



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 361 188**

⑤1 Int. Cl.:  
**C12N 15/62** (2006.01)  
**C07K 19/00** (2006.01)

①2

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑨6 Número de solicitud europea: **06806380 .9**  
⑨6 Fecha de presentación : **19.10.2006**  
⑨7 Número de publicación de la solicitud: **1941043**  
⑨7 Fecha de publicación de la solicitud: **09.07.2008**

⑤4 Título: **Método para la expresión recombinante de un polipéptido.**

③0 Prioridad: **21.10.2005 EP 05023003**  
**24.05.2006 EP 06010665**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**14.06.2011**

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**14.06.2011**

⑦3 Titular/es: **F. Hoffmann-La Roche AG.**  
**Grenzacherstrasse 124**  
**4070 Basel, CH**

⑦2 Inventor/es: **Kopetzki, Erhard**

⑦4 Agente: **Isern Jara, Jorge**

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

## DESCRIPCIÓN

Método para la expresión recombinante de un polipéptido

La presente invención se refiere a un método para la expresión de un polipéptido en células eucarióticas.

#### Antecedentes de la invención

Los sistemas de expresión para la producción de polipéptidos recombinantes son bien conocidos del estado de la técnica y se describen en, por ejemplo, Marino M.H., Biopharm. 2:18-33, 1989; Goeddel D.V. *et al.*, Methods Enzymol. 185:3-7, 1990; Wurm F. y Bernard A., Curr. Opin. Biotechnol. 10:156-159, 1999. Los polipéptidos para la utilización en aplicaciones farmacéuticas preferentemente se producen en células de mamífero tales como células CHO, células NS0, células Sp2/0, células COS, células HEK, células BHK y similares. Los elementos esenciales de un plásmido de expresión son una unidad de propagación plásmido procariótico, por ejemplo para *E. coli*, que comprende un origen de replicación y un marcador de selección, un marcaodr de selección eucariótico, y uno o más casetes de expresión para la expresión del gen o genes estructurales de interés, comprendiendo cada uno un promotor, un gen estructural y un terminador de transcripción, incluyendo una señal de poliadenilación. Para la expresión transitoria en células de mamífero, puede incluirse un origen de replicación de mamífero tal como Ori de SV40 ó OriP. Como promotor, puede seleccionarse un promotor constitutivo o inducible. Para la transcripción optimizada, puede incluirse una secuencia de Kozak en la región 5' no traducida. Para el procesamiento del ARNm, en particular el corte y empalme del ARNm y la terminación de la transcripción, pueden incluirse señales de corte y empalme del ARNm, dependiendo de la organización del gen estructural (organización exón/intrón), así como una señal de poliadenilación.

La expresión de un gen se lleva a cabo en forma de expresión transitoria o permanente. El polipéptido o polipéptidos de interés en general son polipéptidos secretados y por lo tanto contienen una extensión N-terminal (también conocida como secuencia de señal), que resulta necesaria para el transporte/secreción del polipéptido a través de la célula hacia el medio extracelular.

En general, la secuencia de señal puede derivarse de cualquier gen codificante de un polipéptido secretado. En el caso de que se utilice una secuencia de señal heteróloga, preferentemente es una secuencia que resulta reconocida y procesada (es decir, cortada por una peptidasa de señal) por la célula huésped. Para la secreción en levaduras, por ejemplo, la secuencia de señal nativa de un gen heterólogo que debe expresarse puede sustituirse por una secuencia de señal de levadura homóloga derivada de un gen secretado, tal como la secuencia de señal de invertasa de levadura, el líder de factor alfa (incluyendo los líderes de factor  $\alpha$  de *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia* y *Hansenula*, estando el segundo descrito en la patente US nº 5.010.182), la secuencia de señal de la fosfatasa ácida, o la secuencia de señal de la glucoamilasa de *C. albicans* (patente EP nº 0 362 179). En la expresión en células de mamífero, la secuencia de señal nativa de la proteína de interés resulta satisfactoria, aunque pueden resultar adecuadas otras secuencias de señal de mamífero tales como las secuencias de señal de polipéptidos secretados de la misma especie o de especies relacionadas, por ejemplo para inmunoglobulinas de origen humano o murino, así como secuencias de señal secretoria víricas, por ejemplo la secuencia de señal de la glucoproteína D del herpes simplex. El fragmento de ADN codificante de dicho presegmento se liga en el mismo marco de lectura al fragmento de ADN codificante de un polipéptido de interés.

En la patente WO nº 98/28427, se informa de una proteína de fusión preparada genética o químicamente que comprende la región Fc de inmunoglobulina, un derivado o análogo fusionado con la parte N-terminal de la proteína OB. Una molécula quimérica, es decir, una fusión de anticuerpo o una proteína de fusión, que comprende una secuencia importada de proteína carboxi-terminal y una región cargo amino-terminal se presenta en la patente WO nº 03/035892.

En la patente US nº 2003/0049227 se informa de un método para la inducción de una respuesta inmunológica citocida contra un tumor en un mamífero mediante la administración de una inmunocitoquina, que es una proteína de fusión que comprende una parte inmunoglobulina aminoterminal y una parte citoquina carboxi-terminal.

La patente WO nº 01/16437 informa de una proteína fusionada recombinante soluble que es estable en el sistema circulatorio de mamífero, que comprende un polipéptido que contiene un sitio de reconocimiento para una molécula diana, tal como un sitio receptor del complemento, y que se encuentra unida en el extremo N-terminal de una cadena de inmunoglobulina. Se informa de una proteína de fusión constituida de un anticuerpo y un péptido que presenta una actividad biológica en la patente US nº 2003/0103984.

En la patente US nº 2004/0033511, se informa de una proteína de fusión de anticuerpo-citoquina y en la patente US nº 2004/0180035, de un inmunoconjugado de anticuerpo-citoquina. Se informa de una inmunotoxina que comprende gelonina y un anticuerpo en la patente WO nº 94/26910. Perlman *et al.* (Perlman D., J. Mol. Biol. 167:391-409, 1983)

informan de un sitio y secuencia de reconocimiento putativo de peptidasa de señal en péptidos de señal eucarióticos y procarióticos. Se informa del efecto de los cambios de péptido de señal sobre el procesamiento extracelular de la estreptoquinasa de *Escherichia coli* en Pratap J. y Dikshit K.L., Mol. Gen. Genet. 258:326-333, 1998.

## 5 Descripción resumida de la invención

La presente invención comprende un método para la producción recombinante de un polipéptido heterólogo en una célula huésped eucariótica, que comprende un plásmido de expresión, en el que el plásmido de expresión comprende, en una dirección 5' a 3', a) un promotor, b) un ácido nucleico codificante de un primer polipéptido que es una secuencia de señal, cuya secuencia de aminoácidos se selecciona de la Tabla 1 dependiendo de los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido, seleccionados de manera que los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido sean idénticos a los primeros dos aminoácidos de las secuencias de aminoácidos de la región FR1 de inmunoglobulina que sigue naturalmente, c) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende un ácido nucleico codificante del polipéptido heterólogo, un ácido nucleico codificante de una molécula conectora, y un ácido nucleico codificante de un fragmento de inmunoglobulina que comprende por lo menos los dominios constantes de una cadena de una inmunoglobulina, y d) una región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenilación. El método comprende además la introducción del plásmido de expresión en una célula huésped eucariótica que se cultiva bajo condiciones adecuadas para la expresión del segundo polipéptido y se recupera el segundo polipéptido del medio de cultivo.

En una realización de la invención, el ácido nucleico codificante del segundo polipéptido contiene en posición 5' respecto al ácido nucleico codificante del polipéptido heterólogo un ácido nucleico adicional codificante de un único aminoácido o un dipéptido, o el péptido de secuencia de aminoácidos QIWN (SEC ID nº 472) o un fragmento del mismo.

En otra realización, el fragmento de inmunoglobulina se obtiene de una IgG o de una IgE.

En una realización adicional, la célula eucariótica es una célula de mamífero, especialmente una célula CHO, una célula NS0, una célula Sp2/0, una célula COS, una célula K562, una célula BHK, una célula PER.C6 o una célula HEK.

En todavía otra realización, la molécula conectora es un péptido o polipéptido seleccionado de entre el grupo que consiste de las secuencias SEC ID nº 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556 y 557.

En otra realización, el fragmento de inmunoglobulina comprende el dominio constante carboxi-terminal de una cadena pesada o ligera de una inmunoglobulina natural o sintética, es decir, el dominio C<sub>H1</sub>, la región bisagra, el dominio C<sub>H2</sub>, el dominio C<sub>H3</sub> de una cadena pesada, o el dominio C<sub>L</sub> de una cadena ligera. Además, el fragmento de inmunoglobulina comprende un fragmento de dominio variable.

En otra realización, el fragmento de dominio variable es un dominio variable de una cadena pesada o ligera de inmunoglobulina en la que uno a seis aminoácidos del dominio variable han sido delecionados.

En una realización adicional, entre una y seis regiones (FR1, FR2, FR3, CDR1, CDR2, CDR3) del dominio variable han sido delecionadas.

En una realización adicional, ha sido delecionado el dominio variable.

En otra realización, el fragmento de inmunoglobulina se deriva de una inmunoglobulina natural o variante de la misma.

En una realización adicional, el fragmento de inmunoglobulina se deriva de una inmunoglobulina por lo menos parcialmente sintética.

En todavía otra realización de la invención, la secuencia de aminoácidos del polipéptido heterólogo presenta entre 5 y 500 residuos aminoácidos, más preferentemente entre 10 y 350 residuos aminoácidos, todavía más preferentemente entre 15 y 150 residuos aminoácidos.

La invención comprende además un plásmido que comprende, en una dirección 5' a 3', a) un promotor, b) un ácido nucleico codificante de un primer polipéptido que es una secuencia de señal, cuya secuencia de aminoácidos se selecciona de la Tabla 1 dependiendo de los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido seleccionado de manera que los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido sean idénticos a los primeros dos aminoácidos de las secuencias de aminoácidos de la región FR1 de la inmunoglobulina siguiente, c) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende un ácido nucleico codificante de un polipéptido heterólogo, un ácido nucleico codificante de una molécula conectora, y un ácido nucleico codificante de un fragmento de inmunoglobulina, que

comprende por lo menos los dominios constantes de una cadena de una inmunoglobulina, y d) una región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenilación.

La invención todavía adicionalmente comprende un kit para la preparación de un plásmido para la expresión de un polipéptido heterólogo en una célula eucariótica que comprende un plásmido que comprende, en una dirección 5' a 3', a) un promotor, b) un ácido nucleico codificante de un primer polipéptido que es una secuencia de señal, cuya secuencia de aminoácidos se selecciona de entre el grupo que consiste de las secuencias SEC ID nº 36, 37, 31.9, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328 y 329, c) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende: i) un ácido nucleico codificante de un péptido de secuencia de aminoácidos QIWN (SEC ID nº 472) o una fracción N-terminal de la misma que comprende por lo menos el dipéptido QI, ii) un sitio de clonación que comprende por lo menos un sitio de corte de restricción adecuado para la inserción de un ácido nucleico codificante de un polipéptido heterólogo, iii) un ácido nucleico codificante de una molécula conectora seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias SEC ID nº 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556 y 557, e iv) un ácido nucleico codificante de un fragmento de inmunoglobulina, que comprende por lo menos los dominios constantes de una cadena de una inmunoglobulina, y d) una región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenilación.

#### Descripción detallada de la invención

La presente invención comprende un método para la expresión recombinante de un polipéptido heterólogo de interés en una célula huésped eucariótica que comprende un plásmido de expresión que comprende una secuencia de ácidos nucleicos codificante de una secuencia de señal, en la que la secuencia de ácidos nucleicos codificante de la secuencia de señal se selecciona de la Tabla 1 dependiendo de los primeros dos aminoácidos del polipéptido siguiente. La secuencia de ácidos nucleicos codificante del polipéptido heterólogo se inicia dentro de los quince nucleótidos posteriores al final de la secuencia de ácidos nucleicos codificante de la secuencia de señal. La secuencia de ácidos nucleicos codificante del polipéptido heterólogo puede insertarse dentro de una región FR1 de una inmunoglobulina, dentro de una región V<sub>L</sub> de una inmunoglobulina o dentro del primer dominio constante de una inmunoglobulina, o puede sustituir la totalidad o una fracción de una región FR1 de una inmunoglobulina, una región V<sub>L</sub> de una inmunoglobulina o el primer dominio constante de una inmunoglobulina.

Dentro del alcance de la presente invención algunos de los términos utilizados se definen de la manera siguiente:

La expresión "molécula de ácidos nucleicos" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un ácido nucleico natural, o parcial o totalmente no natural, codificante de un polipéptido que puede producirse recombinantemente. La molécula de ácidos nucleicos puede construirse a partir de fragmentos de ADN que se aíslan o se sintetizan por medios químicos. La molécula de ácidos nucleicos puede integrarse en otro ácido nucleico, por ejemplo en un plásmido de expresión o el genoma/cromosoma de una célula huésped eucariótica. El plásmido incluye vectores lanzadera y vectores de expresión. Típicamente el plásmido también comprende una unidad de propagación procariótica que comprende un origen de replicación (por ejemplo el origen ColE1 de replicación) y un marcador seleccionable (por ejemplo el gen de resistencia a la ampicilina o a la tetraciclina) para la replicación y la selección, respectivamente, del vector en bacterias.

La expresión "casete de expresión" se refiere a una secuencia de ácidos nucleicos que contiene los elementos necesarios para la expresión y secreción de por lo menos el gen estructural contenido en una célula.

Una molécula de ácidos nucleicos, de manera similar, se caracteriza a partir de su secuencia de ácidos nucleicos, que consiste de nucleótidos individuales y/o de una secuencia de aminoácidos codificada por la molécula de ácidos nucleicos.

El término "gen" se refiere a un segmento, por ejemplo en un cromosoma o en un plásmido, que resulta necesario para la expresión de un péptido, polipéptido o proteína. Aparte de la región codificante, el gen comprende otros elementos funcionales, incluyendo un promotor, intrones y terminadores.

La expresión "gen estructural" se refiere a la región codificante de un gen sin una secuencia de señal.

La expresión "gen de resistencia" o "marcador seleccionable", que se utilizan intercambiamente en la presente solicitud, es un gen que permite que las células que portan el gen resulten seleccionadas positiva o negativamente, en presencia de un agente de selección correspondiente. Un marcador seleccionable positivo que resulta útil es un gen de resistencia a antibiótico. Este marcador seleccionable permite que la célula huésped transformada con el gen resulte seleccionada positivamente en presencia del antibiótico correspondiente; una célula huésped no transformada no sería capaz de crecer o sobrevivir bajo las condiciones selectivas de cultivo. Los marcadores seleccionables pueden ser positivos, negativos o bifuncionales. Los marcadores seleccionables positivos permiten la selección de células que



portan el marcador, mientras que los marcadores seleccionables negativos permiten eliminar selectivamente las células que portan el marcador. Típicamente, un marcador seleccionable proporcionará resistencia a un fármaco o compensará un defecto metabólico o catabólico en la célula huésped. Entre los genes de resistencia que resultan útiles al utilizar células eucarióticas se incluyen, por ejemplo, los genes de la aminoglucósido fosfotransferasa (APH), tales como la higromicina fosfotransferasa (hyg), y la neomicina APH y G418 APH, la dihidrofolato reductasa (DHFR), la timidina quinasa (tk), la glutamina sintetasa (GS), la asparagina sintetasa, la triptófano sintetasa (indol), la histidinol deshidrogenasa (histidinol D) y los genes codificantes de resistencia a puromicina, bleomicina, fleomicina, cloranfenicol, zeocina y ácido micofenólico. Se describen genes marcadores adicionales en las patentes WO n° 92/08796 y n° 94/28143.

La expresión "elementos reguladores" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a secuencias de nucleótidos presentes en cis, necesarias para la transcripción y/o traducción del gen que comprende la secuencia de ácidos nucleicos codificante de un polipéptido de interés. Los elementos reguladores de la transcripción normalmente comprenden un promotor cadena arriba de la secuencia del gen estructural que debe expresarse, sitios de inicio y terminación de la transcripción, y una secuencia de señal de poliadenilación. La expresión "sitio de inicio de transcripción" se refiere a la base del ácido nucleico en el gen correspondiente al primer ácido nucleico incorporado en el transcrito primario, es decir, el precursor ARNm, el sitio de inicio de transcripción puede solaparse con la secuencia de promotor. La expresión "sitio de terminación de transcripción" se refiere a una secuencia de nucleótidos normalmente representada en el extremo 3' de un gen de interés que debe transcribirse, que causa que la ARN polimerasa termine la transcripción. La secuencia de señal de poliadenilación, o señal de adición de poli-A, proporciona la señal para el corte en un sitio específico en el extremo 3' del ARNm eucariótico y la adición post-transcripcional en el núcleo de una secuencia de aproximadamente 100 a 200 nucleótidos adenina (cola poli-A) al extremo 3' cortado. La secuencia de señal de poliadenilación puede incluir la secuencia de consenso AATAAA situada aproximadamente 10 a 30 nucleótidos cadena arriba del sitio de corte.

Para producir un polipéptido secretado, el gen estructural de interés incluye un segmento de ADN que codifica una secuencia de señal/péptido líder. La secuencia de señal dirige el polipéptido recién sintetizado hasta la membrana del ER y a través de la misma, en donde el polipéptido puede ser enviado para su secreción. La secuencia de señal resulta escindida por una peptidasa de señal durante los cruces de la proteína a través de la membrana del ER. Respecto a la función de la secuencia de señal, el reconocimiento por parte de la maquinaria de secreción de la célula huésped resulta esencial. Por lo tanto, la secuencia de señal utilizada debe ser reconocida por las proteínas de la célula huésped y los enzimas de la maquinaria de secreción.

Entre los elementos reguladores de la transcripción se incluyen codones de inicio (AUG) y parada (TAA, TAG o TGA) de la traducción. En algunos constructos puede incluirse un sitio interno de entrada ribosómica (IRES).

El término "promotor" se refiere a una secuencia polinucleótida que controla la transcripción de una secuencia de un gen/gen estructural o ácido nucleico a la que se encuentra operablemente ligada. Un promotor incluye señales para la unión de la ARN polimerasa y el inicio de la transcripción. Los promotores utilizados serán funcionales en el tipo celular de la célula huésped en la que se contempla la expresión de la secuencia seleccionada. Un gran número de promotores, incluyendo promotores constitutivos, inducibles y reprimibles procedentes de una diversidad de diferentes fuentes, son bien conocidos de la técnica (y se encuentran identificados en bases de datos tales como GenBank) y se encuentran disponibles en forma de polinucleótidos clonados o en el interior de los mismos (procedentes de, por ejemplo, depósitos tales como la ATCC, así como de otras fuentes comerciales o individuales). Un "promotor" comprende una secuencia de nucleótidos que dirige la transcripción de un gen estructural. Típicamente, un promotor se encuentra situado en la región 5' no codificante o no traducida de un gen, próximo al sitio de inicio de transcripción de un gen estructural. Los elementos de secuencia situados en el interior de promotores, que funcionan durante el inicio de la transcripción con frecuencia se caracterizan por secuencias de nucleótidos de consenso. Entre estos elementos promotores se incluyen sitios de unión de ARN polimerasa, secuencias TATA, secuencias CAAT, elementos específicos de la diferenciación (DSEs, McGehee R.E. *et al.*, Mol. Endocrinol. 7:551, 1993), elementos de respuesta a AMP cíclico (CREs), elementos de respuesta a suero (SREs, Treisman R., Seminars in Cancer Biol. 1:47, 1990), elementos de respuesta a glucocorticoides (GREs) y sitios de unión para otros factores de transcripción tales como CRE/ATF (O'Reilly M.A. *et al.*, J. Biol. Chem. 267:19938, 1992), AP2 (Ye J. *et al.*, J. Biol. Chem. 269:25728, 1994) y SP1, proteína de unión a elemento de respuesta a AMPc (CREB, Loeken M.R. Gene Expr. 3:253, 1993) y factores octámeros (ver, en general, Watson *et al.*, editores, Molecular Biology of the Gene, 4a edición (The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1987), y Lemaigre F.P. y Rousseau G.G., Biochem. J. 303:1-14, 1994). En el caso de que el promotor sea un promotor inducible, la tasa de transcripción se incrementa en respuesta a un agente inductor. En contraste, la tasa de transcripción no se encuentra regulada por un agente inductor en el caso de que el promotor sea un promotor constitutivo. También se conocen promotores reprimibles. Por ejemplo, el promotor c-fos se activa específicamente tras la unión de la hormona de crecimiento a su receptor sobre la superficie celular. La expresión regulada por la tetraciclina (tet) puede conseguirse con promotores

híbridos artificiales que consisten de, por ejemplo un promotor de CMV seguido de dos sitios de operador Tet. El represor Tet se une a los dos sitios de operador Tet y bloquea la transcripción. Tras la inducción del inductor tetraciclina, el represor Tet resulta liberado de los sitios de operador Tet y se produce la transcripción (Gossen M. y Bujard H., PNAS 89:5547-5551, 1992). Para otros promotores inducibles, incluyendo la metalotioneína y los promotores de choque térmico ver, por ejemplo, Sambrook *et al.* (*supra*) y Gossen *et al.*, Curr. Opin. Biotech. 5:516-520, 1994. Entre los promotores eucarióticos que han sido identificados como promotores fuertes para la expresión de nivel elevado se encuentran el promotor temprano de SV40, el promotor tardío mayor de adenovirus, el promotor de la metalotioneína-1 de ratón, la repetición terminal larga del virus del sarcoma de Rous, el factor 1 alfa de alargamiento de hámster chino (CHEF-1, ver, por ejemplo, la patente US nº 5.888.809), el EF-1 alfa humano, la ubiquitina y el promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano (CMV IE).

El "promotor" puede ser constitutivo o inducible. Un intensificador (es decir, un elemento de ADN de acción en cis que actúa sobre un promotor incrementando la transcripción) puede resultar necesario para funcionar conjuntamente con el promotor para incrementar el nivel de expresión obtenido con un promotor solo, y puede incluirse en forma de elemento regulador de la transcripción. Con frecuencia, el segmento polinucleótido que contiene el promotor también incluye secuencias de intensificador (por ejemplo CMV o SV40).

El término "intensificador" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a una secuencia polinucleótida que incrementa la transcripción de un gen o secuencia codificante a la que se encuentra operablemente ligada. Al contrario que los promotores, los intensificadores son relativamente independientes de la orientación y de la posición y se han encontrado en orientación 5' ó 3' (Lusky M. *et al.*, Mol. Cell Bio. 3:1108, 1983) respecto a la unidad de transcripción en el interior de un intrón (Banerji J. *et al.*, Cell 33:729, 1983), así como en el interior de la secuencia codificante misma (Osborne T.F. *et al.*, Mol. Cell Bio. 4:1293, 1984). Por lo tanto, pueden introducirse intensificadores cadena arriba o abajo del sitio de inicio de transcripción o a distancias considerables del promotor, aunque en la práctica los intensificadores pueden solaparse física y funcionalmente con los promotores. Son bien conocidos de la técnica (y se encuentran identificados en bases de datos tales como GenBank) un gran número de intensificadores procedentes de una diversidad de diferentes fuentes y se encuentran disponibles en forma de secuencias polinucleótidas clonadas o en el interior de las mismas (procedentes de, por ejemplo, depósitos tales como la ATCC, así como de otras fuentes comerciales o individuales). Varios polinucleótidos que comprenden secuencias de promotor (tales como el promotor de CMV utilizado comúnmente) también comprenden secuencias de intensificador. Por ejemplo, la totalidad de los promotores fuertes indicados anteriormente también pueden contener intensificadores fuertes (ver, por ejemplo, Bendig M.M., Genetic Engineering 7:91-127, 1988).

La expresión "sitio interno de entrada ribosómica" o "IRES" se refiere a una secuencia que promueve funcionalmente el inicio de la traducción independientemente del gen situado 5' respecto al IRES y permite la traducción de dos cistrones (marcos de lectura abierta) a partir de un único transcrito en una célula animal. El IRES proporciona un sitio de entrada ribosómico independiente para la traducción del marco de lectura abierta inmediatamente cadena abajo del mismo (en la presente memoria se utiliza cadena abajo intercambiamente con "orientado 3' respecto a"). Al contrario que el ARNm bacteriano, que puede ser policistrónico, es decir, puede codificar varios polipéptidos diferentes que se traducen secuencialmente a partir de los ARNm, la mayor parte de los ARNm de las células animales son monocistrónicos y codifican la síntesis de únicamente una proteína. Con un transcrito policistrónico en una célula eucariótica, la traducción se iniciaría a partir de la mayoría de sitios de inicio 5' de la traducción, terminarían en el primer codón de parada y el transcrito resultaría liberado del ribosoma, resultando en la traducción de únicamente el primer polipéptido codificado en el ARNm. En una célula eucariótica, un transcrito policistrónico que presente un IRES operablemente ligado al segundo o posterior marco de lectura abierta en el transcrito permite la traducción secuencial de dicho marco de lectura abierta cadena abajo para producir los dos o más polipéptidos codificados por el mismo transcrito. La utilización de elementos IRES en la construcción de un vector ha sido descrita anteriormente; ver, por ejemplo, Pelletier J. *et al.*, Nature 334:320-325, 1988; Jang S.K. *et al.*, J. Virol. 63:1651-1660, 1989; Davies M.V. *et al.*, J. Virol. 66:1924-1932, 1992; Adam M.A. *et al.*, J. Virol. 65:4985-4990, 1991; Morgan R.A. *et al.*, Nucl. Acids Res. 20:1293-1299, 1992; Sugimoto Y. *et al.*, Biotechnology 12:694-698, 1994; Ramesh N. *et al.*, Nucl. Acids Res. 24:2697-2700, 1996; y Mosser D.D. *et al.*, Biotechniques 22:150-152, 1997).

La expresión "operablemente ligado" se refiere a una yuxtaposición de dos o más componentes, en la que los componentes descritos de esta manera se encuentran en una relación que les permite funcionar del modo deseado. Por ejemplo, un promotor y/o un intensificador se encuentran operablemente ligados a una secuencia codificante en el caso de que actúen en cis controlando o modulando la transcripción de la secuencia ligada. Generalmente, aunque no necesariamente, las secuencias de ADN que se encuentran "operablemente ligadas" son contiguas y, en el caso de que resulte necesario unir dos regiones codificantes de proteína, tales como una secuencia líder/de señal secretoria y un polipéptido, son contiguas y se encuentran en el mismo marco de lectura. Sin embargo, aunque un promotor operablemente ligado generalmente se encuentra situado cadena arriba de la secuencia codificante, no es

necesariamente contiguo a la misma.

No es necesario que los intensificadores sean contiguos. Un intensificador se encuentra operablemente ligado a una secuencia codificante en el caso de que el intensificador incremente la transcripción de la secuencia codificante. Los intensificadores operablemente ligados pueden situarse cadena arriba, en el interior o cadena abajo de secuencias codificantes y a una distancia considerable del promotor. Un sitio de poliadenilación se encuentra operablemente ligado a una secuencia codificante en el caso de que se encuentre situado en el extremo cadena abajo de la secuencia codificante de manera que la transcripción transcurra a lo largo de la secuencia codificante hasta el interior de la secuencia de poliadenilación. El ligamiento se consigue mediante métodos recombinantes conocidos de la técnica, por ejemplo utilizando metodología de PCR y/o mediante ligación en sitios de restricción convenientes. En el caso de que no existan sitios de restricción convenientes, se utilizan adaptadores oligonucleótidos sintéticos de acuerdo a la práctica convencional.

El término "expresión" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a que la transcripción y/o traducción se produce dentro de una célula huésped. El nivel de transcripción de un producto deseado en una célula huésped puede determinarse basándose en la cantidad de ARNm correspondiente que se encuentra presente en la célula. Por ejemplo, el ARNm transcrito a partir de una secuencia seleccionada puede cuantificarse mediante PCR o mediante hibridación northern (ver Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989). La proteína codificada por una secuencia seleccionada puede cuantificarse mediante diversos métodos, por ejemplo mediante ELISA sometiendo a ensayo la actividad biológica de la proteína, o mediante la utilización de ensayos que sean independientes de dicha actividad, tales como la transferencia western o el radioinmunoensayo, utilizando anticuerpos que reconocen y se unen a la proteína (ver Sambrook *et al.*, 1989, *supra*).

La expresión "célula huésped" se refiere a una célula en la que se introduce el gen codificante del polipéptido de la invención. Entre las células huésped se incluyen tanto células procarióticas utilizadas para la propagación de los plásmidos/vectores, como células eucarióticas para la expresión del gen estructural. Típicamente las células eucarióticas son células de mamífero.

Un "polipéptido" es un polímero de residuos aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos, producido natural o sintéticamente. Los polipéptidos de menos de aproximadamente 20 residuos aminoácidos pueden denominarse "péptidos". Los polipéptidos que comprenden una o más cadenas de polipéptido o que comprenden una cadena de aminoácidos de una longitud de 100 aminoácidos o más pueden denominarse "proteínas".

Una "proteína" es una macromolécula que comprende una o más cadenas de polipéptido en las que por lo menos una cadena presenta una longitud de aminoácidos de 100 aminoácidos o superior. Una proteína también puede comprender componentes no peptídicos tales como grupos carbohidrato.

La célula en la que se produce una proteína puede añadir carbohidratos y otros sustituyentes no peptídicos a la misma, y pueden variar según el tipo de célula. Las proteínas se definen en la presente memoria en términos de sus estructuras de esqueleto de aminoácidos, las adiciones tales como grupos carbohidrato generalmente no se especifican, aunque, sin embargo, pueden encontrarse presentes.

La expresión "ADN heterólogo" o "polipéptido heterólogo" se refiere a una molécula de ADN o a un polipéptido, o a una población de moléculas de ADN o a una población de polipéptidos, que no existen naturalmente dentro de una célula huésped dada. Las moléculas de ADN heterólogas respecto a una célula huésped particular pueden contener ADN derivado de la especie de células huésped (es decir del ADN endógeno), con la condición de que el ADN huésped se combine con el ADN no del huésped (es decir, el ADN exógeno). Por ejemplo, una molécula de ADN que contenga un segmento de ADN no del huésped codificante de un polipéptido operablemente ligado a un segmento de ADN huésped que comprende un promotor se considera que es una molécula de ADN heteróloga. A la inversa, una molécula de ADN heteróloga puede comprender un gen estructural endógeno operablemente ligado a un promotor exógeno.

Un péptido o polipéptido codificado por una molécula de ADN no del huésped es un péptido o polipéptido "heterólogo".

Un "vector de clonación" es una molécula de ácidos nucleicos, tal como un plásmido, cósmido, fagémido o cromosoma artificial bacteriano (BAC), que presenta la capacidad de replicarse autónomamente en una célula huésped. Los vectores de clonación típicamente contienen uno o un número reducido de sitios de reconocimiento de endonucleasa de restricción que permiten la inserción de una molécula de ácidos nucleicos de un modo determinable sin pérdida de una función biológica esencial del vector, así como de secuencias de nucleótidos codificantes de un gen de resistencia que resulte adecuado para la utilización en la identificación y selección de las células transformadas con el vector de clonación. Entre los genes de resistencia típicamente se incluyen genes que proporcionan resistencia a la tetraciclina o a la

ampicilina.

Un "plásmido de expresión" es una molécula de ácidos nucleicos codificante de una proteína que debe expresarse en una célula huésped. Típicamente, un plásmido de expresión comprende una unidad de propagación de plásmido procariótico, por ejemplo para *E. coli*, que comprende un origen de replicación y un marcador de selección, un marcador de selección eucariótico, y uno o más casetes de expresión para la expresión del gen o genes estructurales de interés que comprende un promotor, un gen estructural y un terminador de transcripción que incluye una señal de poliadenilación. La expresión del gen habitualmente se somete al control de un promotor, y este gen estructural se dice de esta manera que se encuentra "operablemente ligado" al promotor. De manera similar, un elemento regulador y un promotor nuclear se encuentran operablemente ligados en el caso de que el elemento regulador module la actividad del promotor nuclear.

Una "unidad de transcripción policistónica" es una unidad de transcripción en la que más de un gen estructural se encuentra bajo el control del mismo promotor.

Un "polipéptido aislado" es un polipéptido que se encuentra esencialmente libre de componentes celulares contaminantes, tales como carbohidratos, lípidos u otras impurezas proteicas asociadas al polipéptido en estado natural. Típicamente, una preparación de un polipéptido aislado contiene el polipéptido en una forma altamente purificada, es decir, en una pureza de por lo menos aproximadamente 80%, en una pureza de por lo menos aproximadamente 90%, en una pureza de por lo menos aproximadamente 95%, en una pureza superior a 95%, o superior a 99%. Un modo de mostrar que una preparación particular de proteína contiene un polipéptido aislado es a partir de la aparición de una única banda en la electroforesis en gel de dodecil-sulfato sódico (SDS)-poliacrilamida de la preparación de proteína y la tinción con azul brillante de Coomassie del gel. Sin embargo, el término "aislado" no excluye la presencia del mismo polipéptido en formas físicas alternativas, tales como dímeros o formas alternativamente glucosiladas o derivatizadas.

El término "inmunoglobulina" se refiere a una proteína que consiste de uno o más polipéptidos sustancialmente codificados por genes de inmunoglobulina. Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los diferentes genes de dominio (región) constante, así como la miríada de genes de región variable de inmunoglobulina. Las inmunoglobulinas pueden existir en una diversidad de formatos, incluyendo, por ejemplo, Fv, Fab y F(ab)<sub>2</sub>, así como en forma de cadenas individuales (scFv) (por ejemplo, Huston J.S. *et al.*, PNAS USA 85:5879-5883, 1988; Bird R.E. *et al.*, Science 242:423-426, 1988; en general Hood *et al.*, Immunology, Benjamin N.Y., 2a edición, 1984; y Hunkapiller T. y Hood L., Nature 323:15-16, 1986).

Una inmunoglobulina en general comprende por lo menos dos polipéptidos de cadena ligera y dos polipéptidos de cadena pesada. Cada una de los polipéptidos de las cadenas pesadas y ligeras puede contener un dominio (región) variable (generalmente la parte aminoterminal de la cadena polipeptídica) que contiene una región (dominio) de unión que puede interactuar con un antígeno. Cada una de las cadenas de polipéptido de las cadenas pesada y ligera comprende una región constante (generalmente la parte carboxilo-terminal). La región constante de la cadena pesada media en la unión del anticuerpo i) a células que portan un receptor Fc gamma (FcγR), tales como células fagocíticas, o ii) a células que portan el receptor Fc neonatal (FcRN), también conocido como receptor Brambell. También media en la unión de algunos factores, entre ellos los factores del sistema clásico del complemento, tales como el componente (Clq).

El dominio variable de una cadena ligera o pesada de inmunoglobulina a su vez comprende diferentes segmentos, es decir, cuatro regiones marco (FR) y tres regiones hipervariables (CDR).

Un "fragmento de inmunoglobulina" se refiere a un polipéptido que comprende por lo menos los dominios constantes de una cadena de una inmunoglobulina, es decir, el dominio C<sub>H1</sub>, la región bisagra, los dominios C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub> y opcionalmente C<sub>H4</sub> de una cadena pesada de una inmunoglobulina o el dominio C<sub>L</sub> de una cadena ligera de una inmunoglobulina. También se encuentran comprendidos los derivados y variantes de los mismos. Además, puede encontrarse presente un dominio variable, en el que han sido delecionados uno o más aminoácidos o regiones de aminoácidos. En una realización preferente, se ha delecionado el dominio variable en el fragmento de inmunoglobulina.

La expresión "terminador de transcripción" tal como se utiliza en la presente solicitud se refiere a una secuencia de ADN que presenta una longitud de entre 50 y 750 pares de bases que proporciona a la ARN polimerasa la señal de terminación de la síntesis de ARNm. Resultan recomendables los terminadores muy eficientes (fuertes) en el extremo 3' de un casete de expresión para evitar que la ARN polimerasa siga leyendo, particularmente al utilizar promotores fuertes. Los terminadores de transcripción ineficientes pueden conducir a la formación de un ARNm de tipo operón, que puede ser el motivo para una expresión génica no deseada, por ejemplo la codificada por un plásmido.

El término "molécula conectora" tal como se utiliza en la presente solicitud se refiere a moléculas conectoras péptidos de

origen natural o sintético. Construyen una cadena lineal de aminoácidos. La cadena presenta una longitud de entre 1 y 50 aminoácidos, preferentemente de entre 3 y 25 aminoácidos. La molécula conectora puede contener secuencias repetitivas de aminoácidos o partes de polipéptidos naturales, tales como polipéptidos con una función de bisagra.

- 5 Las "moléculas conectoras sintéticas" se diseñan para ser ricas en residuos de glicina, glutamina y serina. Estos residuos se disponen en una unidad peptídica pequeña de hasta cinco aminoácidos, tal como GGGGS, QQQQG o SSSSG. La unidad peptídica pequeña se repite dos a cinco veces, formando una unidad multimérica. En cada extremo aminoterminal y/o carboxilo-terminal de la unidad multimérica pueden añadirse hasta seis aminoácidos adicionales.
- 10 La expresión "molécula biológicamente activa" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a una molécula orgánica, por ejemplo una macromolécula biológica tal como un péptido, proteína, glucoproteína, nucleoproteína, mucoproteína, lipoproteína, polipéptido sintético o proteína, que causa un efecto biológico al administrarla a sistemas biológicos artificiales o en sistemas biológicos artificiales, tales como bioensayos, utilizando líneas celulares y virus, o *in vivo* a un animal, incluyendo, aunque sin limitación, aves y mamíferos, incluyendo el ser humano. Este efecto biológico
- 15 puede ser, aunque sin limitación, la inhibición o la activación enzimática, la unión a un receptor o a un ligando, en el sitio de unión o circunferencial, la inducción de una señal o la modulación de una señal.

Las moléculas biológicamente activas son, aunque sin limitación, por ejemplo, hormonas, citoquinas, factores de crecimiento, ligandos de receptor, agonistas o antagonistas, agentes citotóxicos, agentes antivíricos, agentes para la

20 obtención de imágenes, inhibidores enzimáticos, activadores enzimáticos o moduladores de la actividad enzimática tales como sustancias alostéricas.

El término "aminoácido" tal como se utiliza en la presente solicitud comprende alanina (código de tres letras: ala, código de una letra: A), arginina (arg, R), asparagina (asn, N), ácido aspártico (asp, D), cisteína (cys, D), glutamina (gln, Q),

25 ácido glutámico (glu, E), glicina (gly, G), histidina (his, H), isoleucina (ile, I), leucina (leu, L), lisina (lys, K), metionina (met, M), fenilalanina (phe, F), prolina (pro, P), serina (ser, S), treonina (thr, T), triptófano (trp, W), tirosina (tyr, Y) y valina (val, V).

Los métodos y técnicas conocidos por el experto en la materia, que resultan útiles para poner en práctica la presente

30 invención, se describen en, por ejemplo, Ausubel F.M., editor, Current Protocols in Molecular Biology, volúmenes I a III, 1997, Wiley and Sons; Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989.

La invención comprende un método para la producción recombinante de un polipéptido heterólogo en una célula huésped eucariótica. La célula huésped comprende un plásmido de expresión, que comprende, en dirección 5' a 3': a) un promotor, b) un ácido nucleico codificante de un primer polipéptido cuya secuencia de aminoácidos se selecciona de la

35 Tabla 1 dependiendo de los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido, c) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende un ácido nucleico codificante de un polipéptido heterólogo que presenta una actividad biológica, un ácido nucleico codificante de un péptido o polipéptido seleccionado de entre el grupo que consiste

40 de las secuencias SEC ID nº 06-10, 139, 140 y 554-557, un ácido nucleico codificante de un fragmento de inmunoglobulina, y d) una región 3' no traducida. Este plásmido de expresión se introduce en una célula huésped que se cultiva bajo condiciones adecuadas para la expresión del segundo polipéptido. El segundo polipéptido secretado se recupera del medio de cultivo.

45 El primer polipéptido es una denominada secuencia de señal. La secuencia de señal es responsable de la secreción del polipéptido unido/situado seguidamente/operablemente ligado. Para que resulte efectiva, la secuencia de señal debe ser reconocida y procesada por las proteínas y enzimas del interior de la célula que expresa el polipéptido. En el caso de una célula huésped eucariótica, la secuencia de señal preferentemente es eucariótica. Para garantizar que el segundo polipéptido según la presente invención se secreta correctamente, la secuencia de señal se selecciona de entre las

50 secuencias de señal de inmunoglobulinas humanas y murinas. En la Tabla 1 se muestra una recopilación de las secuencias de señal.

Qué secuencia de señal se selecciona depende de los aminoácidos situados a continuación. Debe asegurarse de que la peptidasa de señal, que corta la secuencia de señal después del proceso de secreción, reconoce la secuencia de señal

55 del polipéptido secretado y lo elimina. Para proporcionar una transición "natural" de secuencia de señal a polipéptido heterólogo, la secuencia de señal debe seleccionarse de manera que los primeros dos aminoácidos del polipéptido heterólogo sean idénticos a los primeros dos aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de la región FR1 de inmunoglobulina situada de manera natural a continuación.

**Tabla 1:** conjunto de los primeros dos aminoácidos (proporcionados en código de una letra) del segundo polipéptido asignado a péptidos de señal (se proporciona el primer polipéptido en código de una letra).

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
AC	MEFQTQVLMSLLLCMS	163
	MESQTQVLMFLLLVWS	164
	MVSTPQFLVFLFW1P	165
AD	MESQTLVFISILLWLY	166
AG	MSVPTQLLGLLLWLT	167
AH	MKSQTQVFIFLLLCVS	168
	MKSQTQVFVFLLLCVS	169
AI	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC	70
	MDMRVPAQLLGLLLWLSGARC	71
	MDMRVPAQLLGLLLWLPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGARC	73
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGARC	74
	MDMRVLAQLLGLLLCFPGARC	75
	MDMRVLAQLLGLLLCFPGARC	76
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC	80
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	81
	MDMRVPAQRLGLLLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGLLLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGAKC	86
	MAWISLILSLLALSS	170
	MAWTSLILSLLALCS	171
	MRCLAEFLGLLVWIP	172
AL	MGWNWIFILISVTT	173
AQ	MRFQVQLGLLLWIS	174

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MRPSIQFLGILLFWLH	175
AR	MDIRAPAQFLGILLWFP	176
	MDMMVLAQFLAFLLLWFP	177
	MDMRAPAQFLGILLWFP	178
	MDMRAPAQFLGILLWFP	179
	MDMRAPAQVFGFLLWFP	180
	MDMRASAFHGILLWFP	181
	MDMRASAFHGILLWFP	182
	MDMWTSAQFLGILLWFL	183
	MNTRAPAEFLGILLWFL	184
	MRAPAPFLGILLFCFL	185
	MRTAPFLGILLFCFS	186
	MSISTQLLGILLWLT	187
	MSLPTQLQGILLWLT	188
	MSVLTQVLALLLWLT	189
	MSVPTQLLALLLWLT	190
	MSVPTQVLGILLWLT	191
	DFHMQIFSFMISFT	192
AS	MAWTSILSLALCS	193
AT	MRCLAEFLRLVLWIP	194
CQ	MPWALLLTLLTHSAVSW	138
DA	MKLPVRLLVLMFWIPSSS	195
DI	MDMRVPAQLLGILLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGILLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGILLWLWLGARC	70
	MDMRVPAQLLGILLWLWLGARC	71
	MDMRVPAQLLGILLWLPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGILLWFPGARC	73
	MDMRVPAQLLGILLWFPGARC	74
	MDMRVLAQLLGILLLCFPGARC	75
	MDMRVLAQLLGILLLCFPGARC	76
	MDMRVPAQLLGILLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGILLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGILLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGILLWFPGSRC	80
	MDMRVPAQLLGILLWLPGARC	81
	MDMRVPAQRLGILLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGILLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGILLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGILLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGILLWLPGAKC	86
	MRLPAQLLGILLWVPGSSE	87
	MRLPAQLLGILLWVPGSSE	88
	MRLPAQLLGILLWVPGSSG	89
	MRLPAQLLGILLWVPGSSG	90
	MRLPAQLLGILLWIPGSSA	91
	MRLPAQLLGILLWIPGSSA	92

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	93
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	94
	MRLLAQLLGLLMLWVPGSSG	95
	MVLQTQVFISLLWISGAYG	103
	MDIRAPAQFLGILLWFPARC	196
	MDMMVLAQFLAFLLLWFPARC	197
	MDMRAPAQFFGILLWFPIRC	198
	MDMRAPAQFLGILLWFPARC	199
	MDMRAPAQIFGILLFQTRC	200
	MDMRAPAQVFGILLWFPARC	201
	MDMRASAQFLGILLWFP	202
	MDMRDPPQFLAFLLLWIP	203
	MDMRTPAQFLGILLWFPIKC	204
	MDMRVPAHVFGILLWFPTRC	205
	MDSQAQVLILLWVSTCG	206
	MDSQAQVLMILLWVSTCG	207
	MDSQAQVLMILLWVSTCG	208
	MDSQARVLMILLWVSTCG	209
	MEFQTQVFVFLWLSVDG	210
	MEFQTQVLSLLCMSACA	211
	MEKDTLLWVLLWVPSTG	212
	MESDTLLWVLLWVPSTG	213
	MESQIQAFVFLWLSVDG	214
	MESQIQVFVFLWLSVDG	215
	MESQNHVLMFLLWVSTCG	473
	MESQTHVLMFLLWVSTCG	474
	MESQTQVFVYMLLWLSVDG	475
	MESQTQVLISLLFWVSTCG	476
	MESQTQVLMFLLWVSACA	477
	MESQTQVLSLLFWVSTCG	478
	METDPLLWVLLWVPSTG	479
	METDTILLWVLLWVPSTG	480
	METDTLLWVLLWVPSTG	481
	METDTLLWVLLWVPSTG	482
	METHSQVFVYMLLWLSVEG	483
	MGFKMESHTQAFVFAFLWLSVDG	484
	MGVPTQLLLWLTVRC	485
	MIASAQFLGLLLCFQTRC	486
	MKFPSQLLLFLLFRITIIC	487
	MKFPSQLLLLLFGIPMIC	488
	MMSSAQFLGLLLCFQTRC	489
	MMSSAQFLGLLLCFQTRY	490
	MNMLTQLLGLLLWFAGKC	491
	MRCLAEFLGLLVWIPAIG	492
	MRCLAEFLRLLVWIPATG	493
	MRCSLQFLGVLMFWSVSG	494
	MRFSAQLLGLLVWIPSTA	495
	MRPSIQFLGLLFWLHAQC	496
	MRVLAELLGLLFCFLVRC	497

(continuación)



el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MRVLPEFLGLLLLWISVRC	498
	MSISTQLLGLLLLWLTARC	499
	MSVLTQVLALLLWLTARC	500
	MSVPTQLLALLLWLTARC	501
	MSVPTQLLGLLLLWLTAGC	502
	MSVPTQVLGLLLLWLTARC	503
	MVFTPQILGLMLFWISSTG	504
	MVFTPQILGLMLFWISSRG	505
	MVLGLKWVFFWFYQSRG	506
	MVSTSQLLGLLLLFWTSSRG	507
	PAQFLFLLVLIQSRC	508
DR	MSLLTQLQGLLLLWLT	216
DV	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE	87
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE	88
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG	89
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG	90
	MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA	91
	MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA	92
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	93
	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG	94
	MRLLAQLLGLLMLWVPGSSG	95
	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	105
	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	106
	MVSPQLFLRLLLWVPASRG	107
	LILKVQC	217
	LVLKVL	218
	MDMRASQFHGILLWFPARC	219
	MKLPVLLWLLFTSPSSS	220 ,
	MKLPVRLVLMFWIPSSS	221
	MMSPAQLFLLVLIQTNG	222
	MMSPAQLFLLVLIQTNG	223
	MMSPVHSIFILLWIVISG	224
	MMSPVQFLFLLMLIQTNG	225
	MNFGRLRIFLVLTQVQC	226
	MNLPVHLLVLLFWIPSRG	227
	MNTRAPAEFLGFLLLWFLARC	228
	MRFQVQVLGLLLWISAQC	229
	MRVLSLLYLLTAIPGILS	230
EI	METPAQLLFLLLWLPDITG	96
	METPAQLLFLLLWLPDITG	97
	MEAPAQLLFLLLWLPDITG	98
	MEAPAQLLFLLLWLPDITG	99
	MEAPAQLLFLLLWLPDITG	100
	MEAPAQLLFLLLWLTDTTG	101
	MEPWKPQHSFFLLLLWLPDITG	102
	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	105
	MLPSQLIGFLLLWVPASRG	106
	MVSPQLFLRLLLWVPASRG	107

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MDFHVQIFSFMILISVTILSSG	231
	MDFQMQUIISLLISVTIVSNG	232
	MDFQVQIFSFLISVTILTNG	233
	MbMRAPAQFLGILLWFPARC	234
	MNFHVQIFSFMILISVTIGSSG	235
	MTMLSLVLLLSFLLCSRA	236
	MVSTPQFLVFLFWIPACG	237
	TELICVFLFLLSVTAILSSG	238
EI	MDCGISLVFLVLILKVC	239
EM	MDMWVQIFSLLLLCVTSKG	240
EN	LLISVTIMSRG	241
	MDFQVQIFSFLISASIMSRG	242
	MDFQVQIFSFLISVMSRG	243
	MDFQVQIFSFLISVSIMSRG	244
	MDLQVQIISFLLIIVTIMSRG	245
ET	MGSQVHLLSFLLLWISDTRA	104
	MGEQRIRSCHATSGAESAR	246
	MGSQVHLLSFLLLWISDTRA	247
	MTMFSLALLSLLLLCVSSRA	248
	MTMLSLAPLLSLLLSRA	249
	MXTMDEHESGAVTPHQVLKSRA	250
EV	MDWTWRILFLVAAATGAHS	28
	MDWTWRILFLVAAATGAHS	29
	MDWTWRILFLVAAATSAHS	30
	MDWTWSILFLVAAPTGAHS	31
	MDCTWRILFLVAAATGTHA	32
	MDWTWRILFLVAAATDAYS	33
	MDWTWRVFCLLAVAPGAHS	34
	MDWIWRILFLVGAATGAHS	35
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	38
	MELGLSWIFLLAILKGVQC	39
	MEFGLSWVFLVAIKGVQC	40
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	41
	MEFGLSWIFLAAILKGVQC	42
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	43
	MELGLRWVFLVAILEGVQC	44
	MEFGLSWLFLVAILKGVQC	45
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	46
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	47
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	48
	MELGLCWVPLVAILEGVQC	49
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	50
	MEFWLSWVFLVAILKGVQC	51
	MTEFGLSWVFLVAIFKGVQC	52
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	53
	MEFGLSWVFLWILQGVQC	54
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	55

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MGSTAILALLAVLQGVCS	64
	MGSTAILGLLAVLQGVCA	65
	IKWSWIFLFLSGTAVHS	251
	IKWSWISLFLSGTAVHS	252
	LILKVQC	253
	VLKVQC	254
	MAVVTGKGLPSPKLEVNS	255
	MDFGLIFFIVALLKVQC	256
	MDFGLSLVFLVILKVQC	257
	MDMRASAFHGIILLWFPARC	258
	MEWELSLIFALLKDVQC	259
	MEWSCIFLFLSVTAVHS	260
	MEWSCIFLFLSVTAHS	261
	MEWSWIFLFLSGTAVLS	262
	MGWNWIFILSVTTALS	263
	MGWSCILFLVATATVHS	264
	MGWNWIFILSVTTVHS	265
	MGWSCIMFLAATATVHS	266
	MGWSWIFFFLSGTAVLS	267
	MGWSWIFLFLSGTAVLS	268
	MGWSWIFLFLSGSAVLS	269
	MGWSWIFLFLSGSAVHS	270
	MGWSWIFLFLSGTAVHS	271
	MGWSWIFLFLSGTAVLS	509
	MGWSWIFLFLSGTAVLS	510
	MGWSWIFLFLSGTAVLS	511
	MGWSWIFLFLSGTAVHS	512
	MGWSWIFLFLSGTAVLS	513
	MGWSWVFLSFLSGTAVLS	514
	MKCSWVIFFLMAWIINS	515
	MKLWLNWILLVALLNIQC	516
	MLLGLKWVFFWFYQVHC	517
	MLLGLKWVFFWFYQGVHC	518
	MMVLSLLYLLTALPGILS	519
	MNFGLSLIFLVILKVQC	520
	MLGHLLPDGSVNS	521
	MVSETHVLIFLLLVSVHC	522
	RSVPTQLLGLLLWLTVNS	523
GH	MGWSYIILFLVATAT	272
GI	IDINVQIFRFLISVTSSG	273
GK	MNMLTQLLGLLLWFA	274
GR	MRTPAHFLGLLLCFL	275
HV	MRWSCILFLVATATVHS	276
IG	MNFHVQIFSFM LISVT	277
IH	MEWSCIFLFLSVTA	278
II	MDFQVQIFQIPVKQCL	279
	MDFQVQIFSFL LISAS	280

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MKFPSQLLLFLLFRIT	281
IK	MDMRTPAQFLGILLWFP	282
IL	MAVLALLFCLVTFPS	283
	MDFHVQIFSFMISVT	284
	MDFQVQIFSFLISAS	285
	MDFQVQIFSFLISR	286
	MDFQVQIFSFLISVT	287
	TELICVFLFLSVTA	288
IM	LLISVT	289
	MDFQVQIFSFLISAS	290
	MDFQVQIFSFLISVS	291
	MDFQVQIFSFLISVS	292
	MDFQVQIFSFLMSAS	293
	MDLQVQIISFLIIVT	294
	MHFQVQIFSFLISAS	295
IN	MKCSWVIFFLMAVVI .	296
IQ	MKLWLNWILLVALLN	297
IR	MDMRAPAQFFGILLWFP	298
IS	MIYSLQLLRMLVLWIP	299
	MMSPVHSIFILLWIV	300
	MSYSLQLLRMLVLWIP	301
IT	MSYSLQLLRMLVLWIP	302
IV	MDFQMQUIISLLISVT	303
KN	MDFQVQIFQIPVKQCLIISRG	304
LM	MDFQVQIFSFLISAS	305
LP	MAWVSFYLLPFIFSTGLCA	127
	MAWTQLLLLFPLLHWTGSLS	128
	MAWTPLLFLTLLHCTGSLS	129
LR	MRPTLSFLGSCCSSLI	306
MI	MKFPSQLLLLLLFGIP	307
NF	MAW AP LLLTLAHCTGSWA	133
NI	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC	70
	MDMRVPAQLLGLLLWLSGARC	71
	MDMRVPAQLLGLLLWLPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGARC .	73
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGARC	74
	MDMRVLAQLLGLLLCFPGARC	75
	MDMRVLAQLLGLLLCFPGARC	76
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC	80

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	81
	MDMRVPAQRLGLLLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGLLLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGLLLWLPGAKC	86
	MESDTLLLVLLLVVPSTS	308
	MESQTLVFISILLWLYADG	309
	MESQTQVFLSLLWVSTCG	310
	METDTLLLVLLLVVPSTG	311
PV	MGWSCIMLFLAATATVHS	312
	MGWSCIMLFLAATATGVHS	313
QA	MD M RVP AQ LLGLLLLWLRGARC	68
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	69
	MD M RVP AQ LLGLLQLWLSGARC	70
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLSGARC	71
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPDTRC	72
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGARC	73
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGARC	74
	MD M RVL AQ LLGLLLLCFPGARC	75
	MD M RVL AQ LLGLLLLCFPGARC	76
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	77
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	78
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGSRC	79
	MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGSRC	80
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	81
	MD M RVP AQ RLGLLLLWFPGARC	82
	M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	83
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	84
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC	85
	MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGAKC	86
	MAW TP LLLLLLSHCTGSLS	130
	MAW TP LLLLFLSHCTGSLS	131
	MAW TL LLLVLLSHCTGSLS	132
	MAW TP LFLFLLTCCPGSNS	134
	MAW TP LFLFLL TCCPGSNS	135
	MAWISLILSLLALSSAIS	314
	IGWSYIILLVATATVHS	315
	MAWTSILSLLALCSASS	316
	MAWTSILSLLALCSAIS	317
	MGWSCVLLFLVSGTAVLC	318
QI	MDT LC STLLLLTIPSWVLS	36
	MDT LC YTLLLLTTPSWVLS	37
	MDFQVQIFSFLISASISIRG	319
	MDFQVQIFSFLISASILFRG	320
	MDFQVQIFSFLISASISIRG	321
	MDFQVQIFSFLISASISIRG	322
	MDFQVQIFSFLISASLMSRG	323

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MDFQVQIFSFLISRILSRG	324
	MDFQVQIFSFLISVSIMSRG .	325
	MDFQVQIFSFLMSASIMSRG	326
	MDTLCSTLLLLTIPSWVLS	327
	MGWSWIFLFLSGTAVHC	328
	MHFQVQIFSFLISASIMSRG	329
QL	MITT LW FFLLLVAAPRWVLS	56
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	57
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLP	58
	MKH LW FPLLLVAAPRWVLS	59
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	60
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	61
	MKH LWFFLLLVAAPRWVLS	62
	MKH LW FFLLLVAAPRWVLS	63
	MAW VS FYLLPFIFSTGLCA	127
	M A WTQ LL LFFLLLHWTGSLS	128
	M AWT PL LFLTLLHCTGSLS	129
	MAWTPLFFFFVLHCSSFS	330
QM	MDWTWRILFLVAAATGAHS	28
	MDWTWRILFLVAAATGAHS	29
	MDWTWRILFLVAAATSAHS	30
	MDWTWSILFLVAAPTGAHS	31
	MDCTWRILFLVAAATGTHA	32
	MDWTWRILFLVAAATDAYS	33
	MDWTWRVFCLLAVAPGAHS	34
	MDWIWRILFLVGAATGAHS	35
	MRVLGFLCLVTVLPGSLS	331
QP	MAWVSFYLLPFIFSTGLCA	127
	MAWTQLLLLFPLLLHWTGSLS	128
	MAWTPLFLTLLHCTGSLS	129
	MAWTPLLLLLSHCTGSLS	130
	MAWTPLLLLFLSHCTGSLS	131
	MAWTLLLLVLLSHCTGSLS	132
	MAWAPLLLTLLSLLTGSLS	137
	MAWTPLFFFFLHCSSFS	332
QS	MAWSPLFLTLLTHCAGSWA	108
	MAWSPLLLTLLAHCTGSWA	109
	MASFPLLLTLLTHCAGSWA	110
	MAGFPLLLTLLTHCAGSWA	111
	MTCSPLLLTLLIHCTGSWA	112
	MAWALLLTLLTQGTGSWA	113
	MAWALLLSLLTQGTGSWA	114
	MAWALLLTLLTQGTGSWA	115
	MAWALLLTLLTQGTGSWA	116
	MAWALLLTLLTQDTGSWA	117
QT	MAWTPLFLFLTCCPGSNS	134
	MAWTPLFLFLTCCPGSNS	135

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MAWMMLLLGLLAYGSGVDS	136
QV	MDWTWRILFLVAAATGAHS	28
	MDWTWRILFLVAAATGAHS	29
	MDWTWRILFLVAAATSAHS	30
	MDWTWSILFLVAAPTGAHS	31
	MDCTWRILFLVAAATGTHA	32
	MDWTWRILFLVAAATDAYS	33
	MDWTWRVFCLLAVAPGAHS	34
	MDWIWRILFLVGAATGAHS	35
	MDTLCSTLLLLTIPSWVLS	36
	MDTLCYTLLLLTTPSWVLS	37
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	38
	MELGLSWIFLLAILKGVQC	39
	MEFGLSWVFLVAIIKGVQC	40
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	41
	MEFGLSWIFLAAILKGVQC	42
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	43
	MELGLRWVFLVAILEGVQC	44
	MEFGLSWLFLVAILKGVQC	45
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	46
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	47
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	48
	MELGLCWVFLVAILEGVQC	49
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	50
	MEFWLSWVFLVAILKGVQC	51
	MTEFGLSWVFLVAIFKGVQC	52
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	53
	MEFGLSWVFLVILQGVQC	54
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	55
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	56
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	57
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLP	58
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	59
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	60
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	61
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	62
	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS	63
	MSVSFLIFLPVLGLPWGVLS	66
	MDWTWRILFLVAAATGAHS	67
	IFLFLLSITAVHC	333
	KGGSCVSLFLVATANVHF	334
	MAVLALLFCLVTFPSILS	335
	MAVLGLLFCLVTFPSVLS	336
	MAVLGLLLCLVTFPSVLS	337
	MAWSWVFLFFLSVTTVHS	338
	MDWIWIMLHLLAATGIQS	339
	MECSWVFLFLLSLTAVHC	340
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	341

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MEWLXXFLLFLSLTAVHC	342
	MEWSGVFIFLLSVTAVHS	343
	MEWSGVFIFLLSVTAVYS	524
	MEWSRVFIFLLSVTAVHS	525
	MEWSWVFLFFLSVTTVHS	526
	MEWSWVFLFLLSLTSVHS	527
	MGRLTFSFLLLLPVPVLS	528
	MGWSCIIFFLVATATVHF	529
	MGWSCIIFLVAAANVHS	530
	MGWSCIIFLVAAATVHS	531
	MGWSCIIFLVATATVHS	532
	MGWSCIIFLVATATVHS	533
	MGWSCIIFLVSTATVHS	534
	MGWSCIIILVAAATVHS	535
	MGWSCIIILVAAATVHS	536
	MGWSCIIILVAAATVQF	537
	MGWSCIMFLAARATVHS	538
	MGWSCIMFLAATATVHF	539
	MGWSCIMFLAATATVHF	540
	MGWSCIMFLAATATVHS	541
	MGWSCIMFLAATATVHS	542
	MGWSCIMFLAATATVHS	543
	MGWSFLPLFLAATATGVHS	544
	MGWSRIFLFLLSITAVHC	545
	MGWSSIILFLVATATVHS	546
	MGWSWIFPFLSGTAVHC	547
	MGWSYIIFFLVATATVHF	548
	MGWSYIIFFLVATATVHS	549
	MGWSYIILFLVATATGHS	550
	MGWSYIILFLVATATVHS	551
	MGWSYIILFLVATATVNS	552
	MRWSCIIILFLVATATVHS	553
SA	METPASFLCLLLLWTT	344
SF	MAWTPLFFFLLHCS	345
	MAWTPLFFFVLHCS	346
SI	MKSQTQVFIFLLLCVSAHG	347
	MKSQTQVFVFLLLCVSAHG	348
SK	MDMWVQIFSLLLICVT	349
SR	MXTMDEHESGAVTPHQVLK	350
	MGEQRIRSGHATSGAE	351
	MNLPVHLLVLLFWIP	352
	MTMFSLALLLSLLLCVS	353
	MTMLSLAPLLSLLL	354
	MTMLSLVLLSFLLC	355
	MVFTPQILGLMLFWIS	356
	MVLGLKWVFFVVFYQ	357
	MVSTSQLGLLLFWTS	358

(continuación)



el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	PAQFLFLVLWVQ	359
SS	MAWIPLFLGVLAYCTGSVA	118
	MAWTALLSLLAHFTGSVA	119
	MAWTPLLLPLLTCTVSEA	120
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	121
	MAWTPWLTLTLCTGSVV	122
	MAWTVLLGLLSHCTGSVT	123
	MAWATLLPLLNLYTGSIA	124
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	125
	MAWIPLLLPLLTCTVSA	126
	IDINVQIFRLLISVT	360
	MKLPVLLWLLFTSP	361
	MKLPVRLVLMFWIP	362
	MKLPVRLVLMFWIP	363
ST	MEKDTLLWVLLWVP	364
	MESDTLLWVLLWVP	365
	MESDTLLWVLLWVP	366
	METDPLLWVLLWVP	367
	METDTLLWVLLWVP	368
	METDTLLWVLLWVP	369
	METDTLLWVLLWVP	370
	METDTLLWVLLWVP	371
	MRFSAQLGLLVWIP	372
	MVFTPQILGLMLFWIS	373
SY	MAWIPLFLGVLAYCTGSVA	118
	MAWTALLSLLAHFTGSVA	119
	MAWTPLLLPLLTCTVSEA	120
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	121
	MAWTPWLTLTLCTGSVV	122
	MAWTVLLGLLSHCTGSVT	123
	MAWATLLPLLNLYTGSIA	124
	MAWIPLLLPLLTCTGSEA	125
	MAWIPLLLPLLTCTVSA	126
TC	MDSQAQVLILLWVS	374
	MDSQAQVLMLLLSVS	375
	MDSQAQVLMLLWVS	376
	MDSQARVLMLLWVS	377
	MESQNHVLMFLLWVS	378
	MESQTHVLMFLLWVS	379
	MESQTQVFLSLLWVS	380
	MESQTQVLISLLFWVS	381
	MESQTQVLSLLFWVS	382
TG .	METPASFLCLLLWTTSAV	383
TN	QHGHEGLCSVSWVPVA	384
	MMSPAQFLFLVLWVQ	385
	MMSPAQFLFLVLWIR	386
	MMSPVQFLFLMLWVQ	387

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
TR	MIASAQFLGLLLLCFQ	388
	MMSSAQFLGLLLLCFQ	389
	MMSSAQFLGLLLLCFQ	390
	MDMRAPAQIFGFLLLFQ	391
	MDMRVPAHVFGFLLLWFP	392
VC	MDCGISLVFLVLILK	393
VD	MEFQTQVFVFLWLS	394
	MESQIQAFVFLWLS	395
	MESQIQVFVFLWLS	396
	MESQTQVFVYMLLWLS	397
	MGFKMESHTQAFVFAFLWLS	398
VE	METHSQVFYMLLWLS	399
VH	MEWLXXFLFLSLTA	400
	MEWSCIFLFLSVTA	401
	MEWSGVFIFLLSVTA	402
	MEWSRVFIFLLSVTA	403
	MEWSWVFLFLLSVTT	404
	MEWSWVFLFLLSLTS	405
	MGWNWIFILSVTT	406
	MGWSCIIFFLVATAT	407
	MGWSCIIFLVAAAN	408
	MGWSCIIFLVAAAT	409
	MGWSCIIFLVATAT	410
	MGWSCIIFLVATAT	411
	MGWSCIIFLVATAT	412
	MGWSCIIFLVSTAT	413
	MGWSCIIILVAAAT	414
	MGWSCIIILVAAAT	415
	MGWSCIMLFLAARAT	416
	MGWSCIMLFLAATAT	417
	MGWSCIMLFLAATAT	418
	MGWSCIMLFLAATAT	419
	MGWSCIMLFLAATAT	420
	MGWSCIMLFLAATAT	421
	MGWSCIMLFLAATAT	422
	MGWSCIMLFLAATAT	423
	MGWSRIFLFLSITA	424
	MGWSSIILFLVATAT	425
	MGWSWIFLFLSGSA	426
	MGWSWIFLFLSGTA	427
	MGWSWIFLFLSGTA	428
	MGWSWIFLFLSGTA	429
	MGWSWIFPFLSGTA	430
	MGWSYIIFLVATAT	431
	MGWSYIIFLVATAT	432
	MGWSYIILFLVATAT	433
	MGWSYIILFLVATAT	434

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MGWSYIILFLVATAT	435
	MLLGLKWVFFWFYQ	436
	MRWSCIIILFLVATAT	437
	MRWSCIIILFLVATAT	438
	MVSETHVLIFLLWVS	439
	IFLFLLSITA	440
	IGWSYIILLLVATAT	441
	IKWSWIFLFLLSGTA	442 .
	IKWSWISLFLLSGTA	443
	KGGSCVSLFLVATAN	444
	MAWSWVFLFLLSVTT	445
	MECSWVFLFLLSLTA	446
VI	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC	68
	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC	69
	MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC	70
	MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARC	71
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC	72
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	73
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	74
	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC	75
	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC	76
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	77
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	78
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	79
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	80
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	81
	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	82
	MRVPAQLLGLLLLWLPGARC	83
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	84
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC	85
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC	86
	MIYSLQLLRMLVLWIPISK	447
	MSYSLQLLRMLVLWIPISK	448
	MSYSLQLLRMLVLWIPITK	449
VL	LVLK	450
	MAVLGLLFCLVTFPS	451
	MAVLGLLLCVTFPS	452
	MDRLTSSFLLIIVPA	453
	MEWSWIFLFLLSGTA	454
	MGRLTFSFLLLPVPA	455
	MGWSCVLLFLVSGTA	456
	MGWSWIFFLFLSGTA	457
	MGWSWIFLFFLSGTA	458
	MGWSWIFLFLLSGSA	459
	MGWSWIFLFLLSGTA	460
	MGWSWIFLFLLSGTA	461 .
	MGWSWIFLFLLSGTA	462
	MGWSWIFLFLLSGTA	463

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MGWSWVFLSFLSGTA	464
VM	MDFQVQIFSFLISIS	465
VN	MAVVTGKGLPSPKLE MGWSYIILFLVATAT MQLGHLLPDGS RSVPTQLLGLLLLWLT	466 467 468 469
VQ	LILK LVLK MDFGLIFFIVALLK MDFGLSLVFLVLILK MGWSCIIILVAAAT MNFGRLRIFLVLTLK MNFGLSLIFLVLILK	470 471 141 02 05 20 21
VR	MGVPTQLLLLWLT MRVLAELGLLLFCFL MRVLPEFLGLLLLWIS	22 23 24
VS	MRCSLQFLGVLMFWIS REWSWNFLFLLSGTT	25 26
VY	MEWSGVFIFLLSVTA	27
en el caso de que los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido no se encuentre listado en la presente tabla, pueden utilizarse estos primeros polipéptidos	ELWVLMVWVP ELWVLMVWVPSTS HDHALTSSSPQPSSPLCL LAVITSNIWFPMVCMS MDMWTSQAFLGILLWFLARC MDRLTSSFLLIIPAVLS MLRAIKAAPFSRFGCS MRAPAPFLGLLFCFLARC MRCSPHFLELLVFWIL MRPTLSFLGCCSSILIRC MRTPAHFLGLLLCFLGRC MRTPAPFLGLLFCFSARC MSLLTQLQGLLLLWLTDRC MSLPTQLQGLLLLWLTARC MTMLSLAPLLSLLLCVS MTSLSQLLGMLMLQSL MVFAPQILGFLLWIS MVFTPHILGLLFWIS QHGHEGLCSVSWVPVATNS REWSWNFLFLLSGTTVSS TDFHMQIFSFLISFTARC	142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162

En el caso de que el dipéptido de los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido no se encuentren explícitamente listados en la Tabla 1, y no se pretenda utilizar ninguna de las secuencias listadas en la última fila de la Tabla 1, resulta beneficioso no enlazar directamente entre sí el primer polipéptido y el segundo polipéptido. En este caso resulta favorable insertar una secuencia corta de hasta cinco aminoácidos para que resulte similar al inicio de la secuencia de la región FR1 de inmunoglobulina que seguiría/podría seguir naturalmente al primer polipéptido. Esta secuencia puede ser un solo aminoácido o un dipéptido, el dipéptido QIWNN (SEC ID nº 472) o un fragmento del mismo para que resulte similar a los primeros dos aminoácidos de la región FR1 de inmunoglobulina que sigue naturalmente.

En una realización, esta secuencia es el péptido QIWNN (SEC ID nº 472) o una fracción N-terminal de la misma que

comprende por lo menos el dipéptido QI.

Tras el primer polipéptido, u opcionalmente tras la secuencia corta insertada, el segundo polipéptido comprende un polipéptido heterólogo. Este polipéptido heterólogo presenta una secuencia de aminoácidos de entre 5 y 500 residuos aminoácidos. En una primera realización de la invención, la secuencia de aminoácidos es de entre 10 y 350 residuos aminoácidos, y en una realización más preferente es de entre 15 y 150 residuos aminoácidos. El polipéptido heterólogo conjugado con la inmunoglobulina se selecciona de entre el grupo que comprende moléculas biológicamente activas. Estas moléculas muestran un efecto biológico al administrarlas en un sistema biológico artificial o en una célula viva, tal como en un sistema de ensayo, o en organismos vivos tales como aves o mamíferos, incluyendo el ser humano. Estos compuestos biológicamente activos comprenden, aunque sin limitación, agonistas así como antagonistas de receptores; inhibidores, así como activadores de enzimas, y similares, y también péptidos, polipéptidos y proteínas que muestran actividad citotóxica, antivírica, antibacteriana o anticáncer, así como antígenos. El efecto biológico puede ser, aunque sin limitación, la inhibición enzimática, la unión a un receptor, tanto en el sitio de unión como circunferencial, y la inducción de señales. Estos compuestos biológicamente activos resultan útiles, por ejemplo, para aplicaciones farmacéuticas, terapéuticas o diagnósticas.

El segundo polipéptido comprende adicionalmente después del polipéptido heterólogo una molécula conectora. Las moléculas conectoras que preferentemente pueden utilizarse con la presente invención se listan en la Tabla 2.

Tabla 2: posibles moléculas conectoras

Molécula conectora nº	Secuencia de aminoácidos de la molécula conectora	SEC ID nº
1	[Ser(Gly) <sub>4</sub> ] <sub>3</sub>	06
2	[Ser(Gly) <sub>4</sub> ] <sub>5</sub>	07
3	[Gly(Gln) <sub>4</sub> ] <sub>3</sub>	08
4	Gly(Ser) <sub>15</sub> Gly	09
5	GST	10
6	[(Gly) <sub>4</sub> Ser] <sub>3</sub> -Gly-Ala-Ser	139
7	Gly(Ser) <sub>15</sub> Gly-Ala-Ser	140
8	[(Gly) <sub>4</sub> Ser] <sub>3</sub> -Gly	554
9	[(Gly) <sub>4</sub> Ser] <sub>5</sub> -Gly	555
10	[(Gly) <sub>4</sub> Ser] <sub>3</sub> -Gly <sub>2</sub>	556
11	[(Gly) <sub>4</sub> Ser] <sub>5</sub> -Gly <sub>2</sub>	557

Tras la molécula conectora sigue un fragmento de inmunoglobulina a modo de parte carboxi-terminal del segundo polipéptido.

El segundo polipéptido comprende un polipéptido heterólogo seguido de una molécula conectora y seguido de un fragmento de inmunoglobulina a modo de parte carboxi-terminal, es decir, el ácido nucleico codificante del segundo polipéptido comprende, en dirección 5' a 3', ácidos nucleicos codificantes de un polipéptido heterólogo, una molécula conectora y un fragmento de inmunoglobulina.

Las moléculas de inmunoglobulina se asignan a cinco clases diferentes: IgA (inmunoglobulina A), IgD, IgE, IgG e IgM. De éstas, la IgG y la IgE se utilizan más frecuentemente en aplicaciones farmacéuticas y diagnósticas. Dentro de estas clases, las inmunoglobulinas difieren en su estructura global aunque los bloques constructivos son similares. Todas las inmunoglobulinas están construidas con dos cadenas polipeptídicas diferentes, una cadena ligera y una cadena pesada.

Un fragmento de inmunoglobulina comprende el dominio o dominios constantes carboxi-terminales de una cadena ligera o pesada de inmunoglobulina, por ejemplo comprende por lo menos el dominio C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub>, C<sub>H3</sub> y la región bisagra de una cadena pesada de inmunoglobulina y opcionalmente un dominio C<sub>H4</sub>, o el dominio C<sub>L</sub> de una cadena ligera de inmunoglobulina. La inmunoglobulina de la que se deriva el fragmento puede ser una inmunoglobulina natural o sintética. En una realización de la invención, el fragmento de inmunoglobulina contiene además un fragmento de un dominio variable de cadena pesada o ligera o de una variante del mismo. En el fragmento de dominio variable se han delecionado uno o más aminoácidos o regiones. En una realización se han delecionado entre uno y seis aminoácidos del dominio variable. En otra realización se han delecionado entre una y seis regiones del dominio variable. En una realización adicional se ha delecionado el dominio variable. La presencia de un dominio variable funcional, es decir, que reconoce antígenos, en el fragmento de inmunoglobulina, no resulta esencial para la presente invención. Una inmunoglobulina no funcionable según la invención es una inmunoglobulina que no presenta un dominio variable que reconoce antígenos. En una realización, el fragmento de inmunoglobulina no es una inmunoglobulina funcionable. En

una realización, los dominios variable y constante comprendidos en el fragmento de inmunoglobulina son/se derivan del mismo anticuerpo, es decir, pertenecen al mismo anticuerpo.

Las diferentes secuencias de ácidos nucleicos se ligaron operablemente en un plásmido de expresión. Para la expresión, se introdujo el plásmido en una célula huésped. Se produjeron preferentemente proteínas en células de mamífero tales como células CHO, NS0, Sp2/0, COS, HEK, K562, BHK, PER.C6 y similares.

Los ejemplos siguientes, listado de secuencias y figuras se proporcionan con el fin de ayudar a la comprensión de la presente invención, el alcance real de la cual se proporciona en las reivindicaciones adjuntas.

#### **Descripción de las figuras**

- Figura 1 Estructura común de las inmunoglobulinas de la clase IgG.
- Figura 2 Mapa plasmídico del vector de expresión 4848 de cadena pesada  $\gamma 1$  anti-IGF-1R.
- Figura 3 Mapa plasmídico del vector de expresión 4802 de cadena ligera  $\kappa$  anti-IGF-1R.
- Figura 4 Mapa plasmídico del vector génico 4962 de la región constante de la cadena pesada  $\gamma 1$ .
- Figura 5 Mapa plasmídico del vector de expresión 4964 modificado de la cadena ligera  $\kappa$  anti-IGF-1R.
- Figura 6 Mapa plasmídico del vector de expresión 4963 modificado de la cadena ligera anti-IGF-1R.
- Figura 7 Geles SDS-PAGE teñidos con azul de Coomassie de conjugados de inmunoglobulinas purificados por afinidad; la disposición de las muestras se indica en la Tabla 6.
- Figura 8 Inmunodetección de la cadena ligera en sobrenadantes de cultivo celular tras la expresión transitoria en células HEK293 EBNA; disposición de las muestras según la Tabla 6.
- Figura 9 Inmunodetección de la cadena pesada en sobrenadantes de cultivo celular tras la expresión transitoria en células HEK293 EBNA; disposición de las muestras según la Tabla 6.

#### **Ejemplos**

#### **Materiales y métodos**

La información general referente a las secuencias de nucleótidos de las cadenas ligeras y pesadas de inmunoglobulinas humanas se proporciona en Kabat E.A. *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, quinta edición, publicación de la NIH nº 91-3242, 1991.

Los aminoácidos de las cadenas de anticuerpos se numeran según el sistema EU (Edelman G.M. *et al.*, PNAS 63:78-85, 1969; Kabat E.A. *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, quinta edición, publicación de la NIH nº 91-3242, 1991).

#### **Técnicas de ADN recombinante**

Se utilizaron métodos estándares para manipular el ADN, tales como los descritos en Sambrook J. *et al.*, Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Los reactivos biológicos moleculares se utilizaron siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### **Determinación de proteínas**

Se determinó la concentración de proteínas a partir de la densidad óptica (DO) a 280 nm, utilizando el coeficiente de extinción molar calculado a partir de la secuencia de aminoácidos.

#### **Determinación de la secuencia del ADN**

Las secuencias de ADN se determinaron mediante secuenciación de doble cadena, que se llevó a cabo en MediGenomix GmbH (Martinsried, Alemania).

#### **Análisis de secuencias de ADN y de proteínas y gestión de los datos de secuencias**

Se utilizaron el paquete informático versión 10.2 del GCG (Genetics Computer Group, Madison, Wisconsin) y Vector NTI Advance suite versión 8.0 de Infomax para la creación, mapaje, análisis, anotación e ilustración de las secuencias.

## Síntesis génica

Los segmentos génicos deseados fueron preparados por Medigenomix GmbH (Martinsried, Alemania) a partir de oligonucleótidos contruados mediante síntesis química. Los segmentos génicos de entre 100 y 600 pb que se encontraban flanqueados por sitios individuales de corte de endonucleasa de restricción se ensamblaron mediante hibridación y ligación de oligonucleótidos, incluyendo la amplificación por PCR, y posteriormente se clonaron en el vector de clonación pCR2.1-TOPO-TA (Invitrogen Corp., USA) utilizando extremos protuberantes de A. La secuencia de ADN de los fragmentos génicos subclonados se confirmó mediante secuenciación del ADN.

## Purificación por afinidad de conjugados de inmunoglobulinas

Los conjugados de inmunoglobulinas expresados y secretados se purificaron mediante cromatografía de afinidad utilizando proteína A-Sepharose™ CL-4B (GE Healthcare, antes Amersham Bioscience, Suecia) según métodos conocidos. Brevemente, tras la centrifugación (10.000 g durante 10 minutos) y la filtración a través de un filtro de 0,45 µm, los sobrenadantes de cultivo clarificados que contenían el conjugado de inmunoglobulinas se aplicaron a una columna de proteína A-Sepharose™ CL-4B equilibrada con tampón PBS (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 mM, NaCl 137 mM y KCl 2,7 mM, pH 7,4). Las proteínas no adsorbidas se lavaron con tampón de equilibrado PBS y tampón citrato 0,1 M, pH 5,5. Los conjugados de inmunoglobulinas se eluyeron con tampón citrato 0,1 M, pH 3,0, y las fracciones que contenían conjugado de inmunoglobulinas se neutralizaron con base Tris 1 M. A continuación, los conjugados de inmunoglobulinas se dializaron intensivamente frente a tampón PBS a 4°C, se concentraron con un dispositivo de filtración centrífuga Ultrafree dotado de una membrana Biomax-SK (Millipore Corp., USA) y se almacenaron en un baño de agua helada a 0°C.

## Ejemplo 1

### Preparación de los plásmidos de expresión

Los segmentos génicos codificantes de dominio variable de cadena ligera (V<sub>L</sub>) de anticuerpo del receptor de factor I de crecimiento (IGF-1R) y el dominio (región) constante de cadena ligera kappa humana (C<sub>L</sub>) se unieron, al igual que los segmentos génicos para el dominio (región) variable de cadena pesada (V<sub>H</sub>) anti-IGF-1R y la región constante de cadena pesada gamma 1 humana (C<sub>H</sub>1-bisagra-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3).

### a) Vector 4818

El vector 4818 es el plásmido de expresión para la expresión transitoria de la cadena pesada del anticuerpo anti-IGF-1R (también denominado anti-IGF-1R en lo sucesivo) (casete de expresión organizado genómicamente; organización exón-intrón) en células HEK293 EBNA (para las secuencias, ver la patente US nº 2005/0008642). Comprendía los elementos funcionales siguientes:

Además del casete de expresión de cadena pesada γ1 anti-IGF-1R, dicho vector contenía:

- un gen de resistencia a la higromicina a modo de marcador seleccionable,
- un origen de replicación, oriP, del virus de Epstein-Barr (EBV),
- un origen de replicación procedente del vector pUC18 que permitía la replicación de este plásmido en *E. coli*, y
- un gen beta-lactamasa que proporcionaba resistencia a la ampicilina en *E. coli*.

La unidad de transcripción del gen de la cadena pesada gamma-1 anti-IGF-1R estaba compuesta de los elementos siguientes:

- el intensificador y promotor tempranos inmediatos del citomegalovirus humano (HCMV),
- una región 5' no traducida sintética (UT),
- una secuencia de señal de la cadena pesada de inmunoglobulina murina que incluía un intrón de secuencia de señal (secuencia de señal 1, intrón, secuencia de señal 2 [L1-intrón-L2]),
- el segmento codificante de la cadena pesada variable anti-IGF-1R clonada, dispuesta con un sitio de restricción BsmI único en el extremo 5' (secuencia de señal L2) y un sitio donador de corte y empalme y un sitio de restricción NotI único en el extremo 3',
- un intrón 2 híbrido de cadenas pesadas de ratón/humana que incluía el elemento intensificador de cadena pesada de ratón (parte JH<sub>3</sub>, JH<sub>4</sub>) (Neuberger M.S., EMBO J. 2:1373-1378, 1983),
- la región constante genómica del gen de cadena pesada γ1 humana,
- la secuencia de señal de poliadenilación ("poli-A") de la inmunoglobulina γ1 humana, y

- los sitios de restricción únicos *Ascl* y *Sqr**AI* en los extremos 5' y 3', respectivamente.

El mapa plasmídico del vector de expresión 4818 de la cadena pesada v1 anti-IGF-1R se muestra en la figura 2.

5     **b) Vector 4802**

El vector 4802 es el plásmido de expresión para la expresión transitoria de la cadena ligera del anticuerpo anti-IGF-1R (ADNc) en célula HEK293 EBNA. Comprendía los elementos funcionales siguientes.

10 Además del casete de expresión de la cadena ligera kappa anti-IGF-1R, dicho vector contenía:

- un gen de resistencia a la higromicina a modo de marcador seleccionable,
- un origen de replicación, oriP, del virus de Epstein-Barr (EBV),
- un origen de replicación procedente del vector pUC18 que permitía la replicación de este plásmido en *E. coli*, y
- un gen beta-lactamasa que proporcionaba resistencia a la ampicilina en *E. coli*.

La unidad de transcripción del gen de la cadena ligera  $\kappa$  anti-IGF-1R estaba compuesta de los elementos siguientes:

- el intensificador y promotor tempranos inmediatos del citomegalovirus humano (HCMV),
- el ADNc de la cadena ligera anti-IGF-1R clonada, que incluía:
  - el extremo 5'-UT nativo y
  - la secuencia de señal de cadena ligera nativa del gen de línea germinal de inmunoglobulina humana dispuesto con un sitio de restricción BglII único en el extremo 5',
  - la región constante del gen de la cadena ligera  $\kappa$  humana,
  - la inmunoglobulina  $\kappa$  humana-secuencia de señal de poliadenilación ("poli-A"), y
  - los sitios de restricción únicos AclI y FseI en los extremos 5' y 3', respectivamente.

El mapa plasmídico del vector de expresión 4802 de la cadena ligera  $\kappa$  anti-IGF-1R se muestra en la figura 3.

30 **c) Plásmido 4962**

El vector 4962 sirvió como estructura básica para el ensamblado de los plásmidos de expresión 4965, 4966 y 4967. Estos plásmidos permitieron la expresión transitoria de las cadenas pesadas de anticuerpo modificadas (conjugación N-terminal sin dominio variable, organización de ADNc) en células HEK293 EBNA. El plásmido 4962 comprendía los elementos funcionales siguientes.

Además del casete de expresión para la región constante de la cadena pesada gamma1, dicho vector contenía:

- un gen de resistencia a la higromicina a modo de marcador seleccionable,
- un origen de replicación, oriP, del virus de Epstein-Barr (EBV),
- un origen de replicación procedente del vector pUC18 que permitía la replicación de este plásmido en *E. coli*, y
- un gen beta-lactamasa que proporcionaba resistencia a la ampicilina en *E. coli*.

La unidad de transcripción del gen de región constante de la cadena pesada  $\gamma 1$  (C<sub>H</sub>1-bisagra-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3) estaba compuesta de los elementos siguientes:

- el intensificador y el promotor tempranos inmediatos del citomegalovirus humano (HCMV),
- una molécula conectora sintética (SEC ID nº 1) que comprendía un sitio de restricción BglII único en el extremo 5' y un sitio de restricción NheI único en el extremo 3' (sitio NheI en el extremo N-terminal C<sub>H</sub>1).

promotor del HCMV                      AlaSer (CH1)

...agatcttttgccaccgtagc...

BglIII                      NheI

- los dominios constantes del gen de la cadena pesada  $\gamma 1$  humana (C<sub>H</sub>1-bisagra-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3, organización del ADNc),
- la inmunoglobulina  $\gamma 1$ -secuencia de señal de poliadenilación ("poli-A"), y
- los sitios de restricción únicos *Ascl* y *FseI* en los extremos 5' y 3', respectivamente.



El mapa plasmídico del vector génico 4962 de los dominios/regiones constantes de la cadena pesada  $\gamma 1$  se muestra en la figura 4.

#### 5 d) Plásmido 4964

El vector 4964 sirvió como estructura básica para el ensamblado de los plásmidos de expresión 4976 y 4977. Estos plásmidos permitieron la expresión transitoria de las cadenas ligeras del anticuerpo anti-IGF-1R modificado (conjugación N-terminal) en células HEK293 EBNA.

10

El plásmido 4964 es una variante del plásmido de expresión 4802.

La unidad de transcripción del gen de la cadena ligera  $\kappa$  anti-IGF-1R se modificó tal como se indica a continuación.

15

La secuencia de señal de la cadena ligera nativa se substituyó por un segmento conector sintético dispuesto con un sitio de restricción BglII único en el extremo 5' y un sitio de restricción NheI único en el extremo 3' directamente unido al dominio (región) variable VL de IGF-1R (SEC ID nº 3).

```

                                I- VL-1R18
...agatctatatatatatatatgctagcgaaattgtgttgaca...
                                AlaSerGluIleValLeuThr...
                                BglII      NheI

```

20

El mapa plasmídico del vector de expresión 4964 modificado de la cadena ligera  $\kappa$  anti-IGF-1R se muestra en la figura 5.

#### e) Plásmido 4969

25

El plásmido de expresión 4969 se derivó del plásmido 4802, que es un plásmido de expresión de la cadena ligera del anticuerpo anti-IGF-1R. El plásmido codifica un fragmento modificado de cadena ligera de anticuerpo (conjugación N-terminal sin dominio variable; polipéptido-molécula conectora-región constante de la cadena kappa).

Para la construcción del plásmido 4969, se introdujo un sitio de restricción BglII único en el extremo 3' del promotor de CMV y se introdujo un sitio de restricción BbsI único en el interior de la región constante de la cadena ligera del anticuerpo anti-IGF-1R (SEC ID nº 4).

30

```

                                I-- C-kappa      BbsI
cgaactgtggctgcaccatctgtcttcattcttc...
                                ArgThrValAlaAlaProSerValPheIlePhe...

```

#### f) Plásmido 4963

35

Este plásmido permite la expresión transitoria de las cadenas ligeras del anticuerpo anti-IGF-1R en células HEK293 EBNA.

El plásmido 4963 es una variante del plásmido de expresión 4802.

40

La unidad de transcripción del gen de la cadena ligera  $\kappa$  anti-IGF-1R se modificó tal como se indica a continuación:

- la región del gen constante de la cadena ligera  $\kappa$  humana se modificó ligeramente en la región de unión de dominio constante de kappa-Ig kappa-pA (inserción de sitios de restricción únicos HindIII y KsI, SEC ID nº 558).

```

...C-kappa                                Ig-kappa-pA
...AaaagcttcaacaggggagagtgtTGAagggagagggcgcccca
...LysSerPheAsnArgGlyGluCys
                                HindIII      KsI

```

45

El mapa plasmídico del vector de expresión 4963 modificado de la cadena ligera anti-IGF-1R se muestra en la figura 6.

### Ejemplo 2

## Preparación de los plásmidos de expresión finales

- 5 Los genes de fusión de inmunoglobulinas (cadenas pesada y ligera) que comprendían el segmento génico de inmunoglobulina, el segmento génico conector, y el segmento génico del polipéptido se ensamblaron mediante métodos y técnicas de recombinación conocidos mediante la conexión de los segmentos génicos (ácidos nucleicos) correspondientes.
- 10 Las secuencias de ácidos nucleicos codificantes de cada uno de los péptidos y polipéptidos conectores se sintetizaron mediante síntesis química y después se ligaron en un plásmido de *E. coli*. Las secuencias de ácidos nucleicos subclonadas se verificaron mediante secuenciación del ADN.

15 Las cadenas de polipéptido de inmunoglobulina utilizadas, el fragmento de inmunoglobulina, la localización de la conjugación (N-terminal) de polipéptidos, el conector utilizado y el polipéptido utilizado se indican en las Tablas 2 (página 25), 3 y 3a.

**Tabla 3:** proteínas y polipéptidos utilizados; la secuencia de aminoácidos y la numeración de las posiciones son iguales en la cepa de referencia BH8 (locus HIVH3BH8; aislado de VIH-1 LAI/IIIB clon BH8 de France; Ratner L. *et al.*, Nature 313:277-384, 1985).

Proteínas y polipéptidos	SEC ID nº
gp41 de VIH-1 (posiciones 507-851 de gp160 BH8)	11
T-651 (ver, por ejemplo, la patente US nº 6.656.906)	12
VIH-1 ectodominio variante mutante individual de gp41: I568P	13
VIH-1 ectodominio variante mutante cuádruple de gp41: I568P, L550E, L566E, I580E	14

**Tabla 3a:** segmentos génicos preparados químicamente, utilizados para la construcción de genes de conjugado de inmunoglobulinas

Inserción	SEC ID nº
Inserción 4964 (introducción de sitios de restricción únicos)	15
Inserción 4965 (con T-651) que comprendía la secuencia de señal (MDTLCSTLLLLTIPSWVLS), la secuencia corta insertada (QIWNN), el polipéptido heterólogo (MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL), el conector (GGGGSGGGGSGGGGSG)	16
Inserción 4966 (con T-651) que comprendía la secuencia de señal (MDTLCSTLLLLTIPSVWLS), la secuencia corta insertada (QIWNN), el polipéptido heterólogo (MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL), el conector (GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG)	17
Inserción 4967 (con T-651) que comprendía la secuencia de señal (MDTLCSTLLLLTIPSWVLS), la secuencia corta insertada (QIWNN), el polipéptido heterólogo (MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL), el conector (GSSSSSSSSSSSSSG)	18
Inserción 4969 (mutante individual de gp41) que comprendía el péptido de señal (MEFGLSWVFLVALLRGVQC), la secuencia corta insertada (Q), el polipéptido heterólogo (VQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEGQQHLLQLTVWGPKQLQARIL AVERYLKDQQLGIWGC SGKLICTTAVPWNASWSNKSLEQIVNN MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL), conector (GGGGSGGGGSGGGGSG)	19

Los componentes utilizados para la construcción de los plásmidos de expresión finales para la expresión transitoria de las cadenas ligera y pesada del polipéptido de inmunoglobulina modificado (los casetes de expresión) se indican en la Tabla 4 con respecto al plásmido base utilizado, y la secuencia de ácidos nucleicos insertada codificante de los polipéptidos de inmunoglobulinas conjugadas.

**Tabla 4:** componentes utilizados en la construcción de los plásmidos de expresión utilizados

Plásmido de expresión	Vector de base	Segmento génico de ADN insertado	Sitios de clonación
<b>Conjugación N-terminal: cadena pesada (sin dominio variable)</b>			
4965	4962	Inserción 4965 (249 pb)	BglII/NheI
4966	4962	Inserción 4966 (279 pb)	BglII/NheI
4967	4962	Inserción 4967 (252 pb)	BglII/NheI
<b>Conjugación N-terminal: cadena ligera (sin dominio variable)</b>			
4969	4802	Inserción 4969 (589 pb)	BglII/BbsI
<b>Conjugación N-terminal: cadena ligera (que incluye el dominio variable)</b>			
4976	4964	Inserción 4965 (249 pb)	HindIII/KasI
4977	4964	Inserción 4967 (252 pb)	HindIII/KasI

- 5 En la Tabla 5 se indica: los polipéptidos utilizados con propiedades de inhibición del VIH-1 (T-651 y variantes del ectodominio de gp41 del VIH-1), los conectores utilizados para unir la cadena ligera o pesada de inmunoglobulina al polipéptido, y el peso molecular deducido de las cadenas de anticuerpo modificado según deducción a partir de las secuencias de aminoácidos codificadas.
- 10 **Tabla 5:** resumen de los polipéptidos utilizados y el peso molecular deducido de las cadenas de polipéptido de inmunoglobulina modificada

Plásmido de expresión	polipéptido	Peso molecular [Da]	SEC ID nº del conector
<b>Plásmidos de referencia</b>			
4818	Cadena pesada anti-IGF-1R	49.263,5	Sin conector
4802	Cadena ligera anti-IGF-1R	23.572,2	Sin conector
<b>Fusiones N-terminales: cadena pesada (sin dominio variable)</b>			
4965	T-651	42.227,3	554
4966	T-651	42.857,9	554
4967	T-651	42.644,7	09
<b>Fusiones N-terminales: cadena ligera (sin dominio variable)</b>			
4969	Mutante individual de gp41	27.247,3	554
<b>Fusiones N-terminales (cadena ligera (que incluye el dominio variable))</b>			
4976	T-651	29.851,9	139
4977	T-651	30.269,2	140

### Ejemplo 3

15

#### Expresión transitoria de variantes de inmunoglobulina en células HEK293 EBNA

- Se generaron variantes recombinantes de inmunoglobulina mediante transfección transitoria de células HEK293-EBNA en crecimiento adherente (línea celular 293 de riñón embrionario humano que expresaba el antígeno nuclear del virus de Epstein-Barr; número de depósito en la American Type Culture Collection ATCC nº CRL-10852) cultivadas en DMEM (medio de Eagle modificado por Dulbecco, Gibco, Invitrogen Corp., USA) suplementado con FCS al 10% de nivel ultrabajo de IgG (suero de feto bovino, Gibco, Invitrogen Corp., USA), glutamina 2 mM (Gibco, Invitrogen Corp., USA), aminoácidos esenciales al 1% v/v (Gibco, Invitrogen Corp., USA) y G418 250 µg/ml (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemania). Para la transfección se utilizó el reactivo de transfección Fugene™ 6 (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemania) en una proporción de reactivo (µl) a ADN (µg) comprendida entre 3:1 y 6:1.

- Se expresaron las cadenas ligera y pesada del polipéptido inmunoglobulina en dos plásmidos diferentes utilizando una proporción molar de plásmidos codificantes de cadena ligera a plásmidos codificantes de cadena pesada de entre 1:2 y 2:1. Los sobrenadantes de cultivo celular que contenían las variantes de inmunoglobulina se recolectaron los días 4 a 11 después de la transfección. Los sobrenadantes se almacenaron a 0°C en un baño de hielo y agua hasta la purificación.

- Se proporciona información general referente a la expresión recombinante de inmunoglobulinas humanas en, por ejemplo, las células HEK293, en: Meissner P. *et al.*, Biotechnol. Bioeng. 75:197-203, 2001.

**Ejemplo 4**

Análisis de expresión utilizando SDS-PAGE, transferencia a filtros western y detección con conjugados de anticuerpos específicos de inmunoglobulina.

Los polipéptidos expresados y secretados se procesaron mediante electroforesis en gel de dodecilsulfato sódico (SDS)-poliacrilamida (SDS-PAGE) y los polipéptidos separados se transfirieron a una membrana desde el gel y se detectaron seguidamente utilizando un método inmunológico.

**SDS-PAGE**

Tampón de muestras LDS, concentrado cuatro veces (4x): 4 gramos de glicerol, 0,682 gramos de base Tris, 0,666 gramos de hidrocloreto de Tris, 0,8 gramos de LDS (dodecilsulfato de litio), 0,006 gramos de EDTA (ácido etilendiamintetraacético), 0,75 ml de una solución al 1% en peso (p/v) de Serva Blue G250 en agua, 0,75 ml de una solución al 1% en peso (p/v) de rojo fenol, y adición de agua hasta completar un volumen de 10 ml.

El caldo de cultivo que contenía el polipéptido secretado se centrifugó para eliminar las células y residuos celulares. Se mezcló una alícuota del sobrenadante clarificado con 1/4 volúmenes (v/v) de 4x tampón para muestras LDS y 1/10 volúmenes (v/v) de 1,4-ditiotreitol (DTT) 0,5 M. A continuación, las muestras se incubaron durante 10 minutos a 70°C y las proteínas se separaron mediante SDS-PAGE. El sistema de gel premoldeado NuPAGE® (Invitrogen Corp., USA) se utilizó siguiendo las instrucciones del fabricante. En particular, se utilizaron geles premoldeados Bis-Tris NuPAGE® Novex® (pH 6,4) y un tampón de corrido MOPS NuPAGE®.

**Transferencia western**

Tampón de transferencia: glicina 39 mM, hidrocloreto de Tris 48 mM, SDS al 0,04% en peso (p/v) y metanol al 20% en volumen (v/v).

Tras el SDS-PAGE, las cadenas de polipéptido del conjugado de inmunoglobulinas separado se transfirieron electroforéticamente a un filtro de membrana de nitrocelulosa (tamaño de poro: 0,45 µm) según el "método de transferencia en semiseco" de Burnette (Burnette W.N., Anal. Biochem. 112:195-203, 1981).

**Detección inmunológica**

Tampón TB: hidrocloreto de Tris 50 mM, NaCl 150 mM, ajustado a pH 7,5.

Solución de bloqueo: reactivo de bloqueo western al 1% (p/v) (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemania) en tampón TBS.

Tampón TBST: 1x tampón TBS con Tween-20 al 0,05% en volumen (v/v).

Para la detección inmunológica, las membranas de transferencia western se incubaron bajo agitación a temperatura ambiente dos veces durante 5 minutos en tampón TBS y una vez durante 90 minutos en solución de bloqueo.

**Detección de las cadenas de polipéptido del conjugado de inmunoglobulinas**

Cadena pesada: para la detección de los polipéptidos que contenían cadena pesada o fragmento de cadena pesada, se utilizó un anticuerpo de conejo anti-IgG humana purificado conjugado con una peroxidasa (nº de código P 0214, DAKO, Dinamarca).

Cadena ligera: los polipéptidos que contenían cadena ligera o fragmentos de cadena ligera se detectaron con un anticuerpo purificado de conejo anti-cadena ligera kappa humana conjugado con peroxidasa (DAKO, Dinamarca, nº de código P 0129).

Para la visualización de las cadenas ligera y pesada de anticuerpo o de los fragmentos de las mismas, en primer lugar las membranas de filtros western lavados y bloqueados se incubaron en el caso de una cadena pesada con un anticuerpo purificado de conejo anti-IgG humana conjugado con peroxidasa, y en el caso de una cadena ligera con un anticuerpo purificado de conejo anti-cadena ligera kappa humana conjugado con peroxidasa, en dilución 1:10.000 en 10 ml de solución de bloqueo a 4°C bajo agitación durante la noche. Tras lavar las membranas tres veces con TBST-tampón y una vez con tampón TBS durante 1,0 minuto a temperatura ambiente, las membranas de transferencia western se revelaron con una solución de Luminol-peróxido, que genera quimioluminiscencia (sustrato de transferencia western

Lumi-Light<sup>PLUS</sup>, Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemania). Por lo tanto, las membranas se incubaron en 10 ml de solución de Luminol/peróxido durante un periodo de entre 10 segundos y 5 minutos, y la luz emitida se detectó posteriormente con un analizador Lumi-Imager F1 (Roche Molecular Biochemicals, Roche Diagnostics GmbH, Alemania) y/o se registró en una película de rayos X.

Se cuantificó la intensidad de las manchas con el software LumiAnalyst (versión 3.1).

#### Tinción múltiple de los filtros inmunológicos

El conjugado de anticuerpo secundario marcado con peroxidasa utilizado para la detección puede eliminarse del filtro teñido mediante incubación de la membrana durante una hora a 70°C en tampón de hidrocloreto de Tris 1 M (pH 6,7) que contiene beta-mercaptoetanol 100 mM y SDS al 20% (p/v). Tras este tratamiento, el filtro puede teñirse con un anticuerpo secundario diferente en una segunda ocasión. Previamente a la segunda detección, el filtro se lava tres veces a temperatura ambiente bajo agitación en tampón TBS durante 10 minutos cada vez.

Se muestra la organización de las muestras en la Tabla 6.

**Tabla 6: organización de las muestras de geles SDS-PAGE/filtros western**

muestra	Plásmidos de expresión		Nota
	Cadena ligera	Cadena pesada	
Marcador de PM			
Anti-IGF-1R (Ab de referencia), 50 ng			
Anti-IGF-1R (Ab de referencia), 150 ng			
Anti-IGF-1R (Ab de referencia), 500 ng			
Medio de cultivo de HEK293			
3	4802 (wt)	4818 (wt)	Control de Anti-IGF-1R (Ab de referencia)
4	4802 (wt)	4961 (wt)	Control de Anti-IGF-1R (Ab de referencia)
5	4963 (wt)	4818 (wt)	Control de Anti-IGF-1R (Ab de referencia)
6	4802 (wt)	4965	N-terminal; pesada, sin V <sub>H</sub>
7	4802 (wt)	4966	N-terminal; pesada, sin V <sub>H</sub>
8	4802 (wt)	4967	N-terminal; pesada, sin V <sub>H</sub>
9	4969	4818 (wt)	N-terminal; ligera, sin V <sub>L</sub>
10	4976	4818 (wt)	N-terminal; ligera
11	4977	4918 (wt)	N-terminal; ligera
12	4969	4966	N-terminal, ligera, sin V <sub>L</sub> ; N-terminal, pesada, sin V <sub>H</sub>
13	4976	4966	N-terminal, ligera; N-terminal, pesada, sin V <sub>H</sub>
14	4977	4967	N-terminal, ligera; N-terminal, pesada, sin V <sub>H</sub>

#### Ejemplo 5

Detección de polipéptidos de inmunoglobulina ensamblados

purificación y concentración de polipéptidos de inmunoglobulina mediante unión de afinidad a proteína A-Sepharose<sup>TM</sup> CL-4B

Las células HEK293-EBNA que contenían uno o más plásmidos se cultivaron bajo condiciones adecuadas para la expresión transitoria del gen o genes de polipéptido situados en el plásmido o plásmidos, durante 6 a 10 días. A 1 ml de sobrenadante de cultivo clarificado en un vaso Eppendorf se añadieron 0,1 ml de una suspensión de proteína A-Sepharose<sup>TM</sup> CL-4B (GE Healthcare, antes Amersham Biosciences, Suecia) (suspensión 1:1 (v/v) de proteína A-sefarosa en tampón PBS (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 mM, NaCl 137 mM y KCl 2,7 mM, pH 7,4). La suspensión se incubó durante un periodo de entre una y dieciséis horas a temperatura ambiente bajo agitación. A continuación, se peletizaron las perlas de sefarosa mediante centrifugación (30 s, 5.000 rpm) y se descartó el sobrenadante. El pellet de sefarosa seguidamente se lavó con 1,6 ml de tampón PBS, 1,6 ml de tampón citrato 0,1 M, pH 5,0 y 1,6 ml de agua destilada. La inmunoglobulina unida a proteína A se extrajo de las perlas de sefarosa con 0,1 ml de 1x tampón para muestras LDS-

PAGE a 70°C durante un periodo de entre 5 y 10 minutos. El análisis se realizó mediante separación en SDS-PAGE y tinción con azul brillante de Coomassie tal como se ha descrito en el Ejemplo 4.

## Resultados:

Análisis de expresión/secreción de polipéptidos que contienen fragmento de cadena pesada y/o ligera tras la expresión transitoria:

**Figura 7a-c:** geles de SDS-PAGE de polipéptidos purificados por afinidad y teñidos con azul de Coomassie; organización de las muestras según la Tabla 6.

Inmunodetección de polipéptidos que contienen inmunoglobulina:

**Figura 8a-c:** inmunodetección de polipéptidos que contienen fragmento de cadena ligera en sobrenadantes de cultivo celular tras la expresión transitoria en células HEK293-EBNA.

**Figura 9a-c:** inmunodetección de los polipéptidos que contienen fragmento de cadena pesada en sobrenadantes de cultivo celular tras la expresión transitoria en células HEK293-EBNA.

A partir de las figuras 7a-c, 8a-c y 9a-c puede deducirse que los polipéptidos son expresados transitoriamente y secretados al medio de cultivo. En el caso de que el polipéptido que contienen inmunoglobulina presente uno o varios sitios de glucosilación, los polipéptidos finales no presentan un peso molecular exactamente definido sino una distribución de pesos moleculares dependiente del grado de glucosilación. Esto provoca que en la SDS-PAGE, las especies que representan un mismo polipéptido no migren homogéneamente y que de esta manera las bandas se encuentren ensanchadas.

## Ejemplo 6

Cuantificación de los polipéptidos que contienen cadena pesada expresados con ELISA de IgG humana

Se determinó la concentración de polipéptido que contenía fragmento de cadena pesada de inmunoglobulina en sobrenadantes de cultivo celular mediante un ELISA de sándwich que utilizó un fragmento F(ab')<sub>2</sub> anti-IgG humana biotinilado a modo de reactivo de captura, y para la detección, un fragmento de anticuerpo F(ab')<sub>2</sub> anti-IgG humana conjugado con peroxidasa.

Se recubrieron placas de 96 pocillos recubiertos con estreptavidina (placas de tira de poliestireno recubiertas con estreptavidina Reacti-Bind™ de Pierce, código nº 15121, Pierce Chemical Company, USA) con 0,5 µg/ml de fragmento de anticuerpo F(ab')<sub>2</sub> policlonal de cabra anti-IgG humana biotinilado ((F(ab')<sub>2</sub><h-Fcy<Bi; Dianova, Alemania, código nº 109-066-098), anticuerpo de captura (0,1 ml/pocillo) en tampón diluyente (tampón diluyente: tampón PBS que contenía albúmina de suero bovino al 0,5% en peso-volumen (p/v)) mediante incubación durante una hora a temperatura ambiente (RT) bajo agitación. A continuación, las placas se lavaron tres veces con más de 0,3 ml de tampón de lavado (tampón de lavado: PBS que contenía Tween-20 al 1% en peso-volumen (p/v)). Los sobrenadantes de cultivo celular (muestras) que contenían conjugado de inmunoglobulina IgG se diluyeron en serie (dos veces) hasta una concentración de entre 0,5 y 20 ng/ml en tampón diluyente, se añadieron a las placas y se incubaron durante una hora a RT bajo agitación. Se utilizó anticuerpo estándar anti-IGF-1R purificado (0,5 a 20 ng/ml) en tampón diluyente para la generación de una curva estándar de proteína IgG. Tras lavar las placas tres veces con 0,3 ml/pocillo de tampón de lavado, los complejos unidos a Fc-gamma humana se detectaron con un fragmento F(ab')<sub>2</sub> conjugado con peroxidasa de IgG policlonal de cabra específico de anti-F(ab')<sub>2</sub> humano (F(ab')<sub>2</sub><h-Fcy>POD, Dianova, código nº 109-036-098). Tras lavar las placas 3 veces con 0,3 ml/pocillo de tampón de lavado, las placas se revelaron con solución de sustrato ABTS® (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico) de peroxidasa (Roche Molecular Biochemicals, código nº 1684302, Roche Diagnostics GmbH, Alemania). Tras 10 a 30 minutos, se midió la absorbancia a 405 nm y a 490 nm frente a un blanco de reactivo (tampón de incubación + solución ABTS®) en un lector de placas Tecan Spectrafluorplus (Tecan Deutschland GmbH, Alemania). Para la corrección del fondo, se restó la absorbancia a 490 nm de la absorbancia a 405 nm según la fórmula I. Todas las muestras se sometieron a ensayo por lo menos por duplicado, y se calculó una media de dobles o triples mediciones de absorbancia. Se calculó el contenido de IgG de las muestras a partir de una curva estándar.

$$\text{Fórmula I: } \Delta A = (A_{\text{muestra}}^{405} - A_{\text{muestra}}^{490}) - (A_{\text{blanco}}^{405} - A_{\text{blanco}}^{490})$$

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> F. Hoffmann-La Roche AG  
 <120> Conjugado péptido-inmunoglobulina  
 <130> 23215 FT

10 <150> EP 05023003  
 <151> 2005-10-21  
 <150> EP 06010665  
 <151> 2006-05-24

15 <160> 558  
 <170> PatentIn versión 3.2

20 <210> 1  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

25 <220>  
 <223> conector sintético que comprende un sitio de restricción BglII en el extremo 5' y un sitio de restricción NheI en el extremo 3' (sitio NheI en el interior del extremo N-terminal de CH1)

30 <400> 1  
 agatcttttg ccaccgctag c 21

<210> 2  
 <211> 15  
 <212> PRT

35 <213> Mus musculus  
 <400> 2

	Met	Asp	Phe	Gly	Leu	Ser	Leu	Val	Phe	Leu	Val	Leu	Ile	Leu	Lys
	1				5					10				15	

40 <210> 3  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> molécula conectora sintética dispuesta con un sitio de restricción BglII en el extremo 5' y un sitio de restricción NheI en el extremo 3' directamente unido a la región variable VL-IR

50 <400> 3  
 agatctatat atatatatgc tagc 24

<210> 4  
 <211> 27  
 <212> ADN

55 <213> Artificial  
 <220>

<223> sitio de restricción BglII en el extremo 3' del promotor del CMV y sitio de restricción BbsI en el interior de la región constante de la cadena ligera del anticuerpo Mab humano <IGF-1R>

<400> 4

5 cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttc 27

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

10 <213> Mus musculus

<400> 5

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr  
1 5 10 15

<210> 6

15 <211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

20 <223> molécula conectora 1

<400> 6

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
1 5 10 15

<210> 7

25 <211> 25

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> molécula conectora 2

<400> 7

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
20 25

<210> 8

35 <211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

40 <223> molécula conectora 3

<400> 8

Gly Gln Gln Gln Gln Gly Gln Gln Gln Gln Gly Gln Gln Gln Gln  
1 5 10 15

<210> 9

45 <211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

50 <223> molécula conectora 4



<400> 9  
 Gly Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser  
 1 5 10 15

Gly  
 <210> 10  
 5 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 10 <223> molécula conectora 5

<400> 10  
 Gly Ser Thr  
 1

<210> 11  
 15 <211> 345  
 <212> PRT  
 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>  
 20 <221> misc feature

<223> Secuencia natural de aminoácidos derivada de la glucoproteína gp41 del VIH-1 del aislado HN-1 LAI/IIIB clon BH8 (locus HIVH3BH8) (posición pb: 507-851)

25 <400> 11  
 Ala Val Gly Ile Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly  
 1 5 10 15

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

Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu  
260 265 270  
Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu  
275 280 285  
Leu Gln Tyr Trp Ser Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Val Asn Leu Leu  
290 295 300  
Asn Ala Thr Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu  
305 310 315 320  
Leu Val Gln Ala Ala Tyr Arg Ala Ile Arg His Ile Pro Arg Arg Ile  
325 330 335  
Arg Gln Gly Leu Glu Arg Ile Leu Leu  
340 345

<210> 12

<211> 36

<212> PRT

5 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc feature

<223> Secuencia natural de aminoácidos derivada del ectodominio de gp41 del VIH-1 (posición pb: 621-656)

10

<400> 12

Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Leu  
1 5 10 15  
Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu  
20 25 30  
Gln Glu Leu Leu  
35

<210> 13

<211> 123

<212> PRT

15 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc\_feature

20 <223> variante 1568P (mutante único) de ectodominio de la gp41 del VIH-1, posición-pb 534-656

<400> 13

```

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

Leu Leu Arg Ala Ile Glu Gly Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val
20      25      30

Trp Gly Pro Lys Gln Leu Gln Ala Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr
35      40      45

Leu Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu
50      55      60

Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser
65      70      75      80

Leu Glu Gln Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu
85      90      95

Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln
100     105     110

Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu
115     120

```

<210> 14

<211> 135

<212> PRT

5 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc feature

10 <223> variante I568P, L550E, L566E, I580E (mutante cuádruple) del ectodominio de la gp41 del VIH-1, posición-pb 522-656

<400> 14

```

Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg
1      5      10      15

Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Glu Leu Arg Ala
20      25      30

Ile Glu Gly Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Thr Val Trp Gly Pro Lys

```

```

          35          40          45
Gln Leu Gln Ala Arg Glu Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln
  50          55          60

Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr
  65          70          75          80

Ala Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Glu Gln Ile
          85          90          95

Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr
          100          105          110

Thr Ser Leu Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu
          115          120          125

Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu
          130          135

```

<210> 15

<211> 133

<212> ADN

5 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc\_feature

<223> inserción 4964

10

<400> 15

agatctatat atatatatgc tagcgaaatt gtgttgacac agtctccagc caccctgtct 60

ttgtctccag gggaaagagc caccctctcc tgcagggcca gtcagagtgt tagtagctac 120

ttagcctggt acc 133

<210> 16

<211> 249

<212> ADN

15 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc feature

20 <223> inserción 4965

<400> 16

agatcttttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tcctgctgac catccccagc 60

tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat 120

aactacacaa gcttgatcca ctctctgac gaggaagcc agaaccagca ggagaagaac 180

gagcaggagc tcctgggcgg ggggtggatcc ggcggcgggg gcagcggcgg gggaggctcc 240

ggcgctagc 249

<210> 17  
<211> 279  
<212> ADN  
5 <213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>  
<221> misc\_feature  
<223> inserción 4966

10

<400> 17

agatcttttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tcctgctgac catccccagc 60

tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat 120

aactacacaa gcttgatcca ctctctgac gaggaagcc agaaccagca ggagaagaac 180

gagcaggagc tcctgggcgg ggggtggctcc ggcggcgggg gcagcggcgg gggaggctcc 240

ggcgggggcg gatccggggg cgggtggcagc ggcgctagc 279

<210> 18  
<211> 252  
15 <212> ADN  
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>  
<221> misc\_feature  
20 <223> Insert 4967

<400> 18

agatcttttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tcctgctgac catccccagc 60

tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat 120

aactacacaa gcttgatcca ctccctgac gaggaagcc agaaccagca ggagaagaac 180

gagcaggagc tcctgggac cagctccagc tccagctcca gctccagcag tagctccagc 240

tctggcgcta gc 252

<210> 19  
25 <211> 589  
<212> ADN  
<213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>  
30 <221> misc\_feature  
<223> inserción 4969

&lt;400&gt; 19

```

agatctagct ctgggagagg agcccagcac tagaagtcgg cgggtgttcc attcggtgat . 60
cagcactgaa cacagaggac tcaccatgga gtttgggctg agctgggtgt tcctcgtggc 120
actgctcagg ggtgtacagt gtcagggtgca ggcccgccag ctgctctccg gcacgtcca 180
gcagcaaaac aatctgctgc gggcgatcga ggggcagcag cacctcctgc agctgacggt 240
gtgggggtccc aagcagctgc agggccgcat tctggccgtg gaacgggtacc tgaaggacca 300
gcagctgctc ggcactctgg gatgctctgg caagcttata tgcaccacag ccgtccctg 360
gaacgctagc tggagtaaca aaagcctgga gcaaatttgg aacaacatga cctggatgga 420
gtgggatcgc gagatcaata attacacaag cctgatccac tccctgatcg aggaaagcca 480
gaaccagcag gagaagaacg agcaggagct cctgggcggg ggcggatccg gcggcggggg 540
cagcgggtggg ggcgggtccg gccgaactgt ggctgcacca tctgtcttc 589

```

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 20

```

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys
1           5           10          15

```

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 21

```

Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys
1           5           10          15

```

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 22

```

Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1           5           10

```

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 23

```

Met Arg Val Leu Ala Glu Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu
1           5           10          15

```

&lt;210&gt; 24

<211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 5 <400> 24  
   Met Arg Val Leu Pro Glu Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
   1                  5                  10                  15  
  
 <210> 25  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 10 <233> Mus musculus  
  
 <400> 25  
   Met Arg Cys Ser Leu Gln Phe Leu Gly Val Leu Met Phe Trp Ile Ser  
   1                  5                  10                  15  
  
 <210> 26  
 15 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 26  
   Arg Glu Trp Ser Trp Asn Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Thr  
   1                  5                  10                  15  
 20  
 <210> 27  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 25  
 <400> 27  
   Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala  
   1                  5                  10                  15  
  
 <210> 28  
 30 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 28  
   Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly  
   1                  5                  10                  15  
  
   Ala His Ser  
 35 <210> 29  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 40 <400> 29  
   Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly  
   1                  5                  10                  15  
  
   Ala His Ser  
 <210> 30  
 <211> 19



<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 30

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Ser  
1 5 10 15

5 Ala His Ser

<210> 31  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

10 <400> 31

Met Asp Trp Thr Trp Ser Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Pro Thr Gly  
1 5 10 15

Ala His Ser

15 <210> 32  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 32

Met Asp Cys Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Thr His Ala

20 <210> 33  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

25 <400> 33

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Asp  
1 5 10 15

Ala Tyr Ser

30 <210> 34  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 34

Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly  
1 5 10 15

Ala His Ser

35 <210> 35  
<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Met Asp Trp Ile Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Gly Ala Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Ala His Ser

5

<210> 36

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 36

Met Asp Thr Leu Cys Ser Thr Leu Leu Leu Leu Thr Ile Pro Ser Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 37

15 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Met Asp Thr Leu Cys Tyr Thr Leu Leu Leu Leu Thr Thr Pro Ser Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

20

<210> 38

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25

<400> 38

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 39

30 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<900> 39

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Leu Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 40

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 40

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Ile Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 41

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

15

<210> 42

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 42

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Ala Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 43

25 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

30 Val Gln Cys

<210> 44

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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

Val Gln Cys

5 <210> 45  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

10 <400> 45

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 46  
<211> 19  
<212> PRT  
15 <213> Homo sapiens

<400> 46

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

20 <210> 47  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 47

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

25 <210> 48  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

30

<400> 48

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 49  
<211> 19  
35 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 49

Met Glu Leu Gly Leu Cys Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 50

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 51

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Met Glu Phe Trp Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 52

<211> 20

<212> PRT

<213> secuencia de línea germinal humana

<400> 52

Met Thr Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Phe Lys  
1 5 10 15

Gly Val Gln Cys  
20

<210> 53

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 54

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Val Ile Leu Gln Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

5 <210> 55  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

10 <400> 55

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly  
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 56  
<211> 19  
<212> PRT  
15 <213> Homo sapiens

<400> 56

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

20 <210> 57  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

25 <400> 57

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 58  
<211> 19  
<212> PRT  
30 <213> Homo sapiens

<400> 58

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Pro

<210> 59

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 59

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 60

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

15 <210> 61

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 61

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 62

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

30 <210> 63

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

35 <400> 63

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 64

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 64

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

Val Cys Ser

<210> 65

10 <211> 19

<212> PRT

<213> secuencia de línea germinal humana

<400> 65

15

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

Val Cys Ala

<210> 66

<211> 20

20 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Met Ser Val Ser Phe Leu Ile Phe Leu Pro Val Leu Gly Leu Pro Trp  
1 5 10 15

Gly Val Leu Ser  
20

25 <210> 67

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30 <400> 67

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 68

<211> 22

<212> PRT



<213> Homo sapiens

<400> 68

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys  
20

5

<210> 69

<211> 22

<212> PRT

<213> secuencia de línea germinal humana

10

<400> 69

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys  
20

15

<210> 70

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Gln Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Ser Gly Ala Arg Cys  
20

20

<210> 71

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25

<400> 71

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Ser Gly Ala Arg Cys  
20

30

<210> 72

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Pro Asp Thr Arg Cys  
20

<210> 73

<211> 22

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 73

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 74

10 <211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

15

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 75

<211> 22

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 75

Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 76

25 <211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys  
20

30

<210> 77

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys  
20

5

<210> 78

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 78

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 79

<211> 22

15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Arg Cys  
20

20

<210> 80

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25

<400> 80

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Arg Cys  
20

<210> 81

<211> 22

<212> PRT

30

<213> Homo sapiens

<400> 81

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 82

<211> 22

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 82

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Arg Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 83

10 <211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

15

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 84

<211> 22

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 84

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys  
20

<210> 85

25 <211> 22

<212> PRT

<213> secuencia de línea germinal humana

<400> 85

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys  
20

30

<210> 86

<211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <400> 86

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Lys Cys  
 20

<210> 87  
 <211> 20  
 <212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 87

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Glu  
 20

<210> 88  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

15

<400> 88

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Glu  
 20

20

<210> 89  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

25

<400> 89

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly  
 20

<210> 90  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30

<400> 90

Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly  
20

<210> 91

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 91

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

Gly Ser Ser Ala  
20

10 <210> 92

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 92

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

Gly Ser Ser Ala  
20

<210> 93

<211> 20

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 93

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

Gly Ser Ser Gly  
20

<210> 94

25 <211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

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

Gly Ser Ser Gly

20

<210> 95

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 95

Met Arg Leu Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Gly Ser Ser Gly  
20

10 <210> 96

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 96

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly  
20

<210> 97

<211> 20

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 97

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly  
20

<210> 98

25 <211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly  
20

<210> 99

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 99

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly  
20

<210> 100

10 <211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly  
20

15

<210> 101

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 101

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly  
20

<210> 102

<211> 23

25 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102



Met Glu Pro Trp Lys Pro Gln His Ser Phe Phe Phe Leu Leu Leu Leu  
1 5 10 15

Trp Leu Pro Asp Thr Thr Gly  
20

<210> 103

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 103

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly  
20

10 <210> 104

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 104

Met Gly Ser Gln Val His Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Asp Thr Arg Ala  
20

<210> 105

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 105

Met Leu Pro Ser Gln Leu Ile Gly Phe Leu Leu Leu Trp Val Pro Ala  
1 5 10 15

Ser Arg Gly

<210> 106

25 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

30

Met Leu Pro Ser Gln Leu Ile Gly Phe Leu Leu Leu Trp Val Pro Ala  
1 5 10 15

Ser Arg Gly

<210> 107

<211> 20

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 107

Met Val Ser Pro Leu Gln Phe Leu Arg Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Ala Ser Arg Gly  
20

10 <210> 108

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 108

Met Ala Trp Ser Pro Leu Phe Leu Thr Leu Ile Thr His Cys Ala Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 109

<211> 19

20 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Met Ala Trp Ser Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala His Cys Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

25 <210> 110

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30 <400> 110

Met Ala Ser Phe Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr His Cys Ala Gly

1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 111

<211> 19

<212> PRT

35 <213> Homo sapiens

<400> 111

Met Ala Gly Phe Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr His Cys Ala Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 112

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 112

Met Thr Cys Ser Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ile His Cys Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 113

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

15 <210> 114

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 114

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Ser Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 115

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

30 <210> 116

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

35 <400> 116

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly  
 1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 117

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 117

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Asp Thr Gly  
 1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 118

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Met Ala Trp Ile Pro Leu Phe Leu Gly Val Leu Ala Tyr Cys Thr Gly  
 1 5 10 15

Ser Val Ala

15 <210> 119

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 119

Met Ala Trp Thr Ala Leu Leu Leu Ser Leu Leu Ala His Phe Thr Gly  
 1 5 10 15

Ser Val Ala

<210> 120

25 <211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Thr Phe Cys Thr Val  
 1 5 10 15

Ser Glu Ala

30 <210> 121

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

35 <400> 121

Met Ala Trp Ile Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Thr Leu Cys Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Glu Ala

<210> 122  
<211> 19  
<212> PRT  
5 <213> Homo sapiens

<400> 122

Met Ala Trp Thr Pro Leu Trp Leu Thr Leu Leu Thr Leu Cys Ile Gly  
1 5 10 15

Ser Val Val

10 <210> 123  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 123

Met Ala Trp Thr Val Leu Leu Leu Gly Leu Leu Ser His Cys Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Val Thr

15 <210> 124  
<211> 19  
<212> PRT  
20 <213> Homo sapiens

<400> 124

Met Ala Trp Ala Thr Leu Leu Leu Pro Leu Leu Asn Leu Tyr Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Ile Ala

25 <210> 125  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 125

Met Ala Trp Ile Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Thr Leu Cys Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Glu Ala

30 <210> 126  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

35 <400> 126

Met Ala Trp Ile Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ile Leu Cys Thr Val  
1 5 10 15

Ser Val Ala

<210> 127  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5  
 <400> 127  
 Met Ala Trp Val Ser Phe Tyr Leu Leu Pro Phe Ile Phe Ser Thr Gly  
 1 5 10 15  
  
 Leu Cys Ala  
 <210> 128  
 <211> 21  
 10 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 128  
 Met Ala Trp Thr Gln Leu Leu Leu Leu Phe Pro Leu Leu Leu His Trp  
 1 5 10 15  
  
 Thr Gly Ser Leu Ser  
 20  
 15 <210> 129  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 20 <400> 129  
 Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Phe Leu Thr Leu Leu Leu His Cys Thr  
 1 5 10 15  
  
 Gly Ser Leu Ser  
 20  
  
 <210> 130  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 25 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 130  
 Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ser His Cys Thr Gly  
 1 5 10 15  
  
 Ser Leu Ser  
 <210> 131  
 30 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 131  
 Met Ala Trp Thr Pro Leu Leu Leu Leu Phe Leu Ser His Cys Thr Gly  
 1 5 10 15  
  
 Ser Leu Ser  
 35 <210> 132  
 <211> 19  
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Met Ala Trp Thr Leu Leu Leu Val Leu Leu Ser His Cys Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Ser

5 <210> 133

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10 <400> 133

Met Ala Trp Ala Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala His Cys Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Trp Ala

<210> 134

<211> 19

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 134

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Leu Phe Leu Leu Thr Cys Cys Pro Gly  
1 5 10 15

Ser Asn Ser

20 <210> 135

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Leu Phe Leu Leu Thr Cys Cys Pro Gly  
1 5 10 15

Ser Asn Ser

25 <210> 136

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30 <400> 136

Met Ala Trp Met Met Leu Leu Leu Gly Leu Leu Ala Tyr Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Val Asp Ser

<210> 137

<211> 19

35 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Met Ala Trp Ala Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ser Leu Leu Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Ser  
<210> 138  
<211> 19  
<212> PRT  
5 <213> Homo sapiens

<400> 138  
Met Pro Trp Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr His Ser Ala Val  
1 5 10 15

Ser Val Val  
10 <210> 139  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
15 <223> molécula conectora 6

<400> 139  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Ala Ser  
20 <210> 140  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> molécula conectora 7

<400> 140  
Gly Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser  
1 5 10 15

Gly Ala Ser  
30 <210> 141  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

35 <400> 141  
Met Asp Phe Gly Leu Ile Phe Phe Ile Val Ala Leu Leu Lys  
1 5 10

<210> 142  
<211> 10  
<212> PRT  
40 <213> Mus musculus



<400> 142

Glu Leu Trp Val Leu Met Val Trp Val Pro  
1 5 10

<210> 143

<211> 13

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 143

Glu Leu Trp Val Leu Met Val Trp Val Pro Ser Thr Ser  
1 5 10

10 <210> 144

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 144

His Asp His Ala Leu Thr Ser Ser Ser Pro Gln Pro Ser Ser Pro Leu  
1 5 10 15

Cys Leu

<210> 145

<211> 16

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 145

Leu Ala Val Ile Thr Ser Asn Ile Trp Phe Pro Met Val Cys Met Ser  
1 5 10 15

<210> 146

25 <211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 146

Met Asp Met Trp Thr Ser Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Leu Ala Arg Cys  
20

30 <210> 147

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 147

Met Asp Arg Leu Thr Ser Ser Phe Leu Leu Leu Ile Val Pro Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 148

<211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5 <400> 148

Met Leu Arg Ala Ile Lys Ala Ala Pro Phe Ser Arg Phe Gly Cys Ser  
 1 5 10 15

<210> 149  
 <211> 19  
 <212> PRT

10 <213> Mus musculus

<400> 149

Met Arg Ala Pro Ala Pro Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu  
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 150  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

15

<400> 150

Met Arg Cys Ser Pro His Phe Leu Glu Leu Leu Val Phe Trp Ile Leu  
 1 5 10 15

20

<210> 151  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

25

<400> 151

Met Arg Pro Thr Leu Ser Phe Leu Gly Ser Cys Cys Ser Ser Leu Ile  
 1 5 10 15

Leu Arg Cys

<210> 152  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

30

<400> 152

Met Arg Thr Pro Ala His Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Leu  
 1 5 10 15

Gly Arg Cys

<210> 153  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

35

40 <400> 153

Met Arg Thr Pro Ala Pro Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Ser  
1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 154

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 154

Met Ser Leu Leu Thr Gln Leu Gln Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

Asp Arg Cys

<210> 155

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Mus musculus

<400> 155

Met Ser Leu Pro Thr Gln Leu Gln Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

Ala Arg Cys

15 <210> 156

<211> 18

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 156

Met Thr Met Leu Ser Leu Ala Pro Leu Leu Ser Leu Leu Leu Cys  
1 5 10 15

Val Ser

<210> 157

<211> 16

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 157

Met Thr Ser Leu Ser Gln Leu Leu Gly Met Leu Met Leu Gln Ser Leu  
1 5 10 15

30 <210> 158

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 158

Met Val Phe Ala Pro Gln Ile Leu Gly Phe Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

<210> 159

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 159

Met Val Phe Thr Pro His Ile Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Ile Ser  
1 5 10 15

5 <210> 160

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 160

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

Thr Asn Ser

<210> 161

<211> 18

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<400> 161

Arg Glu Trp Ser Trp Asn Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Thr Val  
1 5 10 15

Ser Ser

<210> 162

20 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 162

Thr Asp Phe His Met Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Phe Thr  
1 5 10 15

Ala Arg Cys

25 <210> 163

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <400> 163

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Leu Cys Met Ser  
1 5 10 15

<210> 164

<211> 16

35 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 164

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

40 <210> 165

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 165

Met Val Ser Thr Pro Gln Phe Leu Val Phe Leu Leu Phe Trp Ile Pro  
1 5 10 15

<210> 166

<211> 16

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 166

Met Val Ser Thr Pro Gln Phe Leu Val Phe Leu Leu Phe Trp Ile Pro  
1 5 10 15

10 <210> 167

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 167

Met Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

<210> 168

<211> 16

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 168

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Ile Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser  
1 5 10 15

<210> 169

25 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 169

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser  
1 5 10 15

30 <210> 170

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 170

Met Ala Trp Ile Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser  
1 5 10 15

<210> 171

<211> 15

40 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 171

Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Cys Ser  
1 5 10 15

45 <210> 172

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 172  
 Met Arg Cys Leu Ala Glu Phe Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro  
 1 5 10 15  
 <210> 173  
 5 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 173  
 Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr  
 1 5 10 15  
 10 <210> 174  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 15  
 <400> 174  
 Met Arg Phe Gln Val Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15  
 <210> 175  
 <211> 16  
 20 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 175  
 Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His  
 1 5 10 15  
 25 <210> 176  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 30 <400> 176  
 Met Asp Ile Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15  
  
 Phe Pro  
  
 <210> 177  
 <211> 18  
 35 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 177  
  
 Met Asp Met Met Val Leu Ala Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15  
  
 Phe Pro  
 40 <210> 178  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 45 <400> 178

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 179

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 179

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 180

10 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 180

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

Phe Pro

15 <210> 181

<211> 18

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 181

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe His Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 182

25 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 182

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe His Gly Ile Leu Leu Leu Trp

1

5

10

15

Phe Pro

30 <210> 183

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

&lt;400&gt; 183

Met Asp Met Trp Thr Ser Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Leu

&lt;210&gt; 184

&lt;211&gt; 18

5 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 184

Met Asn Thr Arg Ala Pro Ala Glu Phe Leu Gly Phe Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Leu

10 &lt;210&gt; 185

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

15 &lt;400&gt; 185

Met Arg Ala Pro Ala Pro Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 186

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

20 &lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 186

Met Arg Thr Pro Ala Pro Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Ser  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 187

25 &lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 187

30

Met Ser Ile Ser Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 188

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

35 &lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 188

Met Ser Leu Pro Thr Gln Leu Gln Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 189

40 &lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 189



Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 190  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 5 <213> Mus musculus  
 <400> 190  
 Met Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 191  
 10 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 191  
 Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15  
 15 <210> 192  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 192  
 Thr Asp Phe His Met Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Phe Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 193  
 <211> 15  
 25 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 193  
 Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Cys Ser  
 1 5 10 15  
 30 <210> 194  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 35 <400> 194  
 Met Arg Cys Leu Ala Glu Phe Leu Arg Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro  
 1 5 10 15  
 <210> 195  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 40 <213> Mus musculus  
 <400> 195  
 Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Ser  
 <210> 196  
 45 <211> 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 196

Met Asp Ile Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys  
 20

&lt;210&gt; 197

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 197

Met Asp Met Met Val Leu Ala Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys  
 20

&lt;210&gt; 198

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 198

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Phe Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro Ile Arg Cys  
 20

&lt;210&gt; 199

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 199

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys  
 20

&lt;210&gt; 200

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 200

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Ile Phe Gly Phe Leu Leu Leu Leu  
 1 5 10 15

Phe Gln Thr Arg Cys  
 20

&lt;210&gt; 201

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

<400> 201

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

Phe Pro Ala Arg Cys  
20

<210> 202

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 202

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe Leu Gly Phe Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 203

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 203

Met Asp Met Arg Asp Pro Pro Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Ile Pro

<210> 204

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 204

Met Asp Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Ile Lys Cys  
20

<210> 205

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 205

Met Asp Met Arg Val Pro Ala His Val Phe Gly Phe Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Thr Arg Cys  
20

<210> 206

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 206

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Ile Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 207

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 207

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Ser Val Ser  
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 208

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 208

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

Thr Cys Gly

15 <210> 209

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 209

Met Asp Ser Gln Ala Arg Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

Thr Cys Gly

<210> 210

25 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 210

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Val Leu Leu Trp Leu Ser  
1 5 10 15

Val Asp Gly

30 <210> 211

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 211

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Leu Cys Met Ser  
1 5 10 15

Ala Cys Ala

<210> 212  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 5  
 <400> 212  
 Met Glu Lys Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15  
  
 Ser Thr Gly  
 <210> 213  
 <211> 19  
 10 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 213  
 Met Glu Ser Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
 1 5 10 15  
  
 Ser Thr Gly  
 15 <210> 214  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 20 <400> 214  
 Met Glu Ser Gln Ile Gln Ala Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser  
 1 5 10 15  
  
 Val Asp Gly  
 <210> 215  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 25 <213> Mus musculus  
  
 <400> 215  
 Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser  
 1 5 10 15  
  
 Val Asp Gly  
 30 <210> 216  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 216  
 Met Ser Leu Leu Thr Gln Leu Gln Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15  
 35  
 <210> 217  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 40

<400> 217  
 Leu Ile Leu Lys Val Gln Cys  
 1 5

<210> 218  
 <211> 7  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 218  
 Leu Val Leu Lys Val Leu Cys  
 1 5

10 <210> 219  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

15 <400> 219  
 Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe His Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys  
 20

<210> 220  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 20 <213> Mus musculus

<400> 220  
 Met Lys Leu Pro Val Leu Leu Val Val Leu Leu Leu Phe Thr Ser Pro  
 1 5 10 15

Ser Ser Ser

25 <210> 221  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

30 <400> 221  
 Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ser  
 1 5 10 15

Ser Ser

<210> 222  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 35 <213> Mus musculus

<400> 222  
 Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln  
 1 5 10 15

Thr Asn Gly

40 <210> 223  
 <211> 19  
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 223

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg  
1 5 10 15

Thr Asn Gly

5 <210> 224

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 224

Met Met Ser Pro Val His Ser Ile Phe Ile Leu Leu Leu Trp Ile Val  
1 5 10 15

Ile Ser Gly

<210> 225

<211> 19

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<400> 225

Met Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln  
1 5 10 15

Thr Asn Gly

20 <210> 226

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

25 <400> 226

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Val Leu Thr Leu Lys Val  
1 5 10 15

Gln Cys

<210> 227

<211> 19

<212> PRT

30 <213> Mus musculus

<400> 227

Met Asn Leu Pro Val His Leu Leu Val Leu Leu Leu Phe Trp Ile Pro  
1 5 10 15

Ser Arg Gly

<210> 228

35 <211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 228

Met Asn Thr Arg Ala Pro Ala Glu Phe Leu Gly Phe Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Leu Ala Arg Cys  
20

<210> 229

<211> 19

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 229

Met Arg Phe Gln Val Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Ala Gln Cys

10 <210> 230

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 230

Met Arg Val Leu Ser Leu Leu Tyr Leu Leu Thr Ala Ile Pro Gly Ile  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 231

<211> 21

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 231

Met Asp Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

Ile Leu Ser Ser Gly  
20

<210> 232

25 <211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 232

Met Asp Phe Gln Met Gln Ile Ile Ser Leu Leu Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

Ile Val Ser Asn Gly  
20

30 <210> 233

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 233



Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

Ile Leu Thr Asn Gly  
20

<210> 234

<211> 21

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 234

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys  
20

<210> 235

10 <211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 235

15

Met Asn Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

Ile Gly Ser Ser Gly  
20

<210> 236

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 236

Met Thr Met Leu Ser Leu Val Leu Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Cys  
1 5 10 15

Ser Arg Ala

<210> 237

25 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 237

Met Val Ser Thr Pro Gln Phe Leu Val Phe Leu Leu Phe Trp Ile Pro  
1 5 10 15

Ala Cys Gly

30

<210> 238

<211> 20

<212> PRT

<213> Mus musculus

35

<400> 238

Thr Glu Leu Ile Cys Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Ile  
1 5 10 15

Leu Ser Ser Gly  
20

<210> 239  
<211> 17  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus

<400> 239

Met Asp Cys Gly Ile Ser Leu Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Val  
1 5 10 15

Cys

10 <210> 240  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 240

Met Asp Met Trp Val Gln Ile Phe Ser Leu Leu Leu Ile Cys Val Thr  
1 5 10 15

Ser Lys Gly

15 <210> 241  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

20 <400> 241

Leu Leu Ile Ser Val Thr Ile Met Ser Arg Gly  
1 5 10

<210> 242  
<211> 21  
25 <212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 242

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly  
20

30 <210> 243  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

35 <400> 243

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ile Ser  
1 5 10 15

Val Met Ser Arg Gly  
20

<210> 244  
<211> 21  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus

<400> 244  
Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Ser  
1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly  
20

10 <210> 245  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 245  
Met Asp Leu Gln Val Gln Ile Ile Ser Phe Leu Leu Ile Ile Val Thr  
1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly  
20

15 <210> 246  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

20 <400> 246  
Met Gly Glu Gln Arg Ile Arg Ser Cys His Ala Thr Ser Gly Ala Glu  
1 5 10 15

Ser Ala Arg

25 <210> 247  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 247  
Met Gly Ser Gln Val His Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Asp Thr Arg Ala  
20

30 <210> 248  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

35 <400> 248

Met Thr Met Phe Ser Leu Ala Leu Leu Leu Ser Leu Leu Leu Leu Cys  
1: 5 10 15

Val Ser Ser Arg Ala  
20

<210> 249  
<211> 18  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus

<400> 249  
Met Thr Met Leu Ser Leu Ala Pro Leu Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ser  
1 5 10 15

Arg Ala  
10 <210> 250  
<211> 22  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

15 <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 250  
Met Xaa Thr Met Asp Glu His Glu Ser Gly Ala Val Thr Pro His Gln  
1 5 10 15

20 Val Leu Lys Ser Arg Ala  
20  
<210> 251  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

25 <400> 251  
Ile Lys Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

His Ser  
30 <210> 252  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 252  
Ile Lys Trp Ser Trp Ile Ser Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

His Ser  
35 <210> 253  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

&lt;400&gt; 253

Leu Ile Leu Lys Val Gln Cys  
 1 5

&lt;210&gt; 254

5

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 254

Leu Val Leu Lys Val Gln Cys  
 1 5

10

&lt;210&gt; 255

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

15

&lt;400&gt; 255

Met Ala Val Val Thr Gly Lys Gly Leu Pro Ser Pro Lys Leu Glu Val  
 1 5 10 15

Asn Ser

&lt;210&gt; 256

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

20

&lt;400&gt; 256

Met Asp Phe Gly Leu Ile Phe Phe Ile Val Ala Leu Leu Lys Val Gln  
 1 5 10 15

Cys

&lt;210&gt; 257

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

25

&lt;400&gt; 257

Met Asp Phe Gly Leu Ser Leu Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Val  
 1 5 10 15

Gln Cys

&lt;210&gt; 258

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

35

&lt;400&gt; 258

Met Asp Met Arg Ala Ser Ala Gln Phe His Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Arg Cys  
 20

<210> 259  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 5  
 <400> 259  
 Met Glu Trp Glu Leu Ser Leu Ile Phe Ile Phe Ala Leu Leu Lys Asp  
 1 5 10 15  
 Val Gln Cys  
 <210> 260  
 <211> 18  
 10 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 260  
 Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
 His Ser  
 15 <210> 261  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 261  
 Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Ile  
 1 5 10 15  
 His Ser  
 <210> 262  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 25 <213> Mus musculus  
 <400> 262  
 Met Glu Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
 Leu Ser  
 <210> 263  
 30 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 263  
 Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Ser  
 35 <210> 264  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 40 <400> 264

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 265

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 265

Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 266

10 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 266

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

15 <210> 267

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

20

<400> 267

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Phe Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 268

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 268

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

30 <210> 269

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 269

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Ser Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 270

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 270

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Ser Ala Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 271

10 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 271

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

His Ser

15 <210> 272

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 272

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
1 5 10 15

<210> 273

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 273

Ile Asp Ile Asn Val Gln Ile Phe Arg Phe Leu Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

Ser Ser Gly

30 <210> 274

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 274

Met Asn Met Leu Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Phe Ala  
1 5 10 15

<210> 275

<211> 16



<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 275

Met Arg Thr Pro Ala His Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Leu  
1 5 10 15

<210> 276

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 276

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 277

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 277

Met Asn Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr

1 5 10 15

<210> 278

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 278

Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala  
1 5 10 15

<210> 279

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 279

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Gln Ile Pro Val Lys Gln Cys Leu  
1 5 10 15

<210> 280

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 280

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

<210> 281

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 281

Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Leu Phe Arg Ile Thr  
1 5 10 15

5 <210> 282

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 282

Met Asp Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 283

<211> 15

15 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 283

Met Ala Val Leu Ala Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser  
1 5 10 15

20 <210> 284

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

25 <400> 284

Met Asp Phe His Val Gln Ile Phe Ser Phe Met Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

<210> 285

<211> 16

<212> PRT

30 <213> Mus musculus

<400> 285

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

<210> 286

35 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 286

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Arg  
1 5 10 15

40 <210> 287

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

45 <400> 287

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 288  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 5 <213> Mus musculus  
 <400> 288  
 Thr Glu Leu Ile Cys Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala  
 1 5 10 15  
 10 <210> 289  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 15 <400> 289  
 Leu Leu Ile Ser Val Thr  
 1 5  
 <210> 290  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 20 <213> Mus musculus  
 <400> 290  
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
 1 5 10 15  
 25 <210> 291  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 291  
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Ser  
 1 5 10 15  
 30 <210> 292  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 35 <400> 292  
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Ser  
 1 5 10 15  
 <210> 293  
 <211> 16  
 40 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 293  
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Met Ser Ala Ser  
 1 5 10 15  
 45 <210> 294  
 <211> 16  
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 294

Met Asp Leu Gln Val Gln Ile Ile Ser Phe Leu Leu Ile Ile Val Thr  
1 5 10 15

5 <210> 295

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 295

Met His Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

<210> 296

<211> 15

15 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 296

Met Lys Cys Ser Trp Val Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Ile  
1 5 10 15

20 <210> 297

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

25 <400> 297

Met Lys Leu Trp Leu Asn Trp Ile Leu Leu Val Ala Leu Leu Asn  
1 5 10 15

<210> 298

<211> 18

<212> PRT

30 <213> Mus musculus

<400> 298

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Phe Phe Gly Ile Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Phe Pro

<210> 299

35 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 299

Met Ile Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro  
1 5 10 15

40 <210> 300

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 300

Met Met Ser Pro Val His Ser Ile Phe Ile Leu Leu Leu Trp Ile Val  
1 5 10 15

5 <210> 301  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

10 <400> 301

Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro  
1 5 10 15

<210> 302  
<211> 16  
<212> PRT  
15 <213> Mus musculus

<400> 302

Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro  
1 5 10 15

20 <210> 303  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 303

Met Asp Phe Gln Met Gln Ile Ile Ser Leu Leu Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

25 <210> 304  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

30 <400> 304

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Gln Ile Pro Val Lys Gln Cys Leu  
1 5 10 15

Ile Ile Ser Arg Gly  
20

35 <210> 305  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 305

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

40 <210> 306  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

45 <400> 306

Met Arg Pro Thr Leu Ser Phe Leu Gly Ser Cys Cys Ser Ser Leu Ile  
1 5 10 15

<210> 307  
<211> 16  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus

<400> 307  
Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Leu Leu Phe Gly Ile Pro  
1 5 10 15

10 <210> 308  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 308  
Met Glu Ser Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

15 Ser Thr Ser

<210> 309  
<211> 19  
<212> PRT  
20 <213> Mus musculus

<400> 309  
Met Glu Ser Gln Thr Leu Val Phe Ile Ser Ile Leu Leu Trp Leu Tyr  
1 5 10 15

Ala Asp Gly

<210> 310  
<211> 19  
25 <212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 310  
Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Leu Ser Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

Thr Cys Gly

30 <210> 311  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

35 <400> 311  
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 312  
<211> 18

<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 312

5

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val

1 5 10 15

His Ser

<210> 313

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Mus musculus

<400> 313

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 314

15 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 314

Met Ala Trp Ile Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Ser Ser Ala  
1 5 10 15

Ile Ser

20

<210> 315

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

25

<400> 315

Ile Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 316

<211> 18

30 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 316

Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Cys Ser Ala  
1 5 10 15

Ser Ser

<210> 317  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 5  
 <400> 317  
 Met Ala Trp Thr Ser Leu Ile Leu Ser Leu Leu Ala Leu Cys Ser Ala  
 1 5 10 15  
 Ile Ser  
 <210> 318  
 <211> 18  
 10 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 318  
 Met Gly Trp Ser Cys Val Leu Leu Phe Leu Val Ser Gly Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
 Leu Cys  
 15 <210> 319  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 319  
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
 1 5 10 15  
 Ile Ile Ser Arg Gly  
 20  
 <210> 320  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 25 <213> Mus musculus  
 <400> 320  
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
 1 5 10 15  
 Ile Leu Phe Arg Gly  
 20  
 30 <210> 321  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 321



Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

Ile Leu Ser Arg Gly  
20

<210> 322

<211> 21

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 322

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly  
20

10 <210> 323

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 323

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
1 5 10 15

Leu Met Ser Arg Gly  
20

<210> 324

<211> 20

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 324

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Arg Ile  
1 5 10 15

Leu Ser Arg Gly  
20

<210> 325

25 <211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 325

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Val Ser  
1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly  
20

30 <210> 326

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

35

&lt;400&gt; 326

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Met Ser Ala Ser  
 1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly  
 20

&lt;210&gt; 327

&lt;211&gt; 19

5 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 327

Met Asp Thr Leu Cys Ser Thr Leu Leu Leu Leu Thr Ile Pro Ser Trp  
 1 5 10 15

Val Leu Ser

10 &lt;210&gt; 328

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

15 &lt;400&gt; 328

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
 1 5 10 15

His Cys

&lt;210&gt; 329

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

20 &lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 329

Met His Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser  
 1 5 10 15

Ile Met Ser Arg Gly  
 20

&lt;210&gt; 330

25 &lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 330

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Val Leu His Cys Ser Ser  
 1 5 10 15

Phe Ser

30 &lt;210&gt; 331

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

35 &lt;400&gt; 331

Met Arg Val Leu Gly Phe Leu Cys Leu Val Thr Val Leu Pro Gly Ser  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 332

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 332

Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Leu Leu His Cys Ser Ser  
1 5 10 15

Phe Ser

<210> 333

10 <211> 13

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 333

Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala Val His Cys  
1 5 10

15 <210> 334

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 334

Lys Gly Gly Ser Cys Val Ser Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Asn Val  
1 5 10 15

His Phe

<210> 335

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 335

Met Ala Val Leu Ala Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Ile  
1 5 10 15

Leu Ser

30 <210> 336

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 336

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 337  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 5  
 <400> 337  
 Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Leu Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Val  
 1 5 10 15  
  
 Leu Ser  
 <210> 338  
 <211> 18  
 10 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 338  
 Met Ala Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Val  
 1 5 10 15  
  
 His Ser  
 15 <210> 339  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 339  
 Met Asp Trp Ile Trp Ile Met Leu His Leu Leu Ala Ala Thr Gly Ile  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ser  
 <210> 340  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 25 <213> Mus musculus  
  
 <400> 340  
 Met Glu Cys Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Leu Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
  
 His Cys  
 30 <210> 341  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 341  
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
 1 5 10 15  
  
 Val Gln Cys  
 35 <210> 342  
 <211> 18

<212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <220>  
 5 <221> misc\_feature  
 <222> (5)..(6)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
  
 <400> 342  
 Met Glu Trp Leu Xaa Xaa Phe Leu Leu Phe Leu Ser Leu Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
  
 10 His Cys  
 <210> 343  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 15 <400> 343  
 Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
  
 His Ser  
 <210> 344  
 <211> 16  
 20 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 344  
 Met Glu Thr Pro Ala Ser Phe Leu Cys Leu Leu Leu Trp Thr Thr  
 1 5 10 15  
  
 25 <210> 345  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 30 <400> 345  
 Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Leu Leu His Cys Ser  
 1 5 10 15  
  
 <210> 346  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 35 <213> Mus musculus  
  
 <400> 346  
 Met Ala Trp Thr Pro Leu Phe Phe Phe Phe Val Leu His Cys Ser  
 1 5 10 15  
  
 <210> 347  
 40 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 347

Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Ile Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser  
1 5 10 15

Ala His Gly  
<210> 348  
<211> 19  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus

<400> 348  
Met Lys Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Leu Leu Leu Cys Val Ser  
1 5 10 15

Ala His Gly  
10 <210> 349  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

15 <400> 349  
Met Asp Met Trp Val Gln Ile Phe Ser Leu Leu Leu Ile Cys Val Thr  
1 5 10 15

<210> 350  
<211> 19  
<212> PRT  
20 <213> Mus musculus

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (2)..(2)  
25 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 350  
Met Xaa Thr Met Asp Glu His Glu Ser Gly Ala Val Thr Pro His Gln  
1 5 10 15

Val Leu Lys  
30 <210> 351  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 351  
Met Gly Glu Gln Arg Ile Arg Ser Cys His Ala Thr Ser Gly Ala Glu  
1 5 10 15

35 <210> 352  
<211> 16  
<212> PRT  
40 <213> Mus musculus

<400> 352  
Met Asn Leu Pro Val His Leu Leu Val Leu Leu Leu Phe Trp Ile Pro  
1 5 10 15

<210> 353  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 5  
 <400> 353  
 Met Thr Met Phe Ser Leu Ala Leu Leu Leu Ser Leu Leu Leu Leu Cys  
 1 5 10 15  
 Val Ser  
 10  
 <210> 354  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 354  
 Met Thr Met Leu Ser Leu Ala Pro Leu Leu Ser Leu Leu Leu Leu  
 1 5 10 15  
 15  
 <210> 355  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20  
 <400> 355  
 Met Thr Met Leu Ser Leu Val Leu Leu Leu Ser Phe Leu Leu Leu Cys  
 1 5 10 15  
 <210> 356  
 <211> 16  
 25  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 356  
 Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser  
 1 5 10 15  
 30  
 <210> 357  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 35  
 <400> 357  
 Met Val Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln  
 1 5 10 15  
 <210> 358  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 40  
 <213> Mus musculus  
 <400> 358  
 Met Val Ser Thr Ser Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Thr Ser  
 1 5 10 15  
 45  
 <210> 359  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 359

Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln  
1 5 10

<210> 360  
<211> 16  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus

<400> 360  
Ile Asp Ile Asn Val Gln Ile Phe Arg Phe Leu Leu Ile Ser Val Thr  
1 5 10 15

10 <210> 361  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 361  
Met Lys Leu Pro Val Leu Leu Val Val Leu Leu Leu Phe Thr Ser Pro  
1 5 10 15

15 <210> 362  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

20 <400> 362  
Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro  
1 5 10 15

<210> 363  
<211> 15  
25 <212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 363  
Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro  
1 5 10 15

30 <210> 364  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

35 <400> 364  
Met Glu Lys Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

<210> 365  
<211> 16  
<212> PRT  
40 <213> Mus musculus

<400> 365  
Met Glu Ser Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

<210> 366  
<211> 16  
45 <212> PRT  
<213> Mus musculus



&lt;400&gt; 366

Met	Glu	Ser	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	

&lt;210&gt; 367

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 367

Met	Glu	Thr	Asp	Pro	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	

&lt;210&gt; 368

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 368

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Ile	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	

&lt;210&gt; 369

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 369

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	

&lt;210&gt; 370

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 370

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	

&lt;210&gt; 371

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 371

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5					10					15	

&lt;210&gt; 372

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 372

Met	Arg	Phe	Ser	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Val	Leu	Trp	Ile	Pro
1				5					10					15	

&lt;210&gt; 373

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

<213> Mus musculus

<400> 373

Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser

1 5 10 15

5 <210> 374  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

10 <400> 374  
Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Ile Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

<210> 375  
<211> 16  
<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<400> 375

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Ser Val Ser  
1 5 10 15

<210> 376  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

20 <213> Mus musculus

<400> 376

Met Asp Ser Gln Ala Gln Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

25 <210> 377  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

30 <213> Mus musculus

<400> 377

Met Asp Ser Gln Ala Arg Val Leu Met Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

<210> 378  
<211> 16  
<212> PRT

35 <213> Mus musculus

<400> 378

Met Glu Ser Gln Asn His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

40 <210> 379  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

45 <400> 379

Met Glu Ser Gln Thr His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 <210> 380  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 5 <213> Mus musculus  
 <400> 380  
 Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Leu Ser Leu Leu Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 <210> 381  
 10 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 381  
 Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Ile Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 <210> 382  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 382  
 Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 <210> 383  
 <211> 19  
 25 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 383  
 Met Glu Thr Pro Ala Ser Phe Leu Cys Leu Leu Leu Leu Trp Thr Thr  
 1 5 10 15  
 Ser Ala Val  
 30 <210> 384  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 35 <400> 384  
 Gln His Gly His Glu Gly Leu Cys Ser Val Ser Trp Val Pro Val Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 385  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 40 <213> Mus musculus  
 <400> 385  
 Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln  
 1 5 10 15  
 <210> '386  
 45 <211> 16  
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 386

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg  
1 5 10 15

5 <210> 387

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 387

Met Met Ser Pro Val Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln  
1 5 10 15

<210> 388

<211> 16

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<400> 388

Met Ile Ala Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln  
1 5 10 15

<210> 389

20 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 389

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln  
1 5 10 15

25 <210> 390

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <400> 390

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln  
1 5 10 15

<210> 391

35 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 391

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gln Ile Phe Gly Phe Leu Leu Leu Leu  
1 5 10 15

Phe Gln

40 <210> 392

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

45 <400> 392

Met Asp Met Arg Val Pro Ala His Val Phe Gly Phe Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 393

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 393

Met Asp Cys Gly Ile Ser Leu Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys  
 1 5 10 15

<210> 394

10 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 394

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Val Leu Leu Trp Leu Ser  
 1 5 10 15

15 <210> 395

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 395

Met Glu Ser Gln Ile Gln Ala Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser  
 1 5 10 15

<210> 396

25 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 396

Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser  
 1 5 10 15

30 <210> 397

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 397

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser  
 1 5 10 15

<210> 398

<211> 20

<212> PRT

40 <213> Mus musculus

<400> 398

Met Gly Phe Lys Met Glu Ser His Thr Gln Ala Phe Val Phe Ala Phe  
1 5 10 15

Leu Trp Leu Ser  
20

<210> 399

<211> 16

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 399

Met Glu Thr His Ser Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser  
1 5 10 15

<210> 400

10 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

15 <221> misc\_feature

<222> (5)..(6)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

20 <400> 400

Met Glu Trp Leu Xaa Xaa Phe Leu Leu Phe Leu Ser Leu Thr Ala  
1 5 10 15

<210> 401

<211> 15

<212> PRT

25 <213> Mus musculus

<400> 401

Met Glu Trp Ser Cys Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala  
1 5 10 15

<210> 402

30 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 402

Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala  
1 5 10 15

35 <210> 403

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

40 <400> 403

Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala  
1 5 10 15

<210> 404

45 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 904

Met	Glu	Trp	Ser	Trp	Val	Phe	Leu	Phe	Phe	Leu	Ser	Val	Thr	Thr
1			5					10					15	

5 <210> 405

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 405

Met	Glu	Trp	Ser	Trp	Val	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Leu	Thr	Ser
1			5					10					15	

<210> 406

<211> 15

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<400> 406

Met	Gly	Trp	Asn	Trp	Ile	Phe	Ile	Leu	Ile	Leu	Ser	Val	Thr	Thr
1			5					10					15	

<210> 407

20 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 407

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Phe	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr
1			5					10					15	

25 <210> 408

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <400> 408

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Asn
1			5					10					15	

<210> 409

<211> 15

<212> PRT

35 <213> Mus musculus

<400> 409

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Thr
1			5					10					15	

<210> 410

40 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 410

45

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 411  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 5 <213> Mus musculus  
 <400> 411  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 412  
 10 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 412  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 15 <210> 413  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 413  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ser Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 414  
 <211> 15  
 25 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 414  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr  
 1 5 10 15  
 30 <210> 415  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 35 <400> 415  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 416  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 40 <213> Mus musculus  
 <400> 416  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Arg Ala Thr  
 1 5 10 15  
 45 <210> 417  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus



&lt;400&gt; 417

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
1				5					10					15

&lt;210&gt; 418

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 418

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
1				5					10					15

&lt;210&gt; 419

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 419

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

1				5					10					15
---	--	--	--	---	--	--	--	--	----	--	--	--	--	----

&lt;210&gt; 420

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 420

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
1				5					10					15

&lt;210&gt; 421

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 421

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
1				5					10					15

&lt;210&gt; 422

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 422

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
1				5					10					15

&lt;210&gt; 423

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 423

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 424  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 5 <213> Mus musculus  
 <400> 424  
 Met Gly Trp Ser Arg Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 425  
 10 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 425  
 Met Gly Trp Ser Ser Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 15 <210> 426  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 426  
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Ser Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 927  
 <211> 15  
 25 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 427  
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala  
 1 5 10 15  
 30 <210> 428  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 35 <400> 428  
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 429  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 40 <213> Mus musculus  
 <400> 429  
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 430  
 45 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 430  
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Pro Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 431  
 5 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 431  
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Pro Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala  
 1 5 10 15  
 10 <210> 432  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 15 <400> 432  
 Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 433  
 <211> 15  
 20 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 433  
 Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 25 <210> 434  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 30 <400> 434  
 Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 435  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 35 <213> Mus musculus  
 <400> 435  
 Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 436  
 40 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 436  
 Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln  
 1 5 10 15  
 45 <210> 437  
 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 437

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
1 5 10 15

<210> 438

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 438

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
1 5 10 15

<210> 439

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 439

Met Val Ser Glu Thr His Val Leu Ile Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

<210> 440

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 440

Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala  
1 5 10

<210> 441

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 441

Ile Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala Thr  
1 5 10 15

<210> 442

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 442

Ile Lys Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala  
1 5 10 15

<210> 443

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 443

Ile Lys Trp Ser Trp Ile Ser Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala  
1 5 10 15

<210> 444  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 5 <400> 444  
  
 Lys Gly Gly Ser Cys Val Ser Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Asn  
 1 5 10 15  
 <210> 445  
 10 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 445  
 Met Ala Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr  
 1 5 10 15  
 15 <210> 446  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 20 <400> 446  
  
 Met Glu Cys Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Leu Thr Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 447  
 <211> 19  
 25 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 447  
 Met Ile Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro  
 1 5 10 15  
  
 Ile Ser Lys  
 30 <210> 448  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 35 <400> 448  
  
 Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro  
 1 5 10 15  
  
 Ile Ser Lys  
 <210> 449  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 40 <213> Mus musculus  
  
 <400> 449

Met Ser Tyr Ser Leu Gln Leu Leu Arg Met Leu Val Leu Trp Ile Pro  
1 5 10 15

Ile Thr Lys  
<210> 450  
<211> 4  
<212> PRT  
5 <213> Mus musculus

<400> 450  
Leu Val Leu Lys  
1  
<210> 451  
10 <211> 15  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<900> 451  
Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser  
15 1 5 10 15  
<210> 452  
<211> 15  
<212> PRT  
20 <213> Mus musculus

<400> 452  
Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Leu Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser  
1 5 10 15  
<210> 453  
25 <211> 15  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 453  
Met Asp Arg Leu Thr Ser Ser Phe Leu Leu Leu Ile Val Pro Ala  
1 5 10 15  
30 <210> 454  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

35 <400> 454  
Met Glu Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala  
1 5 10 15  
<210> 455  
<211> 16  
<212> PRT  
40 <213> Mus musculus

<400> 455  
Met Gly Arg Leu Thr Phe Ser Phe Leu Leu Leu Pro Val Pro Ala  
1 5 10 15  
45 <210> 456  
<211> 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 456

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Val	Leu	Leu	Phe	Leu	Val	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10					15

&lt;210&gt; 457

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 457

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Phe	Phe	Leu	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10					15

&lt;210&gt; 458

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 458

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Phe	Phe	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10					15

&lt;210&gt; 459

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 459

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Gly	Ser	Ala
1				5					10					15

&lt;210&gt; 460

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 460

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10					15

&lt;210&gt; 461

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 461

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10					15

&lt;210&gt; 462

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 462

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Ile	Phe	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala
1				5					10					15

&lt;210&gt; 463

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 463

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 464

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 464

Met Gly Trp Ser Trp Val Phe Leu Ser Phe Leu Ser Gly Thr Ala  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 465

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 465

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ile Ser  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 466

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 466

Met Ala Val Val Thr Gly Lys Gly Leu Pro Ser Pro Lys Leu Glu

1 5 10 15

&lt;210&gt; 467

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 467

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 968

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 468

Met Gln Leu Gly His Leu Leu Pro Asp Gly Ser  
 1 5 10

&lt;210&gt; 469

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 469



Arg Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 470  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 5 <213> Mus musculus  
 <400> 470  
 Leu Ile Leu Lys  
 1  
 <210> 471  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 10 <213> Mus musculus  
 <400> 471  
 Leu Val Leu Lys  
 1  
 15 <210> 472  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 20 <220>  
 <223> péptido de unión  
 <400> 472  
 Gln Ile Trp Asn Asn  
 1 5  
 25 <210> 473  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 30 <400> 473  
 Met Glu Ser Gln Asn His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 Thr Cys Gly  
 <210> 474  
 <211> 19  
 35 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 474  
 Met Glu Ser Gln Thr His Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 Thr Cys Gly  
 40 <210> 475  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 475

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser  
1 5 10 15

Val Asp Gly

<210> 476

5 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 476

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Ile Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser  
1 5 10 15

Thr Cys Gly

10

<210> 477

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

15

<400> 477

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

Ala Cys Ala

<210> 478

20

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 478

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser  
1 5 10 15

Thr Cys Gly

25

<210> 479

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

30

<400> 479

Met Glu Thr Asp Pro Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 480

<211> 19

<212> PRT

35

<213> Mus musculus

<400> 480

Met Glu Thr Asp Thr Ile Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 481

5 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 481

10

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 482

<211> 19

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<400> 482

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
1 5 10 15

Ser Thr Gly

<210> 483

20 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 483

Met Glu Thr His Ser Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser  
1 5 10 15

Val Glu Gly

25

<210> 484

<211> 23

<212> PRT

<213> Mus musculus

30

<400> 484

Met Gly Phe Lys Met Glu Ser His Thr Gln Ala Phe Val Phe Ala Phe  
1 5 10 15

Leu Trp Leu Ser Val Asp Gly  
20

<210> 485

<211> 16

35 <212> PRT

<213> Mus musculus

&lt;400&gt; 485

Met Gly Val Pro Thr Gln Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Val Arg Cys  
 1 5 10 15

&lt;210&gt; 486

5 &lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 486

Met Ile Ala Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln  
 1 5 10 15

10 Thr Arg Cys

&lt;210&gt; 487

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

15

&lt;400&gt; 487

Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Leu Phe Arg Ile Thr  
 1 5 10 15

Ile Ile Cys

&lt;210&gt; 488

&lt;211&gt; 19

20 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 488

Met Lys Phe Pro Ser Gln Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Gly Ile Pro  
 1 5 10 15

Met Ile Cys

25 &lt;210&gt; 489

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

30 &lt;400&gt; 489

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln  
 1 5 10 15

Thr Arg Cys

&lt;210&gt; 490

&lt;211&gt; 19

35 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 490

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln  
1 5 10 15

Thr Arg Tyr

<210> 491

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 491

Met Asn Met Leu Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Phe Ala  
1 5 10 15

Gly Lys Cys

<210> 492

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 992

Met Arg Cys Leu Ala Glu Phe Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro  
1 5 10 15

Ala Ile Gly

15 <210> 493

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 493

Met Arg Cys Leu Ala Glu Phe Leu Arg Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro  
1 5 10 15

Ala Thr Gly

<210> 494

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 494

Met Arg Cys Ser Leu Gln Phe Leu Gly Val Leu Met Phe Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Val Ser Gly

30 <210> 495

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 495

Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro  
 1 5 10 15

Ser Thr Ala

<210> 496

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 496

Met Arg Pro Ser Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Leu His  
 1 5 10 15

Ala Gln Cys

<210> 497

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 497

Met Arg Val Leu Ala Glu Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Cys Phe Leu  
 1 5 10 15

Val Arg Cys

15 <210> 498

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 498

Met Arg Val Leu Pro Glu Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Ile Ser  
 1 5 10 15

Val Arg Cys

<210> 499

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 499

Met Ser Ile Ser Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15

Ala Arg Cys

30 <210> 500

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 500

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 501

<211> 19

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 501

Met Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 502

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 502

Met Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

Ala Gly Cys

15 <210> 503

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 503

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
1 5 10 15

Ala Arg Cys

<210> 504

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 504

Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Ser Thr Gly

30

<210> 505

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 505

Met Val Phe Thr Pro Gln Ile Leu Gly Leu Met Leu Phe Trp Ile Ser  
1 5 10 15

Ser Arg Gly

5 <210> 506  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

10 <400> 506

Met Val Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Ser  
1 5 10 15

Arg Gly

<210> 507  
<211> 19  
<212> PRT  
15 <213> Mus musculus

<400> 507

Met Val Ser Thr Ser Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Phe Trp Thr Ser

1 5 10 15

Ser Arg Gly

20 <210> 508  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 508

Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Gln Ser Arg Cys  
1 5 10 15

25 <210> 509  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

30 <400> 509

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 510  
<211> 18  
35 <212> PRT  
<213> Mus musculus



<400> 510

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 511

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 511

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 512

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 512

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 513

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 513

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 514

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 514

Met Gly Trp Ser Trp Val Phe Leu Ser Phe Leu Ser Gly Thr Ala Val  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 515

<211> 18

<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 515

Met Lys Cys Ser Trp Val Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Ile Ile

1 5 10 15

5 Asn Ser

<210> 516  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

10

<400> 516

Met Lys Leu Trp Leu Asn Trp Ile Leu Leu Val Ala Leu Leu Asn Ile  
1 5 10 15

Gln Cys

<210> 517  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

15

<400> 517

Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Val  
1 5 10 15

His Cys

<210> 518  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

20

<400> 518

Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Gly  
1 5 10 15

Val His Cys

<210> 519  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

30

<400> 519

Met Met Val Leu Ser Leu Leu Tyr Leu Leu Thr Ala Leu Pro Gly Ile  
1 5 10 15

Leu Ser

<210> 520

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 520

Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Val  
1 5 10 15

Gln Cys

<210> 521

10 <211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 521

Met Gln Leu Gly His Leu Leu Pro Asp Gly Ser Val Asn Ser  
1 5 10

15 <210> 522

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 522

Met Val Ser Glu Thr His Val Leu Ile Phe Leu Leu Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15

Val His Cys

<210> 523

<211> 19

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 523

Arg Ser Val Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Val Asn Ser

30 <210> 524

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

35

<400> 524

Met Glu Trp Ser Gly Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val  
1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 525

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 525

Met Glu Trp Ser Arg Val Phe Ile Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 526

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 526

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 527

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 527

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Leu Thr Ser Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 528

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 528

Met Gly Arg Leu Thr Phe Ser Phe Leu Leu Leu Leu Pro Val Pro Ala  
1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 529

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

&lt;400&gt; 529

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Phe

&lt;210&gt; 530

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 530

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Asn Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 531

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 531

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 532

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 532

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 533

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 533

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 539

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 534

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ser Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 535

5 &lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 535

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 536

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 536

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 537

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 537

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ile Leu Val Ala Ala Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Gln Phe

&lt;210&gt; 538

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 538

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Arg Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

&lt;210&gt; 539

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 539

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Phe

<210> 540

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 540

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Phe

<210> 541

10 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 541

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

15 <210> 542

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 542

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

<210> 543

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 543

Met Gly Trp Ser Cys Ile Met Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Val  
 1 5 10 15

His Ser

30 <210> 544

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 544

Met Gly Trp Ser Phe Leu Pro Leu Phe Leu Ala Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 545

<211> 18

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 545

Met Gly Trp Ser Arg Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Ile Thr Ala Val  
1 5 10 15

His Cys

<210> 546

10 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 546

Met Gly Trp Ser Ser Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 547

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 547

Met Gly Trp Ser Ser Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 548

<211> 18

25 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 548

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Phe

<210> 549

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 599



Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 550

<211> 18

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 550

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

His Ser

<210> 551

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 551

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 552

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 552

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

Asn Ser

<210> 553

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 553

Met Arg Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Val  
1 5 10 15

His Ser

<210> 554  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> molécula conectora 8

<400> 554

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5 10 15

10

<210> 555  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

15

<220>  
 <223> molécula conectora 9

<400> 555

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 20 25

20

<210> 556  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> molécula conectora 10

<400> 556

30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5 10 15

Gly

<210> 557  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35

<220>  
 <223> molécula conectora 11

<400> 557

40

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 20 25

<210> 558

<211> 38  
<212> ADN  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> inserción de sitios de restricción únicos HindIII y KsaI

<400> 558

aagcttcaac aggggagagt gttgaaggga gaggcgcc 38

## REIVINDICACIONES

1. Método para la producción recombinante de un polipéptido heterólogo en una célula huésped eucariótica que comprende un plásmido de expresión, caracterizado porque:
  - a) el plásmido de expresión comprende, en dirección 5' a 3',
    - aa) un promotor,
    - ab) un ácido nucleico codificante de un primer polipéptido que es una secuencia de señal, la secuencia de aminoácidos del cual se selecciona de la Tabla 1 dependiendo de los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido seleccionados de manera que los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido sean idénticos a los primeros dos aminoácidos de las secuencias de aminoácidos de la región FR1 de inmunoglobulina que sigue naturalmente,
    - ac) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende:
      - i) un ácido nucleico codificante de dicho polipéptido heterólogo,
      - ii) un ácido nucleico codificante de un conector,
      - iii) un ácido nucleico codificante de un fragmento de inmunoglobulina que comprende por lo menos los dominios constantes de una cadena de una inmunoglobulina,
  - ad) una región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenialción,
  - b) el plásmido de expresión se introduce en una célula huésped eucariótica,
  - c) la célula huésped se cultiva bajo condiciones adecuadas para la expresión del segundo polipéptido,
  - d) el segundo polipéptido se recupera del medio de cultivo.
2. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho segundo polipéptido comprende, tras el polipéptido heterólogo, un conector, y tras el conector, un fragmento de inmunoglobulina a modo de parte carboxi-terminal del segundo polipéptido.
3. Método según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque el segundo polipéptido contiene, en posición 5' respecto al ácido nucleico codificante de dicho polipéptido heterólogo, un ácido nucleico adicional codificante de un único aminoácido o un dipéptido o el péptido QIWN (SEC ID nº 472) o un fragmento de los mismos.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el fragmento de inmunoglobulina se obtiene a partir de una IgG o de una IgE.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la célula eucariótica es una célula de mamífero.
6. Método según la reivindicación 5, caracterizado porque la célula de mamífero es una célula CHO, NS0, Sp2/0, COS, K562, BHK, PER.C6 ó HEK.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el conector es un péptido o polipéptido seleccionado de entre el grupo que consiste de las secuencias SEC ID nº 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556 y 557.
8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el fragmento de inmunoglobulina comprende:
  - a) el dominio C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub>, C<sub>H3</sub> y la región bisagra de una cadena pesada de inmunoglobulina o el dominio C<sub>L</sub> de una cadena ligera de inmunoglobulina,
  - y
  - b) un fragmento de un dominio variable de cadena pesada o ligera de inmunoglobulina.
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el fragmento de inmunoglobulina comprende únicamente dominios constantes.
10. Plásmido que comprende, en dirección 5' a 3':
  - a) un promotor,

- 5 b) un ácido nucleico codificante de un primer polipéptido que es una secuencia de señal, la secuencia de aminoácidos del cual se seleccionan de la Tabla 1 dependiendo de los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido seleccionados de manera que los primeros dos aminoácidos del segundo polipéptido sean idénticos a los primeros dos aminoácidos de las secuencias de aminoácidos de la región FR1 de inmunoglobulina que sigue naturalmente,
- 10 c) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende:
- i) un ácido nucleico codificante de un polipéptido heterólogo,
- 10 ii) un ácido nucleico codificante de un conector,
- iii) un ácido nucleico codificante de un fragmento de inmunoglobulina que comprende por lo menos los dominios constantes de una cadena de una inmunoglobulina,
- d) una región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenilación.
- 15 11. Kit para la preparación de un plásmido para la expresión de un polipéptido heterólogo en una célula eucariótica que comprende un plásmido que comprende, en dirección 5' a 3':
- 20 a) un promotor,
- b) un ácido nucleico codificante de un primer polipéptido que es una secuencia de señal, cuya secuencia de aminoácidos se selecciona de entre el grupo que consiste de las secuencias SEC ID nº 36, 37, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328 y 329,
- 25 c) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende:
- i) un ácido nucleico codificante de un péptido QIWNN (SEC ID nº 472) o una fracción N-terminal del mismo que comprende por lo menos el dipéptido QI,
- 25 ii) un sitio de clonación que comprende por lo menos un sitio de corte de restricción,
- iii) un ácido nucleico codificante de un conector seleccionado de entre el grupo que consiste de las secuencias SEC ID nº 06, 07, 08, 09, 10, 139, 140, 554, 555, 556 y 557,
- 30 iv) un ácido nucleico codificante de un fragmento de inmunoglobulina, que comprende por lo menos los dominios constantes de una cadena de una inmunoglobulina.
- d) una región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenilación.

Figura 1:

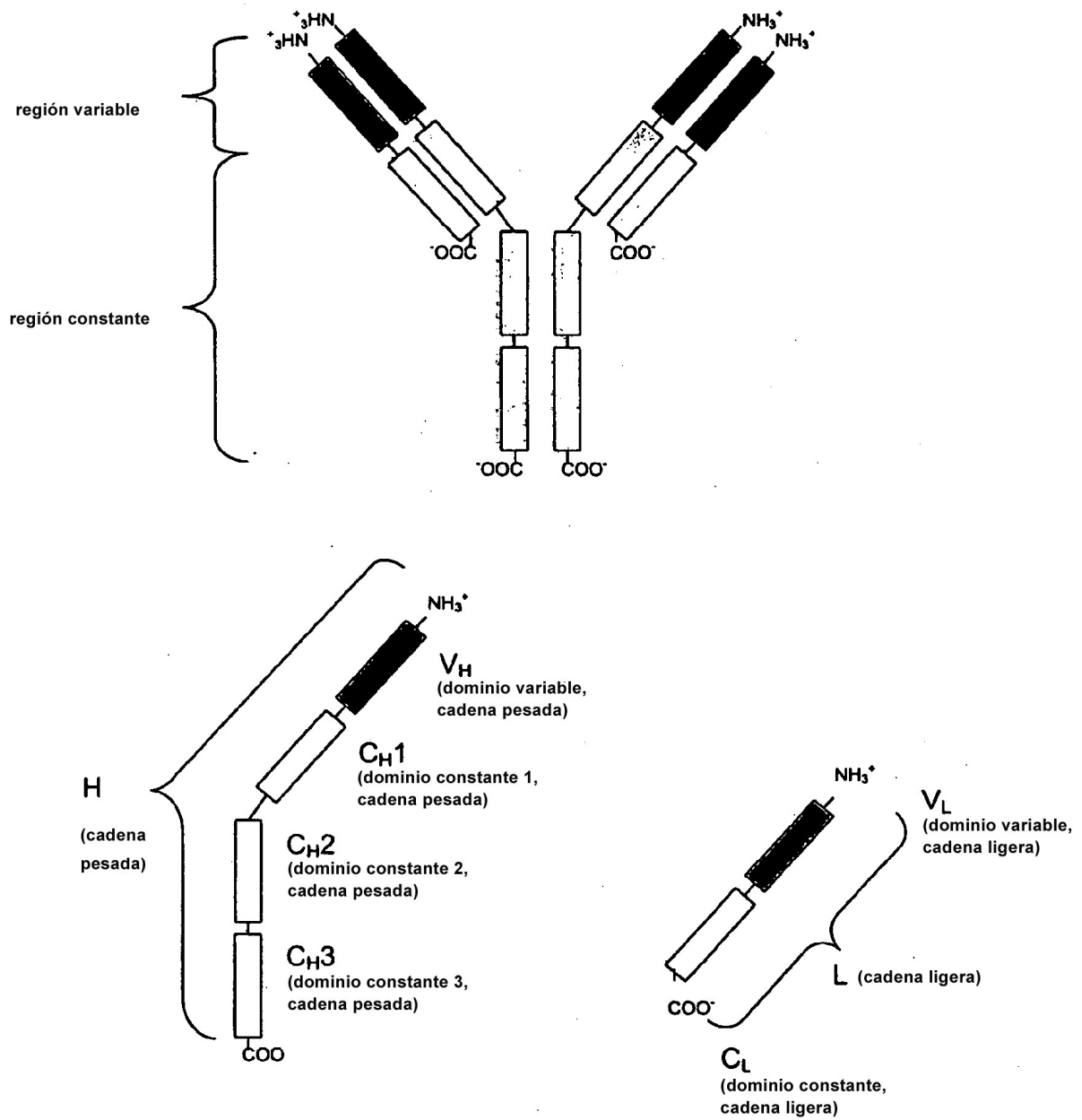


Figura 2

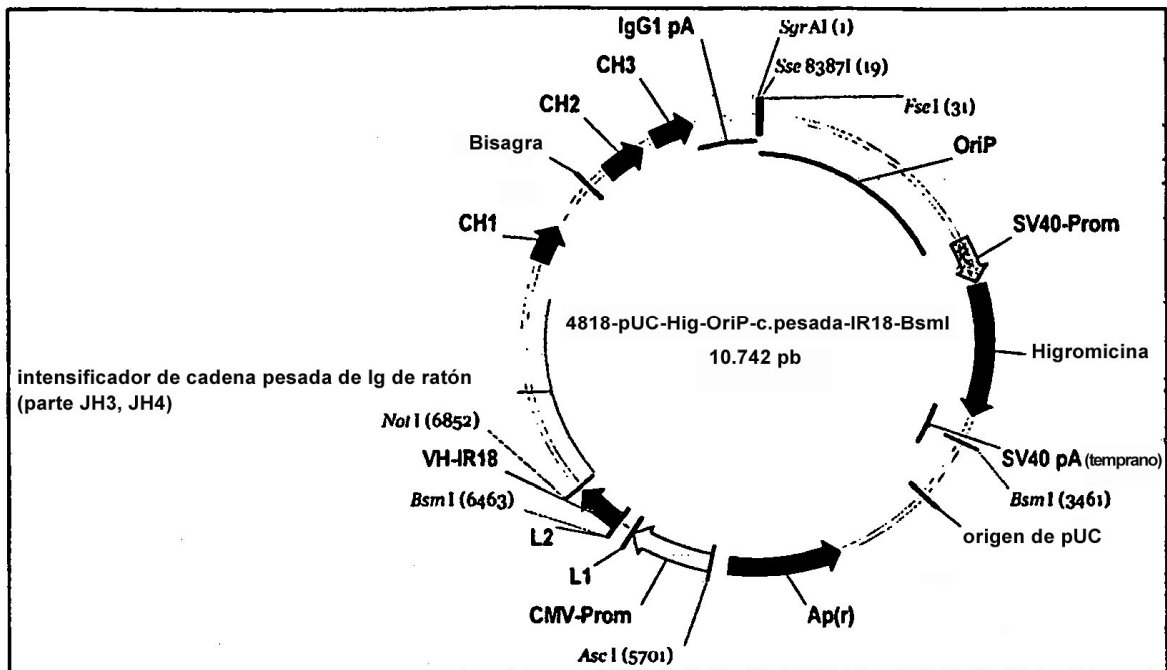


Figura 3

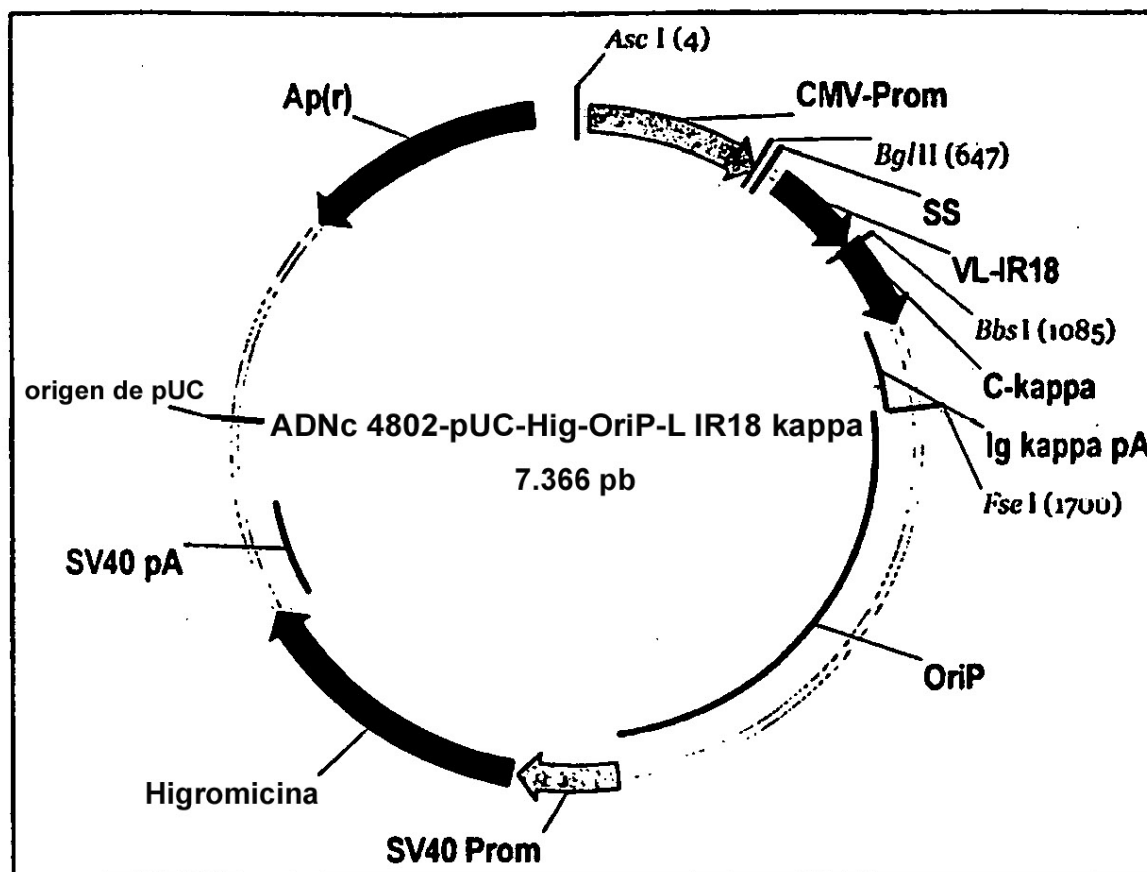




Figura 4

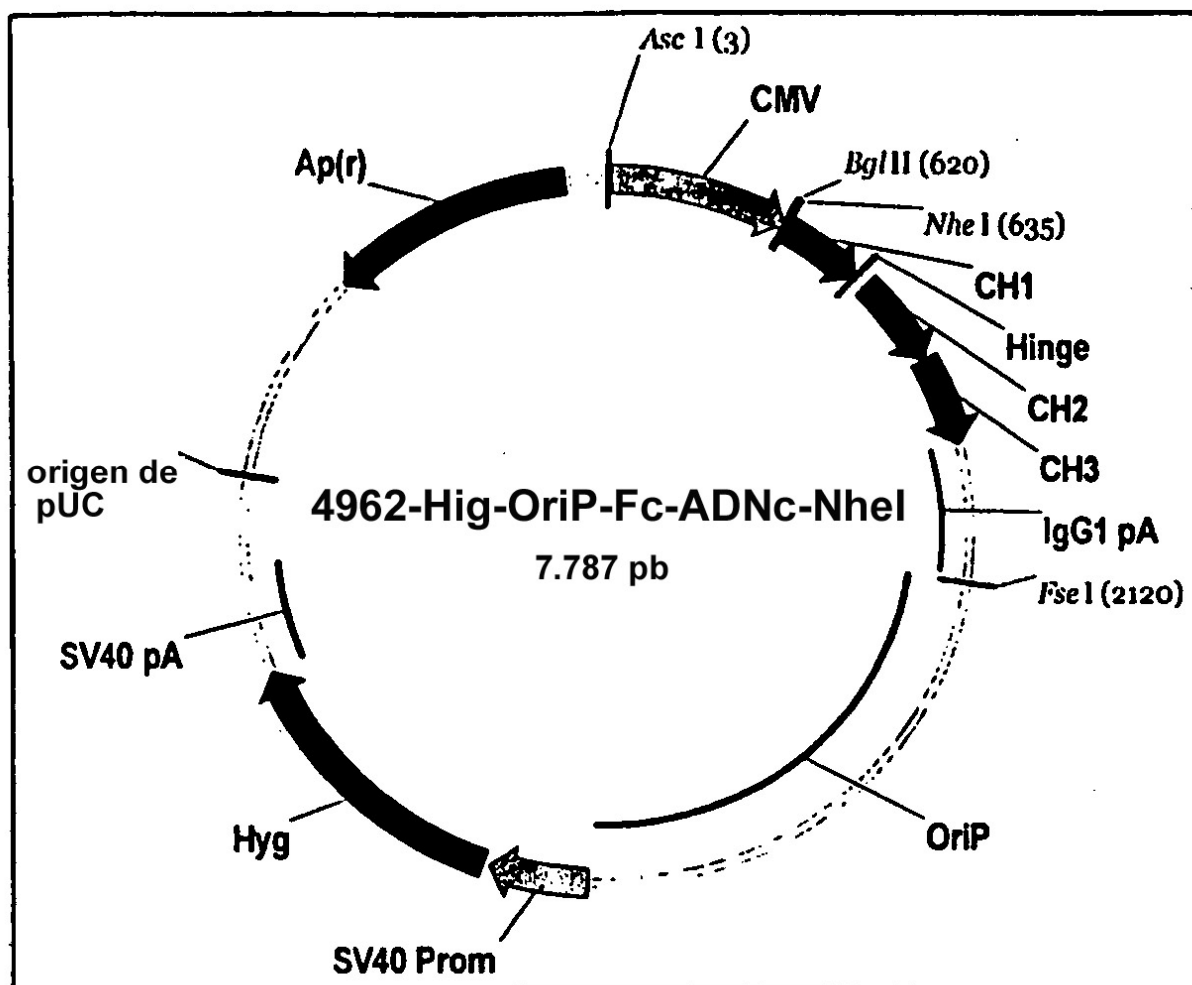


Figura 5

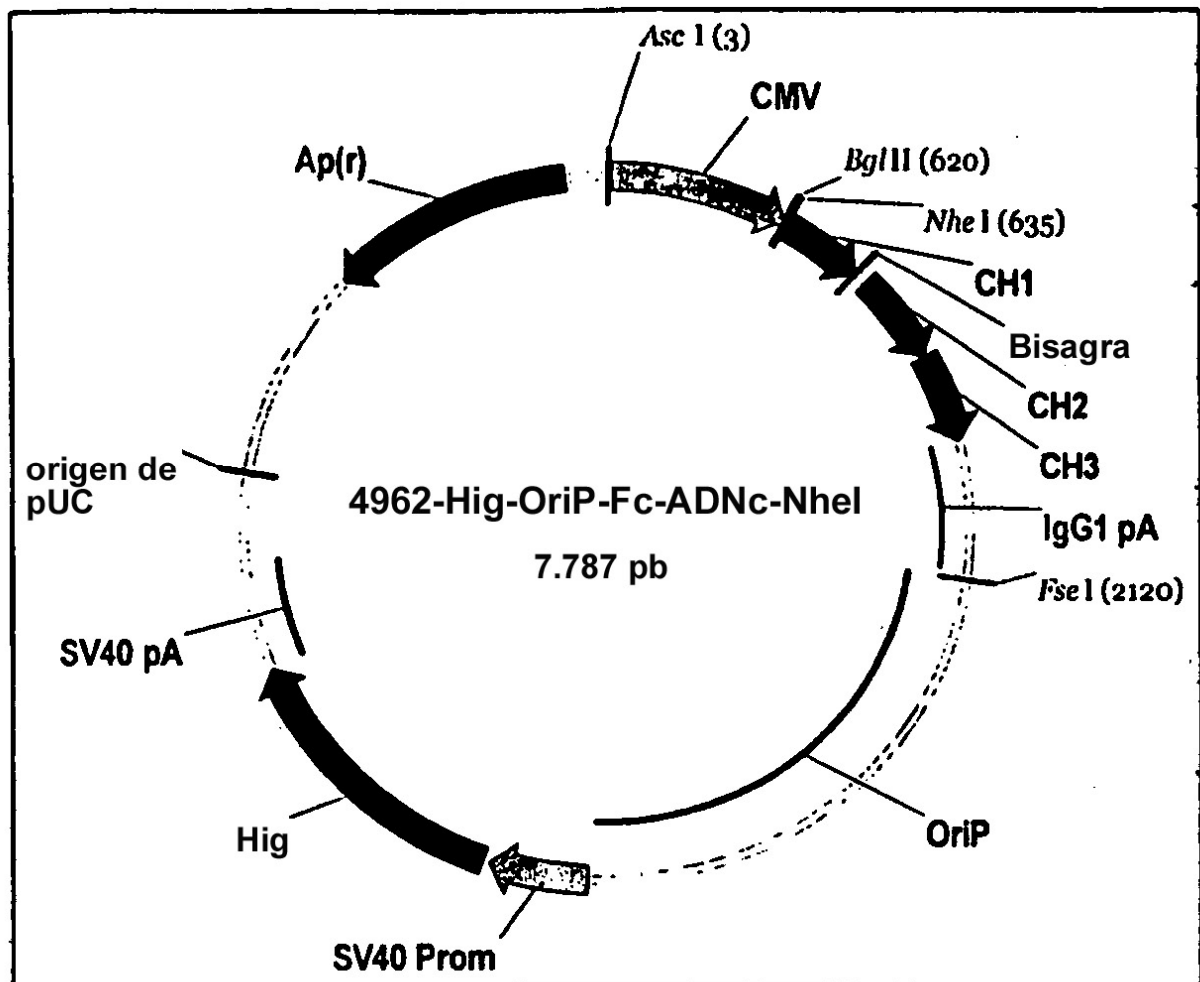


Figura 6

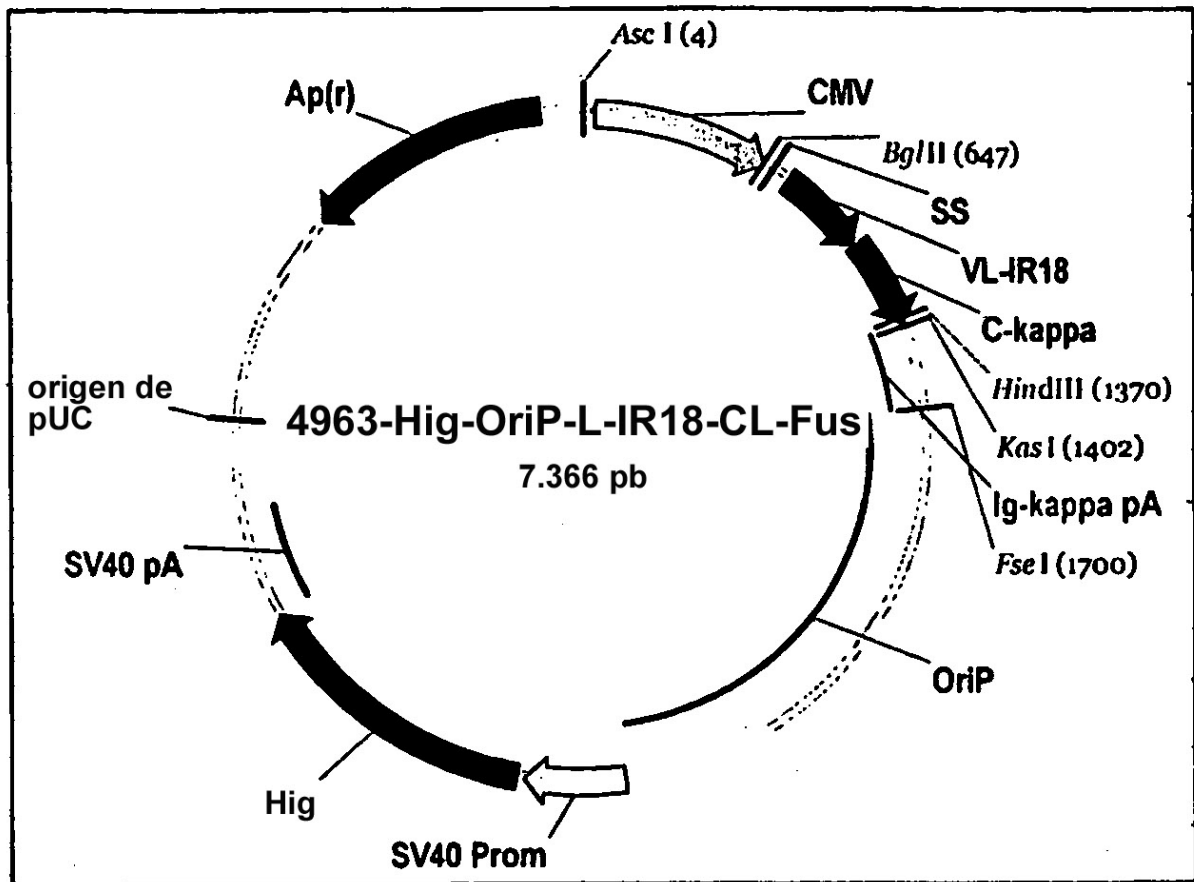


Figura 7a

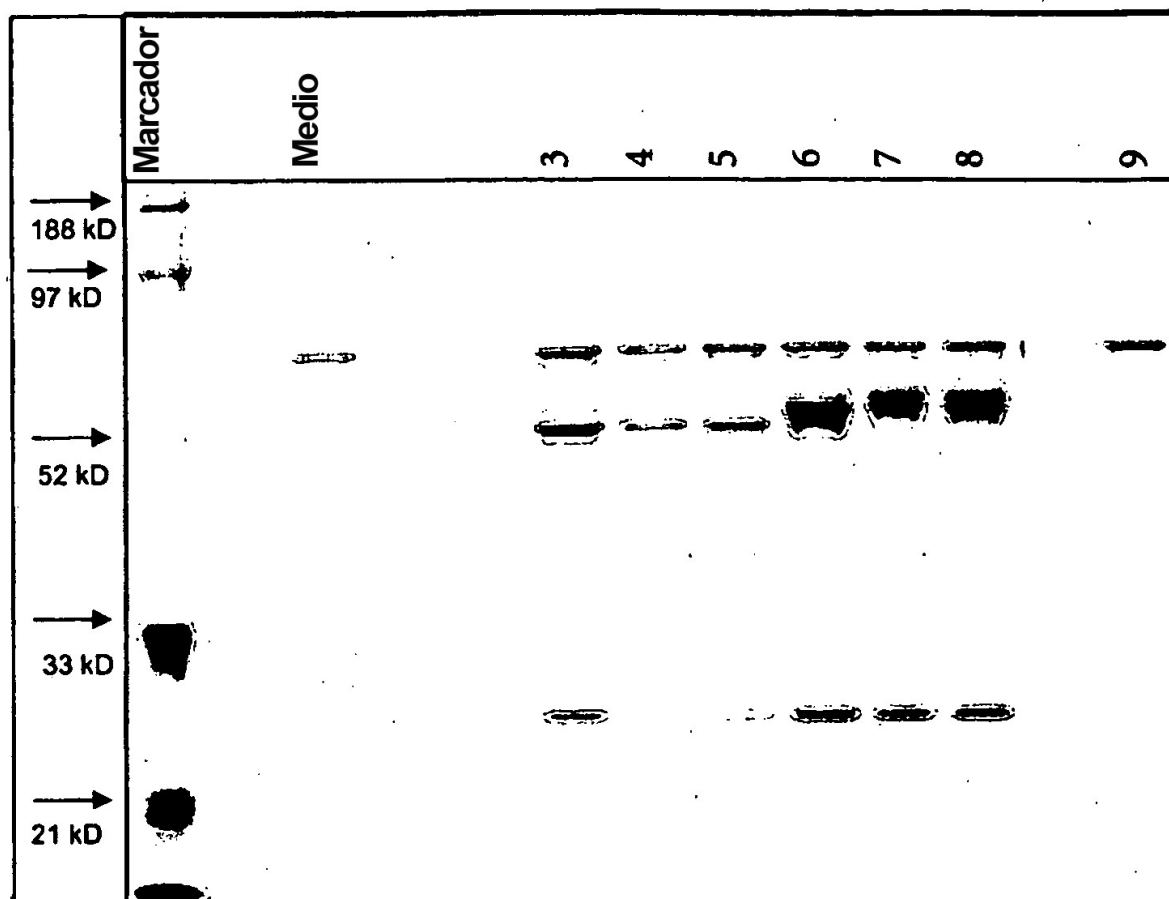


Figura 7b

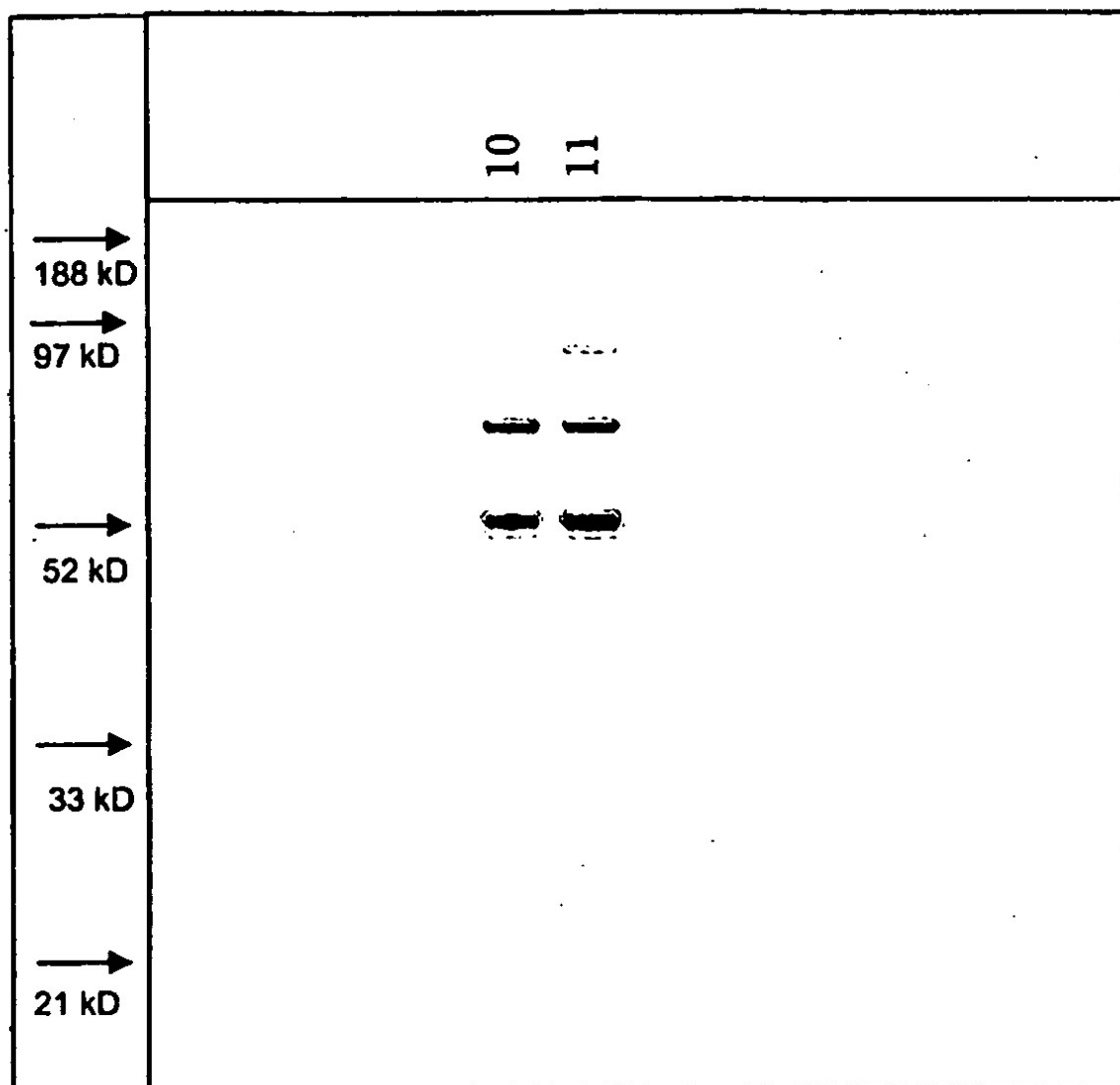


Figura 7c

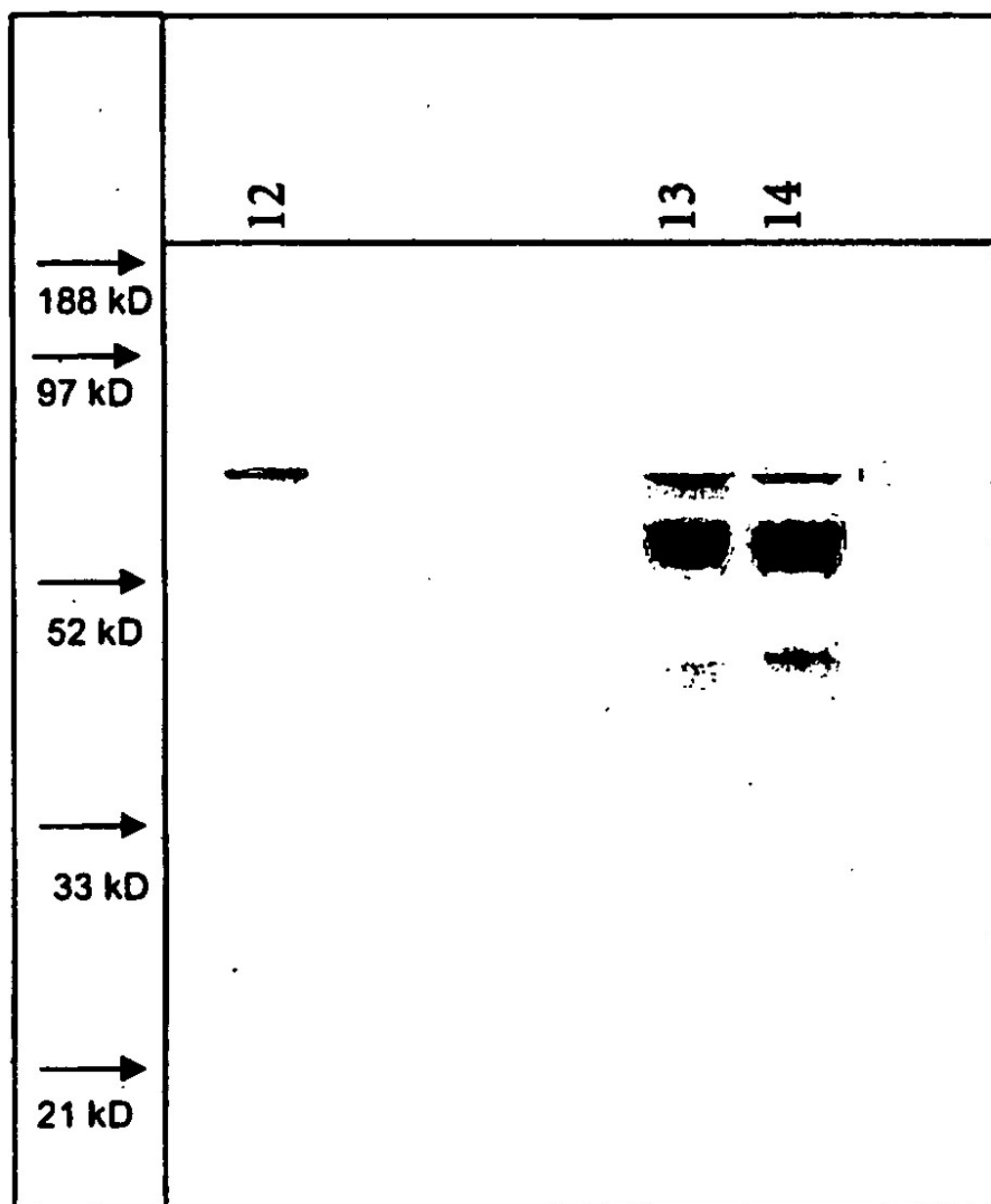


Figura 8a

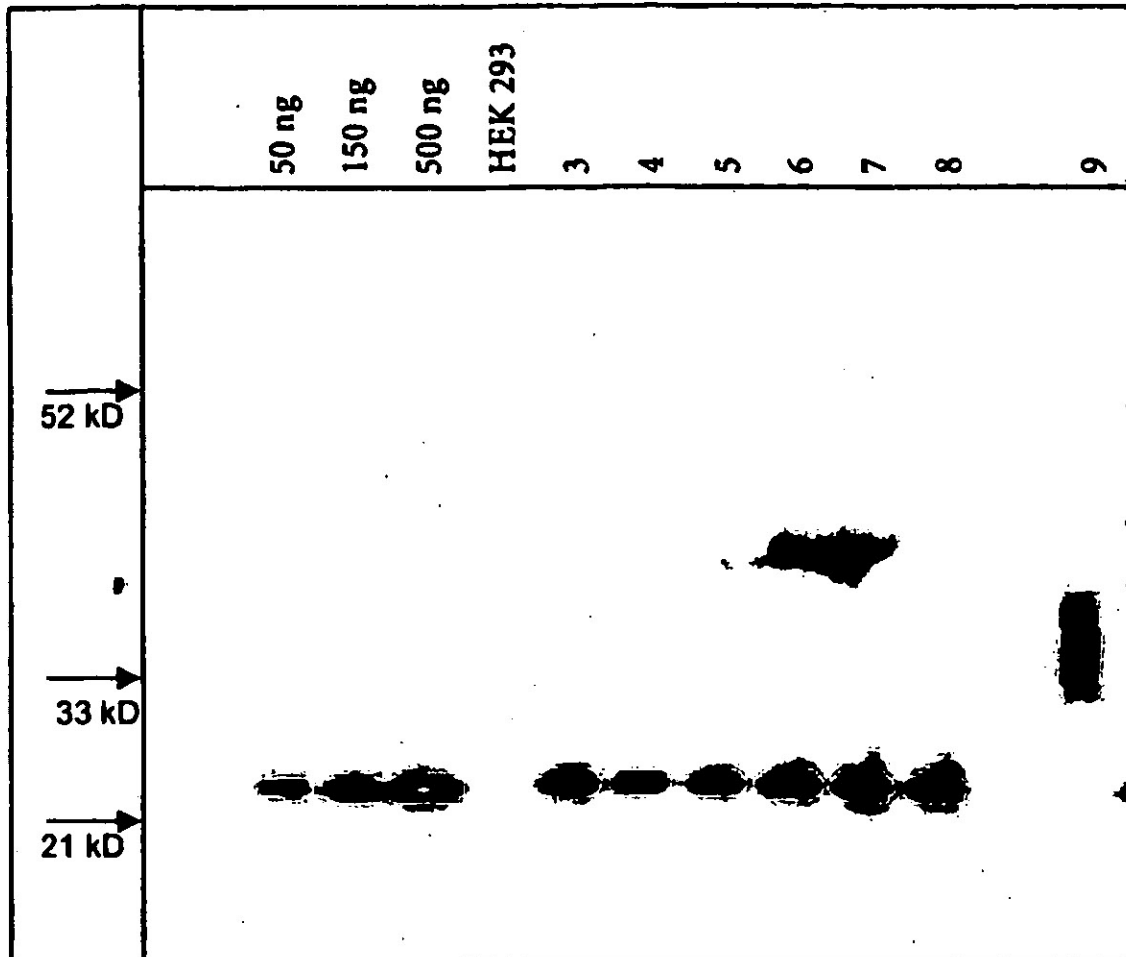


Figura 8b

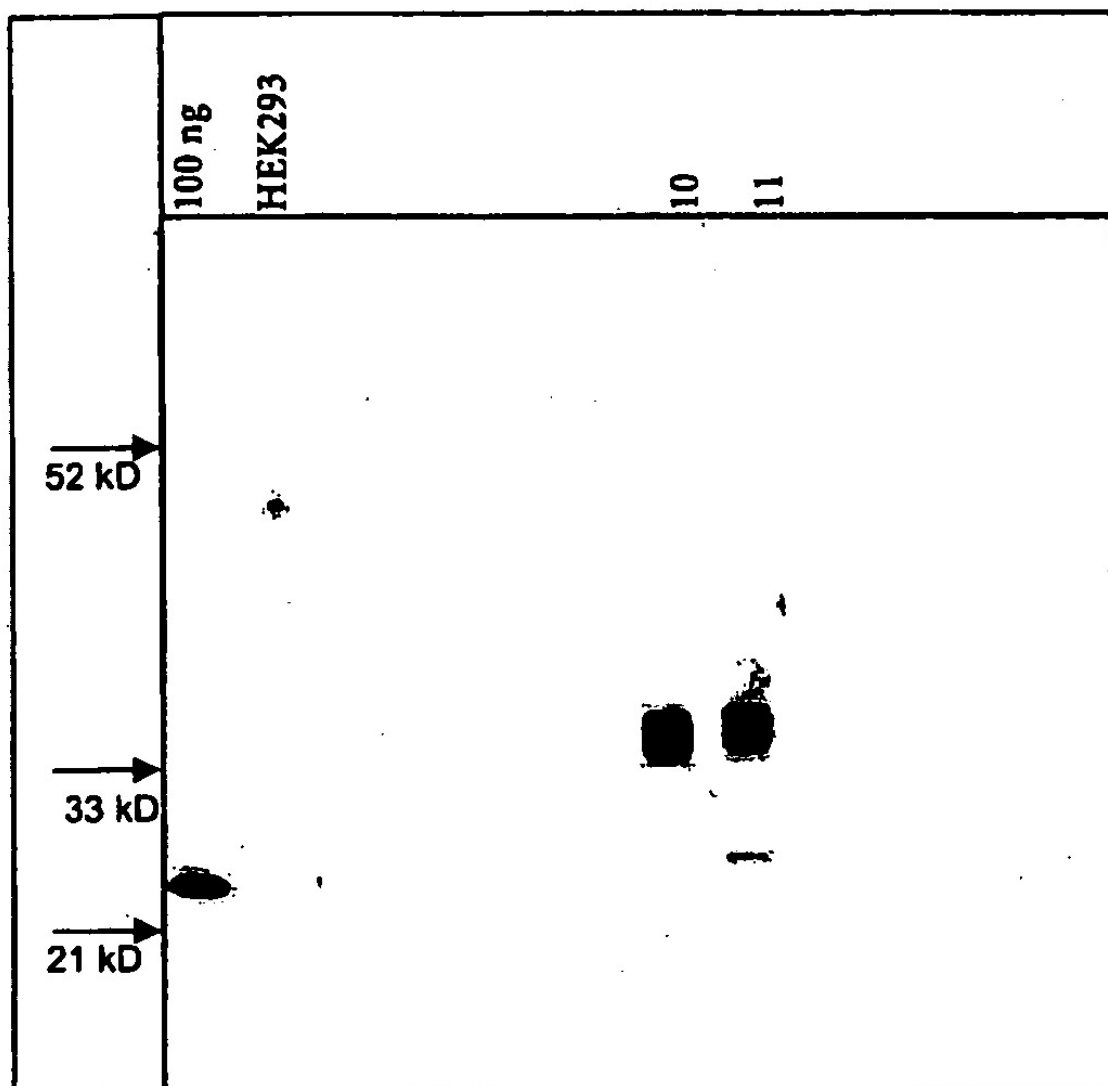
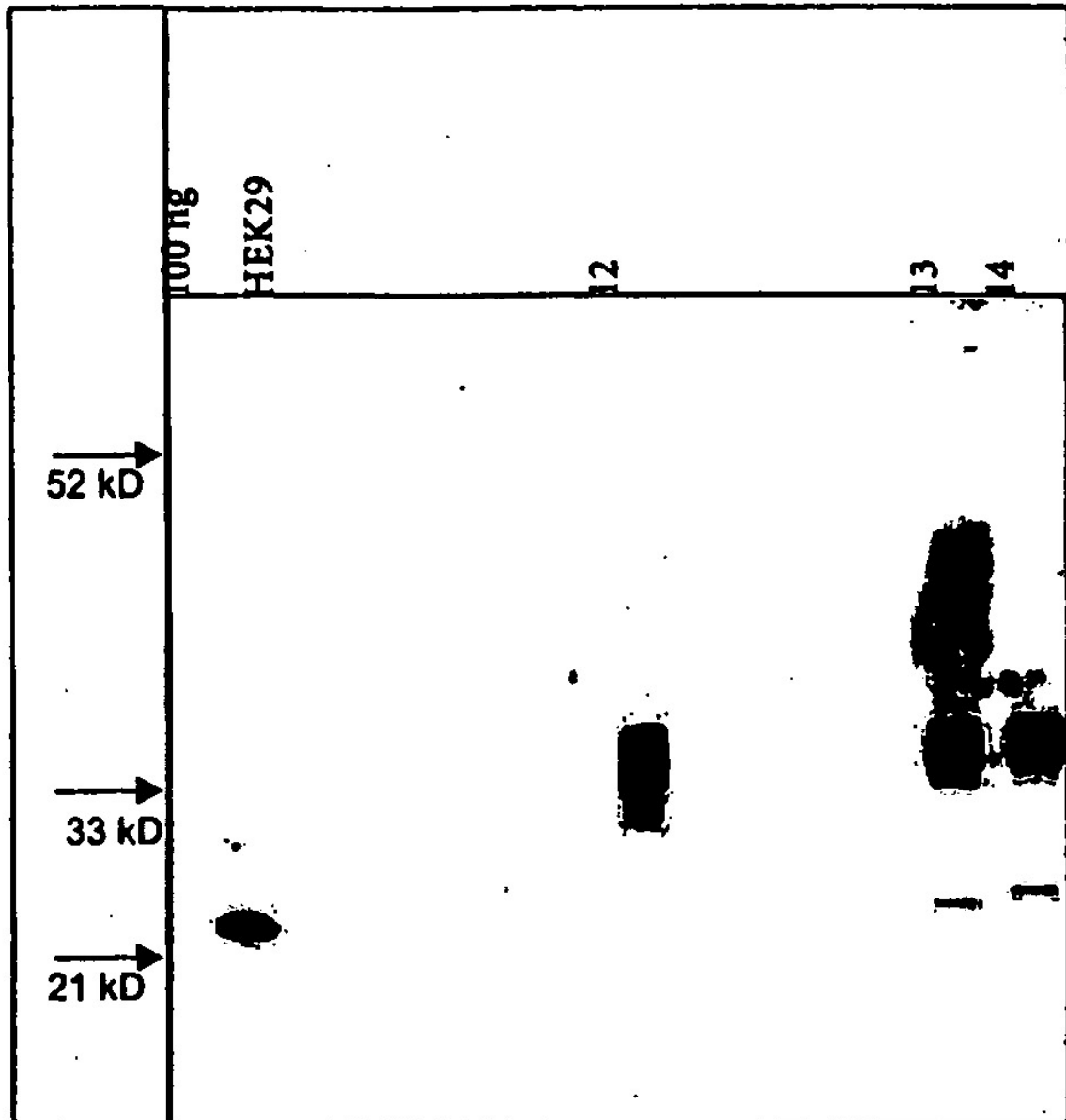




Figura 8c



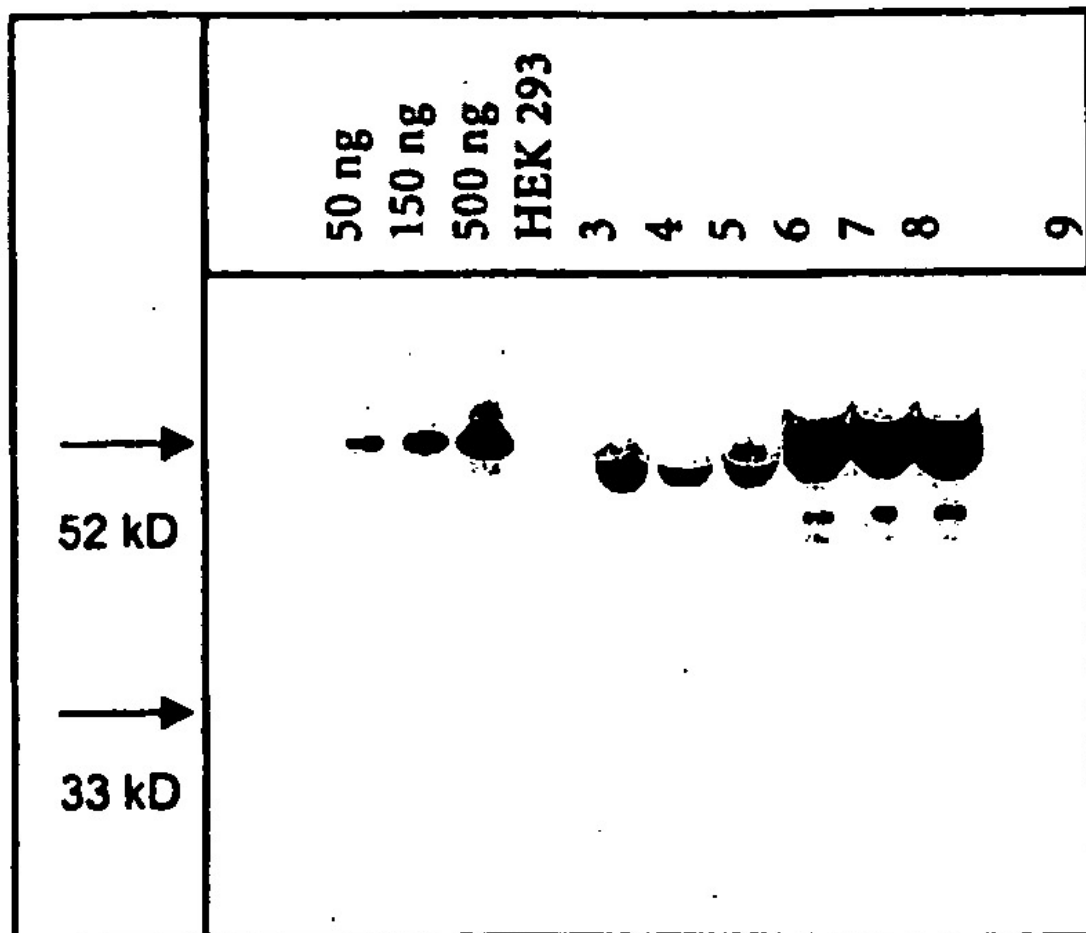
**Figura 9a**

Figura 9b

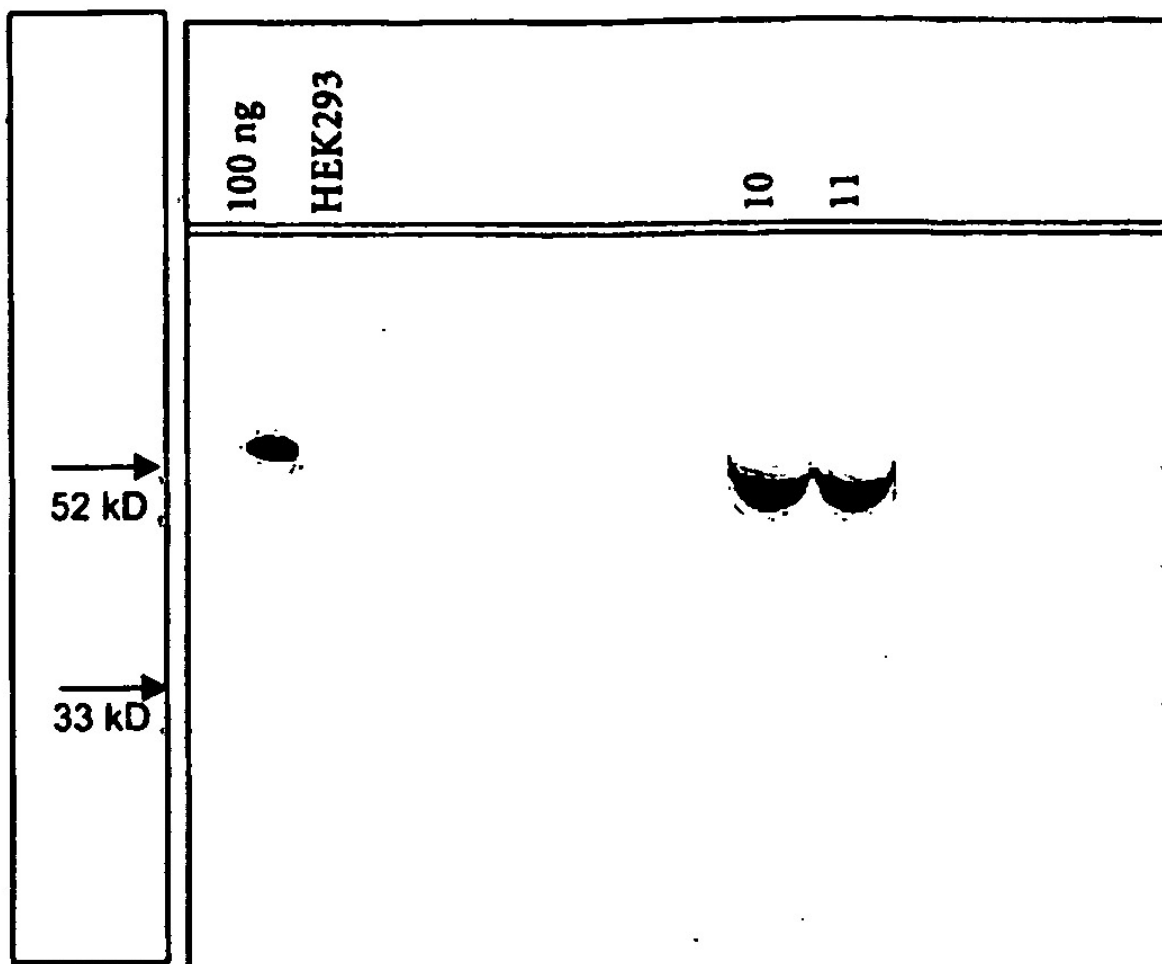


Figura 9c:

