



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

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

⑯ Int. Cl.:

C12N 15/62 (2006.01)

C07K 19/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **06806380 .9**

⑯ Fecha de presentación : **19.10.2006**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1941043**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **09.07.2008**

④ Título: **Método para la expresión recombinante de un polipéptido.**

⑩ Prioridad: **21.10.2005 EP 05023003**
24.05.2006 EP 06010665

⑦ Titular/es: **F. Hoffmann-La Roche AG.**
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

⑤ Fecha de publicación de la mención BOP: **14.06.2011**

⑦ Inventor/es: **Kopetzki, Erhard**

⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente: **14.06.2011**

⑦ Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 361 188 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para la expresión recombinante de un polipéptido

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

5 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, 10 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, 15 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 marcaor 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 20 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 25 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.

30 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 α de *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia* y *Hansenula*, estando el 35 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 40 dicho presegmento se liga en el mismo marco de lectura al fragmento de ADN codificante de un polipéptido de interés.

45 En la patente WO nº 98/28427, se informa de una proteína de fusión preparada genéticamente 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 químérica, 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.

50 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.

55 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 inmunoconjunto 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 d 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.

10 20

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 QIWNN (SEC ID nº 472) o un fragmento del mismo.

25 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.

30 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.

35 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_H1, la región bisagra, el dominio C_H2, el dominio C_H3 de una cadena pesada, o el dominio C_L de una cadena ligera. Además, el fragmento de inmunoglobulina comprende un fragmento de dominio variable.

40 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.

45 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.

50 55 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.

50 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.

55 60 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.

- 5 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 QIWNN (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 10 15 región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenilación.

Descripción detallada de la invención

- 20 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_L 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_L de una inmunoglobulina o el primer dominio constante de una inmunoglobulina.

- 25 30 Dentro del alcance de la presente invención algunos de los términos utilizados se define 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 aislan o se sintetizan por medios 35 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.

- 40 45 50 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 45 55 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.

- 55 60 La expresión "gen de resistencia" o "marcador seleccionable", que se utilizan intercambiablemente 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 5 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 nº 92/08796 y nº 10 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 15 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 transrito 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 20 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 25 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 30 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 35 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 40 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 45 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 50 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 55 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 60

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 transcripto 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 intercambiablemente con "orientado 3' respecto a"). A l 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 transcripto policistrónico en una célula eucariótica, la traducción se iniciaría a partir de la mayoría de sitios de inicio 5' de la traducción, terminaría en el primer codón de parada y el transcripto resultaría liberado del ribosoma, resultando en la traducción de únicamente el primer polipéptido codificado en el ARNm. En una célula eucariótica, un transcripto policistrónico que presente un IRES operablemente ligado al segundo o posterior marco de lectura abierta en el transcripto permite la traducción secuencial de dicho marco de lectura abierta cadena abajo para producir los dos o más polipéptidos codificados por el mismo transcripto. 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

5 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 10 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.

15 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 transcrita a partir de una secuencia seleccionada puede cuantificarse mediante PCR o mediante hibridación 20 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).

25 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.

30 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".

35 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.

40 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.

45 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 50 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".

55 Un "vector de cloanción" es una molécula de ácidos nucleicos, tal como un plásmido, cósmido, fagérido o cromosoma artificial bacteriano (BAC), que presenta la capacidad de replicarse autónomamente en una célula huésped. Los vectores de clonación típicamente contiene 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. 60 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

- 5 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
- 10 promotor nuclear se encuentran operablemente ligados en el caso de que el elemento regulador module la actividad del promotor nuclear.

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

- 15 15 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
- 20 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.

- 25 25 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)₂, 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).

- 35 35 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).

- 40 40 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).

- 45 45 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_H1, la región bisagra, los dominios C_H2 y C_H3 y opcionalmente C_H4 de una cadena pesada de una inmunoglobulina o el dominio C_L 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.

- 55 55 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 una casete de expresión para evitar que la ARN polimerasa siga leyendo, paratricularmente 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.

- 60 60 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 tla 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).

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

35 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 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.

55 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 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	MEFQTQVLMSSL CMS MESQTQVLMFLLLWVS MVSTPQFLVFLFW1P	163 164 165
AD	MESQTLVFI SILLWLY	166
AG	MSVPTQLL GLLL WL T	167
AH	MKSQTQV FIF LLL CVS MKSQTQV FV FLLL CVS	168 169
AI	MDMRVPAQLLG LLLL WL R GARC MDMRVPAQLLG LLLL WL R GARC MDMRVPAQLLG LQLWL SGARC MDMRVPAQLLG LLLL WL SGARC MDMRVPAQLLG LLLL WL PDTRC MDMRVPAQLLG LLLL WF PGARC MDMRVPAQLLG LLLL WF PGARC MDMRVLAQ L L L L C FPGARC MDMRVLAQ L L L L C FPGARC MDMRVPAQ L L L L WL PGARC MDMRVPAQ L L L L WL PGARC MDMRVPAQ L L L L WL PGARC MDMRVPAQ L L L L WL PGSRC MDMRVPAQ L L L L WL PGSRC MDMRVPAQ L L L L WL PGARC MDMRVPAQRLG LLLL WF PGARC MRVPAQ L L L L WL PGARC MDMRVPAQ L L L L WL PGARC MDMRVPAQ L L L L WL PGARC MDMRVPAQ L L L L WL PGAKC MAWISLISL ALSS MAWTSLISL ALCS MRCLAEFLGLL VL WIP	68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 170 171 172
AL	MGWNWIFIL ILSVTT	173
AQ	MRFQVQVLG LLLL WIS	174

5

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MRPSIQFLGLLFWLH	175
AR	MDIRAPAQFLGILLWFP MDMMVLAQFLAFLLLWFP MDMRAPAQFLGILLWFP MDMRAPAQFLGILLWFP MDMRAPAQVFGFLLLWFP MDMRASAQFHGILLWFP MDMRASAQFHGILLWFP MDMWTSAQFLGILLWFL MNTRAPAEFLGFLWWFL MRAPAPFLGLLLFCFL MRTPAPFLGLLLFCFS MSISTQLLGLLLWLT MSLPTQLQGGLLLWLT MSVLTQVLALLLLWLT MSVPTQLLALLLLWLT MSVPTQVLGLLLLWLT DFHMQIFSMLISFT	176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192
AS	MAWTSLILSLLALCS	193
AT	MRCLAEFLRLLVLWIP	194
CQ	MPWALLLTLTHSAVSW	138
DA	MKLPVRLVLMFWIPSSS	195
DI	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC MDMRVLAQLLGLLLLCPGARC MDMRVLAQLLGLLLLCPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA	68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 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
	MRLLAQQLLGLLMLWVPGSSG	95
	MVLQTQVFISLLLWISGAYG	103
	MDIRAPAQFLGILLLWFPARC	196
	MDMMVLAQFLAFLLLWFPARC	197
	MDMRAPAPAQFFGILLLWFPIRC	198
	MDMRAPAPAQFLGILLLWFPARC	199
	MDMRAPAPAQIFGFLLLLFQTRC	200
	MDMRAPAPAQVFGFLLLWFPARC	201
	MDMRASAQFLGFLLLWFPP	202
	MDMRDPPQFLAFLLLWIP	203
	MDMRTPAQFLGILLLWFPIKC	204
	MDMRVPAHVFGFLLLWFPTRC	205
	MDSQAQVLILLLLWVSTCG	206
	MDSQAQVLMLLLLWVSTCG	207
	MDSQAQVLMLLLLWVSTCG	208
	MDSQARVLMLLLWVSTCG	209
	MEFQTQVFVFVLLWLSVDG	210
	MEFQTQVLMSSLLCMSACA	211
	MEKDTLLWVLLLWVPSTG	212
	MESDTLLWVLLLWVPSTG	213
	MESQIQAQFVFVFLWLSVDG	214
	MESQIQAQFVFVFLWLSVDG	215
	MESQNHVLMFLLLWVSTCG	473
	MESQTHVLMFLLLWVSTCG	474
	MESQTQVFVYMLLWLSVDG	475
	MESQTQVLISLLFWVSTCG	476
	MESQTQVLMFLLLWVSACA	477
	MESQTQVLMSSLLFWVSTCG	478
	METDPLLLWVLLLWVPSTG	479
	METDTILLWVLLLWVPSTG	480
	METDTLLWVLLLWVPSTG	481
	METDTLLWVLLLWVPSTG	482
	METHSQVFVYMLLWLSVEG	483
	MGFKMESHTQAFVFAFLWLSVDG	484
	MGVPTQLLLWLTVR	485
	MIASAQFLGLLLCFQTRC	486
	MKFPSQLLFLFRITIIC	487
	MKFPSQLLLLLFGIPMIC	488
	MMSSAQFLGLLLCFQTRC	489
	MMSSAQFLGLLLCFQTRY	490
	MNMLTQLLGLLLWFAGKC	491
	MRCLAEFLGLLVLWIPAG	492
	MRCLAEFLRLLVWIPATG	493
	MRCSLQFLGVLMFWISVSG	494
	MRFSAQLLGLLVLWIPSTA	495
	MRPSIQFLGLLLFWLHAQC	496
	MRVLAELLGLLFCFLVRC	497

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE MRLPAQLLGLLMLWVPGSSE MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG MRLPAQLLGLLMLWVPGSSG MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA MRLPAQLLGLLMLWIPGSSA MRLPAQLLGLLMLWVGSSG MRLPAQLLGLLMLWVGSSG MRLLAQLLGLLMLWVPGSSG MLPSQLIGFLLLWVPASRG MLPSQLIGFLLLWVPASRG MVSPLQFLRLLLLWVPASRG LILKVQC LVLKVLC MDMRASAQFHGILLWFPARC MKLPVLLWLLLFTSPSSS MKLPVRLLVLMFWIPSSS MMSPAQFLFLVLWIQTNG MMSPAQFLFLVLWIRTN MMSPVHSIFILLWIVISG MMSPVQFLFLMLWIQTNG MNFGRLIRFLVTLKVQC MNLPVHLLVLLLFWIPS MNTRAPAEFLGFLLLWFLARC MRFQVQLGLLLLWISAQC MRVLSLLYLLTAIPGILS	498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508
DR	MSLLTQLQGLLLLWLT	216
DV	M ETPAQLLFLLLWLPDTTG METPAQLLFLLLWLPDTTG MEAPAQLLFLLLWLPDTTG MEAPAQLLFLLLWLPDTTG MEAPAQLLFLLLWLPDTTG MEAPAQLLFLLLWLTD MEPWKPQHSFFFLLLWLPDTTG MLPSQLIGFLLLWVPASRG MLPSQLIGFLLLWVPASRG MVSPLQFLRLLLLWVPASRG	87 88 89 90 91 92 93 94 95 105 106 107 217 218 219 220 , 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230
EI		96 97 98 99 100 101 102 105 106 107

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MDFHVQIFSMLISVTILSSG MDFQMQIISLLLISVTIVSNG MDFQVQIFSFLLISVTILTNG MbMRAPAQFLGILLWFPARC MNFHVQIFSMLISVTIGSSG MTMLSLVLLSFLLCRSA MVSTPQFLVFLLFWIPACG TELICVFLFLLSVTAILSSG	231 232 233 234 235 236 237 238
EI	MDCGISLVFLVLILKVC	239
EM	MDMWVQIFSLLLLCVTSKG	240
EN	LLISVTIMSRG MDFQVQIFSFLLISASIMSRG MDFQVQIFSFLLISIVMSRG MDFQVQIFSFLLISVSIMSRG MDLQVQIISFLIIVTIMSRG	241 242 243 244 245
ET	MGSQVHLLSFLLWISDTRA MGEQRIRRSCHATSGAESAR MGSQVHLLSFLLWISDTRA MTMFSLALLSLLLLCVSSRA MTMLSLAPLLSLLLLSRA MXTMDEHESGAVTAPHQVLKSRA	104 246 247 248 249 250
EV	MDWTWRILFLVAAATGAHS MDWTWRILFLVAAATGAHS MDWTWRILFLVAAATSAHS MDWTWSILFLVAAPTGAHS MDCTWRILFLVAAATGTHA MDWTWRILFLVAAATDAYS MDWTWRVFCLLAVAPGAHS MDWIWRILFLVGAATGAHS MELGLSWVFLVAILEGVQC MELGLSWIFLAILKGVQC MEFGLSWVFLVAAIKGVQC MELGLSWVFLVAILEGVQC MEFGLSWIFLAAILKGVQC MEFGLSWVFLVAILKGVQC MEFGLRWVFLVAILEGVQC MEFGLSWLFLVAILKGVQC MEFGLSWVFLVALLRGVQC MEFGLSWVFLVALLRGVQC MEFGLSWVFLVAILKGVQC MEFGLCWVPLVAILEGVQC MEFGLSWVFLVAILKGVQC MEFWLSWVFLVAILKGVQC MTEFGLSWVFLVAIFKGVQC MEFGLSWVFLVAILKGVQC MEFGLSWVFLWILQGVQC MEFGLSWVFLVAILKGVQC	28 29 30 31 32 33 34 35 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MGSTAILALLLAVLQGVCS	64
	MGSTAILGLLLAVLQGVCA	65
	IKWSWIFLFLLSGTAVHS	251
	IKWSWISLFLLSGTAVHS	252
	LILKVQC	253
	VLKVQC	254
	MAVVTGKGKPSPKLEVNS	255
	MDFGLIFFIVALLKVQC	256
	MDFGLSLVFLVLILKVQC	257
	MDMRASAQFHGILLWFPARC	258
	MEWELSIFIFALLKDVQC	259
	MEWSCIFLFLLSVTAVHS	260
	MEWSCIFLFLLSVTAIHS	261
	MEWSWIFLFLLSGTAVLS	262
	MGWNWIFILILSVTTALS	263
	MGWSCIILFLVATATVHS	264
	MGWNWIFILILSVTTVHS	265
	MGWSCIMLFLAATATVHS	266
	MGWSWIFFFLLSGTAVLS	267
	MGWSWIFLFLLSGTAVLS	268
	MGWSWIFLFLLSGSAVLS	269
	MGWSWIFLFLLSGSAVHS	270
	MGWSWIFLFLLSGTAVHS	271
	MGWSWIFLFLLSGTAVLS	509
	MGWSWIFLFLLSGTAVLS	510
	MGWSWIFLFLLSGTAVLS	511
	MGWSWIFLFLLSGTAVHS	512
	MGWSWIFLFLLSGTAVLS	513
	MGWSWVFLSFLSGTAVLS	514
	MKCSWVVIFFLMAWIINS	515
	MKLWNWILLVALLNIQC	516
	MLLGLKWKVFFWFYQGVHC	517
	MLLGLKWKVFFWFYQGVHC	518
	MMVSLLLYLLTALPGILS	519
	MNFGLSLIFLVLILKVQC	520
	MQLGHLLPDGSVNS	521
	MVSETHVLIFLLLWVSVHC	522
	RSVPTQLLGLLLLWLTVNS	523
GH	MGWSYIILFLVATAT	272
GI	IDINVQIFRFLLISVTSSG	273
GK	MNMLTQLLGLLLLWFA	274
GR	MRTPAHFLGLLLLCL	275
HV	MRWSCIIFLVATATVHS	276
IG	MNFHVQIFSFMILISVT	277
IH	MEWSCIFLFLLSVTA	278
II	MDFQVQIFQIPVKQCL	279
	MDFQVQIFSFLLISAS	280

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MKFPSQLLFLFRIT	281
IK	MDMRTPAQFLGILLWFP	282
IL	MAVLALLFCLVTFPS MDFHVQIFSMLISVT MDFQVQIFSFLISAS MDFQVQIFSFLISR MDFQVQIFSFLISVT TELICVFLFLSVTA	283 284 285 286 287 288
IM	LLISVT MDFQVQIFSFLISAS MDFQVQIFSFLISVS MDFQVQIFSFLISVS MDFQVQIFSFLMSAS MDLQVQIISFLIIVT MHFQVQIFSFLISAS	289 290 291 292 293 294 295
IN	MKCSWVVIFFLMAVVI .	296
IQ	MKLWLNWILLVALLN	297
IR	MDMRAPAQFFGILLWFP	298
IS	MIYSLQLLRMLVLWIP MMSPVHSIFILLWIV MSYSLQLLRMLVLWIP	299 300 301
IT	MSYSLQLLRMLVLWIP	302
IV	MDFQMQIISLLISVT	303
KN	MDFQVQIFQIPVKQCLIIISRG	304
LM	MDFQVQIFSFLISAS	305
LP	MAWVFSYLLPFIFSTGLCA MAWTQLLLLFPPLLHWWTGSSL MAWTPLLFLTLLLHCTGSSL	127 128 129
LR	MRPTLSFLGSCCSSLI	306
MI	MKFPSQLLLLLLFGIP	307
NF	MAW AP LLTLLAHCTGSWA	133
NI	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC . MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC	68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQRLGLLLLWFPGARC MRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQQLGLLLLWLPGAC MESDTLLLWVLLLWVPSTS MESQTLVIFISILLWLYADG MESQTQVFLSLLLWVSTCG METDTLLLWVLLLWVPSTG	81 82 83 84 85 86 308 309 310 311
PV	MGWSCIMLFLAATATVHS MGWSCIMLFLAATATGVHS	312 313
QA	MD M RVP AQ LLGLLLLWLRGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC MD M RVP AQ LLGLLQLWLSGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLSGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPDTRC MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGARC MD M RVL AQ LLGLLLLCFPGARC MD M RVL AQ LLGLLLLCFPGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGSRC MD M RVP AQ LLGLLLLWFPGSRC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC MD M RVP AQ RLGLLLLWFPGARC M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGARC MD M RVP AQ LLGLLLLWLPGAC MAW TP LLLLLLHCTGSL MAW TP LLLLFLSHCTGSL MAW TL LLLVLLSHCTGSL MAW TP LFLFLLTCCPGSNS MAW TP LFLFLL TCCPGSNS MAWISLILSLLALSSAIS IGWSYIILLLVATATVHS MAWTSLILSLLALCSASS MAWTSLILSLLALCSAIS MGWSCVLLFLVSGTAVLC	68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 130 131 132 134 135 314 315 316 317 318
QI	MDT LC STLLLITPSWVLS MDT LC YTLLLLTPSWVLS MDFQVQIFSFLLISASIISRG MDFQVQIFSFLLISASILFRG MDFQVQIFSFLLISASISLRG MDFQVQIFSFLLISASIMSRG MDFQVQIFSFLLISASLMSRG	36 37 319 320 321 322 323

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MDFQVQIFSFLLISRILSRG MDFQVQIFSFLLISVSIMSRG . MDFQVQIFSFLLMSASIMSRG MDTLCSTLLLLTIPSWVLS MGWSWIFLFLLSGTAVHC MHFQVQIFSFLLISASIMSRG	324 325 326 327 328 329
QL	MITT LW FFLLVAAPRWVLS MKH LW FFLLVAAPRWVLS MKH LW FFLLVAAPRWVLP MKH LW FPPLLVAAPRWVLS MKH LW FFLLVAAPRWVLS MKH LW FFLLVAAPRWVLS MKH LW FFLLVAAPRWVLS MKH LW FFLLVAAPRWVLS MAW VS FYLLPFIFSTGLCA M A WTQ LL LFPPLLHWTSGLS M AWT PL LFLTLLLHCTGSLS MAWTPLFFFFVLHCSSFS	56 57 58 59 60 61 62 63 127 128 129 330
QM	MDWTWRILFLVAAATGAHS MDWTWRILFLVAAATGAHS MDWTWRILFLVAAATSAHS MDWTWSILFLVAAAPTGAHS MDCTWRILFLVAAATGTHA MDWTWRILFLVAAATDAYS MDWTWRVFCCLLAVAPGAHS MDWIWRILFLVGAATGAHS MRVLGFLCLVTVLPGSLS	28 29 30 31 32 33 34 35 331
QP	MAWVSYLLPFIFSTGLCA MAWTQLLLFPLLLHWTSGLS MAWTPLLFLTLLLHCTGSLS MAWTPLLLLHSCTGSLS MAWTPLLLLFLSHCTGSLS MAWTLLLVLHSCTGSLS MAWAPLLTLLSLLTGSLS MAWTPLFFFFLHCSSFS	127 128 129 130 131 132 137 332
QS	MAWSPLFLTLTHCAGSWA MAWSPLLLTLLAHCTGSWA MASFPLLLTLLTHCAGSWA MAGFPLLLTLLTHCAGSWA MTCSPLLLTLIHCTGSWA MAWALLLLTLLTQGTGSWA MAWALLLLSLLTQGTGSWA MAWALLLLTLLTQGTGSWA MAWALLLLTLLTQGTGSWA	108 109 110 111 112 113 114 115 116 117
QT	MAWTPLFLFLTCCPGSNS MAWTPLFLFLTCCPGSNS	134 135

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MAWMMMLLGLLAYGSGVDS	136
QV	MDWTWRLFLVAAATGAHS	28
	MDWTWRLFLVAAATGAHS	29
	MDWTWRLFLVAAATSAHS	30
	MDWTWSILFLVAAPTGAHS	31
	MDCTWRLFLVAAATGTHA	32
	MDWTWRLFLVAAATDAYS	33
	MDWTWRFCLLAVAPGAHS	34
	MDWIWRLFLVGAATGAHS	35
	MDTLCSTLLLTTPSWVLS	36
	MDTLCYTLTTTPSWVLS	37
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	38
	MELGLSWIFLLAILEKGVQC	39
	MEFGLSWVFLVAAIKGVQC	40
	MELGLSWVFLVAILEGVQC	41
	MEFGLSWIFLAILEKGVQC	42
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	43
	MELGLRWVFLVAILEGVQC	44
	MEFGLSWLFLVAILKGVQC	45
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	46
	MEFGLSWVFLVALLRGVQC	47
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	48
	MELGLCWVFLVAILEGVQC	49
	MEFGLSWVFLVAILKGVQC	50
	MEFWLSWVFLVAILKGVQC	51
	MTEFGLSWVFLVAAIFKGVQC	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
	MDWTWRLFLVAAATGAHS	67
	IFLFLLSITAVHC	333
	KGGSCVSLFLVATANVHF	334
	MAVLALLFCLVTFPSILS	335
	MAVLGLLFCLVTFPSVLS	336
	MAVLGLLLCLVTFPSVLS	337
	MAWSWVFLFLSFTTVHS	338
	MDWIWIMLHLLAATGIQS	339
	MECSWVFLFLSLTAVHC	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 MEWSGVFIFLLSVTAVHS MEWSGVFIFLLSVTAVYS MEWSRVFIFLLSVTAVHS MEWSWVFLFFLSSVTAVHS MEWSWVFLFLLSLTSVHS MGRLTFSFLLLPVPAVLS MGWSCIIFFLVATATVHF MGWSCIILFLVAAANVHS MGWSCIILFLVAAATVHS MGWSCIILFLVATATVHS MGWSCIILFLVSTATVHS MGWSCIILILVAAATVHS MGWSCIILILVAAATVHS MGWSCIILILVAAATVQF MGWSCIMLFLAARATVHS MGWSCIMLFLAATATVHF MGWSCIMLFLAATATVHF MGWSCIMLFLAATATVHS MGWSCIMLFLAATATVHS MGWSCIMLFLAATATVHS MGWSFLPLFLAATATGVHS MGWSRIFLFLLSITAVHC MGWSSIILFLVATATVHS MGWSWIFPFLLSGTAVHC MGWSYIIFFLVATATVHF MGWSYIIFFLVATATVHS MGWSYIIFLFLVATATGHS MGWSYIIFLFLVATATVHS MGWSYIIFLFLVATATVNS MRWSCIIILFLVATATVHS	342 343 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553
SA	METPASFLCLLLLWTT	344
SF	MAWTPLFFFFLLHCS MAWTPLFFFFVLHCS	345 346
SI	MKSQTQVFIFLLCVSAHG MKSQTQVFVFLLCVSAHG	347 348
SK	MDMWVQIFSLLLCVTT	349
SR	MXTMDEHESGAVTPHQVLK MGEQRIRSCHATSGAE MNLPVHLLVLLLFWIP MTMFSLALLSLLLLCVS MTMLSLAPLLSLLLL MTMLSLVLLLSFLLLC MVFTPQILGLMLFWIS MVLGLKWKVFFVVFYQ MVSTSQLLGLLLFWTS	350 351 352 353 354 355 356 357 358

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	PAQFLFLVLWIQ	359
SS	MAWIPFLGVILAYCTGSVA MAWTALLSLLAHFTGSVA MAWTPLLLPLLTFCCTVSEA MAWIPLLLPLLTCTGSEA MAWTPWLTLTLCIGSVV MAWTVLLGLLSHCTGSVT MAWATLLPLLNLYTGSIA MAWIPLLLPLLTCTGSEA MAWIPLLLPLLILCTVSVA IDINVQIFRFLLISVT MKLPVLLWLLFTSP MKLPVRLLVLMFWIP MKLPVRLLVLMFWIP	118 119 120 121 122 123 124 125 126 360 361 362 363
ST	MEKDTLLWVLLWVP MESDTLLWVLLWVP MESDTLLWVLLWVP METDPLLLWVLLWVP METDTILLWVLLWVP METDTLLWVLLWVP METDTLLWVLLWVP METDTLLWVLLWVP MRFSAQQLGLLVLWIP MVFTPQILGLMLFWIS	364 365 366 367 368 369 370 371 372 373
SY	MAWIPFLGVILAYCTGSVA MAWTALLSLLAHFTGSVA MAWTPLLLPLLTFCCTVSEA MAWIPLLLPLLTCTGSEA MAWTPWLTLTLCIGSVV MAWTVLLGLLSHCTGSVT MAWATLLPLLNLYTGSIA MAWIPLLLPLLTCTGSEA MAWIPLLLPLLILCTVSVA	118 119 120 121 122 123 124 125 126
TC	MDSQAQVLILLWVS MDSQAQVLMLLWVS MDSQAQVLMLLWVS MDSQARVLMLLWVS MESQNHVLMFLLWVS MESQTHVLMFLLWVS MESQTQVFLSLLWVS MESQTQVLISLLFWVS MESQTQVLMMSLLFWVS	374 375 376 377 378 379 380 381 382
TG .	METPASFLCLLLWTTSAV	383
TN	QHGHEGLCSVWVPVA MMSPAQFLFLVLWIQ MMSPAQFLFLVLWIR MMSPVQFLFLMLWIQ	384 385 386 387

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
TR	MIASAQFLGLLLLCFQ MMSSAQFLGLLLLCFQ MMSSAQFLGLLLLCFQ MDMRAPAPAQIFGFLLLLFQ MDMRVPAPHVFGFLLLWFP	388 389 390 391 392
VC	MDCGISLVFLVLILK	393
VD	MEFQTQVFVFVLLWLS MESQIQAQVFVFVFLWLS MESQIQVFVFVFLWLS MESQTQVFVYVYMLLWLS MGFKMESHTQAFVFAFLWLS	394 395 396 397 398
VE	METHSQVFVYVYMLLWLS	399
VH	MEWLXXFLLFLSLTA MEWSCIFLFLLSVTA MEWSGVFIFLFLSVTA MEWSRVFIFLFLSVTA MEWSWVFLFFLFLSVTT MEWSWVFLFLLSLTS MGWNWIFILILSVTT MGWSCIIFFLVATAT MGWSCIILFLVAAAN MGWSCIILFLVAAAT MGWSCIILFLVATAT MGWSCIILFLVATAT MGWSCIILFLVSTAT MGWSCIILILVAAAT MGWSCIILILVAAAT MGWSCIMLFLAARAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSCIMLFLAATAT MGWSSRIFLFLLSITA MGWSSIIILFLVATAT MGWSWIFLFLLSGSA MGWSWIFLFLLSGTA MGWSWIFLFLLSGTA MGWSWIFLFLSGTA MGWSWIFPFLLSGTA MGWSYIIFFLVATAT MGWSYIIFFLVATAT MGWSYIILFLVATAT MGWSYIILFLVATAT	400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MGWSYIILFLVATAT MLLGLKWVFFWFYQ MRWSCIIILFLVATAT MRWSCIIILFLVATAT MVSETHVLIFLLLWVS IFLFLLSITA IGWSYIILLLVATAT IKWSWIFLFLSGTA IKWSWISLFLSGTA KGGSCVSLFLVATAN MAWSWVFLFFLSVTT MECSWVFLFLSLTA	435 436 437 438 439 440 441 442 . 443 444 445 446
VI	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC MDMRVPAQLLGLLQLWLSGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC MDMRVPAQRLGLLLLWFPGARC MRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC MDMRVPAQLLGLLLLWLPGAKC MIYSLQLLRMLVLWIPISK MSYSLQLLRMLVLWIPISK MSYSLQLLRMLVLWIPIKT	68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 447 448 449
VL	LVLK MAVLGLLFCLVTFPS MAVLGLLLCLVTFPS MDRLTSSFLLLIVPA MEWSWIFLFLSGTA MGRLTFSFLLLPVPA MGWSCVLLFLVSGTA MGWSWIFFFLSGTA MGWSWIFLFLSGTA MGWSWIFLFLSGSA MGWSWIFLFLSGTA MGWSWIFLFLSGTA MGWSWIFLFLSGTA MGWSWIFLFLSGTA	450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 . 462 463

(continuación)

el segundo polipéptido se inicia con los aminoácidos	secuencia de aminoácidos del primer péptido (secuencia de señal)	SEC ID nº
	MGWSWVFLSFLSGTA	464
VM	MDFQVQIFSFLLISIS	465
VN	MAVVTGKGLPSPKLE MGWSYIILFLVATAT MQLGHLLPDGS RSVPTQLLGLLLLWLT	466 467 468 469
VQ	LILK LVLK MDFGLIFFIVALLK MDFGLSLVFLVLILK MGWSCIILVAAAT MNFGRLIIFLVTLK MNFGLSLIFLVILK	470 471 141 02 05 20 21
VR	MGVPTQLLLWLT MRVLAELLGLLLFCFL 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	ELWVLMVVWP ELWVLMVVVPSTS HDHALTSSSPQPSSPLCL LAVITSNIWFPVMVCMS MDMWTSQAQFLGILLLWFLARC MDRLTSSFLLLIVPAVLS MLRAIKAAPFSRFGCS MRAPAPFLGLLLFCFLARC MRCSPHFLELLVFWIL MRPTLSFLGCCSSLILRC MRTPAHFLGLLLLCFLGRC MRTPAPFLGLLLFCFSARC MSLLTQLQGLLLLWLTARC MSLPTQLQGLLLLWLTARC MTMLSAPLLSLLLLCVS MTSLSQLLGMILMLQSL MVFAPQILGFLLLWIS MVFTPHILGLLLWIS QHGHEGLCSVWVPVATNS REWSWNFLFLLSGTTVSS TDFHMQIFSMLISFTARC	142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162

- 5 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 si 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.
- 10 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.

20

Tabla 2: posibles moléculas conectoras

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

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

25 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.

30 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.

35 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_H1, C_H2, C_H3 y la región bisagra de una cadena pesada de inmunoglobulina y opcionalmente un dominio C_H4, o el dominio C_L 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 funcional 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 funcional. En

40

45

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 κ 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 κ 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 construidos 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.

10 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 (Na₂HPO₄ 10 mM, KH₂PO₄ 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.

25 Ejemplo 1

Preparación de los plásmidos de expresión

Los segmentos génicos codificantes de dominio variable de cadena ligera (V_L) de anticuerpo del receptor de factor I de crecimiento (IGF-1R) y el dominio (región) constante de cadena ligera kappa humana (C_L) se unieron, al igual que los segmentos génicos para el dominio (región) variable de cadena pesada (V_H) anti-IGF-1R y la región constante de cadena pesada gamma 1 humana (C_H1-bisagra-C_H2-C_H3).

a) Vector 4818

35 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:

40 Además del casete de expresión de cadena pesada y1 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
- 45 - 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:

- 50 - 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',
- 55 - un intrón 2 híbrido de cadenas pesadas de ratón/humana que incluía el elemento intensificador de cadena pesada de ratón (parte JH₃, JH₄) (Neuberger M.S., EMBO J. 2:1373-1378, 1983),
- la región constante genómica del gen de cadena pesada y1 humana,
- 60 - la secuencia de señal de poliadenilación ("poli-A") de la inmunoglobulina y1 humana, y

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

El mapa plasmídico del vector de expresión 4818 de la cadena pesada $\gamma 1$ 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
- 15 - un gen beta-lactamasa que proporcionaba resistencia a la ampicilina en *E. coli*.

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

- 20 - 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 BgIII único en el extremo 5',
- 25 - la región constante del gen de la cadena ligera κ humana,
- la inmunoglobulina κ humana-secuencia de señal de poliadenilación ("poli-A"), y
- los sitios de restricción únicos Ascl y Fsel en los extremos 5' y 3', respectivamente.

El mapa plasmídico del vector de expresión 4802 de la cadena ligera κ 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:

- 40 - 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*.

45 La unidad de transcripción del gen de región constante de la cadena pesada $\gamma 1$ (C_{H1} -bisagra- C_{H2} - C_{H3}) 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 BgIII único en el extremo 5' y un sitio de restricción Nhel único en el extremo 3' (sitio Nhel en el extremo N-terminal C_{H1}).

50

promotor del HCMV	AlaSer (C_{H1})
... <u>agatctttgcccaccgctagc...</u>	
BglII	NheI

- los dominios constantes del gen de la cadena pesada $\gamma 1$ humana (C_{H1} -bisagra- C_{H2} - C_{H3} , organización del ADNc),
- la inmunoglobulina $\gamma 1$ -secuencia de señal de poliadenilación ("poli-A"), y
- 55 - los sitios de restricción únicos Ascl y Fsel 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 ligera 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 κ anti-IGF-1R se modificó tal como se indica a continuación.

15 La secuencia de señal de la cadena ligera nativa se sustituyó por un segmento conector sintético dispuesto con un sitio de restricción BgIII 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).

!- V_R-1R18
...agatctatataatatatgctagcgaaattgtgttgcac...
AlaSerGluIleValLeuThr...
BglII NheI

20 El mapa plasmídico del vector de expresión 4964 modificado de la cadena ligera κ 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).

30 Para la construcción del plásmido 4969, se introdujo un sitio de restricción BgIII 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).

!-- C-kappa BbsI
cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttc...
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 κ 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 Kasi, SEC ID nº 558).

...C-kappa Ig-kappa-pA
 ...AaagcttcaacagggagagtgtTGAaggagaggcqccccca
 ...LysSerPheAsnArgGlyGluCys
 HindIII KasI

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.

20 **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, L566E, L568E, L580E	14

25 **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 (MDTLCSTLLLTIIPSWVLS), la secuencia corta insertada (QIWNN), el polipéptido heterólogo (MTWMEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELL), el conector (GGGGSGGGGGSGGGSGGGSG)	16
Inserción 4966 (con T-651) que comprendía la secuencia de señal (MDTLCSTLLLTIIPSWVLS), la secuencia corta insertada (QIWNN), el polipéptido heterólogo (MTWMEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELL), el conector (GGGGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSG)	17
Inserción 4967 (con T-651) que comprendía la secuencia de señal (MDTLCSTLLLTIIPSWVLS), la secuencia corta insertada (QIWNN), el polipéptido heterólogo (MTWMEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELL), el conector (GSSSSSSSSSSSSSSSG)	18
Inserción 4969 (mutante individual de gp41) que comprendía el péptido de señal (MEFGLSWVFLVALLRGVQC), la secuencia corta insertada (Q), el polipéptido heterólogo (VQARQLLSGIVQQQNLLRAIEGQQHLLQLTVWGPQLQARIL AVERYLKDKQQLLGIWGCSGKLICTTAVPNASWSNKSLEQIVNN MTWMEWDREINNYTSIHSILIEESQNQQEKNEQELL), conector (GGGGSGGGGGSGGGSG)	19

30 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
Conjugación N-terminal: cadena pesada (sin dominio variable)			
4965	4962	Inserción 4965 (249 pb)	BgIII/Nhel
4966	4962	Inserción 4966 (279 pb)	BgIII/Nhel
4967	4962	Inserción 4967 (252 pb)	BgIII/Nhel
Conjugación N-terminal: cadena ligera (sin dominio variable)			
4969	4802	Inserción 4969 (589 pb)	BgIII/BbsI
Conjugación N-terminal: cadena ligera (que incluye el dominio variable)			
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 ectodomino 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
Plásmidos de referencia			
4818	Cadena pesada anti-IGF-1R	49.263,5	Sin conector
4802	Cadena ligera anti-IGF-1R	23.572,2	Sin conector
Fusiones N-terminales: cadena pesada (sin dominio variable)			
4965	T-651	42.227,3	554
4966	T-651	42.857,9	554
4967	T-651	42.644,7	09
Fusiones N-terminales: cadena ligera (sin dominio variable)			
4969	Mutante individual de gp41	27.247,3	554
Fusiones N-terminales (cadena ligera (que incluye el dominio variable)			
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**
- 20 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.
- 25 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.
- 30 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

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

10 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

15 Tampón de muestras LDS, concentrado cuatro veces (4x): 4 gramos de glicerol, 0,682 gramos de base Tris, 0,666 gramos de hidrocloruro 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.

20 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®.

25 Transferencia western

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

35 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

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

45 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).

50 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

55 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).

60 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).

65 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^{PLUS}, 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.

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

Tinción múltiple de los filtros inmunológicos

- 10 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 hidrocloruro 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.

- 15 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 _H
7	4802 (wt)	4966	N-terminal; pesada, sin V _H
8	4802 (wt)	4967	N-terminal; pesada, sin V _H
9	4969	4818 (wt)	N-terminal; ligera, sin V _L
10	4976	4818 (wt)	N-terminal; ligera
11	4977	4918 (wt)	N-terminal; ligera
12	4969	4966	N-terminal, ligera, sin V _L ; N-terminal, pesada, sin V _H
13	4976	4966	N-terminal, ligera; N-terminal, pesada, sin V _H
14	4977	4967	N-terminal, ligera; N-terminal, pesada, sin V _H

20 **Ejemplo 5**

Detección de polipéptidos de inmunoglobulina ensamblados

- 25 purificación y concentración de polipéptidos de inmunoglobulina mediante unión de afinidad a proteína A-SepharoseTM CL-4B

- 30 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-SepharoseTM CL-4B (GE Healthcare, antes Amersham Biosciences, Suecia) (suspensión 1:1 (v/v) de proteína A-sefaraosa en tampón PBS (Na₂HPO₄ 10 mM, KH₂PO₄ 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 sefaraosa mediante centrifugación (30 s, 5.000 rpm) y se descartó el sobrenadante. El pellet de sefaraosa 35 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 sefaraosa 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:

- 5 Análisis de expresión/secreción de polipéptidos que contienen fragmento de cadena pesada y/o ligera tras la expresión transitoria:
- 10 **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.
- 15 Inmunodetección de polipéptidos que contienen inmunoglobulina:
- 20 **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.
- 25 **Figura 9a-c:** inmunodetección de los polipéptidos que contienen fragmento de cadena pesada en sobrenadantes de cultivo celulas tras la expresión transitoria en células HEK293-EBNA.

Ejemplo 6

- 30 Cuantificación de los polipéptidos que contienen cadena pesada expresados con ELISA de IgG humana
- 35 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')₂ anti-IgG humana biotinilado a modo de reactivo de captura, y para la detección, un fragmento de anticuerpo F(ab')₂ anti-IgG humana conjugado con peroxidasa.
- 40 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')₂ polyclonal de cabra anti-IgG humana biotinilado [(F(ab')₂<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')₂ conjugado con peroxidasa de IgG polyclonal de cabra específico de anti-F(ab')₂ humano (F(ab')₂<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-etylbenzotiazolín-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 BgIII en el extremo 5' y un sitio de restricción Nhel en el extremo 3' (sitio Nhel en el interior del extremo N-terminal de CH1)

30 <400> 1
agatctttg 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 BgIII en el extremo 5' y un sitio de restricción Nhel 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 BgIII 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														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	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
1														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	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
1														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								
1														15

<210> 9
 45 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 50 <223> molécula conectora 4

<400> 9

Gly 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 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 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

15 <212> PRT

<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 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

tttagcctggt acc 133

<210> 16

<211> 249

15 <212> ADN

<213> Virus de la inmunodeficiencia humana

<220>

<221> misc feature

20 <223> inserción 4965

<400> 16

```

agatctttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tcctgctgac catccccagc      60

tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat    120
aactacacaa gcttcatcca ctctctgatc gagaaagcc agaaccagca ggagaagaac      180
gagcaggagc tcctggcgcc gggatcc ggcggcgcc gcaagcggccg 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
    agatctttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tcctgctgac catccccagc      60
    tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat    120
    aactacacaa gcttcatcca ctctctgatc gagaaagcc agaaccagca ggagaagaac      180
    gagcaggagc tcctggcgcc gggatcc ggcggcgcc gcaagcggccg gggaggctcc      240
    ggccggggcg gatccggggg cggatccagc ggccgtagc                                         279

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

<220>
<221> misc_feature
20 <223> Insert 4967

<400> 18
    agatctttg ccaccatgga caccctgtgc agcaccctgc tcctgctgac catccccagc      60
    tgggtgctct cccaaatctg gaacaacatg acctggatgg agtgggaccg cgagatcaat    120
    aactacacaa gcttcatcca ctccctgatc gagaaagcc agaaccagca ggagaagaac      180
    gagcaggagc tcctggatcc cagtcggcc gtcagctcca gtcagctccg tagtcggcc      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

```

<400> 19

```

agatctagct ctgggagagg agcccagcac tagaagtcgg cgggtttcc attcggtgat    60
cagcactgaa cacagaggac tcaccatgga gttgggctg agctgggtgt tcctcggtgc    120
actgctcagg ggtgtacagt gtcaggtgca ggcccgcag ctgctctccg gcategtcca    180
gcagcaaaac aatctgctgc gggcgatcga gggcagcag cacccctgc agctgacggt    240
gtgggtccc aagcagctgc aggcccgcattctggcgtg gaacggatcc tgaaggacca    300
gcagctgctc ggcattctgg gatgctctgg caagcttatac tgcaccacag ccgtccccctg    360
gaacgctagc tggagtaaca aaagcctgga gcaaatttgg aacaacatga cctggatgga    420
gtgggatcgc gagatcaata attacacaag cctgatccac tccctgatcg aggaaagcca    480
gaaccagcag gagaagaacg agcaggagct cctggcgggg ggcggatccg gcccgggggg    540
cagcggtggg ggcggctccg gccgaactgt ggctgcacca tctgtcttc    589

```

<210> 20

5 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 20

```

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

```

10 <210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 21

```

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

```

<210> 22

<211> 13

20 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 22

```

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

```

25 <210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <400> 23

```

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

```

<210> 24

<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

<210> 32

<211> 19

15 <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

<210> 34

<211> 19

<212> PRT

30 <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 Thr Ile Pro Ser Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser

15 <210> 37

<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

30 <210> 39

<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

20 <213> Homo sapiens

<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

15 <210> 46
 <211> 19
 <212> PRT
 <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

35 <210> 49
 <211> 19
 <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

5 <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

10 <210> 51

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

15 <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

20 <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

25 <210> 53

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

30 <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

35 <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

<211> 19

<212> PRT

10 <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

25 <210> 62

<211> 19

<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 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 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

15 <210> 79
 <211> 22
 <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

25 <210> 81
 <211> 22
 <212> PRT
 <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

<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

30 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<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

<211> 20

<212> PRT

25 <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

25 <210> 98
 <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

20 <213> Homo sapiens

<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

25 <210> 102

<211> 23

<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 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

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

<213> Homo sapiens

20

<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

<211> 19

25 <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

5 Ser Glu Ala
 <210> 122
 <211> 19
 <212> PRT
 <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

10 Ser Val Val
 <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

15 Ser Val Thr
 <210> 124
 <211> 19
 <212> PRT
 <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

20 Ser Ile Ala
 <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

25 Ser Glu Ala
 <210> 126
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 126
 Met Ala Trp Ile Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ile Leu Cys Thr Val
 1 5 10 15

30 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

<210> 135

20 <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 Thr Leu Leu Thr His Ser Ala Val
 1 5 10 15

Ser Val Val
 <210> 139
 10 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 15 <223> molécula conectora 6
 <400> 139
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser 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
 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

25 <210> 146

<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 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
 15 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <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
 30 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 152
 Met Arg Thr Pro Ala His Phe Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Leu
 1 5 10 15
 Gly Arg Cys
 35 <210> 153
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 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 Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Asp Arg Cys

<210> 155

10 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 155

Met Ser Leu Pro Thr Gln Leu Gln Gly Leu 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

25 Ala Arg Cys

<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	Cys	Val	Ser
1					5				10			15		

25 <210> 169

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 169

Met	Lys	Ser	Gln	Thr	Gln	Val	Phe	Val	Phe	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

5 <210> 173
 <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 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

40 Phe Pro
 <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
 <213> Mus musculus
 20 <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
 <211> 18
 25 <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

<400> 183

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

Phe Leu

<210> 184

<211> 18

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 184

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

Phe Leu

10 <210> 185

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 185

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

<210> 186

<211> 16

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 186

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

<210> 187

25 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 187

30

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

<210> 188

<211> 16

<212> PRT

35 <213> Mus musculus

<400> 188

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

<210> 189

40 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 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

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 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

5 <210> 197

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

10

<400> 197

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

Phe Pro Ala Arg Cys
 20

15 <210> 198

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 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

20 <210> 199

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

25 <400> 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

<210> 200

<211> 21

<212> PRT

30 <213> Mus musculus

<400> 200

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

Phe Gln Thr Arg Cys
 20

35 <210> 201

<211> 21

<212> PRT

<213> 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

5 <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			

10	Phe	Pro
----	-----	-----

<210> 203

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

15

<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

20 <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			

25 <210> 205

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <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

35 <213> Mus musculus

<400> 206

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

Thr Cys Gly

<210> 209

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 209

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

Thr Cys Gly

<210> 210

<211> 19

25 <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
 <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

<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

25 <210> 215
 <211> 19
 <212> PRT
 <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

<210> 223
40 <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	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 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

<211> 21

<212> PRT

10 <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

30 Ala Cys Gly

<210> 238

<211> 20

<212> PRT

35 <213> Mus musculus

<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

<210> 240

10 <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

20 <213> Mus musculus

<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

<210> 245

10 <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

<210> 247

<211> 20

25 <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 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 Ser
 1. 5 10 15

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

<220>
 15 <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

Val Leu Lys Ser Arg Ala
 20 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
 <210> 252
 <211> 18
 30 <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

<400> 253

Leu Ile Leu Lys Val Gln Cys
1 5

<210> 254

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

<400> 254

Leu Val Leu Lys Val Gln Cys
1 5

10 <210> 255

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

15 <400> 255

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

Asn Ser

<210> 256

20 <211> 17
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 256

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

Cys

25 <210> 257

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

30 <400> 257

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

Gln Cys

<210> 258

35 <211> 21
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 258

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

35 Leu Ser
 <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

<210> 267

<211> 18

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

20

<400> 267

Met Gly Trp Ser Trp Ile 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

15 His Ser

<210> 272

<211> 15

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<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

5 <210> 276

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

10

<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

15 <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

20 <210> 278

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

25 <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

30 <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

35 <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

40 <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	.	.	

<210> 303
20 <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

<210> 305
<211> 16
35 <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

<210> 308
 10 <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

Ser Thr Ser
 15 <210> 309
 <211> 19
 <212> PRT
 <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

<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

25 <213> Mus musculus

<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

30 <211> 18

<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
 <210> 321
 30 <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

25 <210> 325

<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

<400> 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	

<210> 327

<211> 19

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 327

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

Val	Leu	Ser
-----	-----	-----

10 <210> 328

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 328

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

His	Cys
-----	-----

<210> 329

<211> 21

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 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	

25 <210> 330

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 330

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

30 Phe Ser

<210> 331

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <400> 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

20 <213> Mus musculus

<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
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

<400> 338

Met	Ala	Trp	Ser	Trp	Val	Phe	Leu	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
 <213> Mus musculus

25

<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 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

<210> 351

30 <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 Ser Leu Leu Leu Cys
 1 5 10 15

 Val Ser
 <210> 354
 10 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

 <400> 354

 Met Thr Met Leu Ser Leu Ala Pro Leu Leu Ser 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 Ser Phe 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

<210> 361
 10 <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
 45 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 366

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

<210> 367

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

<400> 367

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

10 <210> 368
 <211> 16

<212> PRT
 <213> Mus musculus

15 <400> 368

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

<210> 369

<211> 16

20 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 369

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

25 <210> 370

<211> 16

<212> PRT
 <213> Mus musculus

30 <400> 370

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

<210> 371

<211> 16

<212> PRT

35 <213> Mus musculus

<400> 371

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

<210> 372

40 <211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 372

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

45 <210> 373
 <211> 16
 <212> 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 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 Ser Val Ser
1 5 10 15

<210> 376

20 <211> 16

<212> PRT

<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

<400> 377

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

<210> 378

<211> 16

35 <212> PRT

<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

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 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

45 <210> 386
 <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 Cys Phe Gln
1 5 10 15

20 <210> 389

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 389

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

<210> 391

<211> 18

35 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 391

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

Phe Gln

<210> 392

40 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 392

45

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

<211> 16

25 <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

<210> 403

<211> 15

<212> PRT

35 <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

5 <400> 904
Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu 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

15 <210> 406
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

20 <400> 406
Met Gly Trp Asn Trp Ile Phe Ile Leu Ile Leu Ser Val Thr Thr
1 5 10 15

20 <210> 407
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

25 <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

35 <210> 409
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

35 <400> 409
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr
1 5 10 15

40 <210> 410
<211> 15
<212> PRT
<213> Mus musculus

45 <400> 410

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

<210> 417
 45 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 417

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

<210> 418

5 <211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 418

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

10 <210> 419

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 419

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr
1														

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

20 <210> 420

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 420

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

25 <210> 421

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <400> 421

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

<210> 422

<211> 15

<212> PRT

35 <213> Mus musculus

<400> 422

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

40 <210> 423

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 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

5 <210> 438

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

10

<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

15 <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

20 <210> 440

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

25 <400> 440

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

<210> 441

<211> 15

<212> PRT

30 <213> Mus musculus

<400> 441

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

35 <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

40 <210> 443

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

45

<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
 15 5 10 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
 1 5 10 15

<210> 452

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

20 <400> 452

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

<210> 453

<211> 15

25 <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

<210> 456

45 <211> 15

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 456
 Met Gly Trp Ser Cys Val Leu Leu Phe Leu Val Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

5 <210> 457
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10 <400> 457
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

15 <210> 458
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 458
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

20 <210> 459
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

25 <400> 459
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Ser Ala
 1 5 10 15

<210> 460
 <211> 15
 <212> PRT

30 <213> Mus musculus

<400> 460
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

35 <210> 461
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 461
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

40 <210> 462
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

45 <400> 462
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

<210> 463
 <211> 15

<212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 463
 Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Leu Phe Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

5 <210> 464
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10 <400> 464
 Met Gly Trp Ser Trp Val Phe Leu Ser Phe Leu Ser Gly Thr Ala
 1 5 10 15

15 <210> 465
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 465
 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ile Ser
 1 5 10 15

20 <210> 466
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

25 <400> 466
 Met Ala Val Val Thr Gly Gly Leu Pro Ser Pro Lys Leu Glu

1 5 10 15

<210> 467
 <211> 15

30 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 467
 Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
 1 5 10 15

35 <210> 968
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

40 <400> 468
 Met Gln Leu Gly His Leu Leu Pro Asp Gly Ser
 1 5 10

<210> 469
 <211> 16
 <212> PRT

45 <213> Mus musculus

<400> 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
 10 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 471
 Leu Val Leu Lys
 15 1
 <210> 472
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> péptido de unión

<400> 472
 Gln Ile Trp Asn Asn
 25 1 5
 <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															
														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															
														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															
														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															
														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															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															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															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															15

Val Glu Gly

<210> 484

<211> 23

<212> PRT

30 <213> Mus musculus

<400> 484

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

Leu Trp Leu Ser Val Asp Gly

20

<210> 485

<211> 16

35 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 485

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

<210> 486

5 <211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 486

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

10 Thr Arg Cys

<210> 487

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

15

<400> 487

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

Ile Ile Cys

<210> 488

<211> 19

20 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 488

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

Met Ile Cys

25 <210> 489

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <400> 489

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

Thr Arg Cys

<210> 490

<211> 19

35 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 490

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly 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 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

20 <213> Mus musculus

<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

25 <210> 494

<211> 19

<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

<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

<210> 503

<211> 19

<212> PRT

15 <213> Mus musculus

<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

<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

<210> 508

20 <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	Ser	Gly	Thr	Ala	Val
1														15

Leu Ser

5 <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														15	

10 Leu Ser
 <210> 512
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

15 <400> 512

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

His Ser

20 <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														15	

Leu Ser

25 <210> 514
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

30 <400> 514

Met	Gly	Trp	Ser	Trp	Val	Phe	Leu	Ser	Phe	Leu	Ser	Gly	Thr	Ala	Val
1														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
 15 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 517

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

His Cys

20 <210> 518
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

25 <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
 30 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<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

30 Val Asn Ser
 <210> 524
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 524

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

Tyr Ser

<210> 525

<211> 18

5 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 525

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

His Ser

10 <210> 526

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

15 <400> 526

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

His Ser

<210> 527

<211> 18

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<400> 527

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

His Ser

<210> 528

25 <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															15

30 Val Leu Ser

<210> 529

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 529

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

His Phe

<210> 530

5 <211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 530

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

His Ser

10

<210> 531

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

15

<400> 531

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

His Ser

<210> 532

<211> 18

20

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 532

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

His Ser

25

<210> 533

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

30 <400> 533

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

His Ser

<210> 539

<211> 18

<212> PRT

35 <213> Mus musculus

<400> 534

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

His Ser

<210> 535

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

<400> 535

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

10 His Ser

<210> 536

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

15 <400> 536

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

His Ser

<210> 537

20 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 537

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

Gln Phe

25 <210> 538

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

30 <400> 538

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

His Ser

<210> 539

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

<400> 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

<210> 542

<211> 18

<212> PRT

20 <213> Mus musculus

<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

15 <213> Mus musculus

20

<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

30 <210> 549

<211> 18

<212> PRT

<213> Mus musculus

35 <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

10 His Ser
 <210> 551
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 15 <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
 20 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 552
 25

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
 30 <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

5 <210> 554
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> molécula conectora 8
 <400> 554
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 15 <210> 555
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> molécula conectora 9
 <400> 555
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 25 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 20 25
 30 <210> 556
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> molécula conectora 10
 <400> 556
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 40 Gly
 <210> 557
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> molécula conectora 11
 <400> 557
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 <210> 558
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25

<211> 38
<212> ADN
<213> Artificial

5 <220>
<223> inserción de sitios de restricción únicos HindIII y Kasi

<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:
 - 5 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:
 - 15 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,
 - 20 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,
 - 25 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 QIWNN (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, 45 140, 554, 555, 556 y 557.
8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el fragmento de inmunoglobulina comprende:
 - 50 a) el dominio C_H1, C_H2, C_H3 y la región bisagra de una cadena pesada de inmunoglobulina o el dominio C_L 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':
 - 60 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,
c) un ácido nucleico codificante de un segundo polipéptido que comprende:
i) un ácido nucleico codificante de un 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,
d) una región 3' no traducida que comprende una señal de poliadenilación.

10 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':
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,
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,
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,
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.

15 20 25 30

Figura 1:

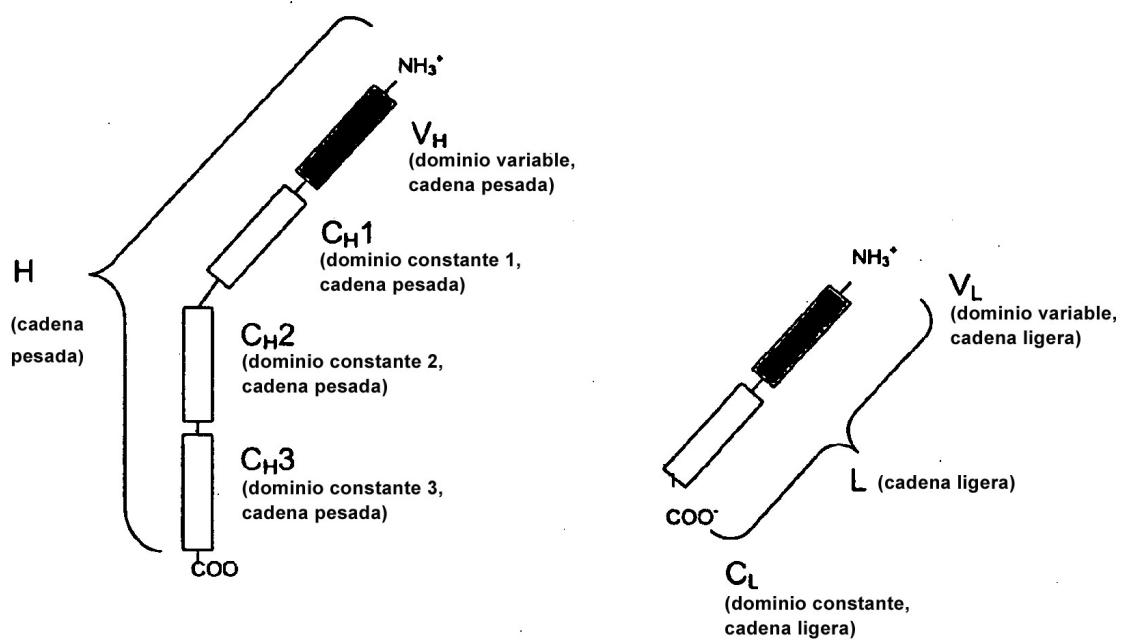
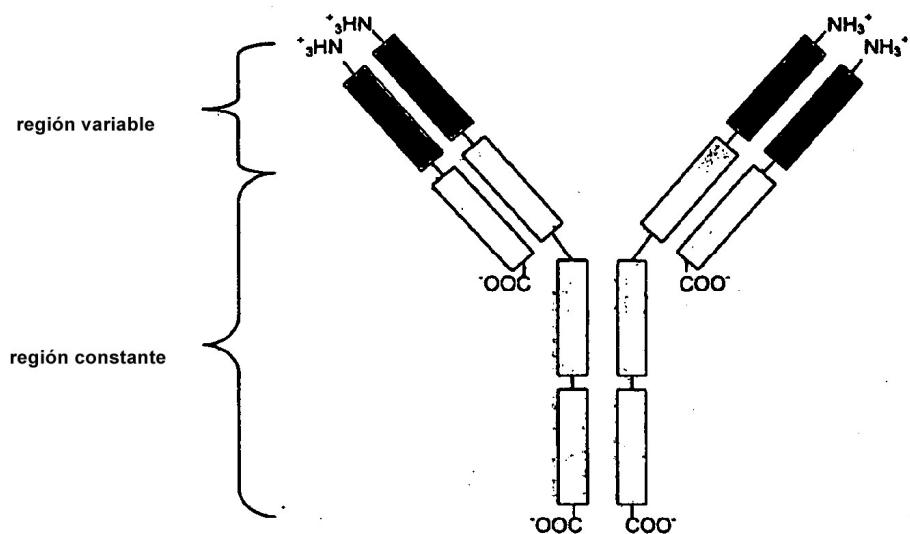


Figura 2

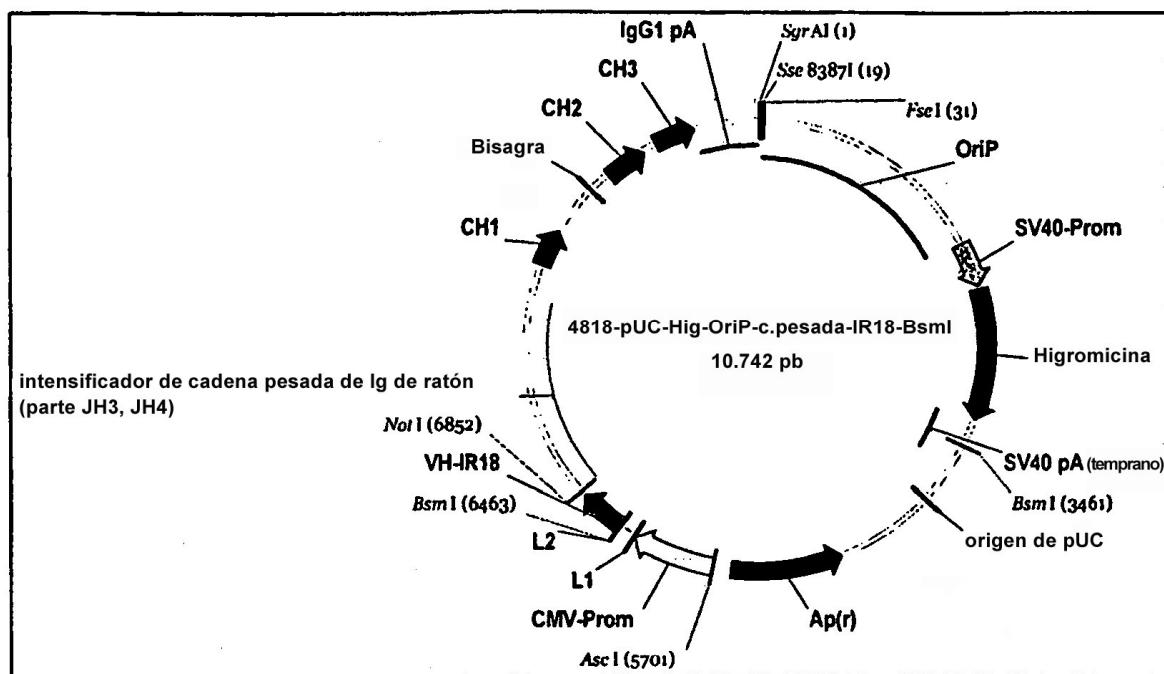


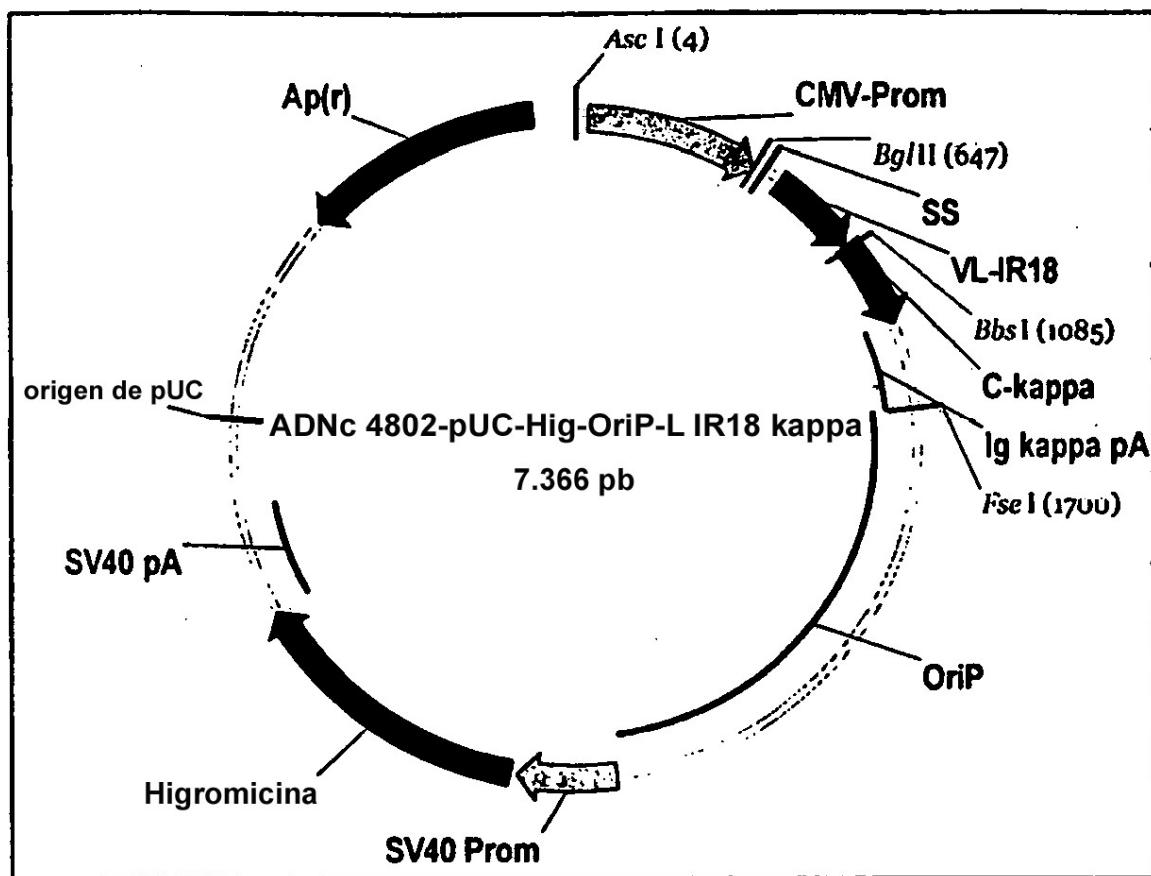
Figura 3

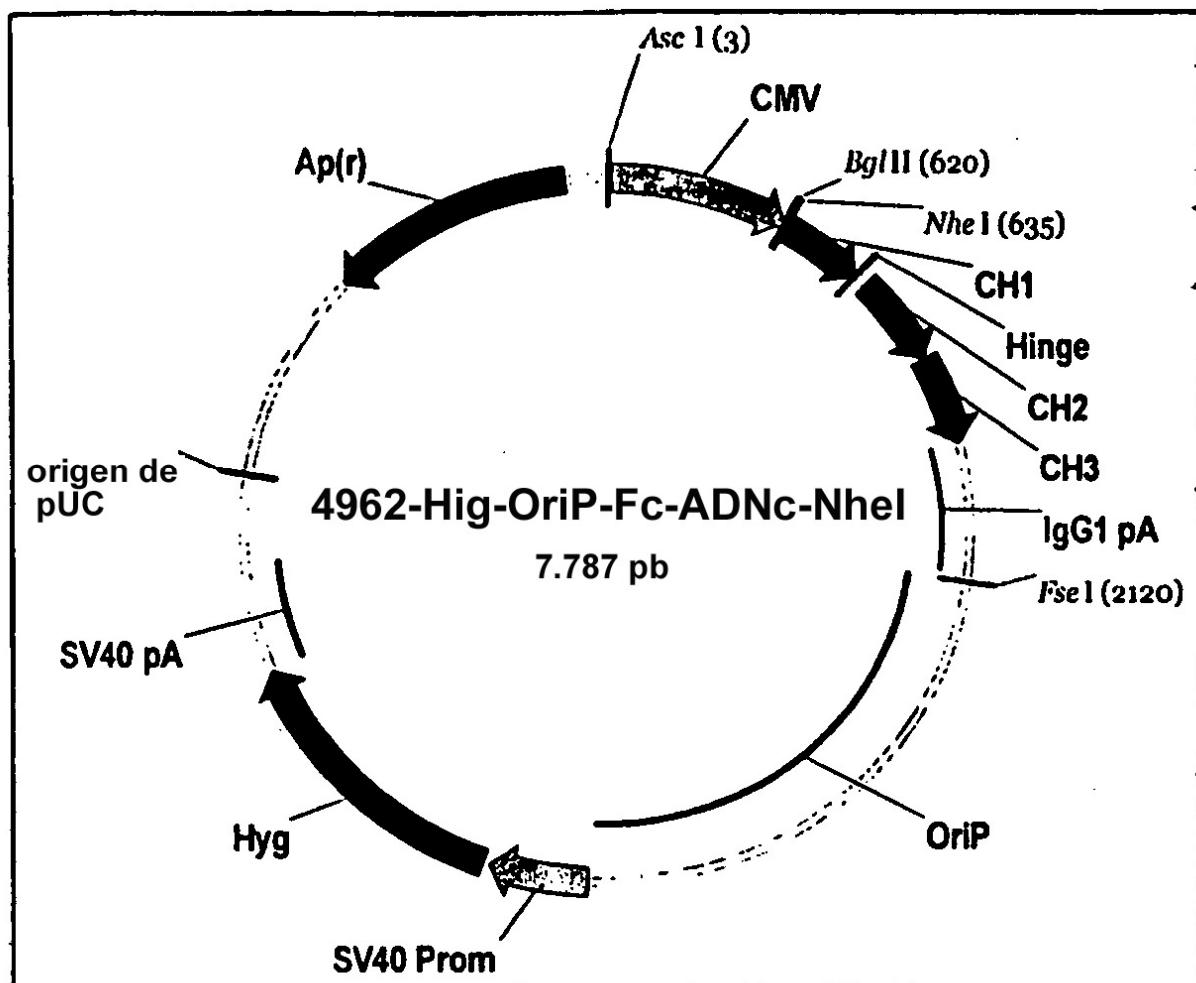
Figura 4

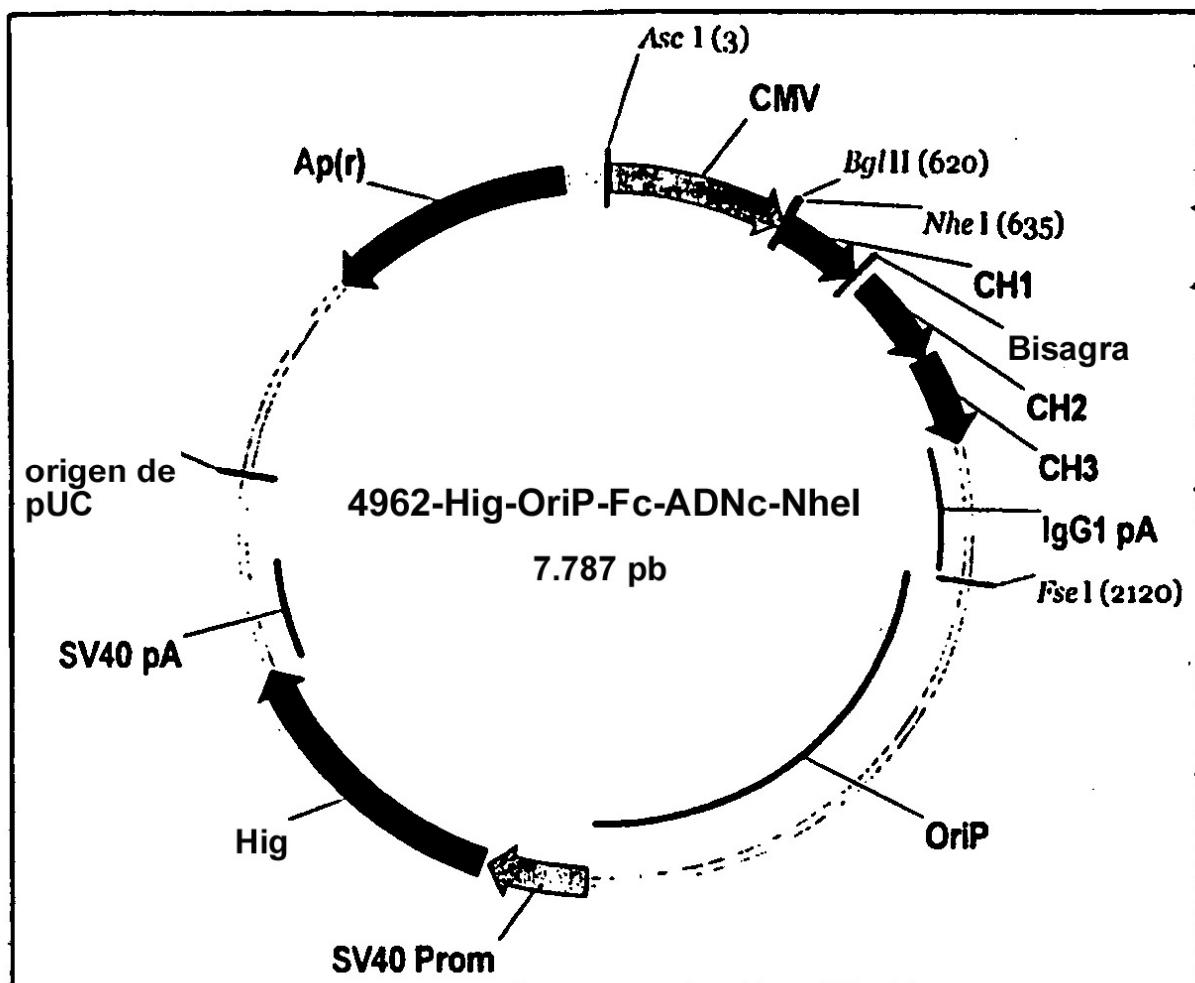
Figura 5

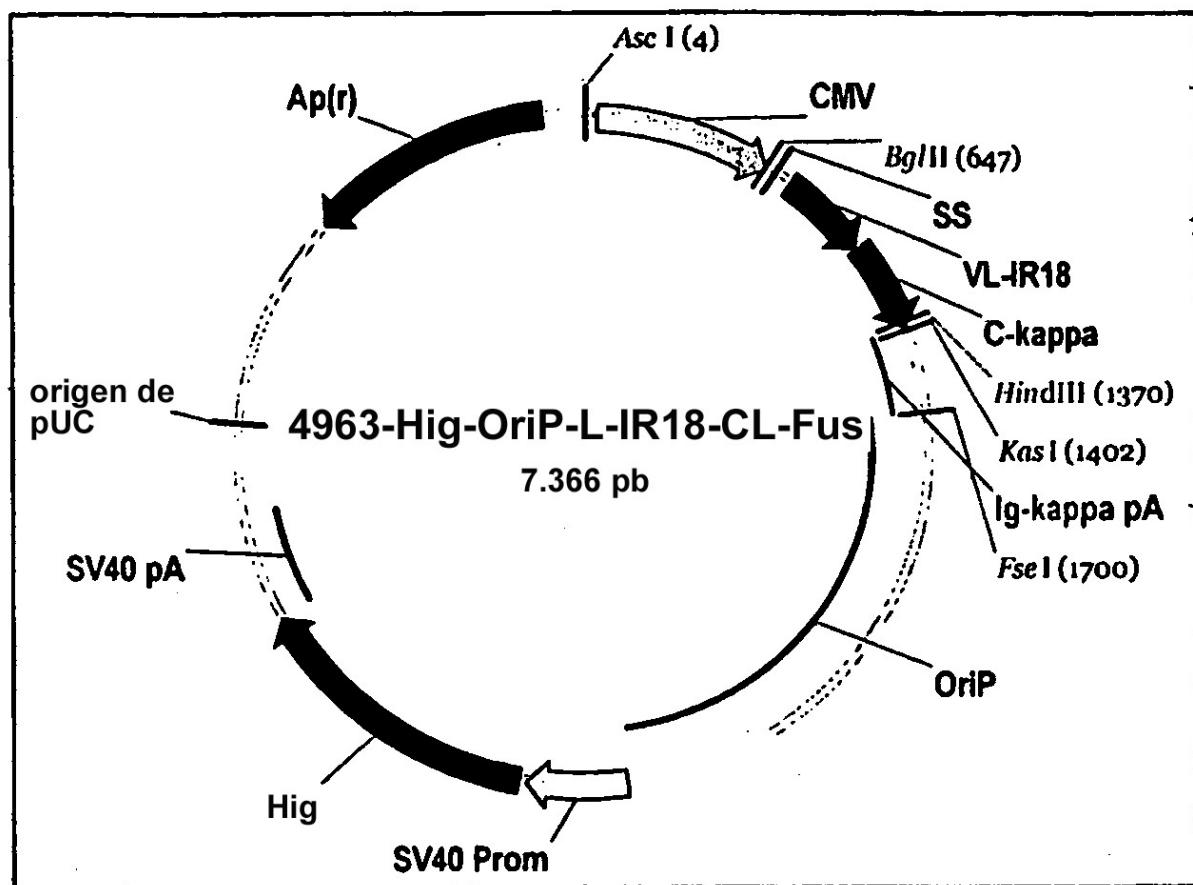
Figura 6

Figura 7a

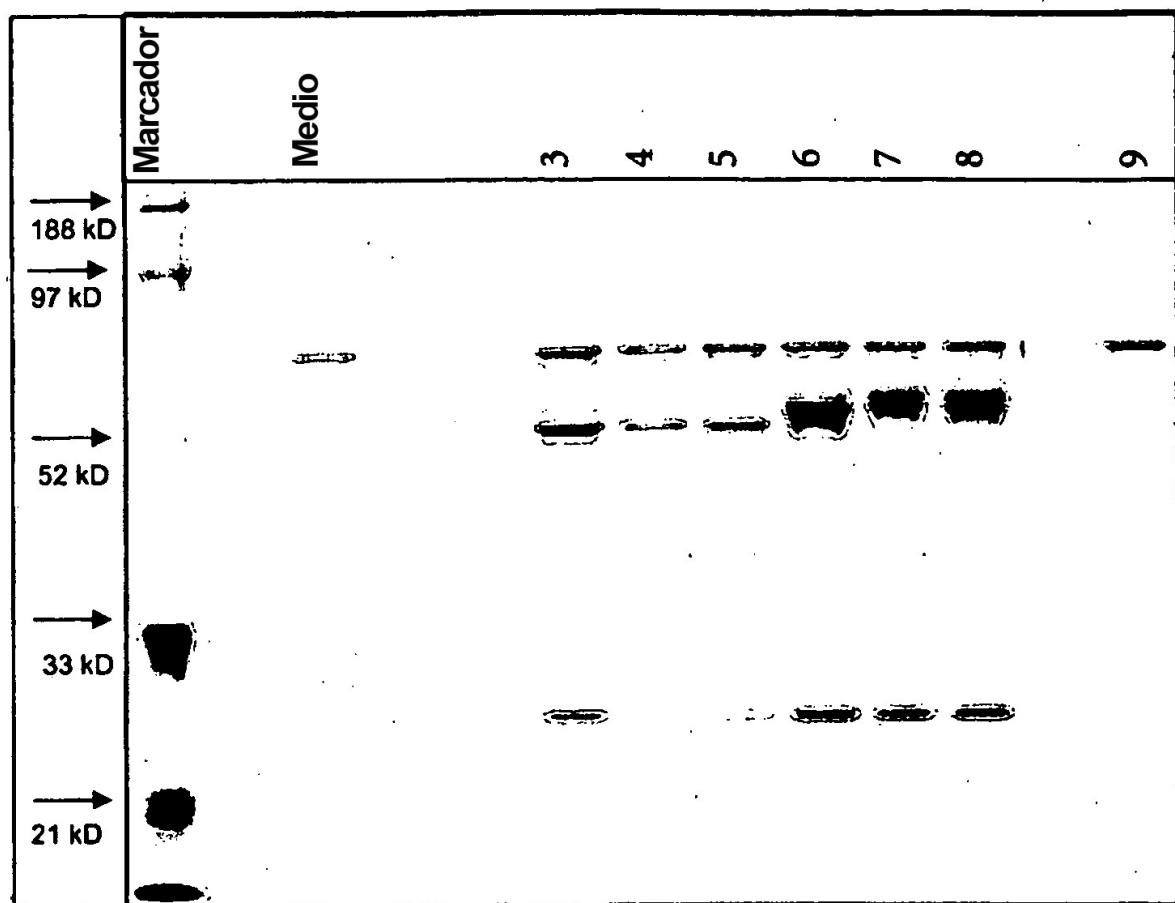


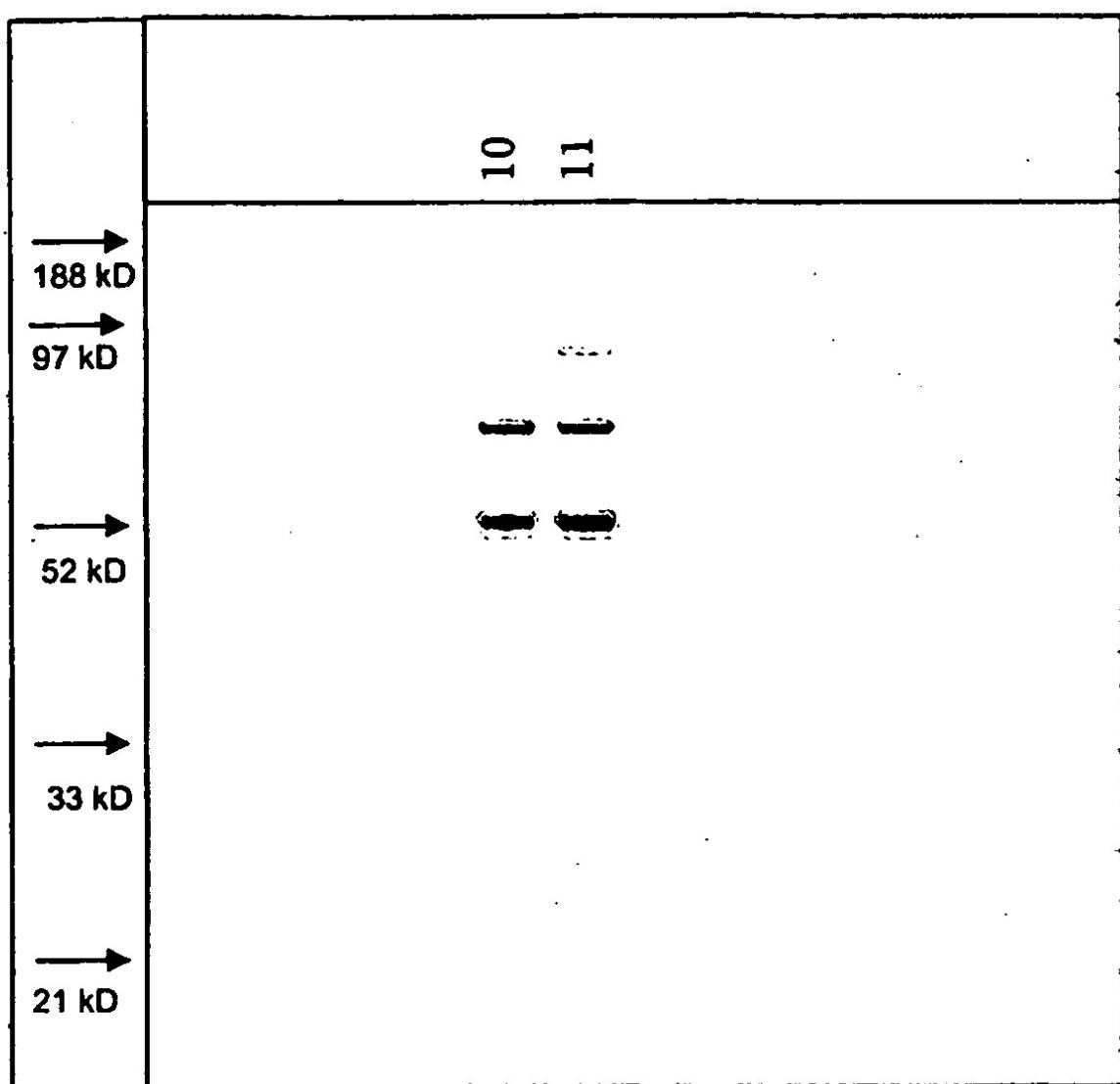
Figura 7b

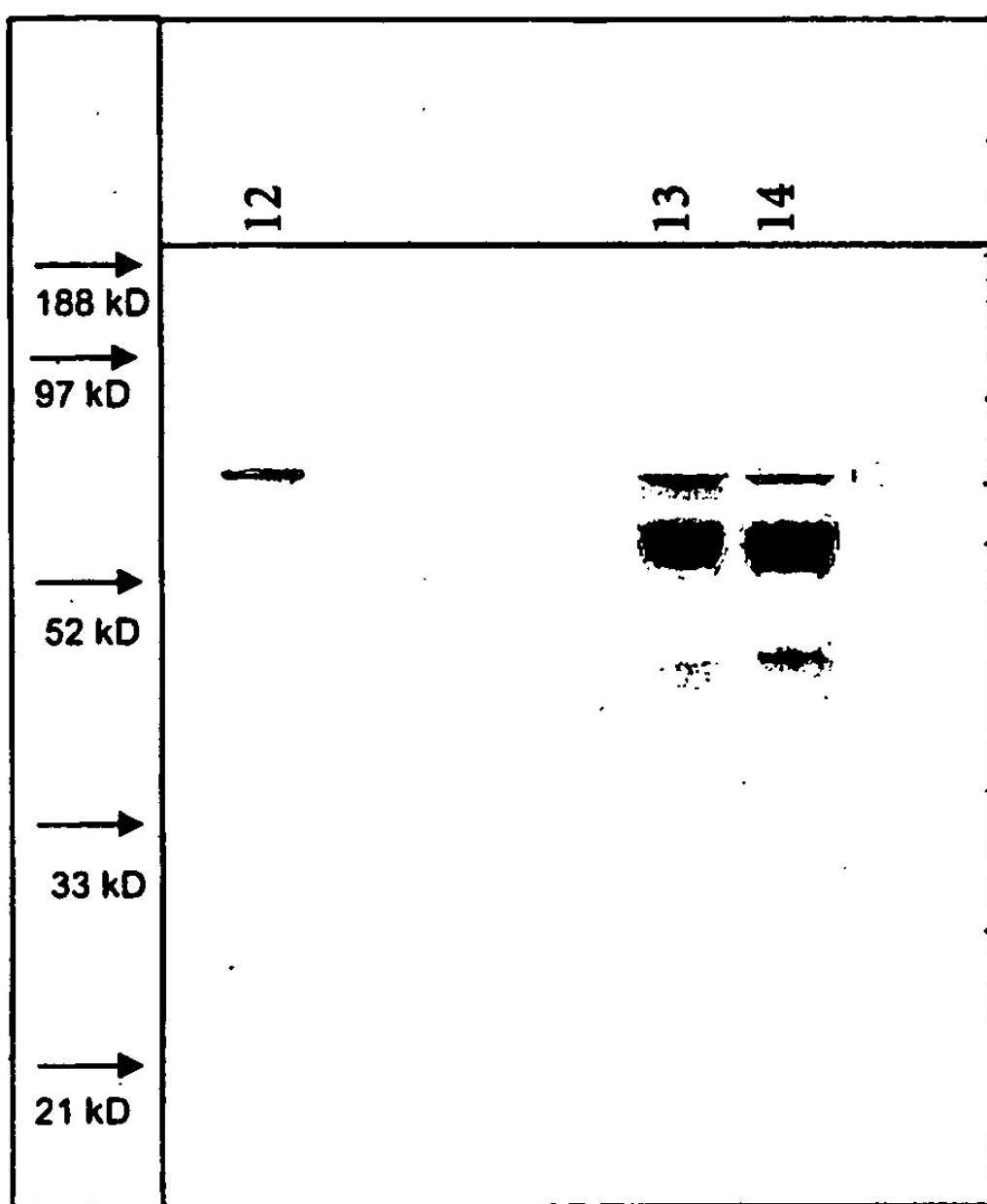
Figura 7c

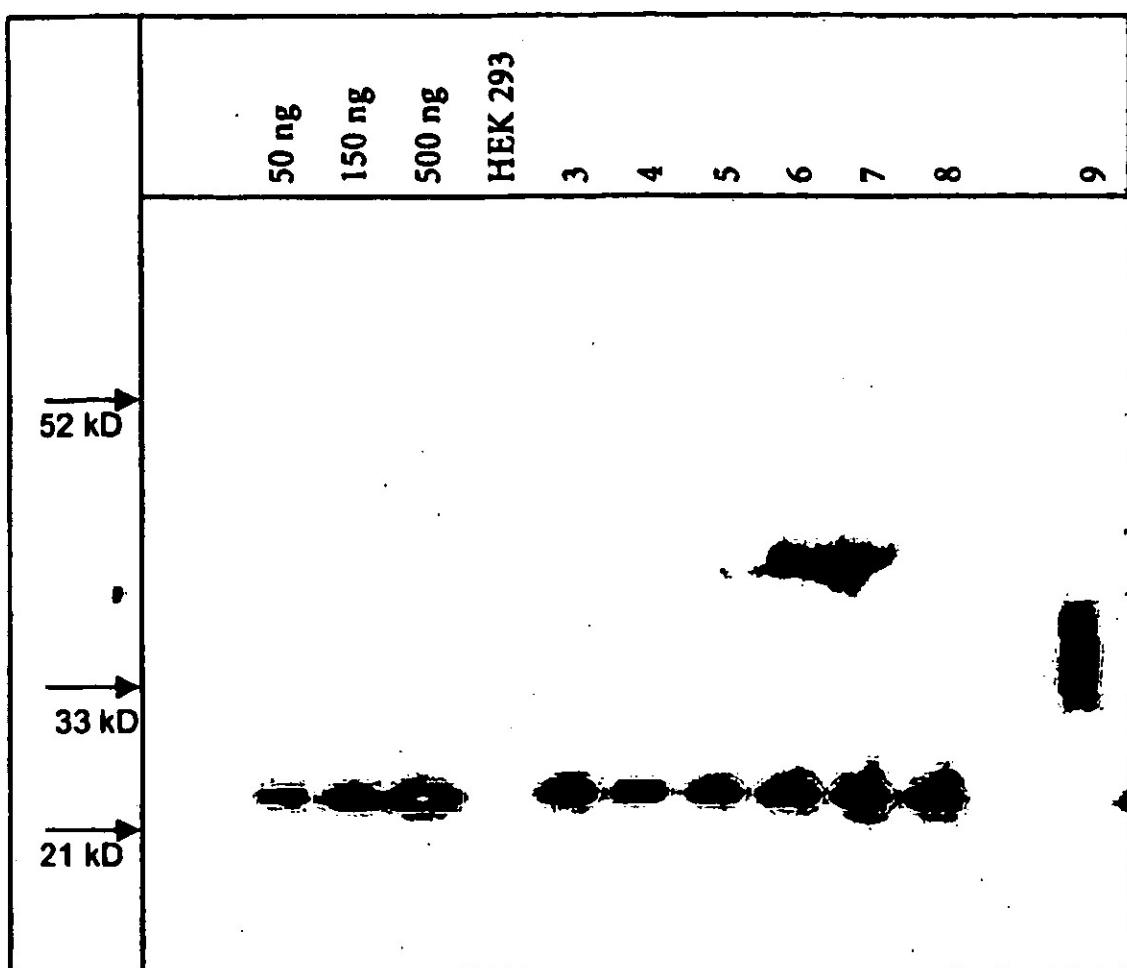
Figura 8a

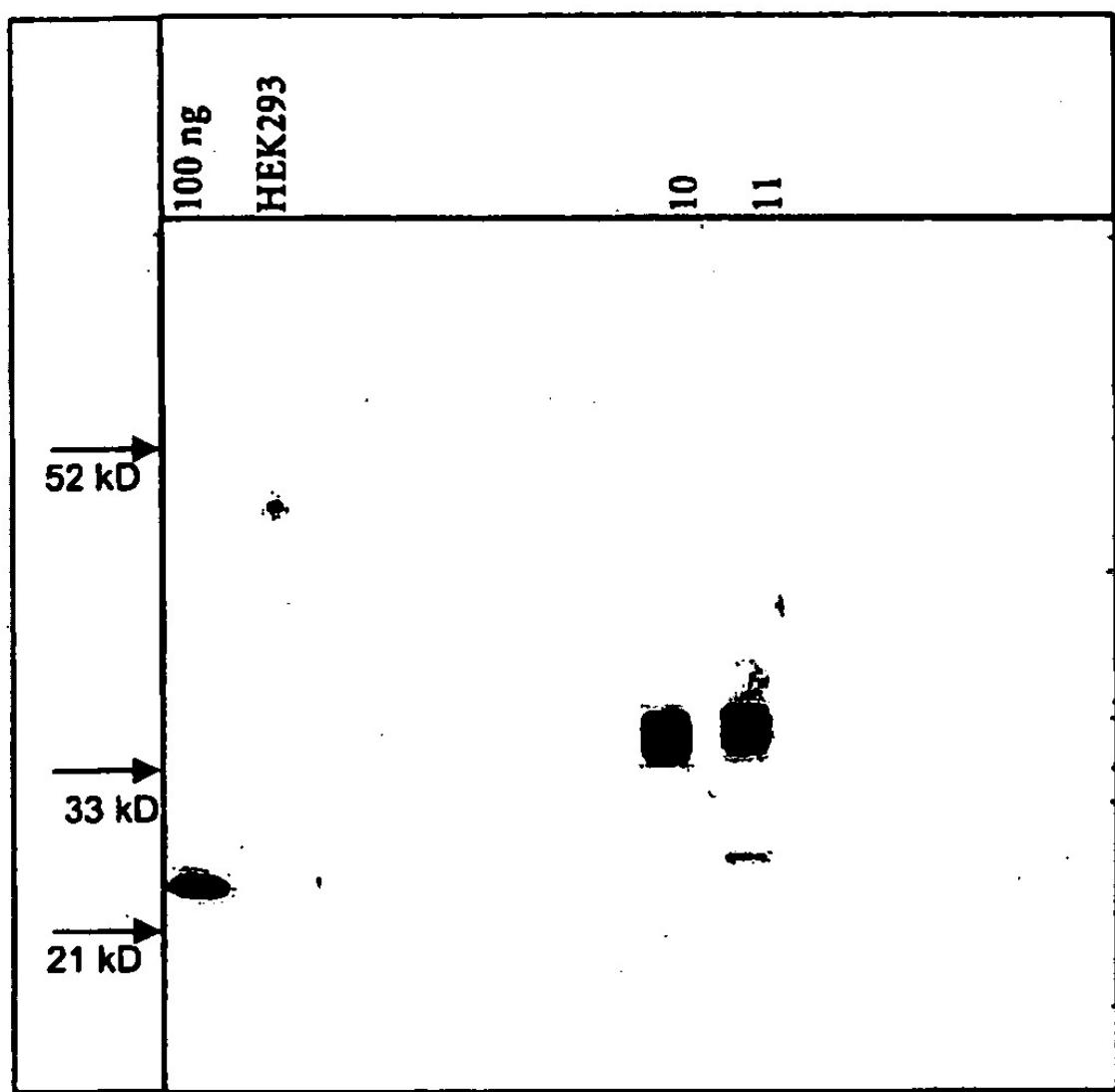
Figura 8b

Figura 8c

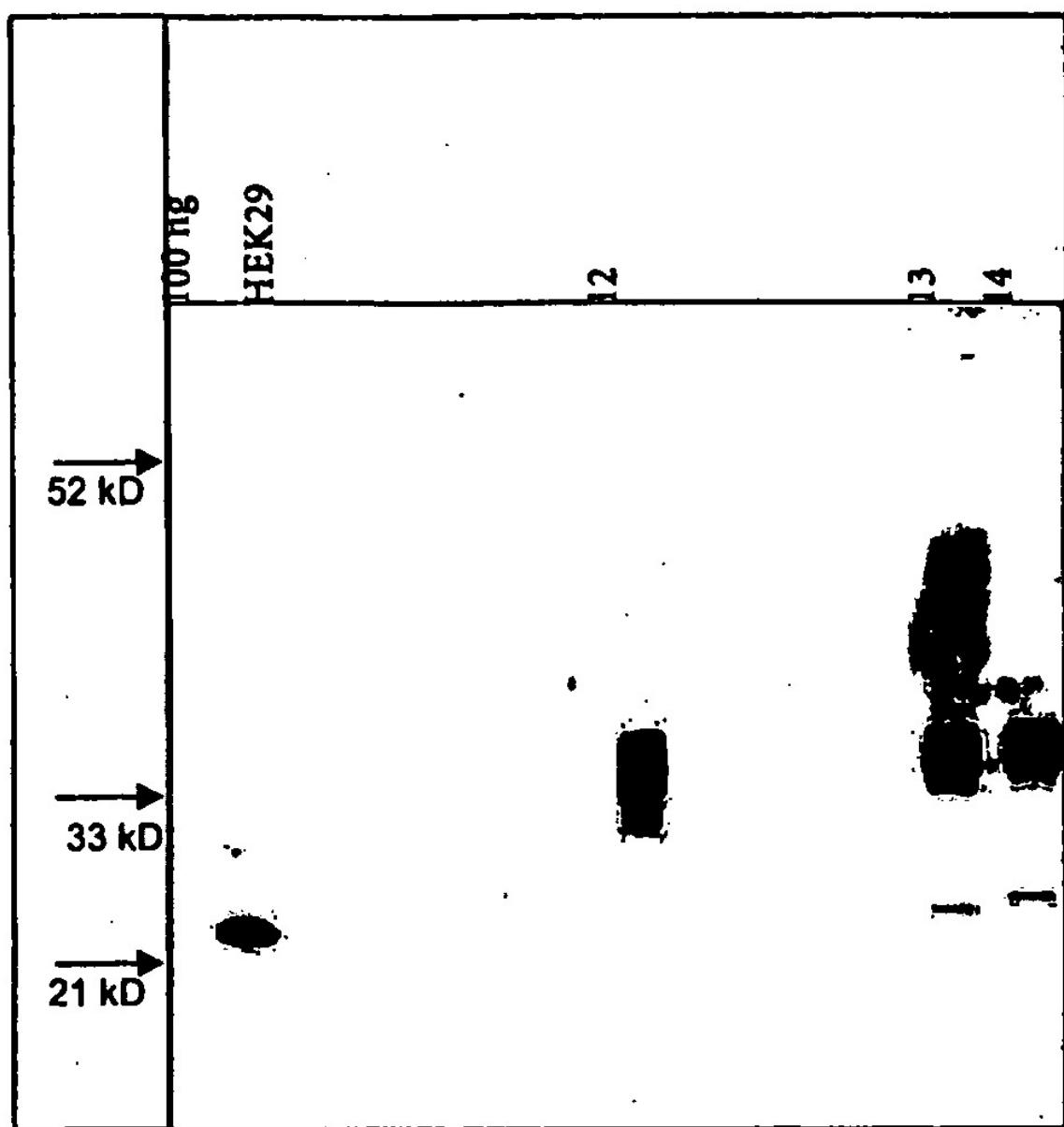


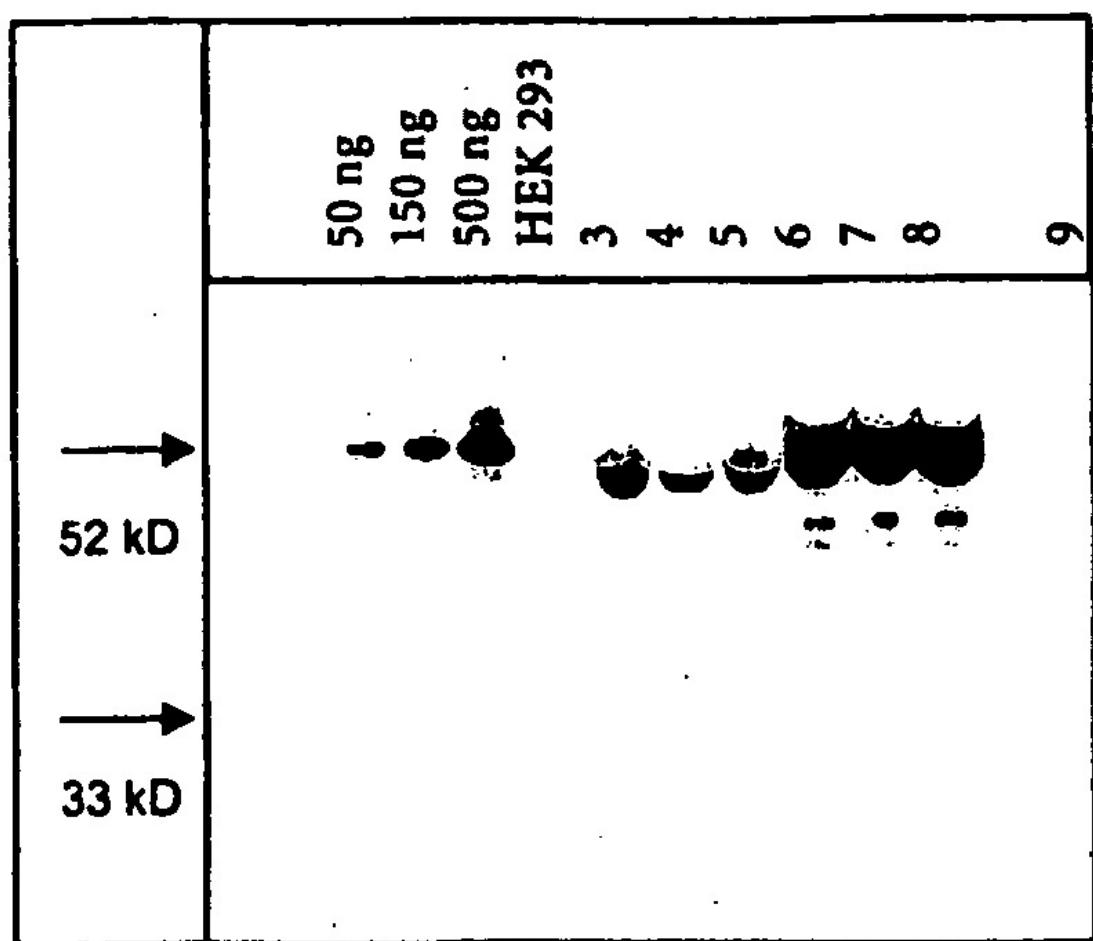
Figura 9a

Figura 9b

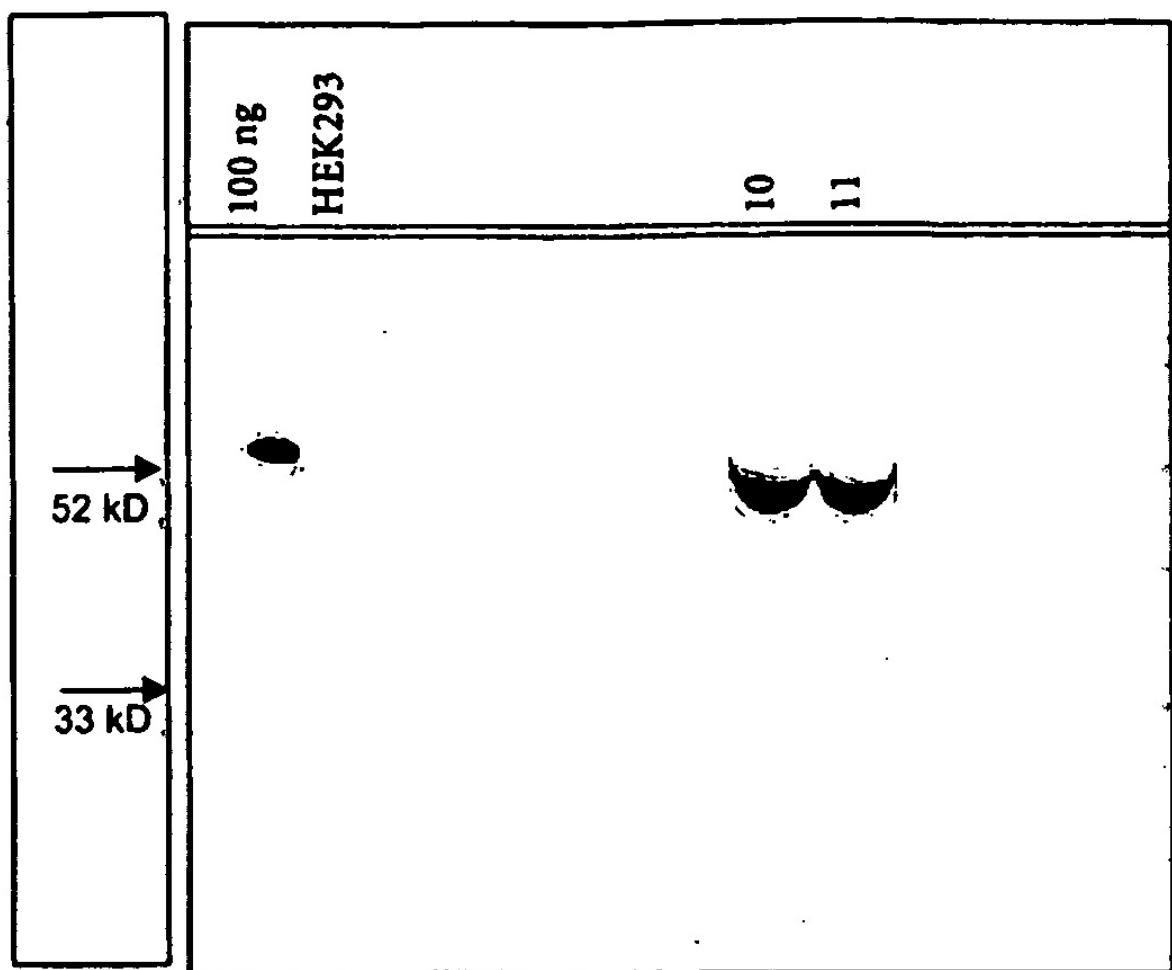


Figura 9c: