



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 323 634**

51 Int. Cl.:
C07K 14/025 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03727750 .6**

96 Fecha de presentación : **19.05.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1506222**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2005**

54 Título: **Proteínas quiméricas L1 del virus del papiloma humano 16 que contienen un péptido L2, partículas tipo virus preparadas a partir de estas proteínas y un método para preparar las partículas.**

30 Prioridad: **17.05.2002 ZA 02/3957**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.07.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.07.2009

73 Titular/es: **University of Cape Town
Lovers Walk Rondebosch
Cape Town, ZA**

72 Inventor/es: **Varsani, Arvind, Devshi y
Rybicki, Edward, Peter**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 323 634 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

Proteínas quiméricas L1 del virus del papiloma humano 16 que contienen un péptido L2, partículas tipo virus preparadas a partir de estas proteínas y un método para preparar las partículas.

Antecedentes de la invención

La invención se relaciona con un método para preparar polipéptidos, y en particular partículas tipo virus (VLP) o capsómeros del virus del papiloma humano.

Los virus del papiloma son un grupo de virus de ADN pequeño, que inducen verrugas y otras lesiones en una variedad de vertebrados superiores incluidos los humanos.

Los virus del papiloma (PV) son miembros del género *Papillomavirus*, familia *Papillomaviridae*, y contienen un genoma circular de ADN bicatenario con un tamaño típico de 7.900 pares de bases (Seedorf y colaboradores, 1985). Todos los PV tienen una organización genómica similar, con una región génica temprana que codifica proteínas involucradas en la replicación del ADN y en la transformación celular, y una región tardía que codifica las proteínas de la cápside viral (Figura 1). Una región no codificadora conocida como la región larga de control (LCR) contiene elementos de control para transcripción y replicación.

Los virus del papiloma codifican dos proteínas virales estructurales, L1 y L2. El virión contiene 360 moléculas L1 1 dispuestas como 72 capsómeros, cada uno de los cuales es un pentámero compuesto de cinco moléculas L1 (Baker y colaboradores, 1991). La proporción de moléculas L1 a L2 ha sido estimada aproximadamente en 30:1 (Doobar y colaboradores, 1987), lo que sugiere que cada virión contendría aproximadamente doce moléculas L2. El mayor número de moléculas L1 por virión ha conducido a denominar a L1 como a la proteína "principal" de la cápside y a denominar a L2 como a la proteína "secundaria" de la cápside.

L1 de HPV-16 es codificada por un gen de 1.518 kb, dando lugar a una proteína de 504 aminoácidos. L1 1 tiene un peso molecular de 55 a 58 kD (Browne y colaboradores, 1988). Los dominios de L1 probablemente median el enlazamiento celular y contengan determinantes antigénicos que median las respuestas inmunes de las células T y del anticuerpo al virus.

Entre los virus del papiloma humano genital (HPV) existen HPV de bajo riesgo (por ejemplo, HPV 6 y HPV 11) que causan verrugas genitales y lesiones cervicales que usualmente retroceden o no progresan hasta malignidad, y genotipos de alto riesgo (u oncogénicos) (por ejemplo, HPV 16 y HPV 18), que están asociados en gran medida con lesiones cervicales y carcinomas. Los HPV han sido considerados también como los agentes etiológicos en varios otros cánceres anogenitales y del tracto aerodigestivo (Breitburd y colaboradores, 1999). Un cuerpo apremiante de evidencia clínica, molecular, experimental y epidemiológica ha establecido que ciertos tipos de HPV son la causa principal del cáncer cervical (Lowy y colaboradores, 1994; IARC, 1995).

HPV 16 está presente en la mayoría de los casos del cáncer cervical y tres tipos adicionales (HPV 18, 31 y 45) están presentes en aproximadamente un 30% adicional de los casos (IARC, 1999).

Aunque la incidencia del cáncer cervical está disminuyendo en los EU, es la neoplasia maligna más frecuente en mujeres en países en desarrollo, con aproximadamente 500.000 nuevos casos diagnosticados cada año.

Tradicionalmente, la mayoría de las vacunas profilácticas han consistido de virus vivos atenuados de virus inactivados con formalina. Los viriones del virus de papiloma son altamente inmunogénicos, induciendo títulos altos (> 100.000) de anticuerpos de neutralización cuando se los inocula sistémicamente (Doretzky y colaboradores, 1980; Kimbauer y colaboradores, 1991, 1992). Sin embargo, debido a las dificultades y a los riesgos involucrados en la generación de grandes cantidades de estas vacunas tradicionales, se ha hecho un gran énfasis en el desarrollo de subunidades de proteína viral o de vacunas de partículas tipo virus (VLP).

La mejor proteína candidata para una vacuna profiláctica contra HPV es la proteína principal L1 de la cápside, que se autoensambla en las VLP (Schiller y Lowy, 2001). Estas VLP están muy bien caracterizadas, y morfológicamente parecen indistinguibles de todos los viriones (Chen y colaboradores, 2001; Rose y colaboradores, 1993). La inyección de las VLP en animales experimentales induce anticuerpos neutralizadores (Rose y colaboradores, 1998); los ensayos preliminares en humanos de vacunas inyectadas de VLP han demostrado también que estas son bien toleradas y son altamente inmunogénicas, y en el último caso, estimularon respuestas robustas de células B y T (Evans y colaboradores, 2001; Harro y colaboradores, 2001).

Una vacuna profiláctica barata y efectiva contra tipos oncogénicos de los HPV mucotrópicos podría tener un impacto potencial sobre el agobio del cáncer en el mundo, especialmente contra HPV 16.

Un epítipo común de neutralización para los HPV tipos 6 y 16 ha sido encontrado en la región (aa) 108 - 120 de la proteína secundaria de la cápside del HPV 16, L2 (Kawana y colaboradores, 1998, 1999). Los ratones Balb/c que fueron inmunizados en forma nasal con un péptido sintético correspondiente al epítipo produjeron una respuesta inmune que resultó en anticuerpos IgA e IgG que reaccionan en forma cruzada con las cápsides L1/L2 del HPV 6,

ES 2 323 634 T3

16 y 18 (Kawana y colaboradores, 2001). La inmunización de conejos con cualquiera de los dos péptidos que se superponen derivados de la región 94 - 122 de la secuencia L2 ya sea virus del papiloma oral de conejo (ROPV) o virus del papiloma del conejo común (CRPV) dio como resultado sueros que reaccionaron con el análogo purificado L2, específicamente el L2 reconocido en células infectadas y en virus neutralizado *in vitro*. Los conejos inmunizados con péptidos del CRPV fueron inmunes al reto del CRPV (Embers y colaboradores, 2002).

Los inventores decidieron por lo tanto investigar adicionalmente la presentación de este epítipo L2 sobre las VLP L1 quiméricas como vacuna por sí mismas, y como modelo para la presentación de otras secuencias de péptidos inmunogénicos.

En relación con el estado del arte, Müller y colaboradores (1997, *Virology*, vol. 234 (1), páginas 93 - 111) describen proteínas quiméricas L1 del HPV 16 que tienen insertada una secuencia E7 del HPV-16 ya sea en la posición C-terminal o en una posición intermedia.

Además, Slupetzlay y colaboradores (2001, *J. Gen. Virol.*, vol. 82, páginas 2799 - 2804) describen proteínas quiméricas L1 del HPV-16 que tienen insertadas en diferentes bucles de la superficie de la cápside al epítipo LELDKWAS del péptido de la célula B de 8aa del gp41 del VIH-1.

Resumen de la invención

De acuerdo con una primera modalidad de la invención, se provee un método para producir un polipéptido L1 del virus de papiloma humano quimérico (HPV) que contiene un péptido L2 del HPV, comprendiendo el método las etapas de:

introducir una secuencia de ADN que codifica para el péptido L2 en una secuencia de ADN que codifica para el polipéptido L1;

introducir la secuencia de ADN que incluye las secuencias para el polipéptido L1 y el péptido L2 en una célula huésped en la cual se puede expresar la secuencia de ADN;

causar la expresión de la secuencia de ADN; y

recuperar al polipéptido quimérico L1 resultante que incluye al péptido L2.

El polipéptido L1 del HPV y/o el péptido L2 del HPV pueden ser un polipéptido o péptido del HPV-16.

El péptido L2 del HPV puede tener la siguiente secuencia de aminoácidos: LVEETSFDAGAP (SEQ ID NO: 1), o una secuencia que sea una modificación o derivada de la misma, con la condición de que la secuencia derivada o modificada sea una secuencia que tenga al menos 80% de homología con la secuencia de la SEQ ID NO: 1 y que codifique para un péptido que produzca una respuesta inmunogénica contra el HPV.

Uno o más nucleótidos de la secuencia de ADN para L1 puede ser suprimida en el punto de introducción de la secuencia de ADN para L2, y típicamente el número de nucleótidos suprimidos de la secuencia para L1 corresponderá con el número de nucleótidos insertados para L2.

La expresión de la proteína podría ser o bien en un sistema de expresión procariota o en uno eucariota.

Para el propósito del método descrito, el polipéptido quimérico puede tener la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las Figuras 6, 8, 10, 12 y 14 (SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13), o una secuencia que sea al menos 80% homóloga con cualquiera de las secuencias establecidas en las SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13 y que es capaz de producir una respuesta inmunogénica contra el HPV. Igualmente, en el método, la secuencia de ADN que codifica para el polipéptido quimérico puede ser la secuencia de ADN establecida en cualquiera de las Figuras 5, 7, 9, 11 y 13 (SEQ ID NOS: 4, 6, 8, 10 y 12), o una secuencia que tiene al menos 80% de homología con cualquiera de estas secuencias y que codifica para un polipéptido capaz de producir una respuesta inmunogénica contra el HPV.

El polipéptido quimérico L1 puede ensamblarse dentro de las partículas tipo virus y/o los capsómeros. La partícula tipo virus o el capsómero pueden ser inmunogénicos.

De acuerdo a una segunda modalidad de la invención, se provee una secuencia quimérica de ADN para el L1 del HPV dentro de la cual ha sido insertada la secuencia de ADN que codifica para el anterior péptido L2 del HPV (SEQ ID NO: 1), siendo la secuencia resultante de L1 del HPV, capaz de expresar al péptido L2 del HPV.

Se pueden suprimir uno o más nucleótidos de la secuencia de ADN para L1 en el punto de introducción de la secuencia de ADN para L2, y típicamente el número de nucleótidos suprimidos de la secuencia de L1 corresponderá con el número de nucleótidos insertados para L2.

ES 2 323 634 T3

La secuencia quimérica de ácido nucleico puede ser una secuencia como la establecida en cualquiera de las Figuras 5, 7, 9, 11 y 13 o una secuencia de ADN que es una modificación o derivada de la misma, con la condición de que la secuencia modificada o derivada de ADN tenga al menos una homología del 80% con cualquiera de las secuencias de las SEQ ID NOS: 4, 6, 8, 10 y 12 y codifique para un péptido quimérico L1 que presenta un péptido L2 del HPV, siendo el péptido quimérico L1 capaz de producir una respuesta inmunogénica contra HPV.

De acuerdo a una tercera modalidad de la invención, se provee un vector que incluye la secuencia de ácido nucleico descrita anteriormente.

De acuerdo a una cuarta modalidad de la invención, se provee una célula huésped que incluye al vector descrito anteriormente.

De acuerdo aún con una modalidad adicional de la invención, se provee un polipéptido quimérico L1 del HPV que incluye al anterior péptido L2 del HPV (SEQ ID NO: 1).

El polipéptido quimérico puede ser una partícula o capsómero quimérico tipo virus L1 del HPV.

De acuerdo a una modalidad adicional de la invención, se provee un polipéptido del HPV que tiene la secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las Figuras 6, 8, 10, 12 y 14 (SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13), o una secuencia que es una modificación o derivada de la misma, siendo la modificación o la derivada una secuencia que es al menos 80% homóloga con cualquiera de las secuencias establecidas en las SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13 y es un péptido quimérico L1 que presenta un péptido L2 del HPV siendo el péptido quimérico L1 capaz de producir una respuesta inmunogénica contra HPV.

De acuerdo a otra modalidad de la invención, se provee un método para producir un polipéptido quimérico L1 del virus de papiloma humano (HPV) que contiene un péptido heterólogo, comprendiendo el método las etapas de:

introducir una secuencia de ADN que codifica para el péptido heterólogo en una secuencia de ADN que codifica para el polipéptido L1 por medio del reemplazo de las posiciones de los nucleótidos 241-279, 391 - 429, 520-558, 1240 - 1278 ó 1291 - 1329 con dichas secuencias de ADN que codifican para dicho péptido heterólogo;

introducir la secuencia de ADN que incluye las secuencias para el polipéptido L1 y el péptido heterólogo en una célula huésped en la cual se puede expresar la secuencia de ADN;

provocar la expresión de la secuencia de ADN; y

recuperar al polipéptido quimérico resultante L1 que incluye al péptido heterólogo.

La secuencia del péptido heterólogo puede ser cualquier otra secuencia del HPV, o se puede derivar de cualquier epítipo antigénico, célula B o célula T específica.

Uno o más nucleótidos de la secuencia de ADN para L1 en el punto de introducción de la secuencia de ADN heterólogo pueden ser suprimidos, y típicamente el número de nucleótidos suprimidos de la secuencia de L1 corresponderá con el número de nucleótidos heterólogos insertados.

De acuerdo aún a una modalidad adicional de la invención, se provee una vacuna que incluye al polipéptido quimérico L1 del HPV o una secuencia de ADN que codifica para el polipéptido, sustancialmente como se describió anteriormente. La vacuna puede ser para tratamiento profiláctico o terapéutico de la infección con el HPV, en particular HPV 6, 16 y 18.

Preferiblemente, la vacuna será capaz de inducir una respuesta inmunogénica para HPV y para el péptido introducido en un huésped adecuado.

La vacuna puede incluir además un excipiente y/o adyuvante farmacéutico.

Descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra una representación diagramática de la organización genómica de HPV 16;

La Figura 2 muestra la estructura monomérica de L1 del HPV 16;

La Figura 3 muestra la secuencia de nucleótidos de la secuencia nativa del gen para L1 del HPV 16 dentro de la cual se insertó el epítipo de L2 para producir los constructos quiméricos de las Figuras 5 a 14 (SEQ ID NO: 2);

La Figura 4 muestra la secuencia de aminoácidos de la Figura 3 (SEQ ID NO: 3);

La Figura 5 muestra la secuencia de nucleótidos del constructo quimérico A (SEQ ID NO: 4);

ES 2 323 634 T3

La Figura 6 muestra la secuencia de aminoácidos del constructo quimérico A (SEQ ID NO: 5);

La Figura 7 muestra la secuencia de nucleótidos del constructo quimérico C (SEQ ID NO: 6);

5 La Figura 8 muestra la secuencia de aminoácidos del constructo quimérico C (SEQ ID NO: 7);

La Figura 9 muestra la secuencia de nucleótidos del constructo quimérico E (SEQ ID NO: 8);

10 La Figura 10 muestra la secuencia de aminoácidos del constructo quimérico E (SEQ ID NO: 9);

La Figura 11 muestra la secuencia de nucleótidos del constructo quimérico F (SEQ ID NO: 10);

La Figura 12 muestra la secuencia de aminoácidos del constructo quimérico F (SEQ ID NO: 11);

15 La Figura 13 muestra la secuencia de nucleótidos del constructo quimérico H (SEQ ID NO: 12);

La Figura 14 muestra la secuencia de aminoácidos del constructo quimérico H (SEQ ID NO: 13);

20 La Figura 15 muestra una representación diagramática del constructo quimérico A;

La Figura 16 muestra una representación diagramática del constructo quimérico C;

La Figura 17 muestra una representación diagramática del constructo quimérico E;

25 La Figura 18 muestra una representación diagramática del constructo quimérico F;

La Figura 19 muestra una representación diagramática del constructo quimérico H;

30 La Figura 20 muestra los datos obtenidos a partir de las titulaciones de punto final de ratones inoculados con las VLP quiméricas obtenidas del constructo A;

La Figura 21 muestra los datos obtenidos a partir de las titulaciones de punto final de ratones inoculados con las VLP quiméricas obtenidas del constructo C;

35 La Figura 22 muestra los datos obtenidos a partir de las titulaciones de punto final de ratones inoculados con las VLP quiméricas obtenidas del constructo E;

40 La Figura 23 muestra los datos obtenidos a partir de las titulaciones de punto final de ratones inoculados con las VLP quiméricas obtenidas del constructo F;

La Figura 24 muestra los datos obtenidos a partir de las titulaciones de punto final de ratones inoculados con las VLP quiméricas obtenidas del constructo H;

45 La Figura 25 muestra los datos obtenidos a partir de las titulaciones de punto final de ratones inoculados con las VLP obtenidas de una L1 no quimérica del HPV 16 (SA-opt);

La Figura 26 muestra la respuesta de los ratones a los refuerzos después de la inmunización inicial;

50 La Figura 27 muestra la secuencia de nucleótidos del péptido L2 que fue insertado en la secuencia L1 (SEQ ID NO: 14); y

La Figura 28 muestra la secuencia de aminoácidos del péptido L2 que fue insertado en la secuencia L1 (SEQ ID NO: 1).

55 **Descripción detallada de una modalidad de la invención**

Diseño de constructos quiméricos

60 Se sintetizaron los iniciadores que codifican al péptido:

LVEETSFIDAGAP (SEQ ID NO: 1)

65 que es un epítipo común de neutralización para HPV 6 y 16 en la región (aa) 108 - 120 de la proteína secundaria de la cápside del HPV, L2.

De acuerdo con la estructura monomérica de L1 del HPV 16 publicada por Chen y colaboradores (2000) (Figura 2), se exponen diferentes bucles y de regiones superficiales cuando se forman pentámeros y estructuras de orden superior.

ES 2 323 634 T3

Con base en el mapeo del epítipo del anticuerpo V5 (anticuerpo de neutralización erigido para L1), se seleccionaron diferentes regiones/bucles para la inserción del péptido L2 para mantener la región de enlazamiento del anticuerpo V5 de las VLP de L1.

5 Se ha mapeado la región antigénica principal (región de enlazamiento V5) de la molécula L1 con los residuos aminoácidos A266, (estando localizado F50 debajo del residuo superficial V271) y S282 (Roden y colaboradores, 1996, White y colaboradores, 1999). Con base en estos residuos, los inventores decidieron no alterar el bucle B de la molécula, ya que esto alteraría la región antigénica y posiblemente destruiría epítomos vitales de L1.

10 Las siguientes regiones de L1 fueron seleccionadas por lo tanto para inserción del péptido L2:

A: bucle E - F (SEQ ID NOS: 4 y 5)

C: bucle D - E (SEQ ID NOS: 6 y 7)

15 E: región entre la hélice h4 y la región J de L1 (SEQ ID NOS: 8 y 9)

F: hélice h4 (SEQ ID NOS: 10 y 11)

20 H: bucle interno C - D (SEQ ID NOS: 12 y 13)

Síntesis de constructos quiméricos

25 Se prepararon los constructos quiméricos por medio de PCR siendo diseñados los iniciadores con el extremo 3' que codifica para el péptido L2. Se utilizó como molde el gen SA-opt para L1 del HPV (Figuras 3 y 4) clonado en el vector del plásmido pSK. Se utilizó la siguiente secuencia de ADN para codificar al péptido L2:

5' - TTAGTGGAAGAACTAGTTTTATTGATGCTGGTGCACCA - 3' (SEQ ID NO: 14).

30 Se insertó el péptido L2 en el gen por medio del reemplazo de las regiones mostradas en la Tabla 1. Este método de reemplazo de los nucleótidos existentes, en lugar de limitarse a insertar los nucleótidos para L2 dentro de la secuencia de L1 sin ningún reemplazo, es conveniente porque las alteraciones de la estructura terciaria se mantienen en un mínimo, y la posibilidad de efectos estéricos o de interferencias con el enlazamiento del anticuerpo con secuencias cercanas debido a "bucles" extra de péptidos se minimiza.

Se describe la posición del epítipo insertado de L2 por los constructos quiméricos en las Figuras 15 a 19 respectivamente.

40 Los genes quiméricos de los constructos secuenciados pSK fueron clonados dentro de un vector pFastbac1 (sitio Sal I/Xba I). Se utilizó el ADN de los clones de pFastbac1 para transfectar las células DH10bac para preparar clones bacmid.

45 Los constructos quiméricos se expresaron en células de insectos utilizando el sistema de expresión de baculovirus Bac-to-Bac® (Life Technologies).

TABLA 1

Inserción del péptido L2

50

Constructo quimérico	Posición del nucleótido del péptido L2	Mostrado en la Figura No. (SEQ ID NO)	Posición del aminoácido del péptido L2	Mostrado en la Figura No. (SEQ ID NO)
A	520 - 558	5 (4)	174 - 186	6 (5)
C	391 - 429	7 (6)	131 - 143	8 (7)
E	1291 - 1329	9 (8)	431 - 443	10 (9)
F	1240 - 1278	11 (10)	414 - 426	12 (11)
H	241 - 279	13 (12)	81 - 93	14 (13)

60

65 El ADN de bacmid fue transferido dentro de células de insectos *sf21* (*Spodoptera frugiperda*) utilizando Cellfectin. Se siguió el protocolo básico de Bac-to-Bac® para amplificar al virus recombinante e infectar las células de insecto *sf21* para expresión de las VLP quiméricas.

ES 2 323 634 T3

Se siguió el protocolo básico de purificación de VLP de L1 del HPV. Se hicieron girar las células infectadas de insecto a 3.000 rpm y se las resuspendió en solución salina amortiguada con fosfato (PBS) con NaCl 0,5 M. Se sonicó la suspensión 4 veces con intervalos de 5 segundos. Esta fue luego colocada sobre un cojín de sacarosa al 40% y se precipitó a 100.000 x g durante 3 horas. Se resuspendió el precipitado en amortiguador de CsCl (PBS con 0,4 g/ml de CsCl) y se resuspendió preparando a través de agujas de calibre 18 y 26 para reducir la viscosidad antes de la sonicación (4 veces con intervalos de 5 segundos). Se centrifugó la suspensión a 100.000 x g a 10°C durante 24 horas.

No se observaron bandas distintas en los gradientes de CsCl. Se recogieron por lo tanto fracciones de 500 µl y se las analizó por medio de ELISA utilizando anticuerpos monoclonales V5 y D9 (epítipo lineal) específicos para conformación. Se reunieron las fracciones que se encontró que reaccionaban con los anticuerpos V5 y/o D9 y se dializó contra PBS a 4°C durante la noche.

Resultados

Las transferencias Western demostraron que un anticuerpo monoclonal L2 surgido contra el péptido en conejos (obtenidos con el Dr. Neil Christensen del Jake Gittlen Cancer Research Institute, The Milton S. Hershey Medical Centre, Hersey Pennsylvania, EUA) enlazado a las partículas quiméricas L1 (55 kD), mostrando que el epítipo L2 se expresa por medio de los constructos quiméricos. La caracterización del anticuerpo de las VLP purificadas se llevó a cabo por medio de ELISA utilizando un panel de anticuerpos suministrado por el Dr. Neil Christensen (Christensen y colaboradores, 1996, 2001). La Tabla 2 resume los datos.

TABLA 2

	V5	E70	U4	9A	D9	123	L2
A	+	-	+	+	+	+	+
C	-	-	+	+	+	+	+
E	+	+	+	+	+	+	+
F	+	+	+	+	+	+	+
H	-	-	-	-	+	+	+
SA-opt L1	+	+	+	+	-	+	-

A continuación se da una breve descripción de los anticuerpos y sus regiones de enlazamiento en la Tabla 3.

V5	Monoclonal, anticuerpo de conformación específica; siendo críticos aa 266 y 282
E70	Monoclonal, anticuerpo de conformación específica; siendo críticos aa 50, 266 y 282
U4	Monoclonal, anticuerpo de conformación específica
9A	Monoclonal, se enlaza a una región lineal en el área aa 1 - 171
D9	Monoclonal, se enlaza a la proteína desnaturalizada L1
123	Monoclonal, se enlaza en la región aa 11 - 130
L2	Anticuerpo policlonal que se enlaza al epítipo de L2 (aa 108 - 120)

Microscopía electrónica de las partículas quiméricas

Los resultados por EM mostraron que las partículas formadas a partir de los constructos quiméricos no son idénticas a aquellas producidas por el gen para L1 del HPV de tipo silvestre. Las partículas formadas están principalmente en estado parcialmente roto o parcialmente disociado y generalmente se consideran que se aglutinan juntas.

Experimentación en animales con antígeno quimérico

Se utilizaron seis grupos de 5 ratones Balb/c para la experimentación en animales para determinar si la inoculación con las VLP quiméricas produjo una respuesta inmune. Las VLP quiméricas producidas a partir de 5 constructos quiméricos y las VLP producidas a partir de L1 no quimérica del HPV 16 (SA-opt) fueron inyectadas con una concentración de 100 µg en dos sitios subcutáneos. Los animales fueron inoculados en las semanas 0, 2 y 4. Se tomaron muestras de sangre y lavados vaginales en diferentes periodos de tiempo.

Se reunieron los sueros de los ratones de cada grupo y se los analizó por medio de ELISA utilizando las VLP producidas en células de insectos por baculovirus recombinantes. Se llevaron a cabo titulaciones de punto final para cada grupo de ratones para determinar el grado de respuesta y producir una mejor reflexión de la respuesta (Figuras 20 a 26).

Los resultados indican que se logró una respuesta inmune mayor.

Referencias

- Baker, T. S., W. W. Newcomb, N. H. Olson, L. M. Cowser, C. Olson, Y J. C. Brown.** 1991. *Biophys. J.* 60: 1445 - 1456.
- Breitburd, F. y P. Coursaget.** 1999. *Cancer Biology* 9: 431 - 445.
- Browne, H. M., M. J. Churcher, M. A. Stanley, G. L. Smith, y A. C. Minson.** 1988. *J. Gen. Virol.* 69, 1263 - 1273.
- Chen, X. S., Garcea, R. L., Goldberg, I., Casini, G., y Harrison, S. C.** (2000). *Mol Cell* 5, 557 - 567.
- Chen, X. S., Casini, G., Harrison, S. C y Garcea, R.** (2001). *Journal of Molecular Biology* 307, 173 - 182.
- Christensen, N. D., J. Diller, C. Eklund, J. J. Carter, G. C. Wipf, C. A. Reed, N. M. Cladel, y D. A. Galloway.** 1996. *Virol.* 223, 174 - 184.
- Christensen N. D., Cladel N. M., Reed C. A., Budgeon L. R., Embers M. E., Skulsky D. M., McClements W. L., Ludmerer S. W., Jansen K. U.** 2001. 20; 291 (2): 324 - 34.
- Doorbaar, J., y P. H. Gallimore.** 1987. *J. Virol.* 61: 2793 - 2799.
- Doretzky, I., R. Shober, S. K. Chattopadhyay, y D. R. Lowy.** 1980. *Virology* 103: 369 - 375.
- M. E. Embers, L. R. Budgeon, M Pickel, N. D. Christensen.** 2002. *J. Virol.*, 76 (19): 9798 - 9805.
- Evans, T. G., Bonnez, W., Rose, R. C., Koenig, S., Demeter, L., Suzich, J. A., O'Brien, D., Campbell, M., White, W. I., Balsley, J., y Reichman, R. C.** 2001. *J. Infect. Dis.* 183, 1485 - 1493.
- Harro, C. D., Pang, Y. Y., Roden, R. B., Hildesheim, A., Wang, Z., Reynolds, M. J., Mast, T. C., Robinson, R., Murphy, B. R., Karron, R. A., Dillner, J., Schiller, J. T., y Lowy, D. R.** 2001. *J Natl. Cancer Inst.* 93, 284 - 292.
- IARC, World Health Organization.** 1995. WHO Report of a technical meeting, Geneva. Ref Type: Report
- IARC, World Health Organization.** 1999. WHO. Report of a technical meeting, Geneva, 16 - 18 Feb 1999. 1999. Ref. Type: Report
- Kawana, K., Matsumoto, K., Yoshikawa, H., Taketani, Y., Kawana, T., Yoshiike, K., y Kanda, T.** 1998. *Virology* 245, 353 - 359.
- Kawana, K., Yoshikawa, H., Taketani, Y., Yoshiike, K., y Kanda, T.** (1999). *Jouranl of Virology* 73, 6188 - 6190.
- Kawana, K., Kawana, Y., Yoshikawa, H., Taketani, Y., Yoshiike, K., y Kanda, T.** (2001). *Vaccine* 19, 1496 - 1502.
- Kirnbauer, R., F. Booy, N. Cheng, D. R. Lowy, y J. T. Schiller.** 1992. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 89, 12180 - 12184.
- Kimbauer, R., J. Taub, H. Greenstone, R. Roden, M. Durst, L. Gissman, D. R. Lowy, y J. T. Schiller.** 1993. *J. Virol.* 67, 6929 - 6936.
- Lowy, D. R., R. Kirnbauer, y J. T. Schiller.** 1994. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 2436 - 2440.
- Roden, R. B. S., H. L. Greenstone, R. Kirnbauer, F. P. Booy, J. Jessie, D. R. Lowy, y J. T. Schiller.** 1996. *J. Virol.* 70, 5875 - 5883.
- Rose, R. C., Bonnez, W., Reichman, R. C., y Garcea, R. L.** 1993. *J Virol* 67, 1936 - 1944.

Rose, R. C., White, W. I., Li, M., Suzich, J. A., Lane, C., y Garcea, R. L. 1998. *Journal of Virology* 72, 6151 - 6154.

Schiller, J. T. y Lowy, D. R. 2001. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 1, 571 - 581.

Seedorf, K., G. Krämmer, M. Dürst, S. Suhai, y W. G. Röwekamp. 1985. *Viol.* 145, 181 - 185.

White, W. I., Wilson, S. D., Palmer-Hill, F. J., Woods, R. M., Ghim, S. J., Hewitt, L.A., Goldman, D. M., Burke, S. J., Jenson, A. B., Koenig, S., y Suzich, J. A. 1999. *J. Virol.* 73, 4882 - 488.

Referencias citadas en la descripción

Este listado de referencias citado por el solicitante es únicamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento europeo de la patente. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación, no se pueden excluir los errores o las omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad en este sentido.

Literatura citada en la descripción que no es de patente:

• MÜLLER y colaboradores, *Virology*, 1997, vol. 234 (1), 93 - 111 [0014]

• SLUPETZLAY y colaboradores, *J. Gen. Virol.*, 2001, vol. 82, 2799 - 2804 [0015]

• BAKER, T.S.; W.W. NEWCOMB; N.H. OLSON; L.M. COWSERT; C. OLSON; J.C. BROWN. *Biophys. J.*, 1991, vol. 60, 1445 - 1456 [0058]

• BREITBURD, F.; P. COURSAGET. *Cancer Biology*, 1999, vol. 9, 431 - 445 [0058]

• BROWNE, H.M.; M.J. CHURCHER; M.A. STANLEY; G.L. SMITH; A.C. MINSON. *J. Gen. Virol.*, 1988, vol. 69, 1263 - 1273 [0058]

• CHEN, X.S.; GARCEA, R.L.; GOLDBERG, I.; CASINI, G.; HARRISON, S.C. *Mol Cell*, 2000, vol. 5, 557 - 567 [0058]

• CHEN, X. S.; CASINI, G.; HARRISON, S. C; GARCEA, R. *Journal of Molecular Biology*, 2001, vol. 307, 173 - 182 [0058]

• CHRISTENSEN, N. D.; J. DILLER; C. EKLUND; J. J. CARTER; G. C. WIPF; C. A. REED; N. M. CLADEL; D. A. GALLOWAY. *Virol.*, 1996, vol. 223, 174 - 184 [0058]

• DOORBAAR, J.; P. H. GALLIMORE. *J. Virol.*, 1987, vol. 61, 2793 - 2799 [0058]

• DORETZKY, I.; R. SHOBER; S. K. CHATTOPADHYAY; D. R. LOWY. *Virology*, 1980, vol. 103, 369 - 375

• ME EMBERS; L. R. BUDGEON; M. PICKEL; N. D. CHRISTENSEN. *J. Virol.*, 2002, vol. 76 (19), 9798 - 9805 [0058]

• EVANS, T. G.; BONNEZ, W.; ROSE, R. C.; KOENIG, S.; DEMETER, L.; SUZICH, J. A.; O'BRIEN, D.; CAMPBELL, M.; WHITE, W. I.; BALSLEY, J. *J Infect. Dis.*, 2001, vol. 183, 1485 - 1493 [0058]

• HARRO, C. D.; PANG, Y. Y.; RODEN, R. B.; HILDESHEIM, A.; WANG, Z.; REYNOLDS, M. J.; MAST, T. C.; ROBINSON, R.; MURPHY, B. R.; KARRON, R. A. *J Natl. Cancer Inst.*, 2001, vol. 93, 284 - 292 [0058]

• KAWANA, K.; MATSUMOTO, K.; YOSHIKAWA, H.; TAKETANI, Y.; KAWANA, T.; YOSHIKE, K.; KANDA, T. *Virology*, 1998, vol. 245, 353 - 359 [0058]

• KAWANA, K.; YOSHIKAWA, H.; TAKENTANI, Y.; YOSHIKE, K.; KANDA, T. *Jouranal of Virology*, 1999, vol. 73, 6188 - 6190 [0058]

• KAWANA, K.; KAWANA, Y.; YOSHIKAWA, H.; TAKENTANI, Y.; YOSHIKE, K.; KANDA, T. *Vaccine*, 2001, vol. 19, 1496 - 1502 [0058]

• KIRNBAUER, R.; F. BOOY; N. CHENG; D. R. LOWY; J. T. SCHILLER. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.*, 1992, vol. 89, 12180 - 12184 [0058]

• KIMBAUER, R.; J. TAUB; H. GREENSTONE; R. RODEN; M. DURST; L. GISSMAN; D.R. LOWY; J. T. SCHILLER. *J. Virol.*, 1993, vol. 67, 6929 - 6936 [0058]

ES 2 323 634 T3

• **LOWY, D. R.; R. KIRNBAUER; J. T. SCHILLER.** *Proc Natl. Acad. Sci USA*, 1994, vol. 91, 2436 - 2440 [0058]

5 • **RODEN, R. B. S.; H. L. GREENSTONE; R. KIRNBAUER; F. P. BOOY; J. JESSIE; D. R. LOWY; J. T. SCHILLER.** *J. Virol.*, 1996, vol. 70, 5875 - 5883 [0058]

• **ROSE, R. C.; BONNEZ, W.; REICHMAN, R. C.; GARCEA, R. L.** *J Virol*, 1993, vol. 67, 1936 - 1944 [0058]

10 • **ROSE, R. C.; WHITE, W. I.; LI, M.; SUZICH, J. A.; LANE, C.; GARCEA, R. L.** *Journal of Virology*, 1998, vol. 72, 6151 - 6154 [0058]

• **SCHILLER, J. T.; LOWY, D. R.** *Expert. Opin. Biol. Ther.*, 2001, vol. 1, 571 - 581 [0058]

15 • **SEEDORF, K.; G. KRÄMMER; M. DÜRST; S. SUHAI; W. G. RÖWEKAMP.** *Virol.*, 1985, vol. 145, 181 - 185 [0058]

• **WHITE, W. I.; WILSON, S. D.; PALMER-HILL, F. J.; WOODS, R. M.; GHIM, S.-J.; HEWITT, L. A.; GOLDMAN, D. M.; BURKE, S. J.; JENSON, A. B.; KOENIG, S. J.** *J. Virol.*, 1999, vol. 73, 4882 - 488 [0058]

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 323 634 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para producir un polipéptido L1 quimérico del virus de papiloma humano (HPV) que contiene un péptido L2 del HPV, preferiblemente un polipéptido o péptido del HPV-16, comprendiendo el método las etapas de:
 - introducir una secuencia de ADN que codifica para el péptido L2 en una secuencia de ADN que codifica para el polipéptido L1;
 - 10 introducir la secuencia de ADN que incluye las secuencias para el polipéptido L1 y el péptido L2 en una célula huésped en la cual se puede expresar la secuencia de ADN;
 - causar la expresión de la secuencia de ADN, preferiblemente o bien en un sistema de expresión de procarionota o en un sistema de expresión de eucariota; y
 - 15 recuperar al polipéptido quimérico L1 resultante que incluye al péptido L2.
2. Un método de acuerdo a la reivindicación 1, en donde el péptido L2 del HPV tiene la siguiente secuencia de aminoácidos: LVEETS FIDAGAP (SEQ ID NO: 1), o una secuencia que sea una modificación o derivada de la misma, con la condición de que la secuencia derivada o modificada sea una secuencia que tenga al menos 80% de homología con la secuencia de la SEQ ID NO: 1 y que codifique para un péptido capaz de producir una respuesta inmunogénica contra el HPV.
3. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde se suprimen uno o más nucleótidos de la secuencia de ADN para L1 en el punto de introducción de la secuencia de ADN para L2, y preferiblemente el número de nucleótidos suprimido de la secuencia de ADN para L1 corresponde con el número de nucleótidos insertados para L2.
4. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el polipéptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las Figuras 6, 8, 10, 12 y 14 (SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13), o una secuencia que sea al menos 80% homóloga con cualquiera de las secuencias establecidas en las SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13 y que es capaz de producir una respuesta inmunogénica contra el HPV.
5. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la secuencia de ADN que codifica para el polipéptido quimérico tiene una secuencia de ADN establecida en cualquiera de las Figuras 5, 7, 9, 11 y 13 (SEQ ID NOS: 4, 6, 8, 10 y 12), o una secuencia que tiene al menos 80% de homología con cualquiera de estas secuencias y que codifica para un polipéptido capaz de producir una respuesta inmunogénica contra el HPV.
6. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el polipéptido quimérico L1 es capaz de ensamblarse dentro de las partículas tipo virus y/o los capsómeros, preferiblemente las partículas inmunogénicas tipo virus o los capsómeros.
7. Una secuencia de ADN para L1 quimérico del virus de papiloma humano (HPV) dentro de la cual se ha insertado una secuencia de ADN que codifica para un péptido L2 del HPV (SEQ ID NO: 1), que es capaz de expresar al péptido L2 del HPV.
8. Una secuencia de ADN para L1 del HPV de acuerdo a la reivindicación 7, en donde uno o más nucleótidos de la secuencia de ADN para L1 han sido suprimidos en el punto de introducción de la secuencia de ADN para L2, y preferiblemente el número de nucleótidos suprimidos de la secuencia para L7 corresponde con el número de nucleótidos insertados para L2.
9. Una secuencia de ADN del virus de papiloma humano que tiene una secuencia de ADN establecida en cualquiera de las Figuras 5, 7, 9, 11 y 13 (SEQ ID NOS: 4, 6, 8, 10 y 12), o una secuencia de ADN que es una modificación o derivada de la misma, con la condición de que la secuencia modificada o derivada de ADN tenga al menos 80% de homología con cualquiera de las SEQ ID NOS: 4, 6, 8, 10 y 12 y que codifique para un péptido quimérico L1 que presente un péptido L2 del HPV, siendo el péptido quimérico L1 capaz de producir una respuesta inmunogénica contra el HPV.
10. Un vector que incluye una secuencia de ADN como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
11. Una célula huésped que incluye un vector como el reivindicado en la reivindicación 10.
12. Un polipéptido quimérico L1 del virus de papiloma humano (HPV), preferiblemente una partícula quimérica L1 tipo virus del HPV o capsómero, incluido un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos: LVEETS FIDA GAP (SEQ. ID NO: 1).
13. Un polipéptido del virus de papiloma humano (HPV) que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las Figuras 6, 8, 10, 12 y 14 (SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13), o una secuencia que sea una modificación o derivada de la misma, con la condición de que la secuencia de aminoácidos modificada o derivada tenga al menos

ES 2 323 634 T3

80% de homóloga con cualquiera de las secuencias establecidas en las SEQ ID NOS: 5, 7, 9, 11 y 13 y sea un péptido quimérico L1 que presente un péptido L2 del HPV, siendo capaz el péptido quimérico L1 de producir una respuesta inmunogénica contra el HPV.

5 14. Un método para producir un polipéptido quimérico L1 del virus de papiloma humano (HPV) que contiene un péptido heterólogo, comprendiendo el método las etapas de:

10 introducir una secuencia de ADN que codifica para el péptido heterólogo en una secuencia de ADN que codifica para el polipéptido L1 por medio del reemplazo de las posiciones de los nucleótidos 241-279, 391 - 429, 520-558, 1240 - 1278 ó 1291 - 1329 con dicha secuencia de ADN que codifica para dicho péptido heterólogo;

introducir la secuencia de ADN que incluye las secuencias para el polipéptido L1 y el péptido heterólogo en una célula huésped en la cual se puede expresar la secuencia de ADN;

15 provocar la expresión de la secuencia de ADN; y

recuperar al polipéptido quimérico resultante L1 que incluye al péptido heterólogo.

20 15. Un método de acuerdo a la reivindicación 14, en donde la secuencia heteróloga del péptido es cualquier otra secuencia del HPV o se deriva de cualquier epítipo antigénico, célula B o célula T específica.

25 16. Un método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 14 ó 15, en donde uno o más nucleótidos de la secuencia de ADN para L1 se suprimen en el punto de introducción de la secuencia de ADN heterólogo, y preferiblemente el número de nucleótidos suprimidos de la secuencia de L1 corresponde con el número de nucleótidos heterólogos insertados.

30 17. Una vacuna que incluye un polipéptido quimérico L1 del virus del papiloma humano (HPV) como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 12 y 13 o una secuencia de ADN como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, preferiblemente para uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de una infección con HPV, y más preferiblemente para uso en el tratamiento de HPV 6, 16 ó 18.

35 18. Una vacuna de acuerdo a la reivindicación 17, que es capaz de inducir una respuesta inmunogénica para HPV y/o para el péptido introducido en un huésped adecuado, y que comprende además un excipiente y/o adyuvante farmacéutico.

35

40

45

50

55

60

65

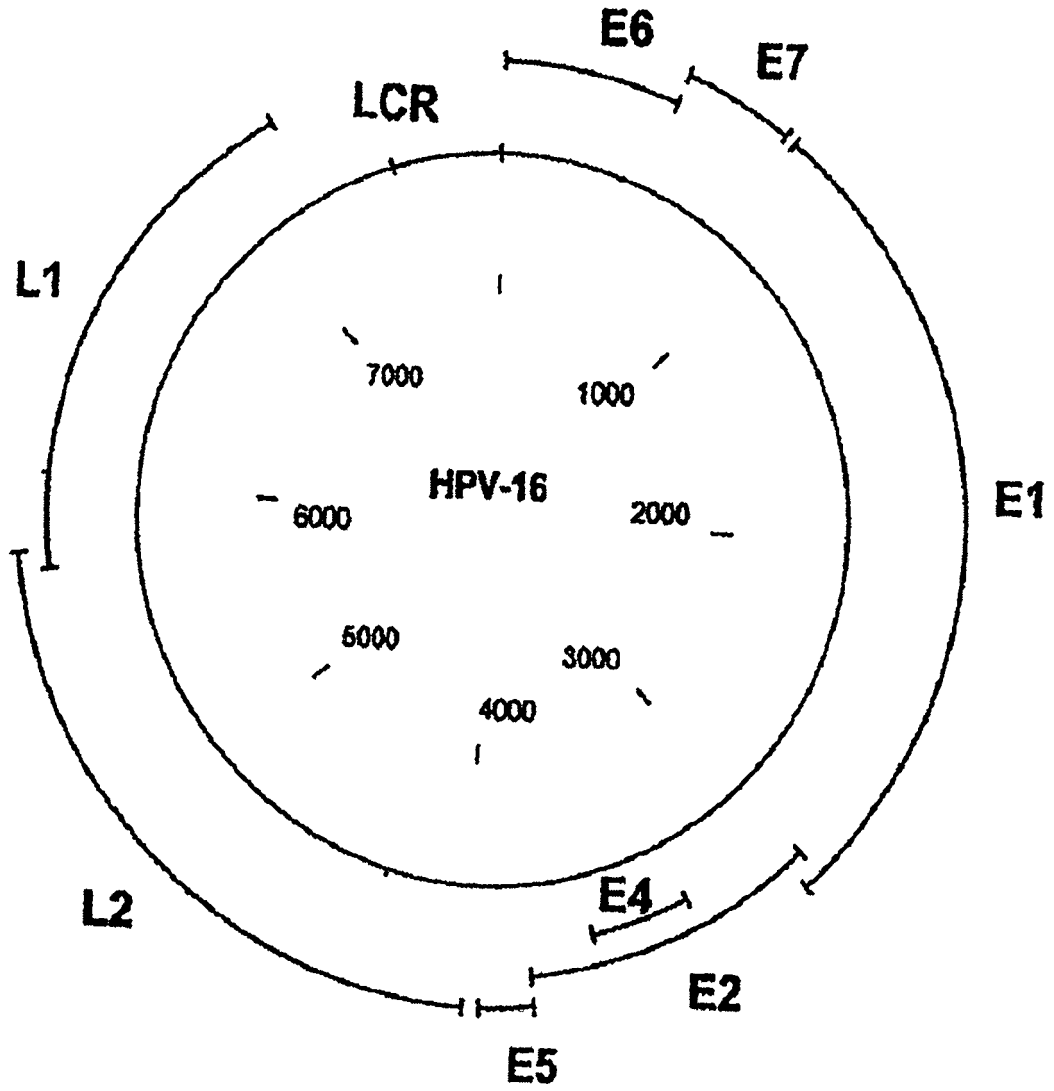


Figura 1

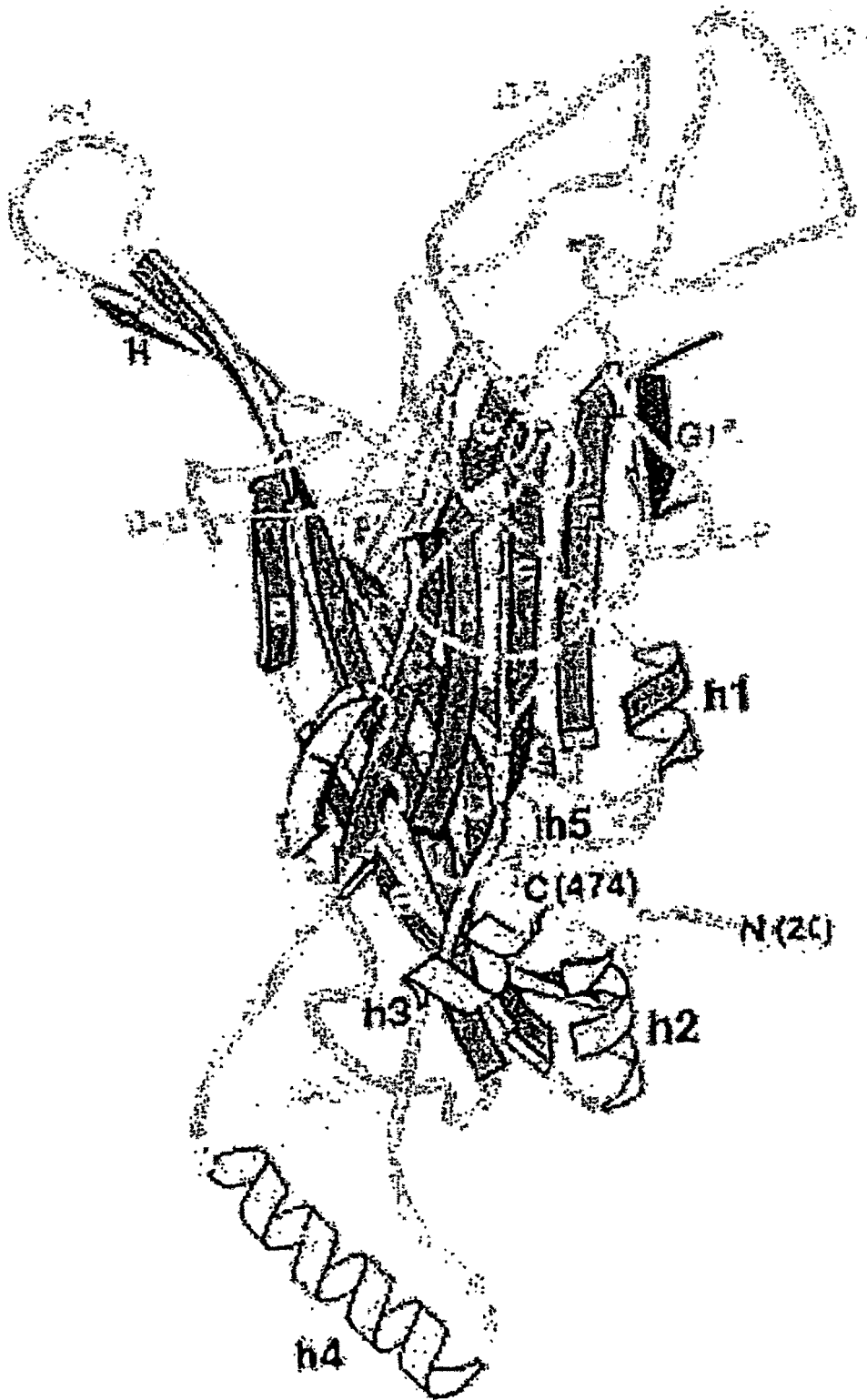


Figura 2 (Chen et al., 2000 y 2001)

ES 2 323 634 T3

SEQ Sa-11: 1518 pb;
 Composición 486 A; 293 C; 287 G; 452 T; 0 OTRO
 Porcentaje : 32% A; 19% C; 19% G; 30% T; 0%OTRO

Peso molecular (kDa): ssADN: 468.63 dsADN: 935.7

ORIGEN

1	ATGTCCTCTT	GGCTGCCTAG	TGAGGCCACT	GTCTACTTGC	CTCCTGTCCC	AGTATCTAAG
61	GTTGTAAGCA	CGGATGAATA	TGTTGCACGC	ACAAACATAT	ATTATCATGC	AGGGACATCC
121	AGACTACTTG	CAGTTGGACA	TCCCTATTTT	CCTATTAATA	AACCTAACAA	TAACAAAATA
181	TTAGTTCCTA	AAGTATCAGG	ATTACAATAC	AGGGTATTTA	GAATACATTT	ACCTGACCCC
241	AATAAGFTTG	GTTTTCTGA	CACCTCATT	TATAATCCAG	ATACACAGCG	GCTGGTTTGG
301	GCCTGTGTAG	GTGTTGAGGT	AGGCCGTGGT	CAGCCATTAG	GTGTGGGCAT	TAGTGGCCAT
361	CCTTTATTAA	ATAAATFGGA	TGACACAGAA	AATGCTAGTG	CTTATGCAGC	AAATGCAGGT
421	GTGGATAATA	GAGAATGTAT	ATCTATGGAT	TACAAACAAA	CACAATTGTG	TTTAATTGGT
481	TGCAAACCAC	CTATAGGGGA	ACACTGGGGC	AAAGGATCCC	CATGTACCAA	TGTTGCAGTA
541	AATCCAGGTG	ATTGTCCACC	ATTAGAGTTA	ATAAACACAG	TTATTCAGGA	TGGTGATATG
601	GTTGATACTG	GCTTTGGTGC	TATGCACTTT	ACTACATTAC	AGGCTAACAA	AAGTGAAGTT
661	CCACTGGATA	TTTGTACATC	TATTTGCAAA	TATCCAGATT	ATATTAATAA	GGTGTACAGAA
721	CCATATGGCG	ACAGCTTATT	TTTTTATTTA	CGGAGGGAAC	AAATGTTTGT	TAGACATTTA
781	TTTAATAGGG	CTGGTACTGT	TGGTGAAAAT	GTACCAGACG	ATTTATACAT	TAAAGGCTCT
841	GGGTCTACTG	CAAATTTAGC	CAGTTCAAAT	TATTTTCTTA	CACCTAGTGG	TTCTATGGTT
901	ACCTCTGATG	CCCAAATATT	CAATAAACCT	TATTGGTTAC	AACGAGCACA	GGGCACAAT
961	AATGGCATT	GTTGGGGTAA	CCAACTATTT	GTTACTGTTG	TTGACTACTAC	ACGCAGTACA
1021	AATATGTCAT	TATGTGCTGC	CATATCTACT	TCAGAAACTA	CATATAAAAA	TACTAACTTT
1081	AAGGAGTACC	TACGACATGG	GGAGGAATAT	GATTTACAGT	TTATTTTCA	ACTGTGCAAA
1141	ATAACCTTAA	CTGCAGACGT	TATGACATAC	ATACATTCTA	TGAATTCAC	TATTTTGGAG
1201	GACTGGAATT	TTGGTCTACA	ACCTCCCCCA	GGAGGCACAC	TAGAAGATAC	TTATAGGTTT
1261	GTAACATCCC	AGGCAATTGC	TTGTCAAAAA	CATACACCTC	CAGCACCTAA	AGAAGATCCC
1321	CTTAAAAAAT	ACACTTTTGT	GGAASTAAAT	TTAAAGGAAA	AGTTTTCTGC	AGACCTAGAT
1381	CAGTTTCCTT	TAGGACGCAA	ATTTTFACTA	CAAGCAGGAT	TGAAGGCCAA	ACCAAAATTT
1441	ACATTAGGAA	AACGAAAAGC	TACACCCACC	ACCTCATCTA	CCTCTACAAC	TGCTAAACCG
1501	AAAAAACGTA	AGCTGTAA				

Figura 3 (SEQ I.D. NO: 2)

Traducción de Sa-11(1-1518)
 Código universal
 Número total de aminoácidos : 505, PM -56196
 Max ORF: 1-1515, 505 AA, PM -56196

ORIGEN

1	MSLWLPSEAT	VYLPVPVSK	VVSTDEYVAR	TNIYYHAGTS	RLAVGHPYF	PIKKPNNNKI
61	LVPKVSGLQY	RVFRHLDPD	NKFGFPDTSF	YNPDTQRLVW	ACYGVEVGRG	QPLGVGIGSH
121	PLLNKLDOTE	NASAYAANAG	VDNRECISND	YKQTQLCLIG	CKPPIGEHWG	KGSPCTNVAV
181	NPGDCPPELE	INTVIQDGDN	VDTGFGAMDF	TLQANKSEV	PLDICTSICK	YPDYIKMVSE
241	PYGDSLFFYL	RREQMFVRHL	FNRAGAVGEN	VPDOLYIKGS	GSTANLASSN	YFPTPSGSMV
301	TSDAQIFNKP	YWLQRAQGHN	NGICWGNQLF	VTVYDTRST	NMSLCAAIST	SETTYKNTNF
361	KEYLRHGEY	DLQFIFQLCK	ITLTADVMTY	IHSMNSTILE	DANFGLQPPP	GGTLEDTYRF
421	VTSQAIACQK	HTPPAPKEDP	LKYYTFWEVN	LKEKFSADLD	QFPLGRKFL	QAGLKAKPKF
481	TLGKRKATPT	TSSTSTAKR	KKRKL*			

Figura 4 (SEQ I.D. NO: 3)

ES 2 323 634 T3

SEQ Sa-Aopt: 1518 pb;
 Composición 486 A; 289 C; 289 G; 454 T; 0 OTRO
 Porcentaje: 32% A; 19% C; 19% G; 30% T; 0% OTRO

Peso Molecular (kDa): ssADN : 468.74 dsADN: 935.7

ORIGEN

```

1      ATGTCTCTTT GGCTGCCTAG TGAGGCCACT GTCTACTTGC CTCCTGTCCC AGTATCTAAG
61     GTTGTAAAGCA CGGATGAATA TGTGACAGC ACAACATAT ATTATCATGC AGGGACATCC
121    AGACTACTTG CAGTTGGACA TCCCTATTTT CCTATTAATA AACCTAACAA TAACAAAATA
181    TTAGTTCCTA AAGTATCAGG ATTACAATAC AGGGTATTTA GAATACATTT ACCTGACCCC
241    AATAAGTTTG GTTTTCCTGA CACCTCATT TATAATCCAG ATACACAGCG GCTGGTTTGG
301    GCCTGTGTAG GTGTTGAGGT AGGCCGTGGT CAGCCATTAG GTGTGGGCAT TAGTGCCAT
361    CTTTATTAA ATAAATTGGA TGACACAGAA AATGCTAGTG CTTATGCAGC AAATGCAGGT
421    GTGGATAATA GAGAATGTAT ATCTATGGAT TACAAACAAA CACAATTGTG TTTAATTGGT
481    TGCAAACCAC CTATAGGGGA ACACTGGGGC AAAGGATCCT TAGTGGAAGA AACTAGTTTT
541    ATTGATGCTG GTGCACCACC ATTAGAGTTA ATAAACACAG TTATTCAGGA TGGTGATATG
601    GTTGATACTG GCTTTGGTGC TATGGACTTT ACTACATTAC AGGCTAACAA AAGTGAAGTT
661    CCACTGGATA TTTGTACATC TATTTGCAA TATCCAGATT ATATTAATAA GGTGTCAGAA
721    CCATATGGCG ACAGCTTATT TTTTATTTA CGGAGGGAAC AAATGTTTGT TAGACATTTA
781    TTTAATAGGG CTGGTACTGT TGGTGAATA GTACCAGACG ATTTATACAT TAAAGGCTCT
841    GGGTCTACTG CAAATTTAGC CAGTCAAAT TATTTTCTA CACCTAGTGG TTCTATGGTT
901    ACCTCTGATG CCCAAATATT CAATAAACCT TATTGGTTAC AACGAGCACA GGGCCACAAT
961    AATGGCATT TTTGGGGTAA CCAACTATTT GTTACTGTTG TTGATACTAC ACGCAGTACA
1021   AATATGTCAT TATGTGCTGC CATATCTACT TCAGAAACTA CATATAAAAA TACTAACTTT
1081   AAGGAGTACC TACGACATGG GGAGSAATAT GATTTACAGT TTATTTTCA ACTGTGCAAA
1141   ATAACCTTAA CTGCAGACGT TATGACATAC ATACATTCTA TGAATTCCAC TATTTTGGAG
1201   GACTGGAATT TTGTCTACA ACCTCCCCA GGAGGCACAC TAGAAGATAC TTATAGGTTT
1261   GTAACATCCC AGGCAATTGC TTGTCAAAAA CATAACCTC CAGCACCTAA AGAAGATCCC
1321   CTTAAAAAAT ACACTTTTTG GGAAGTAAAT TTAAGGAAA AGTTTTCTGC AGACCTAGAT
1381   CAGTTTCCTT TAGGACGCAA ATTTTACTA CAAGCAGGAT TGAAGGCCAA ACCAAAATTT
1441   ACATTAGGAA AACGAAAAGC TACACCACC ACCTCATCTA CCTCTACAAC TGCTAAACGC
1501   AAAAAACGTA AGCTGTAA
  
```

Figura 5 (SEQ I.D. NO: 4)

Traducción de Chia(1-1518)
 Código universal
 Número total de aminoácidos : 505, PM=56288
 Max ORF: 1-1515, 505 AA, PM=56288

ORIGEN

```

1      MSLWLPSEAT VYLPPVPVSK VVSTDEYVAR THIIYHAGTS RLLAVGHYPF PIKKPNNNKI
61     LVPKYSGLQY RVFRIHLPDP NKFQFPDTSF YNPDTQRLVW ACVGVVEVGRG QPLGVGISGH
121    PLLNKLDOTE NASAYAANAG VDNRECISMD YKQTQLCLIG CKPPIGEHWG KGSLEETSF
181    IDAGAPPELE INTVIQDGM VDTGFGAMDF TTLQANKSEV PLDICTSICK YPDYIKMVSE
241    PYGDSLFFYL RREQMFVRHL FNRAGTYGEN VPDDLYIKGS GSTANLASSN YFPTPSGSMV
301    TSDAQIFNKP YWLQRAQGHN NGICMGNQLF VTVVDTRST NMSLCAAIST SETTYKNTNF
361    KEVLRHGEEY DLQFIFQLCK ITLTDVMTY IHSMNSTILE DMNFGQLQPPP GGTLEDITYRF
421    VTSQAIACQK HTPPAPKEDP LKKYTFWEVN LKEKFSADLD QFPLGRKFLI QAGLKAKPKF
481    TLGKRKATPT TSSTSTTAKR KKRKL*
  
```

Figura 6 (SEQ I.D. NO: 5)

ES 2 323 634 T3

SEQ Sa-Copt: 1518 pb;
 Composición 485 A; 293 C; 286 G; 454 T; 0 OTRO
 Porcentaje: 32% A; 19% C; 19% G; 30% T; 0% OTRO

Peso Molecular (kDa): ssADN: 468.59 dsADN: 935.7

ORIGEN

```

1 ATGTCTCTTT GGCTGCCTAG TGAGGCCACT GTCTACTTGC CTCCTGTCCC AGTATCTAAG
61 GTTGTAAGCA CGGATGAATA TGTTGCACGC ACAAACATAT ATTATCATGC AGGGACATCC
121 AGACTACTTG CAGTTGGACA TCCCTATTTT CCTATTAATA AACCTAACAA TAACAAAATA
181 TTAGTTCCTA AAGTATCAGG ATTACAATAC AGGGTATTTA GAATACATTT ACCTGACCCC
241 AATAAGTTTG GTTTTCCTGA CACCTCATTT TATAATCCAG ATACACAGCG GCTGGTTTGG
301 GCCTGTGTAG GTGTTGAGGT AGGCCGTGGT CAGCCATTAG GTGTGGGCAT TAGTGGCCAT
361 CCTTTATTA AATAAATTGA TGACACAGAA TTAGTGAAG AACTAGTTT TATTGATGCT
421 GGTGCACCAA GAGAATGTAT ATCTATGGAT TACAAACAAA CACAATTGTG TTTAATTGGT
481 TGCAAAACCAC CTATAGGGGA ACACTGGGGC AAAGGATCCC CATGTACCAA TGTTGCAGTA
541 AATCCAGGTG ATTGTCCACC ATTAGAGTTA ATAACACAG TTATTCAGGA TGGTGATATG
601 GTTGATACTG GCTTTGGTGC TATGGACTTT ACTACATTAC AGGCTAACAA AAGTGAAGTT
661 CCACTGGATA TTTGTACATC TATTTGCAAA TATCCAGATT ATATTAATAA GGTGTCAGAA
721 CCATATGGCG ACAGCTTATT TTTTATTTA CGGAGGGAAC AAATGTTTGT TAGACATTTA
781 TTTAATAGGG CTGGTACTGT TGGTGAAAAT GTACCAGACG ATTTATACAT TAAAGGCTCT
841 GGGTCTACTG CAAATTTAGC CAGTTCAAAT TATTTTCCTA CACCTAGTGG TTCTATGGTT
901 ACCTCTGATG CCAAATATT CAATAAACCT TATTGGTTAC AACGAGCACA GGGCCACAAT
961 AATGGCATTG GTTGGGGTAA CCAACTATTT GTTACTGTTG TTGATACTAC ACGCAGTACA
1021 AATATGTCAT TATGTGCTGC CATATCTACT TCAGAAACTA CATATAAAAA TACTAACTTT
1081 AAGGAGTACC TACGACATGG GGAGGAATAT GATTACAGT TTATTTTCA ACTGTGCAAA
1141 ATAACCTTAA CTGCAGACGT TATGACATAC ATACATTCTA TGAATTCAC TATTTTGGAG
1201 GACTGGAATT TTGGTCTACA ACCTCCCCA GGAGGCACAC TAGAAGATC TTATAGGTTT
1261 GTAACATCCC AGGCAATTGC TTGTCAAAAA CACACACCTC CAGCACCTAA AGAAGATCCC
1321 CTAAAAAAT ACACTTTTTG GGAAGTAAAT TAAAGGAAA AGTTTTCTGC AGACCTAGAT
1381 CAGTTTCCTT TAGGACGCAA ATTTTACTA CAAGCAGGAT TGAAGGCCAA ACCAAAATTT
1441 ACATTAGGAA AACGAAAAGC TACACCACC ACCTCATCTA CCTCTACAAC TGCTAAACGC
1501 AAAAAACGTA AGCTGTAA
    
```

Figura 7 (SEQ I.D. NO: 6)

Traducción de ch1C(1-1518)
 Código universal
 Número total de aminoácidos : 505, PM=56337
 Max ORF: 1-1515, 505 AA, PM=56337

ORIGEN

```

1 MSLWLPSEAT VYLPPVPVSK VVSTDEYYAR TNYYYHAGTS RLLAVGHPYF PIKPPNNKI
61 LVPKVSGLQY RVFRIHLPDP NKFGFPDTSF YNPOTQRLVW ACVGVVEVGRG QPLGVGISGH
121 PLLNKLDOTE LVEETSFIDA GAPRECTSMD YKQTQLCLIG CKPPIGEHWG KGSPTNVAV
181 NPGDCPPLEL INTVIOQDGM VDTGFGANDF TTLQANKSEV PLDICTSICK YPDYIKMVE
241 PYGDSLFFYL RREQMFVRHL FNRAGTVGEN YPDDLYIKGS GSTANLASSN YFPTPSGSMV
301 TSDAQIFNKP YWLQRAQGHN NGICNQNQLF YTYVDTTRST NMSLCAAIST SETTYKNTNF
361 KEYLRHGEEY DLQFIFQLCK ITLTADVMTY IHSMNSTILE DWNFGLQPPP GGTLEDTYRF
421 VTSQAIACQK HTPPAKEDP LKKYTFWEVN LKEKFSADLD QFPLGRKFLF QAGLKAKPKF
481 TLGKRKATPT TSSTSTAKR KKRKL*
    
```

Figura 8 (SEQ I.D. NO: 7)

ES 2 323 634 T3

SEQ Sa-eopt: 1518 pb;
 Composición 480 A; 285 C; 294 G; 459 T; 0 OTRO
 Porcentaje: 32% A; 19% C; 19% G; 30% T; 0%OTRO

Peso Molecular (kDa): ssADN: 468.87 dsADN: 935.7

ORIGEN

```

1 ATGTCTCTTT GGCTGCCTAG TGAGGCCACT GTCTACTTGC CTCCTGTCCC AGTATCTAAG
61 GTTGTAAGCA CGGATGAATA TGTTGCACGC ACAAACATAT ATTATCATGC AGGGACATCC
121 AGACTACTTG CAGTTGGACA TCCCTATTTT CCTATTAATA AACCTAACAA TAACAAAATA
181 TTAGTTCCTA AAGTATCAGG ATTACAATAC AGGGTATTTA GAATACATTT ACCTGACCCC
241 AATAAGTTTG GTTTTCCTGA CACCTCATT TATAATCCAG ATACACAGCG GCTGGTTTGG
301 GCCTGTGTAG GTGTTGAGGT AGGCCGTGGT CAGCCATTAG GTGTGGGCAT TAGTGGCCAT
361 CCTTTATTA AATAAATTGGA TGACACAGAA AATGCTAGTG CTTATGCAGC AAATGCAGGT
421 GTGGATAATA GAGAATGTAT ATCTATGGAT TACAAACAAA CACAATTGTG TTTAATTGGT
481 TGCAAACCAC CTATAGGGGA AACTGGGGC AAAGGATCCC CATGTACCAA TGTTCAGTA
541 AATCCAGGTG ATTTGCCACC ATTAGAGTTA AATAACACAG TTATTCAGGA TGGTGATATG
601 GTTGATACTG GCTTTGGTGC TATGGACTTT ACTACATTAC AGGCTAACAA AAGTGAAGTT
661 CCACTGGATA TTTGTACATC TATTTGCAAA TATCCAGATT ATATTAATAA GGTGTCAGAA
721 CCATATGGCG ACAGCTTATT TTTTATTTA CGGAGGGAAC AAATGTTTGT TAGACATTTA
781 TTTAATAGGG CTGGTACTGT TGGTGAAAAT GTACCAGACG ATTTATACAT TAAAGGCTCT
841 GGGTCTACTG CAAATTTAGC CAGTTCAAAT TATTTTCTA CACCTAGTGG TTCTATGGTT
901 ACCTCTGATG CCCAAATATT CAATAAACCT TATTGGTTAC AACGAGCACA GGGCCACAAT
961 AATGGCATT TTTGGGGTAA CCAACTATTT GTTACTGTTG TTGATACTAC ACGCAGTACA
1021 AATATGTCAT TATGTGCTGC CATATCTACT TCAGAAACTA CATATAAAAA TACTAATTTT
1081 AAGGAGTACC TACGACATGG GGAGGAATAT GATTTACAGT TTATTTTTCA ACTGTGCAAA
1141 ATAACCTTAA CTGCAGACGT TATGACATAC ATACATTCTA TGAATTCCAC TATTTTGGAG
1201 GACTGGAATT TTGGTCTACA ACCTCCCCA GGAGGCACAC TAGAAGATAC TTATAGGTTT
1261 GTAACATCCC AGGCAATTCG TTGTCAAAAA TTAGTGGAAAG AAAC TAGTTT TATTGATGCT
1321 GGTGCACCAT AACTTTTTG GGAAGTAAAT TTAAGGAAA AGTTTTCTGC AGACCTAGAT
1381 CAGTTTCCTT TAGGACGCAA ATTTTACTA CAAGCAGGAT TGAAGGCCAA ACCAAAATTT
1441 ACATTAGGAA AACGAAAAGC TACACCACC ACCTCATCTA CCTCTACAAC TGCTAAACGC
1501 AAAAAACGTA AGCTGTAA
    
```

Figura 9 (SEQ I.D. NO: 8)

Traducción de ChiE(1-1518)

Código universal

Número total de aminoácidos: 505, PM=56117

max ORF: 1-1515, 505 AA, PM=56117

ORIGEN

```

1 MSLWLPSEAT VYLPVPVYSK VVSTDEYVAR TNIYYHAGTS RLLAVGHPYF PIKKPNNKI
61 LVPKVSGLQY RVFRIHLPDP NKFGFPDTSF YNPDTQRLVW ACVGVEVGRG QPLGVGISGH
121 PLLNKLDDE NASAYAANAG VDNRECISMD YKQTQLCLIG CKPPIGEHWG KGSPTNVAV
181 NPGDCPPEL INTVIQDGM VDTGFGAMDF TTLQANKSEV PLDICTSICK YPDYIKMYSE
241 PYGDSLFFYL RREQMFVRHL FNRAAGTVGEN VPDOLYIKGS GSTANLASSN YFPTPSGSMV
301 TSDAQIFNKP YWLQRAQGHN NGICWGNQLF VTVVDTRST NMSLCAAIST SETTYKNTNF
361 KEYLRHGEEY DLQFIFQLCK ITLTADVMTY IHSMNSTILE DWNFLGQPPP GGTLEDYRF
421 VTSQAIACQK LVEETSFIDA GAPYTFWEVN LKEKFSADLD QFPLGRKFL QAGLKAKPKF
481 TLGKRKATPT TSSTSTAKR KKRKL*
    
```

Figura 10 (SEQ I.D. NO: 9)

ES 2 323 634 T3

SEQ Sa-Fopt: 1518 pb;
 Composición 484 A; 291 C; 290 G; 453 T; 0 OTRO
 Porcentaje: 32% A; 19% C; 19% G; 30% T; 0% OTRO

Peso Molecular (kDa): ssADN: 468.71 dsADN: 935.7

ORIGEN

1	ATGTCCTCTT	GGCTGCCTAG	TGAGGCCACT	GTCTACTTGC	CTCCTGTCCC	AGTATCTAAG
61	GTTGTAAGCA	CGGATGAATA	TGTTGCACGC	ACAAACATAT	ATTATCATGC	AGGGACATCC
121	AGACTACTTG	CAGTTGGACA	TCCCTATTTT	CCTATTAAAA	AACCTAACAA	TAACAAAATA
181	TTAGTTCCTA	AAGTATCAGG	ATTACAATAC	AGGGTATTTA	GAATACATTT	ACCTGACCCC
241	AATAAGTTTG	GTTTTCTGA	CACCTCATT	TATAATCCAG	ATACACAGCG	GCTGGTTTGG
301	GCCTGTGTAG	GTGTTGAGGT	AGGCCGTGGT	CAGCCATTAG	GTGTGGGCAT	TAGTGGCCAT
361	CCTTTATTAA	ATAAATTGGA	TGACACAGAA	AATGCTAGTG	CTTATGCAGC	AAATGCAGGT
421	GTGGATAATA	GAGAATGTAT	ATCTATGGAT	TACAAACAAA	CACAATTGTG	TTTAATTGGT
481	TGCAAACCAC	CTATAGGGGA	ACACTGGGCG	AAAGGATCCC	CATGTACCAA	TGTTGCAGTA
541	AATCCAGGTG	ATTGTCCACC	ATTAGAGTTA	ATAAACACAG	TTATTGAGTA	TGGTGATATG
601	GTTGATACTG	GCTTTGGTGC	TATGGACTTT	ACTACATTAC	AGGCTAACAA	AAGTGAAGTT
661	CCACTGGATA	TTTGACATC	TATTTGCAA	TATCCAGATT	ATATTAATA	GGTGTGAGAA
721	CCATATGGCG	ACAGCTTATT	TTTTTATTTA	CGGAGGGAAC	AAATGTTTGT	TAGACATTTA
781	TFTAATAGGG	CTGGTACTGT	TGGTGAAAAT	GTACCAGACG	ATTTATACAT	TAAAGGCTCT
841	GGGTCTACTG	CAAATTTAGC	CAGTCAAAT	TATTTTCCTA	CACCTAGTGG	TTCTATGGTT
901	ACCTCTGATG	CCCAAATATT	CAATAAACCT	TATTGGTTAC	AACGAGCACA	GGGCCACAAT
961	AATGGCATT	GTTGGGGTAA	CCAATATT	GTTACTGTTG	TTGATACTAC	ACGCAGTACA
1021	AATATGTCAT	TATGTGCTGC	CATATCTACT	TCAGAACTA	CATATAAAAA	TACTAATTTT
1081	AAGGAGTACC	TACGACATGG	GGAGGAATAT	GATTTACAGT	TTATTTTCA	ACTGTGCAAA
1141	ATAACCTTAA	CTGCAGACGT	TATGACATAC	ATACATTCTA	TGAATTCCAC	TATTTTGGAG
1201	GACTGGAATT	TTGGTCTACA	ACCTCCCCCA	GGAGGCACAT	TAGTGAAGA	AACTAGTTTT
1261	ATTGATGCTG	GTGCACCAGC	TGTCAAAAA	CATACACTC	CAGCACCTAA	AGAAGATCCC
1321	CTTAAAAAAT	ACACTTTTTG	GGAAGTAAAT	TAAAGGAAA	AGTTTTCTGC	AGACCTAGAT
1381	CAGTTTCCTT	TAGGACGCCA	ATTTTACTA	CAAGCAGGAT	TGAAGGCCAA	ACCAAATTT
1441	ACATTAGGAA	AACGAAAAGC	TACACCACC	ACCTCATCTA	CCTCTACAAC	TGCTAAACGC
1501	AAAAACGTA	AGCTGTAA				

Figura 11 (SEQ I.D. NO: 10)

Traducción de ChIF(1-1518)
 Código universal
 Número total de aminoácidos : 505, PM-56032
 Max ORF: 1-1515, 505 AA, PM-56032

ORIGEN

1	MSLWLPSEAT	VYLPPVPVSK	VVSTDEYVAR	TNIYYHAGTS	RLLAUGHYPYF	PIKPKNNKI
61	LVPKVSGLQY	RVFRIHLPDP	NKFGFPDTSF	YNPDTQRLW	ACVGEVGRG	QPLGVGSLGH
121	PLLNLDDTE	NASAYAANAG	VDNRECISMD	YKQTQLCLIG	CKPPIGEHWG	KGSPCTNVAV
181	NPGDCPPLEL	INTVIQDGM	VDTGFGAMDF	TTLQANKSEV	PLDICTSICK	YPTYIKMVSE
241	PYGDSLFFYL	RREQMFVRHL	FNRAGTVGEN	VPDDLVIKGS	GSTANLASSN	YFPTPSGSMV
301	TSDAQIFNKP	YWLQRAQGH	NGICWGNQLF	VTYVDTTRST	NMSLCAAIST	SETTYKNTNF
361	KEYLRHGEY	DLQFIFQLCK	ITLTADVMY	IHSMNSTILE	DWNFGLQPPP	GGTLVEETSF
421	IDAGAPACQK	HTPPAPKEDP	LKKYTFWEVN	LKEKFSADLD	QFPLGRKFLL	QAGLKAKPKF
481	TLGKRKATPT	TSSTSTAKR	KKRKL*			

Figura 12 (SEQ I.D. NO: 11)

ES 2 323 634 T3

SEQ Sa-hoot: 1518 pb;
 Composición 486 A; 290 C; 293 G; 449 T; 0 OTRO
 Porcentaje: 32% A; 19% C; 19% G; 30% T; 0% OTRO

Peso Molecular (kDa): ssADN: 468.82 dsADN: 935.7

ORIGEN

```

1      ATGTCTCTTT GGCTGCCTAG TGAGGCCACT GTCTACTTGC CTCCTGTCCC AGTATCTAAG
61     GTTGTAAACA CGGATGAATA TGTTGCACGC ACAAACATAT ATTATCATGC AGGGACATCC
121    AGACTACTTG CAGTTGGACA TCCCTATTTT CCTATTAAAA AACCTAACAA TAACAAAATA
181    TTAGTTCCTA AAGTATCAGG ATTACAATAC AGGGTATTTA GAATACATTF ACCTGACCCC
241    TTAGTGGAAG AAAC TAGTTT TATTGATGCT GGTGCACCAG ATACACAGCG GCTGGTTTGG
301    GCCTGTGTAG GTGTTGAGGT AGGCCGTGGT CAGCCATTAG GTGTGGGCAT TAGTGGCCAT
361    CCTTTATTA AATAATTGGA TGACACAGAA AATGCTAGTG CTTATGCAGC AAATGCAGGT
421    GTGGATAATA GAGAATGTAT ATCTATGGAT TACAAACAAA CACAATTGTG TTTAATTGGT
481    TGCAAACCAC CTATAGGGGA AACTGGGGC AAAGGATCCC CATGTACCAA TGTTGCAGTA
541    AATCCAGGTG ATTGTCCACC ATTAGAGTTA ATAAACACAG TTATTCAGGA TGGTGATATG
601    GTTGATACTG GCTTTGGTGC TATGGACTTT ACTACATTAC AGGCTAACAA AAGTGAAGTT
661    CCACTGGATA TTTGTACATC TATTTGCAAA TATCCAGATT ATATTAAAAAT GGTGTCAGAA
721    CCATATGGCG ACAGCTTATT TTTTTATTTA CGGAGGGAAC AAATGTTTGT TAGACATTTA
781    TTTAATAGGG CTGCTACTGT TGGTGAAAAT GTACCAGACG ATTTATACAT TAAAGGCTCT
841    GGGCTACTG CAAATTTAGC CAGTTCAAAT TATTTTCTA CACCTAGTGG TTCTATGGTT
901    ACCTCTGATG CCCAATATT CAATAAACCT TATTGGTTAC AACGAGCACA GGGCCACAAT
961    AATGGCATTG GTTGGGGTAA CCAACTATTT GTTACTGTTG TTGATACTAC ACGCAGTACA
1021   AATATGTCA TATGTGCTGC CATATCTACT TCAGAAAATA CATATAAAAA TACTAACTTT
1081   AAGGATACC TACGACATGG GGAGGAATAT GATTTACAGT TTATTTTTC AACTGTGCAA
1141   ATAACCTTAA CTGCAGAGCT TATGACATAC ATACATTCTA TGAATCCAC TATTTTGGAG
1201   GACTGGAATT TTGGTCTACA ACCTCCCCCA GGAGGCACAC TAGAAGATAC TTATAGGTTT
1261   GTAACATCCC AGGCAATTGC TTGTCAAAAA CATAACCTC CAGCACCTAA AGAAGATCCC
1321   CTTAAAAAAT AACTTTTTTG GGAAGTAAAT TAAAGGAAA AGTTTTCTGC AGACCTAGAT
1381   CAGTTTCCTT TAGGACGCAA ATTTTACTA CAAGCAGGAT TGAAGGCCAA ACCAAAATTT
1441   ACATTAGGAA AACGAAAAGC TACACCACC ACCTCATCTA CCTCTACAAC TGCTAAACGC
1501   AAAAAACGTA AGCTGTAA
    
```

Figura 13 (SEQ I.D. NO: 12)

Traducción de ChiH(1-1518)

Código universal

Número total de aminoácidos : 505, PM=56041

Max ORF: 1-1515, 505 AA, PM=56041

ORIGEN

```

1      MSLWLPSEAT VYLPPVPVSK VVSTDEYVAR TNIYYHAGTS RLLAVGHPYF PIKKPNNNKI
61     LVPKVSGLQY RVFRIHLPDP LVEETSFIDA GAPDTQRLVW ACVGVVEVGRG QPLGVGISGH
121    PLLNKLDDTE NASAYAANAG VDNRECISMD YKQTQLCLIG CKPPIGEHWG KGSPCTNVAV
181    NPGDCPPELE INTVIQDGD M VDTGFGAMDF TTLQANKSEV PLDICTSICK YPDYIKMVSE
241    PYGDSLFFYL RREQMFVRHL FNRAGTVGEN VPDDLYIKS GStanLASSN YFPTPSGSMV
301    TSDAQIFNKP YWLQRAQGHN NGICWGNQLF VTVVDTRST NMSLCAAIST SETTYKNTNF
361    KEYLRHGEEY DLQFIFQLCK ITLTADVMTY IHSMNSTILE DWNFGLQPPP GGTLEDTYRF
421    VTSQAIACQK HTPPAPKEDP LKKYTFWEVN LKEKFSADLD QFPLGRKFLL QAGLKAKPKF
481    TLGKRKATPT TSSTSTAKR KKRKL*
    
```

Figura 14 (SEQ I.D. NO: 13)



Figura 15

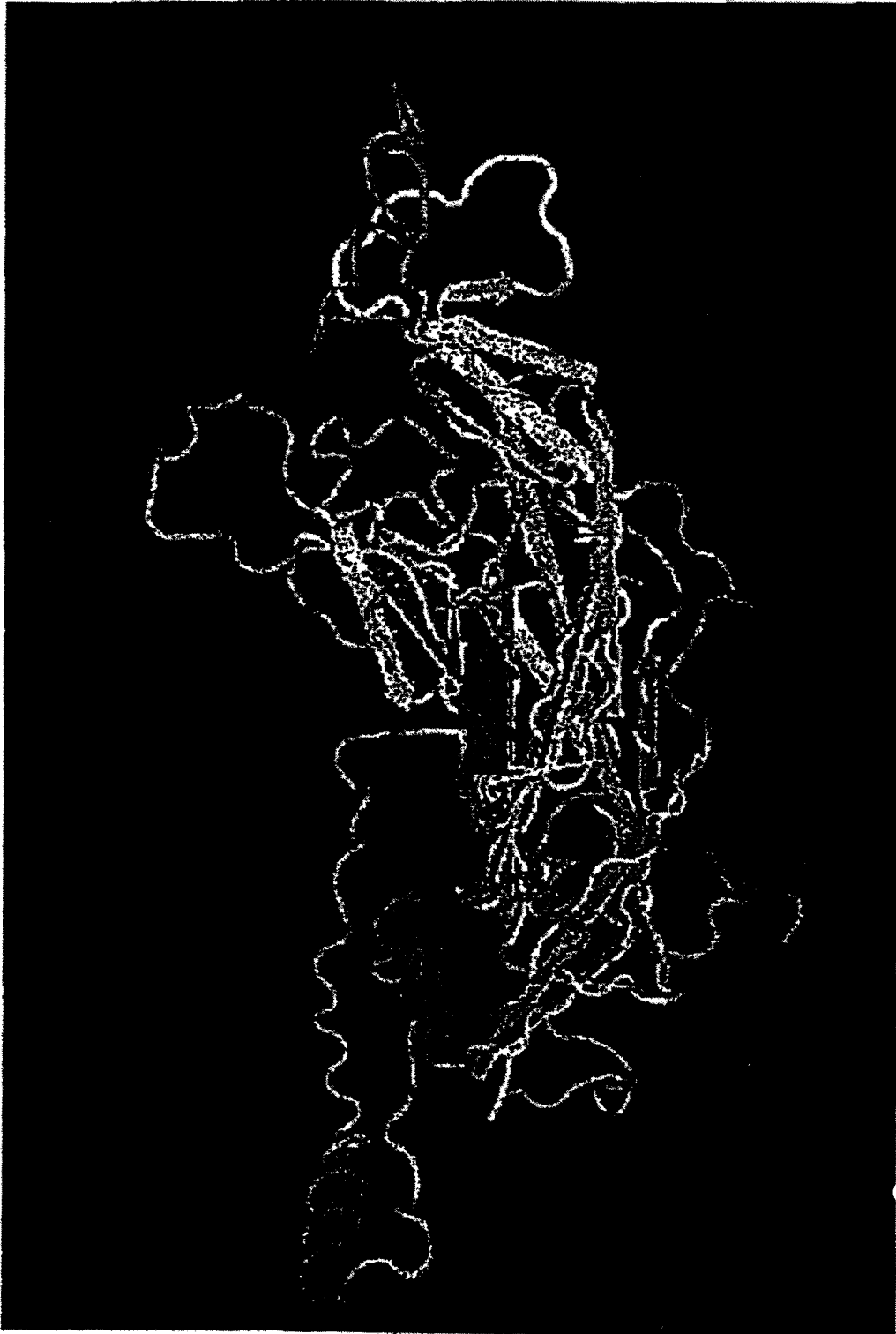


Figura 16



Figura 17

ES 2 323 634 T3

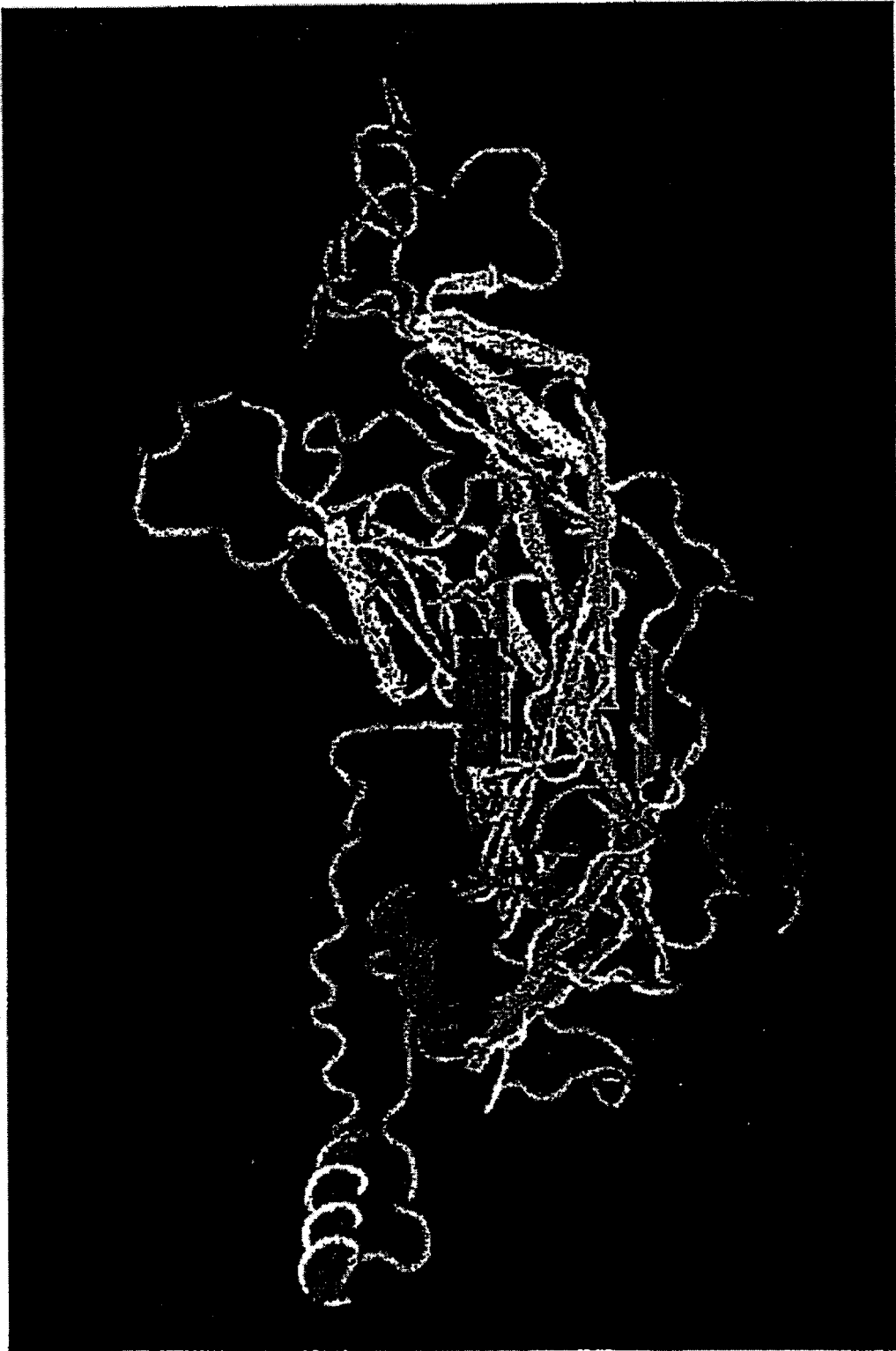


Figura 18



Figura 19

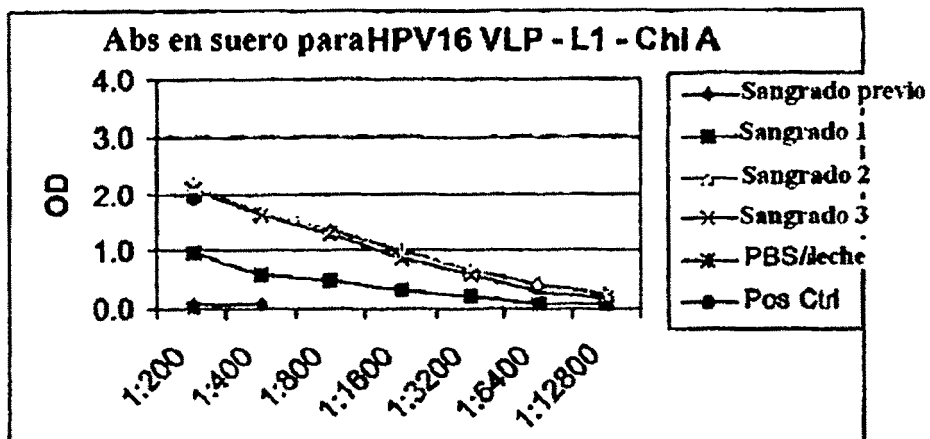


Figura 20

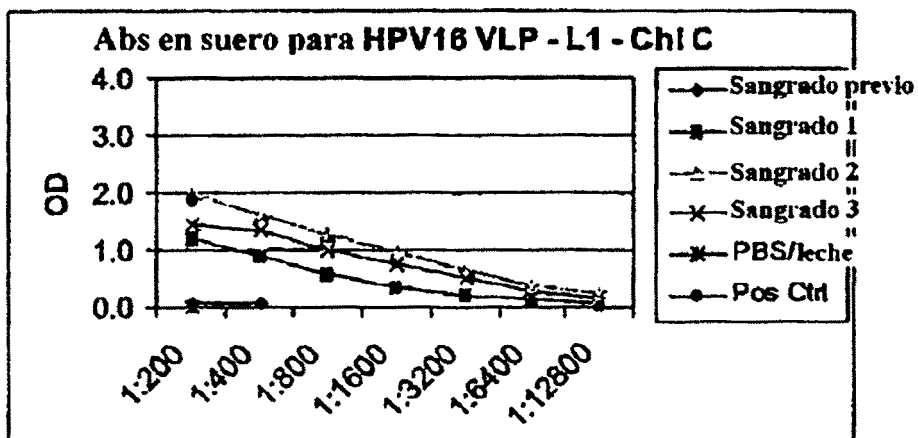


Figura 21

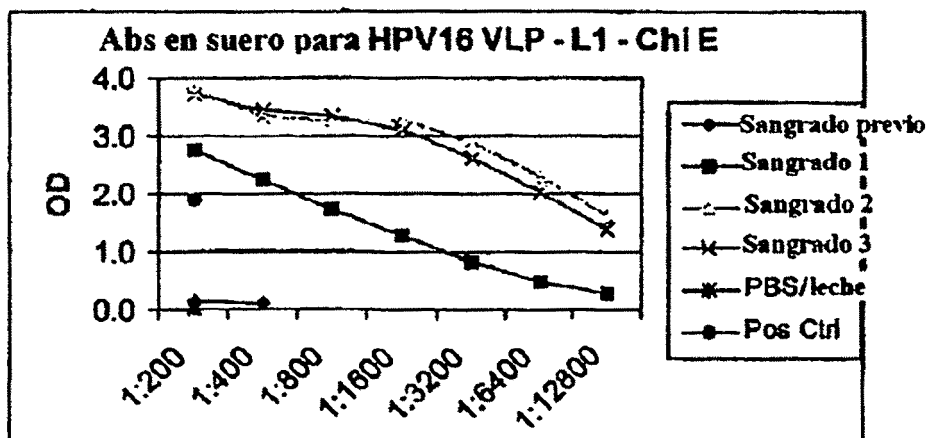


Figura 22

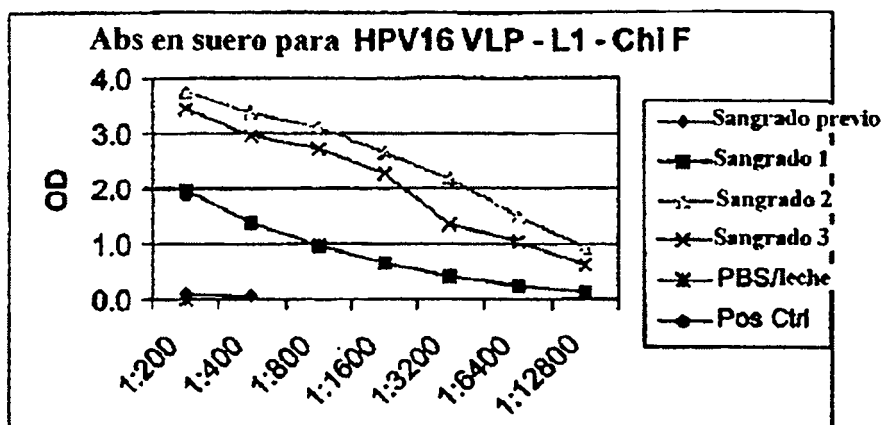


Figura 23

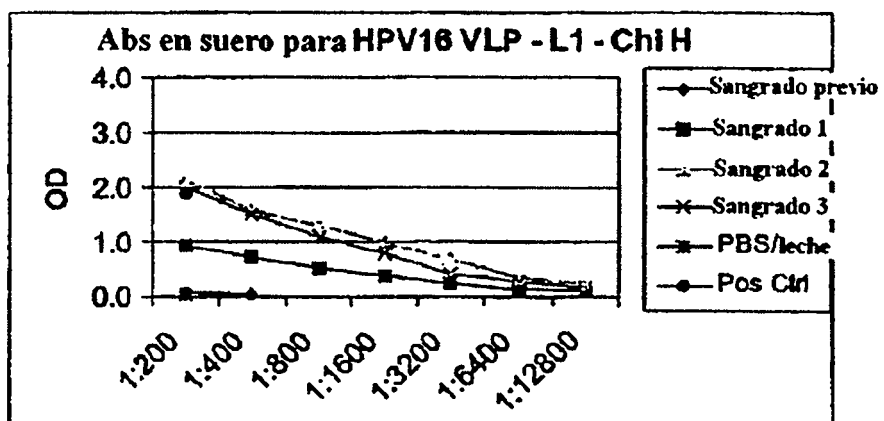


Figura 24

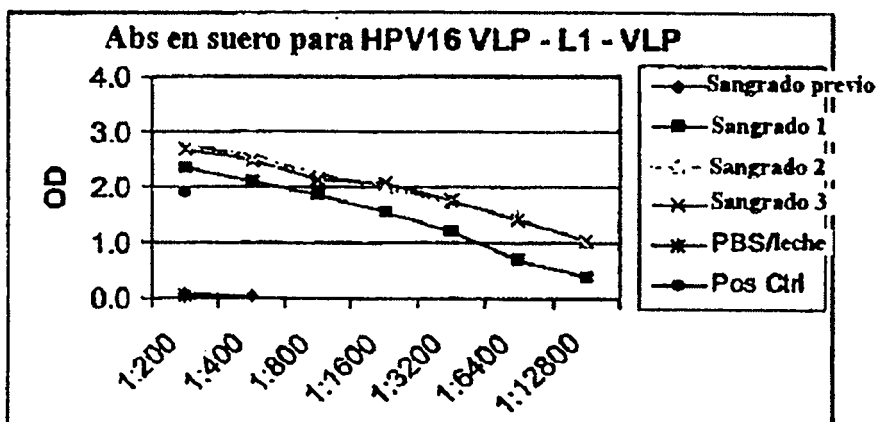


Figura 25

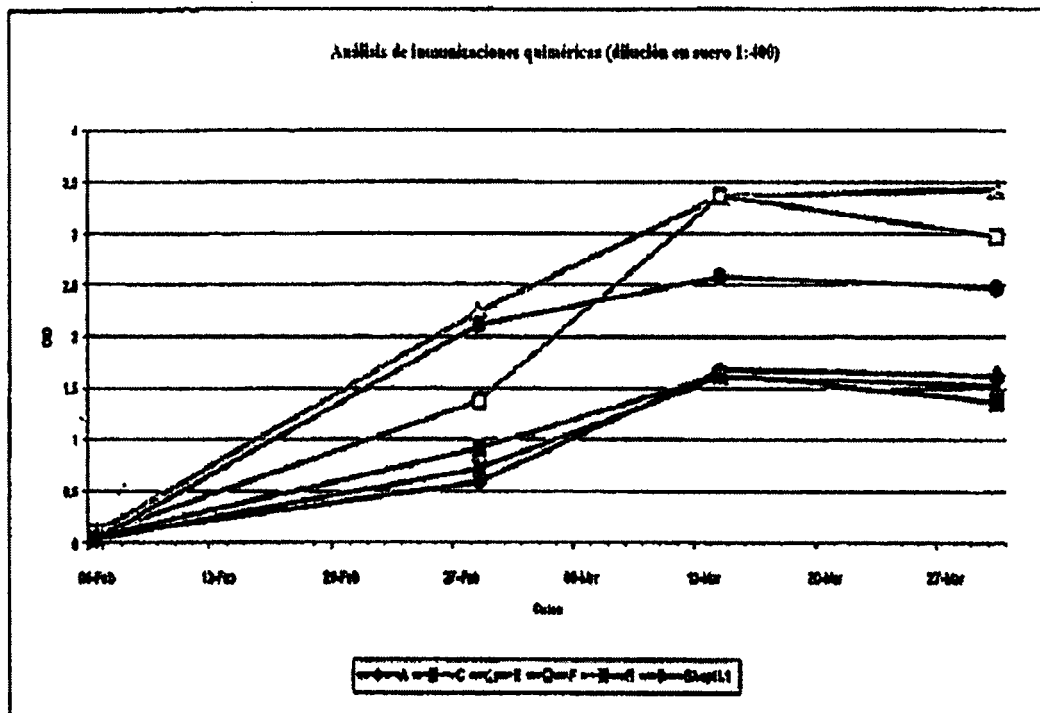


Figura 26

TTAGTGGAAG AACTAGTTT TATTGATGCT GGTGCACCA

Figura 27 (SEQ I.D. NO: 14)

LVEETSFIDA GAP

Figura 28 (SEQ I.D. NO: 1)