctcctt catggaggag 420  
tctttggccg acatccgcaa ggccaacaag gctggcggta actatgccgg acagtttgtg 480  
gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct gccgccgcct cgaatggcga atactctctc 540  
gacaatgatg ggcgcaacaa atataaggcc tatatcgcca agattaaggg tattctccag 600  
gactattccg ataccggat cattctggtt attgagcctg actctcttgc caacatggtg 660  
  
accaacatga acgtccaaa gtgtgccaat gctgcttcag cctacaagga gctcaccatt 720  
cacgccctca aggagctgaa ccttccaaat gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt 780  
ggatggcttg gctggccggc aaaccttctt ccggccgctc agctatacgg tcagctctac 840  
aaggatgcag gcaagccgtc tcgccttcgc ggattggtca ccaatgtctc caactacaac 900  
gcctggaagc tatccagcaa gccagactac acggagagca accccaacta cgacgagcag 960  
aagtacatcc acgctctgtc tcctcttctt gagcaggagg gctggcccgg tgccaagttc 1020  
atcgctgatc aaggtcgatc gggaaagcag cctaccggac agaaggcttg gggagactgg 1080  
tgcaatgctc ccggcaccgg atttggtctc cgcccatccg caaacactgg ggactcgttg 1140  
ctggatgctt ttgtctgggt caagccaggc ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt 1200  
gcgacccgat acgactacca ctgtggtgct tctgccgcct tgcaaccggc gcctgaggct 1260  
ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag cttctcacia acgcaaacc atcgttcctg 1320  
taa 1323

<210> 12  
<211> 440  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
10 <223> Clon 157B11

<400> 12



ES 2 885 684 T3

Met Ala Thr Ala Ala Ala Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp  
115 120 125

Met Asp Thr Tyr Asp His Ile Ser Phe Met Glu Glu Ser Leu Ala Asp  
130 135 140

Ile Arg Lys Ala Asn Lys Ala Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val  
145 150 155 160

Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly  
165 170 175

Glu Tyr Ser Leu Asp Asn Asp Gly Ala Asn Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile  
180 185 190

Ala Lys Ile Lys Gly Ile Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile  
195 200 205

Leu Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Met Val Thr Asn Met Asn  
210 215 220

Val Pro Lys Cys Ala Asn Ala Ala Ser Ala Tyr Lys Glu Leu Thr Ile  
225 230 235 240

His Ala Leu Lys Glu Leu Asn Leu Pro Asn Val Ser Met Tyr Ile Asp  
245 250 255

Ala Gly His Gly Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Leu Pro Pro Ala  
260 265 270

Ala Gln Leu Tyr Gly Gln Leu Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ser Arg  
275 280 285

Leu Arg Gly Leu Val Thr Asn Val Ser Asn Tyr Asn Ala Trp Lys Leu  
290 295 300

Ser Ser Lys Pro Asp Tyr Thr Glu Ser Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Gln  
305 310 315 320

Lys Tyr Ile His Ala Leu Ser Pro Leu Leu Glu Gln Glu Gly Trp Pro  
325 330 335

Gly Ala Lys Phe Ile Val Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr  
340 345 350

Gly Gln Lys Ala Trp Gly Asp Trp Cys Asn Ala Pro Gly Thr Gly Phe  
355 360 365

ES 2 885 684 T3

Gly Leu Arg Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ala Phe  
 370 375 380

Val Trp Val Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser  
 385 390 395 400

Ala Thr Arg Tyr Asp Tyr His Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Gln Pro  
 405 410 415

Ala Pro Glu Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu  
 420 425 430

Thr Asn Ala Asn Pro Ser Phe Leu  
 435 440

<210> 13  
 <211> 1323  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Clon 161A1

<400> 13

gctcctgttg aagagcgtca gtcttgacgc aacggagtct ggtctcaatg tgggtggtcag 60  
 aactggtccg gtactccttg ctgcaccagt ggaacaagt gtgtcaaggt caacgacttc 120  
 tactcccagt gccagcctgg atctgcagac ccttctccca catccaccat tgtctccgcg 180  
 acgaccacca aggctactac tactggtagt ggaggctctg tcacctcgcc tcctcctgtt 240  
 gccaccaaca accctttttc tggggtcgat ctgtgggcca ataactatta ccgctctgaa 300  
 gttagcactc tcgctattcc taagttgagc ggagccatgg ccactgctgc agcaaaggtc 360  
 gcagatgttc cctcttttca gtggatggat acttatgacc acatctcctt catggaggag 420  
 tctttggccg acatccgcaa ggccaacaag gctggcggtg actatgccgg acagtttgtg 480  
 gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct gccgctgcct cgaatggcga atactctctt 540  
 gacaaggatg gcaagaacaa atataaggcc tatatcgcca agattaaggg tattctccag 600  
 gactattccg ataccgggat cattctggtt attgagcctg actctcttgc caacatggtg 660  
 accaacatga acgtcccaa gtgtgccaat gctgcttcag cctacaagga gctcaccatt 720  
 cacgccctca aggagctgaa ccttccaaat gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt 780  
 ggatggcctg gctggccggc aaaccttcct ccggccgctc agctatacgg tcagctctac 840  
 aaggatgcag gcaagccgtc tcgccttcgc ggattggtca ccaatgtctc caactacaac 900  
 gcctggaagc tatccagcaa gccagactac acggagagca accccaacta cgacgagcag 960

ES 2 885 684 T3

aagtacatcc acgctctgtc tcctcttctt gagcaggagg gctggcccgg tgccaagttc 1020  
atcgtcgatc aaggtcgatc gggaaagcag cctaccggac agaaggcttg gggagactgg 1080  
tgcaatgctc ccggcaccgg atttggtatc cgcccatccg caaacactgg ggacgccttg 1140  
gtc gatgctt ttgtctgggt caagccaggc ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt 1200  
gcgacccgat acgactacca ctgtggtgct tctgccgcct tgcaaccggc gcctgaggct 1260  
ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag cttctcaaga acgcaaacc atcgttcctg 1320  
taa 1323

<210> 14  
<211> 440  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
10 <223> Clon 161A1

<400> 14

ES 2 885 684 T3

Ala Pro Val Glu Glu Arg Gln Ser Cys Ser Asn Gly Val Trp Ser Gln  
1 5 10 15

Cys Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Thr Pro Cys Cys Thr Ser Gly Asn  
20 25 30

Lys Cys Val Lys Val Asn Asp Phe Tyr Ser Gln Cys Gln Pro Gly Ser  
35 40 45

Ala Asp Pro Ser Pro Thr Ser Thr Ile Val Ser Ala Thr Thr Thr Lys  
50 55 60

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Gly Gly Ser Val Thr Ser Pro Pro Pro Val  
65 70 75 80

Ala Thr Asn Asn Pro Phe Ser Gly Val Asp Leu Trp Ala Asn Asn Tyr  
85 90 95

Tyr Arg Ser Glu Val Ser Thr Leu Ala Ile Pro Lys Leu Ser Gly Ala  
100 105 110

Met Ala Thr Ala Ala Ala Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp  
115 120 125

Met Asp Thr Tyr Asp His Ile Ser Phe Met Glu Glu Ser Leu Ala Asp  
130 135 140

Ile Arg Lys Ala Asn Lys Ala Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val  
145 150 155 160

ES 2 885 684 T3

Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly  
 165 170 175

Glu Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Gly Lys Asn Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile  
 180 185 190

Ala Lys Ile Lys Gly Ile Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile  
 195 200 205

Leu Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Met Val Thr Asn Met Asn  
 210 215 220

Val Pro Lys Cys Ala Asn Ala Ala Ser Ala Tyr Lys Glu Leu Thr Ile  
 225 230 235 240

His Ala Leu Lys Glu Leu Asn Leu Pro Asn Val Ser Met Tyr Ile Asp  
 245 250 255

Ala Gly His Gly Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Leu Pro Pro Ala  
 260 265 270

Ala Gln Leu Tyr Gly Gln Leu Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ser Arg  
 275 280 285

Leu Arg Gly Leu Val Thr Asn Val Ser Asn Tyr Asn Ala Trp Lys Leu  
 290 295 300

Ser Ser Lys Pro Asp Tyr Thr Glu Ser Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Gln  
 305 310 315 320

Lys Tyr Ile His Ala Leu Ser Pro Leu Leu Glu Gln Glu Gly Trp Pro  
 325 330 335

Gly Ala Lys Phe Ile Val Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr  
 340 345 350

Gly Gln Lys Ala Trp Gly Asp Trp Cys Asn Ala Pro Gly Thr Gly Phe  
 355 360 365

Gly Ile Arg Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ala Leu Val Asp Ala Phe  
 370 375 380

Val Trp Val Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser  
 385 390 395 400

Ala Thr Arg Tyr Asp Tyr His Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Gln Pro

ES 2 885 684 T3

405

410

415

Ala Pro Glu Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu  
420 425 430

Lys Asn Ala Asn Pro Ser Phe Leu  
435 440

<210> 15

<211> 1362

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon 161C12

10

<400> 15

ES 2 885 684 T3

gtgcctctag aggagcggca agcttgctca agcgtctggg gccaatgtgg tggccagaat 60  
 tggtcggggtc cgacttgctg tgcttccgga agcacatgcy tctactccaa cgactattac 120  
 tcccagtgtc ttcccggcgc tgcaagctca agctcgtcca cgcgcgccgc gtcgacgact 180  
 tctcgagtat cccccacaac atcccggctc agctccgga cgcctccacc tggttctact 240  
 actaccagag tacctccagt cggatcggga accgctacgt attcaggcaa cccttttgtt 300  
 ggggtcactc ctggggccaa tgcatattac gcctctgaag ttagcagcct cgctattcct 360  
 agcttgactg gagccatggc cactgctgca gcagctgtcg caaaggttcc ctcttttatg 420  
 tggctagata ctcttgaaa gaccctctc atggagcaaa ccttggccga catccgcacc 480  
 gccaaacaaga atggcggtaa ctatgccgga cagtttgtgg tgtatgactt gccggatcgc 540  
 gattgcgctg cccttgctc gaatggcga tactctctcg acaatgatgg cgccaacaaa 600  
 tataagaact atatccaaac cattaagaag attatccaga gctattccga tatccggata 660  
 ctctgggta ttgagcctga ctctcttgcc aacctggtga ccaacatgga tgtcgccaag 720  
 tgtgccaagg ctcatgatgc ctacatcagc ctgacgaact acgccgtcac agaactgaac 780  
 cttccaaatg ttgcatgta tttggacgct ggccatgcag gatggcttgg ctggccggca 840  
 aaccttcctc cggccgctca gctatacggc cagctctaca aggatgcagg caagccgtct 900  
 cgcttcgcy gattggtcac caatgtctcc aactacaacg cctggaagct atccagcaag 960  
 ccagactaca cggagagcaa cccaactac gacgagcaga agtacatcca cgctctgtct 1020  
 cctcttcttg agcaggaggg ctggcccggc gccaaagtca tcgtcgatca aggtcgatcy 1080  
 ggaaagcagc ctaccggaca gaaggcttgg ggagactggt gcaatgctcc cggcaccgga 1140  
 tttggtctcc gcccatccgc aaacactggg gacgccttgg tcgatgcttt tgtctgggtc 1200  
 aagccagcgc gcgagtctga cggcaccagc gacaccagtg cggctcgata cgactaccac 1260  
 tgtggtattg acggcgcctg caagccggcg cctgaggctg gtacctggtt ccaagcctac 1320  
 tttgagcagc ttctcaagaa cgcaaaccca tcgttctgt aa 1362

<210> 16  
 <211> 453  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Clon 161C12

<400> 16

5

10

ES 2 885 684 T3

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

ES 2 885 684 T3

	195						200					205					
Lys	Lys	Ile	Ile	Gln	Ser	Tyr	Ser	Asp	Ile	Arg	Ile	Leu	Leu	Val	Ile		
	210					215					220						
Glu	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Asn	Leu	Val	Thr	Asn	Met	Asp	Val	Ala	Lys		
225					230					235					240		
Cys	Ala	Lys	Ala	His	Asp	Ala	Tyr	Ile	Ser	Leu	Thr	Asn	Tyr	Ala	Val		
				245					250					255			
Thr	Glu	Leu	Asn	Leu	Pro	Asn	Val	Ala	Met	Tyr	Leu	Asp	Ala	Gly	His		
			260					265						270			
Ala	Gly	Trp	Leu	Gly	Trp	Pro	Ala	Asn	Leu	Pro	Pro	Ala	Ala	Gln	Leu		
		275					280						285				
Tyr	Gly	Gln	Leu	Tyr	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Pro	Ser	Arg	Leu	Arg	Gly		
	290					295					300						
Leu	Val	Thr	Asn	Val	Ser	Asn	Tyr	Asn	Ala	Trp	Lys	Leu	Ser	Ser	Lys		
305					310					315					320		
Pro	Asp	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asn	Pro	Asn	Tyr	Asp	Glu	Gln	Lys	Tyr	Ile		
				325					330					335			
His	Ala	Leu	Ser	Pro	Leu	Leu	Glu	Gln	Glu	Gly	Trp	Pro	Gly	Ala	Lys		
			340					345					350				
Phe	Ile	Val	Asp	Gln	Gly	Arg	Ser	Gly	Lys	Gln	Pro	Thr	Gly	Gln	Lys		
		355					360						365				
Ala	Trp	Gly	Asp	Trp	Cys	Asn	Ala	Pro	Gly	Thr	Gly	Phe	Gly	Leu	Arg		
	370					375					380						
Pro	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Ala	Phe	Val	Trp	Val		
385					390					395					400		
Lys	Pro	Gly	Gly	Glu	Ser	Asp	Gly	Thr	Ser	Asp	Thr	Ser	Ala	Ala	Arg		
				405					410					415			
Tyr	Asp	Tyr	His	Cys	Gly	Ile	Asp	Gly	Ala	Val	Lys	Pro	Ala	Pro	Glu		
			420					425					430				
Ala	Gly	Thr	Trp	Phe	Gln	Ala	Tyr	Phe	Glu	Gln	Leu	Leu	Lys	Asn	Ala		
		435					440					445					

ES 2 885 684 T3

Asn Pro Ser Phe Leu  
450

5 <210> 17  
<211> 1323  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<223> Clon 189H8

<400> 17

gctcctgttg aagagcgtca gtcttgacgc aacggagtct ggtctcaatg tggtggtcag	60
aactggtccg gtactccttg ctgcaccagt ggaaacaagt gtgtcaaggt caacgacttc	120
tactcccagt gccagcctgg atctgcagac ccttctccca catccacat tgtctccgag	180
acgaccacca aggctactac tactggtagt ggaggctctg tcacctogcc tcctcctggt	240
gccaccaaca accctttttc tggggtcgat ctgtgggcca ataactatta ccgctctgaa	300
gttagcactc tcgctattcc taagttgagc ggagccatgg ccaactgctgc agcaaaggtc	360
gcagatgttc cctcttttca gtggatggat acttatgacc acatctccct catggaggac	420
accttggtcg acatccgcaa ggccaacctg gctggcggta actatgccgg acagtttggtg	480
gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct gccgctgcct cgaatggcga atactctctt	540
gacaaggatg gcaagaacaa atataaggcc tatatcgcca agattaaggg tattctccag	600
gactattccg ataccggat cattctggtt attgagcctg actctcttgc caacatggtg	660
accaacatga acgtcccaa gtgtgccaat gctgcttcag cctacaagga gctcaccatt	720
cacgccctca aggagctgaa ccttccaaat gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt	780
ggatggcttg gctggccggc aaaccaaggc ccggccgcta aactatttgc aagcatctac	840
aaggatgcag gcaagccggc cgctcttcgc ggattggcaa ccaatgtcgc caactacaac	900
gcctggagcc tcagcagcgc tccaccttac acgcaaggcg cctctatcta cgacgagaag	960
agcttcatcc acgctatggg acctcttctt gagcagaatg gctggcctgg tgccaagttc	1020
atcgtcgatc aaggtcgatc gggaaagcag cctaccggac agaaggcttg gggagactgg	1080
tgcaatgctc ccggcaccgg atttggtctc cgcccatccg caaacactgg ggactcgttg	1140
ctggatgctt ttgtctgggt caagccaggc ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt	1200
gcgaccgat acgactacca ctgtggtgct tctgccgcct tgcaaccggc gcctgaggct	1260
ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag cttctcacia acgcaaacc atcgttctctg	1320
taa	1323

15 <210> 18  
<211> 440  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

ES 2 885 684 T3

<220>  
 <223> Clon 189H8

5 <400> 18

Ala Pro Val Glu Glu Arg Gln Ser Cys Ser Asn Gly Val Trp Ser Gln  
 1 5 10 15

Cys Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Thr Pro Cys Cys Thr Ser Gly Asn  
 20 25 30

Lys Cys Val Lys Val Asn Asp Phe Tyr Ser Gln Cys Gln Pro Gly Ser  
 35 40 45

Ala Asp Pro Ser Pro Thr Ser Thr Ile Val Ser Ala Thr Thr Thr Lys  
 50 55 60

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Gly Gly Ser Val Thr Ser Pro Pro Pro Val  
 65 70 75 80

Ala Thr Asn Asn Pro Phe Ser Gly Val Asp Leu Trp Ala Asn Asn Tyr  
 85 90 95

Tyr Arg Ser Glu Val Ser Thr Leu Ala Ile Pro Lys Leu Ser Gly Ala  
 100 105 110

Met Ala Thr Ala Ala Ala Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp  
 115 120 125

Met Asp Thr Tyr Asp His Ile Ser Leu Met Glu Asp Thr Leu Val Asp  
 130 135 140

Ile Arg Lys Ala Asn Leu Ala Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val  
 145 150 155 160

Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly  
 165 170 175

Glu Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Gly Lys Asn Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile  
 180 185 190

Ala Lys Ile Lys Gly Ile Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile  
 195 200 205

Leu Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Met Val Thr Asn Met Asn  
 210 215 220

ES 2 885 684 T3

Val Pro Lys Cys Ala Asn Ala Ala Ser Ala Tyr Lys Glu Leu Thr Ile  
 225 230 235 240

His Ala Leu Lys Glu Leu Asn Leu Pro Asn Val Ser Met Tyr Ile Asp  
 245 250 255

Ala Gly His Gly Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Gln Gly Pro Ala  
 260 265 270

Ala Lys Leu Phe Ala Ser Ile Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ala Ala  
 275 280 285

Leu Arg Gly Leu Ala Thr Asn Val Ala Asn Tyr Asn Ala Trp Ser Leu  
 290 295 300

Ser Ser Ala Pro Pro Tyr Thr Gln Gly Ala Ser Ile Tyr Asp Glu Lys  
 305 310 315 320

Ser Phe Ile His Ala Met Gly Pro Leu Leu Glu Gln Asn Gly Trp Pro  
 325 330 335

Gly Ala Lys Phe Ile Val Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr  
 340 345 350

Gly Gln Lys Ala Trp Gly Asp Trp Cys Asn Ala Pro Gly Thr Gly Phe  
 355 360 365

Gly Leu Arg Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ala Phe  
 370 375 380

Val Trp Val Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser  
 385 390 395 400

Ala Thr Arg Tyr Asp Tyr His Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Gln Pro  
 405 410 415

Ala Pro Glu Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu  
 420 425 430

Thr Asn Ala Asn Pro Ser Phe Leu  
 435 440

<210> 19  
 <211> 1362  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Clon 196D9

ES 2 885 684 T3

<400> 19

```

gtgcctctag aggagcggca agcttgctca agcgtctggg gccaatgtgg tggccagaat      60
tggtcgggtc cgacttgctg tgcttccgga agcacatgcg tctactccaa cgactattac      120
tcccagtgtc ttcccggcgc tgcaagctca agctcgtcca cgcgcgccgc gtcgacgact      180
tctcgagtat cccccacaac atcccggctc agctccgcga cgcctccacc tggttctact      240
actaccagag tacctccagt cggatcggga accgctacgt attcaggcaa cccttttggt      300
ggggtcactc cttgggcaa tgcatattac gcctctgaag ttagcagcct cgctattcct      360
agcttgactg gagccatggc cactgctgca gcagctgtcg caaaggttcc ctcttttatg      420
tggctagata ctctgacaa gaccctctc atggagcaaa ccttggccga catccgcacc      480
gccaacaaga atggcggtaa ctatgccgga cagtttgtgg tgtatgactt gccgatcgc      540
gattgcgctg cccttgctc gaatggcgaa tactctattg ccgatggtgg cgtcgccaaa      600
tataagaact atatcgacac cattcgtcaa attgtcgtgg aatattccga tatccggacc      660
ctcctggtta ttgagcctga ctctcttacc aacctggtga ccaacatgaa cgtcccaaag      720
tgtgccaatg ctcagtcagc ctacctgag tgcatcaact acgccgtcac acagctgaac      780
cttccaaatg ttgcgatgta tttggacgct ggccatgcag gatggcttgg ctggccggca      840
aaccaagacc cggccgctca gctatttga aatgtttaca agaatgcatc gtctccgaga      900
gctcttcgcg gattggcaac caatgtcgcc aactacaacg ggtggaacat taccagcccc      960
ccatcgtaca cgcaaggcaa cgctgtctac aacgagaagc tgtacatcca cgctattgga     1020
cctcttcttg ccaatcacgg ctggtccaac gccttcttca tcaactgatca aggtcgatcg     1080
ggaaagcagc ctaccggaca gcaacagtgg ggagactggt gcaatgctcc cggcaccgga     1140
tttggctctc gcccatccgc aaacactggg gacgccttgg tcgatgcttt tgtctgggtc     1200
aagccaggcg gcgagtctga cggcaccagc gacaccagtg cggctcgata cgactaccac     1260
tgtggtattg acggcgccgt caagccggcg cctgaggctg gtacctggtt ccaagcctac     1320
tttgagcagc ttctcaagaa cgcaaacca tcgttcctgt aa                          1362

```

5

<210> 20  
 <211> 453  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>  
 <223> Clon 196D9

15

<400> 20

```

Val Pro Leu Glu Glu Arg Gln Ala Cys Ser Ser Val Trp Gly Gln Cys
1           5           10           15

```

ES 2 885 684 T3

Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Pro Thr Cys Cys Ala Ser Gly Ser Thr  
 20 25 30

Cys Val Tyr Ser Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu Pro Gly Ala Ala  
 35 40 45

Ser Ser Ser Ser Ser Thr Arg Ala Ala Ser Thr Thr Ser Arg Val Ser  
 50 55 60

Pro Thr Thr Ser Arg Ser Ser Ser Ala Thr Pro Pro Pro Gly Ser Thr  
 65 70 75 80

Thr Thr Arg Val Pro Pro Val Gly Ser Gly Thr Ala Thr Tyr Ser Gly  
 85 90 95

Asn Pro Phe Val Gly Val Thr Pro Trp Ala Asn Ala Tyr Tyr Ala Ser  
 100 105 110

Glu Val Ser Ser Leu Ala Ile Pro Ser Leu Thr Gly Ala Met Ala Thr  
 115 120 125

Ala Ala Ala Ala Val Ala Lys Val Pro Ser Phe Met Trp Leu Asp Thr  
 130 135 140

Leu Asp Lys Thr Pro Leu Met Glu Gln Thr Leu Ala Asp Ile Arg Thr  
 145 150 155 160

Ala Asn Lys Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val Val Tyr Asp  
 165 170 175

Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Leu Ala Ser Asn Gly Glu Tyr Ser  
 180 185 190

Ile Ala Asp Gly Gly Val Ala Lys Tyr Lys Asn Tyr Ile Asp Thr Ile  
 195 200 205

Arg Gln Ile Val Val Glu Tyr Ser Asp Ile Arg Thr Leu Leu Val Ile  
 210 215 220

Glu Pro Asp Ser Leu Thr Asn Leu Val Thr Asn Met Asn Val Pro Lys  
 225 230 235 240

Cys Ala Asn Ala Gln Ser Ala Tyr Leu Glu Cys Ile Asn Tyr Ala Val  
 245 250 255

Thr Gln Leu Asn Leu Pro Asn Val Ala Met Tyr Leu Asp Ala Gly His  
 260 265 270

ES 2 885 684 T3

Ala Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Gln Asp Pro Ala Ala Gln Leu  
 275 280 285

Phe Ala Asn Val Tyr Lys Asn Ala Ser Ser Pro Arg Ala Leu Arg Gly  
 290 295 300

Leu Ala Thr Asn Val Ala Asn Tyr Asn Gly Trp Asn Ile Thr Ser Pro  
 305 310 315 320

Pro Ser Tyr Thr Gln Gly Asn Ala Val Tyr Asn Glu Lys Leu Tyr Ile  
 325 330 335

His Ala Ile Gly Pro Leu Leu Ala Asn His Gly Trp Ser Asn Ala Phe  
 340 345 350

Phe Ile Thr Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr Gly Gln Gln  
 355 360 365

Gln Trp Gly Asp Trp Cys Asn Ala Pro Gly Thr Gly Phe Gly Leu Arg  
 370 375 380

Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ala Leu Val Asp Ala Phe Val Trp Val  
 385 390 395 400

Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ala Arg  
 405 410 415

Tyr Asp Tyr His Cys Gly Ile Asp Gly Ala Val Lys Pro Ala Pro Glu  
 420 425 430

Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Lys Asn Ala  
 435 440 445

Asn Pro Ser Phe Leu  
 450

<210> 21  
 <211> 1362  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Clon 198E11

10

<400> 21

ES 2 885 684 T3

gtgcctctag aggagcggca agcttgctca agcgtctggg gccaatgtgg tggccagaat 60  
 tggtcgggctc cgacttgctg tgcttccgga agcacatgcg tctactccaa cgactattac 120  
 tcccagtgtc ttcccggcgc tgcaagctca agctcgtcca cgcgcgccgc gtcgacgact 180  
 tctcgagtat cccccacaac atcccggctg agctccgcga cgcctccacc tggttctact 240  
 actaccagag tacctccagt cggatcggga accgctacgt attcaggcaa cccttttggt 300  
 ggggtcactc cttggggcaa tgcatattac gcctctgaag ttagcagcct cgctattcct 360  
 agcttgactg gagccatggc cactgctgca gcagctgtcg caaaggttcc ctcttttatg 420  
 tggctagata ctcttgacaa gaccctctc atggagcaaa ccttggccga catccgcacc 480  
 gccaacaaga atggcggtaa ctatgccgga cagtttgtgg tgtatgactt gccggatcgc 540  
 gattgcgctg ccgctgcctc gaatggcgaa tactctcttg acaaggatgg caagaacaaa 600  
 tataaggcct atatcgccaa gattaagggt attctccagg actattccga taccgggatc 660  
 attctggtta ttgagcctga ctctcttgcc aacatggtga ccaacatgaa cgtcccaaag 720  
 tgtgccaatg ctgcttcagc ctacaaggag ctcaccattc acgccctcaa ggagctgaac 780  
 cttccaaatg tttccatgta tatcgacgct ggccatggtg gatggcttgg ctggccggca 840  
 aaccttcctc cggccgctca gctatacggg cagctctaca aggatgcagg caagccgtct 900  
 cgccttcgcg gattggtcac caatgtctcc aactacaacg cctggaagct atccagcaag 960  
 ccagactaca cggagagcaa cccaactac gacgagcaga agtacatcca cgctctgtct 1020  
 cctcttcttg agcaggaggg ctggcccggg gccaaagtta tcgtcgatca aggtcgatcg 1080  
 ggaaagcagc ctaccggaca gaaggcttgg ggagactggt gcaatgtgat cggcaccgga 1140  
 tttggtattc gcccatccgc aaacactggg gactcgttgc tggattcgtt tgtctgggtc 1200  
 aagccaggcg gcgagtctga cggcaccagc gacaccagtg cgacccgata cgactaccac 1260  
 tgtggtgctt ctgccgcctt gcaaccggcg cctgaggctg gtacctggtt ccaagcctac 1320  
 tttgagcagc ttctcacaaa cgcaaacca tcgttcctgt aa 1362

<210> 22  
 <211> 453  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Clon 198E11

10

<400> 22

ES 2 885 684 T3

Val Pro Leu Glu Glu Arg Gln Ala Cys Ser Ser Val Trp Gly Gln Cys  
1 5 10 15

Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Pro Thr Cys Cys Ala Ser Gly Ser Thr  
20 25 30

Cys Val Tyr Ser Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu Pro Gly Ala Ala  
35 40 45

ES 2 885 684 T3

Ser Ser Ser Ser Ser Thr Arg Ala Ala Ser Thr Thr Ser Arg Val Ser  
50 55 60

Pro Thr Thr Ser Arg Ser Ser Ser Ala Thr Pro Pro Pro Gly Ser Thr  
65 70 75 80

Thr Thr Arg Val Pro Pro Val Gly Ser Gly Thr Ala Thr Tyr Ser Gly  
85 90 95

Asn Pro Phe Val Gly Val Thr Pro Trp Ala Asn Ala Tyr Tyr Ala Ser  
100 105 110

Glu Val Ser Ser Leu Ala Ile Pro Ser Leu Thr Gly Ala Met Ala Thr  
115 120 125

Ala Ala Ala Ala Val Ala Lys Val Pro Ser Phe Met Trp Leu Asp Thr  
130 135 140

Leu Asp Lys Thr Pro Leu Met Glu Gln Thr Leu Ala Asp Ile Arg Thr  
145 150 155 160

Ala Asn Lys Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val Val Tyr Asp  
165 170 175

Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly Glu Tyr Ser  
180 185 190

Leu Asp Lys Asp Gly Lys Asn Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile Ala Lys Ile  
195 200 205

Lys Gly Ile Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile Leu Val Ile  
210 215 220

Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Met Val Thr Asn Met Asn Val Pro Lys  
225 230 235 240

Cys Ala Asn Ala Ala Ser Ala Tyr Lys Glu Leu Thr Ile His Ala Leu  
245 250 255

Lys Glu Leu Asn Leu Pro Asn Val Ser Met Tyr Ile Asp Ala Gly His  
260 265 270

Gly Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Leu Pro Pro Ala Ala Gln Leu  
275 280 285

Tyr Gly Gln Leu Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ser Arg Leu Arg Gly  
290 295 300

ES 2 885 684 T3

Leu Val Thr Asn Val Ser Asn Tyr Asn Ala Trp Lys Leu Ser Ser Lys  
305 310 315 320

Pro Asp Tyr Thr Glu Ser Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Gln Lys Tyr Ile  
325 330 335

His Ala Leu Ser Pro Leu Leu Glu Gln Glu Gly Trp Pro Gly Ala Lys  
340 345 350

Phe Ile Val Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr Gly Gln Lys  
355 360 365

Ala Trp Gly Asp Trp Cys Asn Val Ile Gly Thr Gly Phe Gly Ile Arg  
370 375 380

Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ser Phe Val Trp Val  
385 390 395 400

Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser Ala Thr Arg  
405 410 415

Tyr Asp Tyr His Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Gln Pro Ala Pro Glu  
420 425 430

Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Thr Asn Ala  
435 440 445

Asn Pro Ser Phe Leu  
450

<210> 23  
<211> 1323  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> Clon 251B4

<400> 23

gctcctggtg aagagcgtca gtcttgacgc aacggagtct ggtctcaatg tgggtggtcag	60
aactgggtccg gtactccttg ctgcaccagt ggaacaagt gtgtcaaggt caacgacttc	120
tactcccagt gccagcctgg atctgcagac ccttctccca catccaccat tgtctccgcg	180
acgaccacca aggctactac tactggtagt ggaggctctg tcacctcgcc tcctcctggt	240
gccaccaaca accctttttc tggggtcgat ctgtgggcca ataactatta ccgctctgaa	300
gttagcactc tcgctattcc taagttgagc ggagccatgg ccaactgctgc agcaaaggtc	360

ES 2 885 684 T3

gcagatgttc cctcttttca gtggatggat acttatgacc acatctcctt catggaggag 420  
tctttggccg acatccgcac cgccaacaag aatggcggta actatgccgg acagtttgtg 480  
gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct gccgccgct cgaatggcga atactctctc 540  
gacaatgatg gcgccaacaa atataagaac tatatccaaa ccattaagaa gattatccag 600  
agctattccg atatccggat actcctggtt attgagcctg actctcttgc caacctggtg 660  
accaacatgg atgtcgccaa gtgtgccaag gctcatgatg cctacatcag cctgacgaac 720  
tacgccgtca cagaactgaa ctttccaaat gttgcgatgt atttggacgc tggccatgca 780  
ggatggcttg gctggccggc aaaccaaggc ccggccgcta aactatttgc aagcatctac 840  
aaggatgcag gcaagccggc cgctcttcgc ggattggcaa ccaatgtcgc caactacaac 900  
gcctggaagc tatccagcaa gccagactac acggagagca accccaacta cgacgagcag 960  
aagtacatcc acgctctgtc tcctcttctt gagcaggagg gctggcccgg tgccaagttc 1020  
atcgtcgatc aaggctgatc gggaaagcag cctaccggac agaaggcttg gggagactgg 1080  
tgcaatgctc ccggcaccgg atttggctc cggccatccg caaacactgg ggacgccttg 1140  
gtcgatgctt ttgtctgggt caagccaggc ggcgagtgtg acggcaccag cgacaccagt 1200  
gcggctcgat acgactacca ctgtggtatt gacggcgccg tcaagccggc gcctgaggct 1260  
ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag cttctcacia acgcaaacc atcgttcctg 1320  
taa 1323

- <210> 24
- <211> 440
- <212> PRT
- <213> Secuencia Artificial
  
- <220>
- <223> Clon 251B4
  
- <400> 24

ES 2 885 684 T3

Ala Pro Val Glu Glu Arg Gln Ser Cys Ser Asn Gly Val Trp Ser Gln  
1 5 10 15

Cys Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Thr Pro Cys Cys Thr Ser Gly Asn  
20 25 30

Lys Cys Val Lys Val Asn Asp Phe Tyr Ser Gln Cys Gln Pro Gly Ser  
35 40 45

Ala Asp Pro Ser Pro Thr Ser Thr Ile Val Ser Ala Thr Thr Thr Lys  
50 55 60

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Gly Gly Ser Val Thr Ser Pro Pro Pro Val  
65 70 75 80

ES 2 885 684 T3

Ala Thr Asn Asn Pro Phe Ser Gly Val Asp Leu Trp Ala Asn Asn Tyr  
85 90 95

Tyr Arg Ser Glu Val Ser Thr Leu Ala Ile Pro Lys Leu Ser Gly Ala  
100 105 110

Met Ala Thr Ala Ala Ala Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp  
115 120 125

Met Asp Thr Tyr Asp His Ile Ser Phe Met Glu Glu Ser Leu Ala Asp  
130 135 140

Ile Arg Thr Ala Asn Lys Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val  
145 150 155 160

Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly  
165 170 175

Glu Tyr Ser Leu Asp Asn Asp Gly Ala Asn Lys Tyr Lys Asn Tyr Ile  
180 185 190

Gln Thr Ile Lys Lys Ile Ile Gln Ser Tyr Ser Asp Ile Arg Ile Leu  
195 200 205

Leu Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Leu Val Thr Asn Met Asp  
210 215 220

Val Ala Lys Cys Ala Lys Ala His Asp Ala Tyr Ile Ser Leu Thr Asn  
225 230 235 240

Tyr Ala Val Thr Glu Leu Asn Leu Pro Asn Val Ala Met Tyr Leu Asp  
245 250 255

Ala Gly His Ala Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Gln Gly Pro Ala  
260 265 270

Ala Lys Leu Phe Ala Ser Ile Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ala Ala  
275 280 285

Leu Arg Gly Leu Ala Thr Asn Val Ala Asn Tyr Asn Ala Trp Lys Leu  
290 295 300

Ser Ser Lys Pro Asp Tyr Thr Glu Ser Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Gln  
305 310 315 320

Lys Tyr Ile His Ala Leu Ser Pro Leu Leu Glu Gln Glu Gly Trp Pro

ES 2 885 684 T3

				325						330					335			
Gly	Ala	Lys	Phe	Ile	Val	Asp	Gln	Gly	Arg	Ser	Gly	Lys	Gln	Pro	Thr			
			340					345					350					
Gly	Gln	Lys	Ala	Trp	Gly	Asp	Trp	Cys	Asn	Ala	Pro	Gly	Thr	Gly	Phe			
		355					360					365						
Gly	Leu	Arg	Pro	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Ala	Phe			
	370					375					380							
Val	Trp	Val	Lys	Pro	Gly	Gly	Glu	Cys	Asp	Gly	Thr	Ser	Asp	Thr	Ser			
385					390					395					400			
Ala	Ala	Arg	Tyr	Asp	Tyr	His	Cys	Gly	Ile	Asp	Gly	Ala	Val	Lys	Pro			
				405					410					415				
Ala	Pro	Glu	Ala	Gly	Thr	Trp	Phe	Gln	Ala	Tyr	Phe	Glu	Gln	Leu	Leu			
			420					425					430					
Thr	Asn	Ala	Asn	Pro	Ser	Phe	Leu											
		435					440											

<210> 25  
 <211> 1362  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Clon 251C4

10 <400> 25

ES 2 885 684 T3

gtgcctctag aggagcggca agcttgctca agcgtctggg gccaatgtgg tggccagaat 60  
 tggtcgggtc cgacttgctg tgcttccgga agcacatgcg tctactccaa cgactattac 120  
 tcccagtgtc ttcccggcgc tgcaagctca agctcgtcca cgcgcgccgc gtcgacgact 180  
 tctcgagtat cccccacaac atcccggctg agctccgga cgctccacc tggtttact 240  
 actaccagag tacctccagt cggatcggga accgctacgt attcaggcaa cccttttgtt 300  
 ggggtcactc cttggggcaa tgcatattac gcctctgaag ttagcagcct cgctattcct 360  
 agcttgactg gagccatggc cactgctgca gcagctgtcg caaaggttcc ctcttttatg 420  
 tggctagata ctcttgacaa gaccctctc atggagcaaa ccttggccga catccgcacc 480  
 gccaacaaga atggcggtaa ctatgccgga cagtttgtgg tgtatgactt gccggatcgc 540  
 gattgcgctg ccgctgcctc gaatggcga tactctattg ccgatggtgg cgtcgcaaaa 600  
 tataagaact atatcgacac cattcgtcaa attgtcgtgg aatattccga tatccggacc 660  
 ctctgggta ttgagcctga ctctcttgcc aacctggtga ccaacctcgg tactccaaag 720  
 tgtgccaatg ctcagtcagc ctacctgag tgcatcaact acgccgtcac acagctgaac 780  
 cttccaaatg ttgcgatgta tttggacgct ggccatgcag gatggcttgg ctggccggca 840  
 aaccaagacc cgcccgctca gctatttgca aatgtttaca agaatgcatc gtctccgaga 900  
 gctcttcgcg gattggcaac caatgtcgcc aactacaacg ggtggaacat taccagcccc 960  
 ccatcgta ca gcaaggcaa cgctgtctac aacgagaagc tgtacatcca cgctattgga 1020  
 cctcttcttg ccaatcacgg ctggccaac gccttcttca tcaactgatca aggtcgatcg 1080  
 ggaaagcagc ctaccggaca gcaacagtgg ggagactggt gcaatgtgat cggcaccgga 1140  
 tttggatttc gcccatccgc aaacactggg gactcgttgc tggattcgtt tgtctgggtc 1200  
 aagccaggcg gcgagtgtga cggcaccagc gacaccagtg cgccacgatt tgactcccac 1260  
 tgtgcgctcc cagatgcctt gcaaccggcg cctgaggctg gtacctggtt ccaagcctac 1320  
 tttgagcagc ttctcacaaa cgcaaaccga tcgttctctg aa 1362

5 <210> 26  
 <211> 453  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Clon 251C4  
 <400> 26

ES 2 885 684 T3

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



ES 2 885 684 T3

Gln Trp Gly Asp Trp Cys Asn Val Ile Gly Thr Gly Phe Gly Ile Arg  
370 375 380

Pro Ser Ala Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ser Phe Val Trp Val  
385 390 395 400

Lys Pro Gly Gly Glu Cys Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser Ala Pro Arg  
405 410 415

Phe Asp Ser His Cys Ala Leu Pro Asp Ala Leu Gln Pro Ala Pro Glu  
420 425 430

Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Thr Asn Ala  
435 440 445

Asn Pro Ser Phe Leu  
450

<210> 27  
<211> 1353  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

5

<220>  
<223> Clon 382A2

10

<400> 27

ES 2 885 684 T3

gccctcttg ttgaggagcg ccaggcttgc gctgcccaat gggcccagtg tggaggcttc 60  
 agctggaatg gtgctacctg ctgccagtct ggtagctact gcagcaagat caacgactat 120  
 tactctcagt gcattcctgg agaaggcccc gccacttcca agtcgagcac tcttcctgct 180  
 tccaccacaa caactcagcc aacttccact tcgactgctg gaacctcttc cactaccaag 240  
 cctcctccag ctggatcggg aaccgctacg tattcaggca acccttactc tgggggtcaac 300  
 ctttgggcca atagctatta ccgctctgaa gttaccaacc tcgctattcc taagttgagc 360  
 ggagccatgg ccaactgctgc agcaaaggtc gcagatgttc cctcttttca gtggatggat 420  
 acttatgacc acatctcctt catggaggag tctttggccg acatccgcaa ggccaacaag 480  
 gctggcggta actatgccgg acagtttgtg gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct 540  
 gccgctgcct cgaatggcga atactctctt gacaaggatg gcaagaacaa atataaggcc 600  
 tatatcgcca agattaaggg tattctccag gactattccg ataccggat cattctgggt 660  
 attgagcctg actctcttgc caacatggtg accaacatga acgtcccaaa gtgtgccaat 720  
 gctgcttcag cctacaagga gctcaccatt cacgccctca aggagctgaa ccttccaaat 780  
 gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt ggatggcttg gctggccggc aaaccttctt 840  
 ccggccgctc agctatacgg tcagctctac aaggatgcag gcaagccgtc tcgccttcgc 900  
  
 ggattggtca ccaatgtctc caactacaac gcctggaagc tatccagcaa gccagactac 960  
 acggagagca accccaacta cgacgagcag aagtacatcc acgctctgtc tcctcttctt 1020  
 gagcaggagg gctggcccgg tgccaagttc atcgtcgatc aaggtcgatc gggaaagcag 1080  
 cctaccggac agaaggcttg gggagactgg tgcaatgctc ccggcaccgg atttggtctc 1140  
 cgcccatccg caaacactgg ggacgccttg gtcgatgctt ttgtctgggt caagccaggc 1200  
 ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt gcggctcgat acgactacca ctgtggtatt 1260  
 gacggcgccg tcaagccggc gcctgaggct ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag 1320  
 cttctcaaga acgcaaacc atcgttctctg taa 1353

<210> 28  
 <211> 450  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Clon 382A2

10

<400> 28

ES 2 885 684 T3

Ala Pro Leu Val Glu Glu Arg Gln Ala Cys Ala Ala Gln Trp Ala Gln  
 1                   5                   10                   15

Cys Gly Gly Phe Ser Trp Asn Gly Ala Thr Cys Cys Gln Ser Gly Ser  
                  20                   25                   30

Tyr Cys Ser Lys Ile Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Ile Pro Gly Glu  
          35                   40                   45

Gly Pro Ala Thr Ser Lys Ser Ser Thr Leu Pro Ala Ser Thr Thr Thr  
          50                   55                   60

Thr Gln Pro Thr Ser Thr Ser Thr Ala Gly Thr Ser Ser Thr Thr Lys  
  65                   70                   75                   80

Pro Pro Pro Ala Gly Ser Gly Thr Ala Thr Tyr Ser Gly Asn Pro Tyr  
                  85                   90                   95

Ser Gly Val Asn Leu Trp Ala Asn Ser Tyr Tyr Arg Ser Glu Val Thr  
          100                   105                   110

Asn Leu Ala Ile Pro Lys Leu Ser Gly Ala Met Ala Thr Ala Ala Ala  
          115                   120                   125

Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp Met Asp Thr Tyr Asp His  
  130                   135                   140

ES 2 885 684 T3

Ile Ser Phe Met Glu Glu Ser Leu Ala Asp Ile Arg Lys Ala Asn Lys  
 145 150 155 160

Ala Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val Val Tyr Asp Leu Pro Asp  
 165 170 175

Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly Glu Tyr Ser Leu Asp Lys  
 180 185 190

Asp Gly Lys Asn Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile Ala Lys Ile Lys Gly Ile  
 195 200 205

Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile Leu Val Ile Glu Pro Asp  
 210 215 220

Ser Leu Ala Asn Met Val Thr Asn Met Asn Val Pro Lys Cys Ala Asn  
 225 230 235 240

Ala Ala Ser Ala Tyr Lys Glu Leu Thr Ile His Ala Leu Lys Glu Leu  
 245 250 255

Asn Leu Pro Asn Val Ser Met Tyr Ile Asp Ala Gly His Gly Gly Trp  
 260 265 270

Leu Gly Trp Pro Ala Asn Leu Pro Pro Ala Ala Gln Leu Tyr Gly Gln  
 275 280 285

Leu Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ser Arg Leu Arg Gly Leu Val Thr  
 290 295 300

Asn Val Ser Asn Tyr Asn Ala Trp Lys Leu Ser Ser Lys Pro Asp Tyr  
 305 310 315 320

Thr Glu Ser Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Gln Lys Tyr Ile His Ala Leu  
 325 330 335

Ser Pro Leu Leu Glu Gln Glu Gly Trp Pro Gly Ala Lys Phe Ile Val  
 340 345 350

Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr Gly Gln Lys Ala Trp Gly  
 355 360 365

Asp Trp Cys Asn Ala Pro Gly Thr Gly Phe Gly Leu Arg Pro Ser Ala  
 370 375 380

Asn Thr Gly Asp Ala Leu Val Asp Ala Phe Val Trp Val Lys Pro Gly  
 385 390 395 400

ES 2 885 684 T3

Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ala Arg Tyr Asp Tyr  
405 410 415

His Cys Gly Ile Asp Gly Ala Val Lys Pro Ala Pro Glu Ala Gly Thr  
420 425 430

Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Lys Asn Ala Asn Pro Ser  
435 440 445

Phe Leu  
450

- <210> 29
- <211> 1323
- 5 <212> ADN
- <213> *Gibberella zeae*
- <400> 29

ES 2 885 684 T3

gctcctggtg aagagcgtca gtcttgacgc aacggagtct ggtctcaatg tggagggtcag 60  
aactgggtccg gtactccttg ctgcaccagt ggaaacaagt gtgtcaaggc caacgacttc 120  
tactcccagt gccagcctgg atctgcagac ccttctccca catccaccat tgtctccgcg 180  
acgaccacca aggctactac tactggtagt ggaggctctg tcacctcgcc tcctcctggt 240  
gccaccaaca accctttttc tggggtcgat ctgtgggcca ataactatta ccgctctgaa 300  
gttagcactc tcgctattcc taagttgagc ggagccatgg ccaactgctgc agcaaaggtc 360  
gcagatgttc cctcttttca gtggatggat acttatgacc acatctcctt catggaggag 420  
tctttggccg acatccgcaa ggccaacaag gctggcggta actatgccgg acagtttgtg 480  
gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct gccgctgcct cgaatggcga atactctctt 540  
gacaaggatg gcaagaacaa atataaggcc tatatcgcca agattaaggg tattctccag 600  
gactattccg ataccggat cattctggtt attgagcctg actctcttgc caacatggtg 660  
accaacatga acgtcccaa gtgtgccaat gctgcttcag cctacaagga gctcaccatt 720  
cacgccctca aggagctgaa ccttccaaat gtttccatgt atatcgacgc tggccatggt 780  
ggatggcttg gctggccggc aaaccttctt ccggccgctc agctatacgg tcagctctac 840  
aaggatgcag gcaagccgtc tcgccttcgc ggattggtca ccaatgtctc caactacaac 900  
gcctggaagc tatccagcaa gccagactac acggagagca accccaacta cgacgagcag 960  
aagtacatcc acgctctgtc tcctcttctt gagcaggagg gctggcccgg tgccaagttc 1020  
atcgtcgatc aaggtcgatc gggaaagcag cctaccggac agaaggcttg gggagactgg 1080  
tgcaatgctc ccggcaccgg atttggtctc cgcccatccg caaacactgg ggacgccttg 1140  
gtcgatgctt ttgtctgggt caagccaggc ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt 1200  
gcggctcgat acgactacca ctgtggtatt gacggcgccg tcaagccggc gcctgaggct 1260  
ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag cttctcaaga acgcaaacc atcgttcctg 1320  
taa 1323

<210> 30  
<211> 440  
<212> PRT  
<213> *Gibberella zeae*  
<400> 30

5

ES 2 885 684 T3

Ala Pro Val Glu Glu Arg Gln Ser Cys Ser Asn Gly Val Trp Ser Gln  
 1 5 10 15

Cys Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Thr Pro Cys Cys Thr Ser Gly Asn  
 20 25 30

Lys Cys Val Lys Val Asn Asp Phe Tyr Ser Gln Cys Gln Pro Gly Ser  
 35 40 45

Ala Asp Pro Ser Pro Thr Ser Thr Ile Val Ser Ala Thr Thr Thr Lys  
 50 55 60

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Gly Gly Ser Val Thr Ser Pro Pro Pro Val  
 65 70 75 80

Ala Thr Asn Asn Pro Phe Ser Gly Val Asp Leu Trp Ala Asn Asn Tyr  
 85 90 95

Tyr Arg Ser Glu Val Ser Thr Leu Ala Ile Pro Lys Leu Ser Gly Ala  
 100 105 110

Met Ala Thr Ala Ala Ala Lys Val Ala Asp Val Pro Ser Phe Gln Trp  
 115 120 125

Met Asp Thr Tyr Asp His Ile Ser Phe Met Glu Glu Ser Leu Ala Asp  
 130 135 140

Ile Arg Lys Ala Asn Lys Ala Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val  
 145 150 155 160

Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly  
 165 170 175

Glu Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Gly Lys Asn Lys Tyr Lys Ala Tyr Ile  
 180 185 190

Ala Lys Ile Lys Gly Ile Leu Gln Asp Tyr Ser Asp Thr Arg Ile Ile

ES 2 885 684 T3

	195		200		205														
Leu	Val	Ile	Glu	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Asn	Met	Val	Thr	Asn	Met	Asn				
	210						215				220								
Val	Pro	Lys	Cys	Ala	Asn	Ala	Ala	Ser	Ala	Tyr	Lys	Glu	Leu	Thr	Ile				
	225				230					235					240				
His	Ala	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn	Leu	Pro	Asn	Val	Ser	Met	Tyr	Ile	Asp				
				245					250					255					
Ala	Gly	His	Gly	Gly	Trp	Leu	Gly	Trp	Pro	Ala	Asn	Leu	Pro	Pro	Ala				
			260					265					270						
Ala	Gln	Leu	Tyr	Gly	Gln	Leu	Tyr	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Pro	Ser	Arg				
		275					280					285							
Leu	Arg	Gly	Leu	Val	Thr	Asn	Val	Ser	Asn	Tyr	Asn	Ala	Trp	Lys	Leu				
	290					295					300								
Ser	Ser	Lys	Pro	Asp	Tyr	Thr	Glu	Ser	Asn	Pro	Asn	Tyr	Asp	Glu	Gln				
	305				310					315					320				
Lys	Tyr	Ile	His	Ala	Leu	Ser	Pro	Leu	Leu	Glu	Gln	Glu	Gly	Trp	Pro				
				325					330					335					
Gly	Ala	Lys	Phe	Ile	Val	Asp	Gln	Gly	Arg	Ser	Gly	Lys	Gln	Pro	Thr				
			340					345					350						
Gly	Gln	Lys	Ala	Trp	Gly	Asp	Trp	Cys	Asn	Ala	Pro	Gly	Thr	Gly	Phe				
		355					360					365							
Gly	Leu	Arg	Pro	Ser	Ala	Asn	Thr	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Ala	Phe				
	370					375					380								
Val	Trp	Val	Lys	Pro	Gly	Gly	Glu	Ser	Asp	Gly	Thr	Ser	Asp	Thr	Ser				
	385				390					395					400				
Ala	Ala	Arg	Tyr	Asp	Tyr	His	Cys	Gly	Ile	Asp	Gly	Ala	Val	Lys	Pro				
				405					410					415					
Ala	Pro	Glu	Ala	Gly	Thr	Trp	Phe	Gln	Ala	Tyr	Phe	Glu	Gln	Leu	Leu				
			420					425					430						
Lys	Asn	Ala	Asn	Pro	Ser	Phe	Leu												
		435					440												

ES 2 885 684 T3

<210> 31  
 <211> 1353  
 <212> ADN  
 <213> *Nectria haematococca*

5 <400> 31

```

gcccctcttg ttgaggagcg ccaggcttgc gctgcccatt gggcccagtg tgggtgcttc      60
agctggaatg gtgctacctg ctgccagtct ggtagctact gcagcaagat caacgactat      120
tactctcagt gcattcctgg agaaggcccc gccacttcca agtcgagcac tcttcctgct      180
tccaccacaa caactcagcc aacttccact tcgactgctg gaacctcttc cactaccaag      240
cctcctccag ctggatcggg aaccgctacg tattcaggca acccttactc tggggccaac      300
ctttgggcca atagctatta ccgctctgaa gttaccaacc tcgctattcc taagttgagc      360
ggagccatgg ccaactgctgc agcaaaggtc gcagatgttc cctcttatca gtggatggat      420
tctttcgacc acatctccct catggaggac accttggctg acatccgcaa ggccaacctg      480
gctggcggta actatgccgg acagtttgtg gtgtatgact tgccggatcg cgattgcgct      540
gccgccgcct cgaatggcga atactctctc gacaatgatg gcgccaacaa atataagaac      600
tatatccaaa ccattaagaa gattatccag agctattccg atatccggat actcctggtt      660
attgagcctg actctcttgc caacctgggtg accaacaatgg atgtcgccaa gtgtgccaag      720
gctcatgatg cctacatcag cctgacgaac tacgccgtca cagaactgaa ccttccaaat      780
gttgcgatgt atttggacgc tggccatgca ggatggcttg gctggccggc aaaccaaggc      840
ccggccgcta aactatattg aagcatctac aaggatgcag gcaagccggc cgctcttcgc      900
ggattggcaa ccaatgtcgc caactacaac gcctggagcc tcagcagcgc tccaccttac      960
acgcaaggcg cctctatcta cgacgagaag agcttcatcc acgctatggg acctcttctt     1020
gagcagaatg gctggccttg tgcccacttc atcactgatc aaggtcgatc gggaaagcag     1080
cctaccggac agatccagtg gggagactgg tgcaattcca agggcaccgg atttggtatt     1140
cgcccatccg caaacactgg ggactcgttg ctggatgctt ttgtctgggt caagccaggc     1200
ggcgagtctg acggcaccag cgacaccagt gcgaccgat acgactacca ctgtggtgct     1260
tctgccgcct tgcaaccggc gcctgaggct ggtacctggt tccaagccta ctttgagcag     1320
cttctcacia acgcaaacc atcgttcctg taa                                     1353
    
```

10 <210> 32  
 <211> 450  
 <212> PRT  
 <213> *Nectria haematococca*

15 <400> 32

Ala Pro Leu Val Glu Glu Arg Gln Ala Cys Ala Ala Gln Trp Ala Gln  
 1 5 10 15

ES 2 885 684 T3

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

ES 2 885 684 T3

Leu Gly Trp Pro Ala Asn Gln Gly Pro Ala Ala Lys Leu Phe Ala Ser  
 275 280 285

Ile Tyr Lys Asp Ala Gly Lys Pro Ala Ala Leu Arg Gly Leu Ala Thr  
 290 295 300

Asn Val Ala Asn Tyr Asn Ala Trp Ser Leu Ser Ser Ala Pro Pro Tyr  
 305 310 315 320

Thr Gln Gly Ala Ser Ile Tyr Asp Glu Lys Ser Phe Ile His Ala Met  
 325 330 335

Gly Pro Leu Leu Glu Gln Asn Gly Trp Pro Gly Ala His Phe Ile Thr  
 340 345 350

Asp Gln Gly Arg Ser Gly Lys Gln Pro Thr Gly Gln Ile Gln Trp Gly  
 355 360 365

Asp Trp Cys Asn Ser Lys Gly Thr Gly Phe Gly Ile Arg Pro Ser Ala  
 370 375 380

Asn Thr Gly Asp Ser Leu Leu Asp Ala Phe Val Trp Val Lys Pro Gly  
 385 390 395 400

Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser Ala Thr Arg Tyr Asp Tyr  
 405 410 415

His Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Gln Pro Ala Pro Glu Ala Gly Thr  
 420 425 430

Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Thr Asn Ala Asn Pro Ser  
 435 440 445

Phe Leu  
 450

- 5 <210> 33
- <211> 54
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial
- 10 <220>
- <223> péptido señal de CBH2
- <400> 33
- atgattgtcg gcattctcac cagctggct acgctggcca cactcgcagc tagt 54
- 15 <210> 34
- <211> 99
- <212> ADN
- <213> *Saccharomyces cerevisiae*
- <400> 34

ES 2 885 684 T3

atgaagcttt ccaccatcct tttcacagcc tgcgctaccc tggctgccgc cctcccttcc 60  
cccatcactc cttctgaggc cgcagttctg cagaagagg 99

<210> 35  
<211> 33  
<212> PRT  
<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 35

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

Arg

## REIVINDICACIONES

1. Polipéptido aislado o purificado **caracterizado por que** tiene una actividad exoglucanasa mejorada de al menos 10 % a una temperatura de aproximadamente 35 °C y/o de aproximadamente 50 °C, con respecto a la actividad exoglucanasa de la proteína de referencia CBH2 de secuencia SEQ ID NO: 2, seleccionándose dicho polipéptido del grupo que consiste en:
- 5
- i. una secuencia de aminoácidos seleccionada entre SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO : 26; y
- 10
- ii. una secuencia de aminoácidos que presenta, con respecto a la secuencia SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 26, un porcentaje de identidad de al menos 99 %.
- 15
2. Ácido nucleico purificado o aislado **caracterizado por que** codifica al menos un polipéptido según la reivindicación 1.
3. Ácido nucleico purificado o aislado según la reivindicación 2 seleccionado entre las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11; SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO : 23 y SEQ ID NO: 25.
- 20
4. Vector **caracterizado por que** comprende al menos un ácido nucleico según una de las reivindicaciones 2 o 3.
5. Célula hospedadora aislada **caracterizada por que** comprende al menos un polipéptido según la reivindicación 1, o al menos un ácido nucleico según una de las reivindicaciones 2 o 3, o al menos un vector según la reivindicación 4.
- 25
6. Célula hospedadora según la reivindicación 5, **caracterizada por que** se selecciona entre *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Neurospora*, *Humicola*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Thermomonospora*, *Myceliophthora*, *Chrysosporium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Streptomyces*, *Yarrowia*, *Pichia* y *Saccharomyces*.
- 30
7. Célula hospedadora aislada según una de las reivindicaciones 5 o 6, **caracterizada por que** se selecciona entre *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma koningii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus phoenicis*, *Neurospora crassa*, *Humicola griseae*, *Myceliophthora thermopila*, *Chrysosporium lucknowense*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium oxalicum*, *Escherichia coli*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium saccharolyticum*, *Clostridium benjerinckii*, *Clostridium butylicum*, *Pichia pastoris*, *Yarrowia lipolytica* y *Saccharomyces cerevisiae*.
- 35
8. Uso de dicho polipéptido según la reivindicación 1 para la hidrólisis de la celulosa.
- 40
9. Uso de dicho polipéptido según la reivindicación 1 para la producción de biocarburante.
10. Composición enzimática apta para actuar sobre la biomasa lignocelulósica, produciéndose dicha composición enzimática por hongos filamentosos y comprendiendo al menos un polipéptido según la reivindicación 1.
- 45
11. Procedimiento de producción de biocarburante a partir de la biomasa lignocelulósica, **caracterizado por que** comprende las siguientes etapas sucesivas:
- 50
- se pone en suspensión en fase acuosa la biomasa a hidrolizar;
  - se hidroliza la biomasa en presencia de una composición enzimática según la reivindicación 10 la biomasa lignocelulósica para producir un hidrolizado que contiene glucosa;
  - se fermenta en presencia de un organismo fermentativo la glucosa del hidrolizado para producir un mosto de fermentación;
  - se separa el biocarburante del mosto de fermentación.
- 55
12. Procedimiento de producción de biocarburante a partir de la biomasa, **caracterizado por que** comprende las siguientes etapas sucesivas:
- 60
- se pone en suspensión en fase acuosa la biomasa a hidrolizar;
  - se añade simultáneamente a la suspensión una composición enzimática según la reivindicación 10 y un organismo fermentativo y la mezcla se fermenta para producir un mosto de fermentación;
  - se separa el biocarburante del mosto de fermentación.
13. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11 o 12, en donde el organismo fermentativo es una célula hospedadora según una de las reivindicaciones 5 a 7.

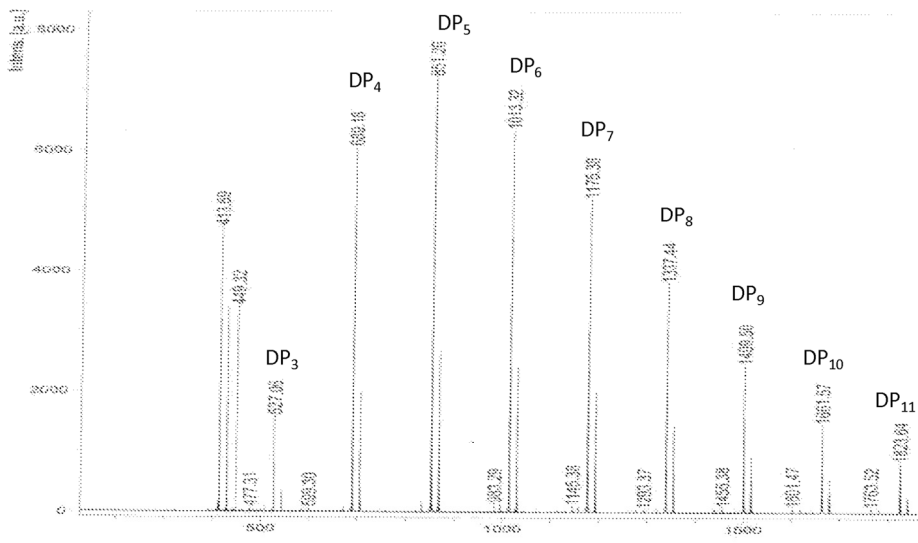


FIGURA 1