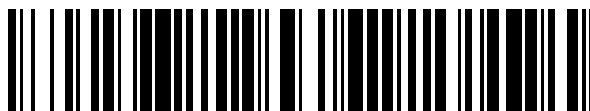


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 393 748**

51 Int. Cl.:

C12N 9/00 (2006.01)

C12N 9/88 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12N 15/00 (2006.01)

C07H 21/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06815505 .0**

96 Fecha de presentación: **26.09.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1928490**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.06.2008**

54 Título: **Composiciones y métodos de uso de condroitinasa ABCI mutantes**

30 Prioridad:

26.09.2005 US 720628 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

27.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

27.12.2012

73 Titular/es:

**ACORDA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
420 Saw Mill River Road
Ardsley, NY 10502, US**

72 Inventor/es:

**CAGGIANO, ANTHONY, O.;
IACI, JENNIFER;
VECCHIONE, ANDREA y
MARKENSOHN, ELIZABETH**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 393 748 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

Composiciones y métodos de uso de condroitinasa ABCI mutantes.

Esta solicitud reivindica prioridad de la solicitud de los EE.UU. Nº 60/720.628, presentada el 26 de septiembre de 2005, con el título "Composiciones y métodos de uso de Condroitinasa ABCIs mutantes".

5 FUNDAMENTO.

Se sabe que los proteoglicanos, principales constituyentes de la matriz extracelular, están presentes en grandes cantidades en el tejido cicatricial neuroglial, y que inhiben la recuperación después de lesiones de la médula espinal (Fawcett y Asher, 1999). Las enzimas que son capaces de digerir el tejido cicatricial neuroglial son una importante diana para el desarrollo de las terapias de las lesiones de la médula espinal (spinal cord injury: SCI). La condroitinasa ABCI (EC 4.2.2.4; cABCI) es una enzima bacteriana que cataliza la digestión de la condroitina sulfatada y las cadenas laterales de dermatano de los proteoglicanos. Se ha demostrado que esta enzima promueve la recuperación funcional después de una lesión de la médula espinal (Bradbury et al., 2002; Caggiano et al., 2005 y el documento WO 2004/103299).

La médula espinal está formada por fibras nerviosas. El daño del sistema nervioso central, incluyendo la médula espinal, tiene por resultado una pérdida de función. Dependiendo del tipo de lesión del sistema nervioso central, la pérdida de función puede manifestarse en la pérdida de las funciones sensorial, motriz o autonómica, o una combinación de las mismas. Las funciones sensoriales incluyen la capacidad para sentir sensaciones, como el dolor. Las funciones motrices incluyen la capacidad para mover voluntariamente el cuerpo. Las funciones autonómicas incluyen funciones corporales involuntarias, por ejemplo la capacidad de sudar y respirar.

Los tipos más comunes de lesiones de la médula espinal (SCI) incluyen contusiones (moraduras de la médula espinal) y lesiones de compresión (causadas por una presión prolongada sobre la médula espinal). En las lesiones por contusión y compresión, frecuentemente se forma una cavidad u orificio en el centro de la médula espinal. A diferencia de las células nerviosas, o neuronas del sistema nervioso periférico (peripheral nervous system: PNS), las neuronas del sistema nervioso central (CNS) no se regeneran después de la lesión.

La lesión de la médula espinal puede caracterizarse por la contusión del tejido neural con la disminución resultante o pérdida de la capacidad del tejido nervioso para transmitir apropiadamente los impulsos nerviosos. La causa habitual se debe a una lesión por impacto de alguna naturaleza, pero puede ocurrir también durante la manipulación de la médula espinal en ciertos procedimientos quirúrgicos. Después de una lesión de la médula espinal en el mamífero adulto, la incapacidad de los axones para regenerarse puede conducir a la pérdida de sensación, la pérdida de la función motriz y/o la pérdida de la función autonómica, así como a la parálisis permanente. Una razón para que las neuronas no consigan regenerarse es su incapacidad para atravesar la cicatriz neuroglial que se desarrolla después de una lesión de la médula espinal. La lesión inducida por el daño desarrollará cicatrización neuroglial, que contiene moléculas de matriz extracelular que incluyen proteoglicanos de sulfato de condroitina (CSPGs). Los CSPGs inhiben el crecimiento del tejido nervioso *in vitro* y la regeneración del tejido nervioso en regiones ricas en CSPGs *in vivo*.

Varias moléculas y regiones concretas de las mismas han sido implicadas en la capacidad para apoyar el brote de neuritas a partir de una célula neuronal, proceso conocido también como excrecencia de neuritas. El término neurita se refiere tanto a la estructura de axón como de dendrita. El proceso de brote de neuritas es esencial en el desarrollo y regeneración neural, especialmente después de que una lesión física o una enfermedad ha dañado a las células neuronales. Las neuritas se alargan profusamente durante el desarrollo en ambos sistemas nerviosos central y periférico de una especie animal. Este fenómeno pertenece tanto a los axones como a las dendritas.

Se ha sabido que varios polipéptidos, especialmente las moléculas de adhesión a las células (cell adhesion molecules: CAMs), favorecen el crecimiento de las células neurales. Aunque los esfuerzos iniciales en este campo de la investigación se concentraron sobre la proteína de la matriz extracelular fibronectina (FN), promotora de la adhesión, se ha encontrado también que otros polipéptidos promueven el crecimiento neural. Por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 5.792.743 describe nuevos polipéptidos y métodos para promover el crecimiento neural en el CNS de un mamífero, mediante la administración de CAM neural soluble, un fragmento de las mismas, o un producto de fusión con Fc de las mismas. La patente de EE.UU. nº 6.313.265 describe polipéptidos sintéticos que contienen las regiones farmacológicamente activas de CAMs que pueden usarse en la promoción de la regeneración nerviosa y la reparación, tanto de los daños nerviosos periféricos como de las lesiones en el CNS. Aunque es útil, el uso de proteínas regenerativas solas puede no ser suficiente para efectuar la reparación de un sistema nervioso dañado.

Durante aproximadamente las dos últimas décadas, el conocimiento de la adhesión celular y la migración en matrices extracelulares (ECMs) a nivel molecular se ha extendido rápidamente. La acción de las enzimas y otros

polipéptidos que degradan los componentes de la matriz extracelular y las membranas basales, puede facilitar los pasos de la reparación neural mediante una diversidad de mecanismos, incluyendo la liberación de citocinas unidas y mediante el aumento de la permeabilidad de la matriz, potenciando de esta forma la movilidad de moléculas mediadoras, factores de crecimiento y agentes quimiotácticos, así como las células implicadas en el proceso de cicatrización. Por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 5.997.863 describe el uso de glicosaminoglicanos para manipular la proliferación de las células y promover la curación de las heridas.

Se han identificado componentes de los CSPGs inhibidores como los glicosaminoglicanos, sulfato de condroitina (CS) y sulfato de dermatano (DS). La eliminación de estas moléculas inhibidoras permitiría regenerarse a las neuritas y reinervar una zona después de una lesión física o una enfermedad, y también permitiría la recuperación de las funciones sensoriales, motrices y autonómicas.

Estudios previos han encontrado que las condroitinasas pueden lisar y degradar los CSPGs, incluyendo CS y DS. Un estudio encontró que la condroitinasa ABC eliminaba las cadenas de glicosaminoglicano (GAG) en y alrededor de zonas lesionadas del CNS de rata *in vivo*. La degradación de GAGs promovió la expresión de una proteína asociada al crecimiento, GAP-43, indicando un aumento de la capacidad de regenerarse de las células tratadas. Sin embargo, esta proteína asociada al crecimiento está asociada con la regeneración en lesiones de nervios periféricos, pero no centrales.

Los sulfatos de condroitina (CS) son polisacáridos sulfatados en cadenas lineales de un disacárido repetido. Su peso molecular oscila entre aproximadamente 10.000 y más de 100.000 Da. Los sustratos de sulfato de condroitina existen en diferentes isómeros designados por las letras A, B y C agregadas (Hoffman et al., 1958). Las unidades repetidas están compuestas por ácido urónico (GlcA o IdoA) y galactosamina, y se denominan galactosaminoglicanos, y son un ejemplo de los glicosaminoglicanos, típicamente abreviados como GAG. Aunque estas especies de cadena de GAG tienen diferentes regiones de disacárido repetidas, están unidas covalentemente por medio de la llamada región de unión de secuencia de tetrasacárido (véase más adelante) al resto de serina de la secuencia de consenso de unión de GAG (Glu/Asp-X-Ser-Gly) de las proteínas del núcleo respectivas. Los sulfatos de condroitina A y C (ChS-A, ChS-C) son los GAGs más abundantes y se encuentran en el cartílago, el hueso y las válvulas cardíacas. La condroitina B (ChS-B, o, alternativamente, sulfato de dermatano) se expresa sobre todo en la piel, los vasos sanguíneos y las válvulas cardíacas.

Cuando se caracterizaron preparados bacterianos de condroitinasa frente a diferentes sustratos de sulfato de condroitina (ChS), se descubrieron varias condroitinasas distintas: La condroitinasa AC que degrada principalmente la condroitina A (ChA) y la condroitina C (ChC) (Yamagata et al., 1968), la condroitinasa B que degrada la condroitina B (ChB) (Michelacci y Dietrich, 1976), la condroitinasa C que actúa principalmente sobre la ChC (Michelacci Y. M. y Dietrich C. P., 1976) y la condroitinasa ABC muestra especificidad frente los tres sustratos - ChS-A, ChS-B y ChS-C (Yamagata et al., 1968, Michelacci et al., 1987). Huang et al (J. Mol. Biol. 328:623-634, 2003) describen la estructura cristalina de ABCI e identifican el sitio activo. Prabhakar et al. (Biochem J. 390:395-405, 2005) usan SDM para caracterizar el sitio activo de ABCI. El documento WO 2005/087920 describe ciertas enzimas ABCI modificadas para ser usadas en la regeneración nerviosa después una lesión del CNS o de la médula espinal.

G. SUMARIO DE LA INVENCION.

Un aspecto de la presente invención proporciona mutantes de condroitinasa ABCI como se definen en la reivindicación 1ª.

En realizaciones preferidas, tales condroitinasa ABCI mutantes muestran una actividad potenciada. En otras realizaciones preferidas, tales condroitinasa ABCI mutantes muestran una resistencia a la inactivación potenciada, incluyendo la inactivación por UV o exposición térmica. Las enzimas condroitinasa ABCI mutantes se eligen entre BC6 (SEC ID N°: 1), BE7 (SEC ID N°: 2), y BF4 (SEC ID N°: 3).

Otras realizaciones de la presente invención se refieren a una enzima mutante de la invención para promover la recuperación funcional neurológica, incluyendo la función sensorial, motriz y autonómica, después de una lesión o una enfermedad del sistema nervioso central ("CNS").

Otras realizaciones se refieren a una enzima mutante de la invención para promover el brote neuronal, y al uso en el tratamiento de las lesiones de la médula espinal y trastornos relacionados del CNS, administrando tales condroitinasa ABCI mutantes.

H. DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS.

En parte, otros aspectos, características, beneficios y ventajas de las realizaciones de la presente invención serán evidentes considerando la siguiente descripción, las reivindicaciones anexas y los dibujos que acompañan este documento, en donde:

- 5 La Fig. 1 es un gráfico de barras de la actividad de condroitina liasa de la condroitinasa ABCI de tipo silvestre no inactivada (normal), tipo silvestre, inactivada (No Enz) y enzimas mutantes condroitinasa ABCI de la presente invención después de la exposición a UV.

La Fig 2 es un gráfico de barras de la actividad de condroitina liasa de condroitinasa ABCI de tipo silvestre no inactivada (normal), tipo silvestre, inactivada (No Enz) enzimas mutantes condroitinasa ABCI.

10 I. DESCRIPCION DETALLADA.

Antes de describir las presentes composiciones y métodos, se ha de entender que la invención no está limitada a las moléculas, composiciones, metodologías o protocolos descritos en particular, ya que estos pueden variar. Se ha de entender también que la terminología usada en la memoria descriptiva tiene el propósito de describir solamente las versiones o realizaciones particulares, y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención, que se verá limitada únicamente por las reivindicaciones anexas.

Se ha de observar también que, como se usa en el presente texto y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un", "uno", y "el" incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a "una célula" es una referencia a una o más células y equivalentes de las mismas conocidas por los profesionales expertos en la técnica, etc. A menos que se defina otra cosa, todas las expresiones y los términos técnicos y científicos usados en el presente texto tienen el mismo significado que entiende comúnmente un profesional con experiencia normal en la técnica. Aunque en la práctica y en las pruebas de realizaciones de la presente invención puede usarse cualquier método y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente texto, se describen ahora los métodos, dispositivos y materiales preferidos.

Como se usa en el presente texto, la expresión "aproximadamente" significa más o menos el 10% del valor numérico del número con el que se usa. Por consiguiente, aproximadamente el 50% significa en el intervalo de 45% a 55%.

"Administrar", cuando se usa junto con un medio terapéutico, significa administrar un producto terapéutico directamente en o sobre un tejido diana, o administrar un producto terapéutico a un paciente de forma que el producto terapéutico impacte positivamente con el tejido al que está dirigido. Así, como se usa en el presente texto, el término "administrar" puede incluir, pero no está limitado a ello, proporcionar una enzima al CNS o sobre el tejido diana; proporcionar una enzima sistémicamente a un paciente, p. ej. mediante inyección intravenosa, con lo que el producto terapéutico alcanza el tejido diana; proporcionar una enzima en forma de la secuencia codificadora de la misma al tejido diana (p. ej. mediante las denominadas técnicas de terapia génica). "Administrar" una composición puede realizarse por inyección, administración tópica, o por otro método en combinación con otras técnicas conocidas.

El término "animal" como se usa en el presente texto incluye, pero sin limitarse a ellos, vertebrados humanos y no humanos, tales como animales salvajes, domésticos y de granja.

El término "mejorar" se usa para expresar que la presente invención cambia bien sea la apariencia, la forma, las características y/o los atributos físicos de la diana a la que ha sido proporcionada, aplicada o administrada. El cambio puede demostrarse por cualquiera de los siguientes aspectos o en combinación, incluyendo la degradación de los CSPGs del área lesionada de la médula espinal o en el CNS o el restablecimiento, en su totalidad o en parte, de la función motriz, sensorial o autonómica del mamífero.

El término "inhibición" incluye la administración de un compuesto de la presente invención para prevenir la aparición de los síntomas, aliviar los síntomas o eliminar la enfermedad, condición o trastorno.

Por "aceptable farmacéuticamente" se entiende que el vehículo, diluyente o excipiente ha de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación, y no ha de ser perjudicial para el receptor de la misma.

La expresión "proteína recombinante" se refiere a un polipéptido de la presente invención que es producido por técnicas de DNA recombinante, en donde generalmente el DNA que codifica un polipéptido es insertado en un vector de expresión adecuado, que a su vez se usa para transformar una célula hospedadora para que produzca la proteína. Además, se entiende que la frase "derivado de" con relación a un gen recombinante, incluye dentro del

significado "de proteína recombinante" aquellas proteínas que tienen una secuencia de aminoácidos de una proteína nativa, o una secuencia de aminoácidos similar a ella que se genera por mutaciones que incluyen sustituciones y delecciones (incluyendo truncamiento) de una forma natural de la proteína.

5 Como se usa en el presente texto, el término terapéutico se aplica a un agente utilizado para tratar, combatir, mejorar o prevenir una condición no deseada o la enfermedad de un paciente. En parte, las realizaciones de la presente invención se dirigen al tratamiento del sistema nervioso central, tal como la degradación de los CSPGs de la zona de la médula espinal lesionada o en el CNS, o la restauración, en su totalidad o en parte, de la función motriz, sensorial o autonómica del mamífero.

10 Las expresiones "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad efectiva", como se usa en el presente texto, pueden ser usadas indistintamente y se refieren a una cantidad de un compuesto terapéutico componente de la presente invención. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto terapéutico es una cantidad predeterminada calculada para alcanzar el efecto deseado, es decir, para tratar eficazmente una lesión del sistema nervioso central. Por ejemplo, un compuesto terapéutico que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de condroitinasa que puede ser purificada por un método de la presente invención y formulada para
15 proporcionar una enzima estable activa, es suficiente para degradar los CSPGs de la zona lesionada de la médula espinal o una cantidad suficiente para restablecer, en su totalidad o en parte, la función motriz, sensorial o autonómica del mamífero, y puede tener por resultado una regeneración de las neuronas en el sistema nervioso central, tal como promoviendo el crecimiento axonal en una zona dañada.

20 Los términos "tratar," "tratado," o "tratamiento" como se usa en el presente texto se refiere tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas, en las que el objetivo es prevenir o aminorar una condición fisiológica, trastorno o enfermedad no deseados, u obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los fines de la presente invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitarse a ellos, el alivio de los síntomas, la disminución de la extensión de la condición, el trastorno o la enfermedad, la estabilización (es decir, el no empeoramiento) del estado o condición, trastorno o enfermedad, el retardo de la
25 aparición o el retraso del progreso de la condición, el trastorno o la enfermedad, la mejoría del estado de la condición, el trastorno o la enfermedad, y la remisión, bien sea parcial o total, sea detectable o indetectable, o la potenciación o mejora de la condición, el trastorno o la enfermedad. El tratamiento incluye desencadenar una respuesta clínicamente significativa sin niveles excesivos de efectos secundarios. El tratamiento incluye también prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe el tratamiento.

30 El término "vector" se refiere a un vehículo que puede transportar las moléculas de ácido nucleico. Las moléculas de ácido nucleico que codifican el polipéptido condroitinasa están unidas covalentemente al vector de ácido nucleico. Con este aspecto de la invención, el vector puede ser un plásmido, un fago de cadena simple o doble, un vector viral de RNA o DNA de cadena simple o doble, o un cromosoma artificial, tal como un BAC, PAC, YAC o MAC.

35 La condroitinasa puede obtenerse a partir de un microorganismo que exprese naturalmente una condroitinasa, por ejemplo, pero sin limitarse a ellos, *E. coli*, *Proteus vulgaris* o a partir de la expresión de una proteína recombinante en una célula hospedadora. La célula hospedadora puede ser una célula procariótica (tal como *E. coli*) o una célula eucariótica (tal como levadura, una célula de mamífero o una célula de insecto).

La secuencia de nucleótidos de la condroitinasa ABCI se expone como SEC ID N°: 8 y la secuencia de aminoácidos de la condroitinasa ABCI se expone como SEC ID N°: 9.

40 Un aspecto de la presente invención proporciona mutantes de condroitinasa ABCI como se define en la reivindicación 1^a. Las enzimas mutantes condroitinasa ABCI se eligen entre BC6 (SEC ID N°: 1), BE7 (SEC ID N°: 2), y BF4 (SEC ID N°: 3).

45 Tales enzimas pueden formularse en composiciones farmacéuticas y formulaciones. Formulaciones estables adecuadas y métodos de purificación se exponen en la solicitud PCT pendiente en común con la presente No. US2005/017464 presentada el 18 de mayo de 2005 que lleva por título "Methods of Purifying Chondroitinase and Stable Formulations Thereof" (métodos para la purificación de condroitinasa y formulaciones estables de la misma).

Un aspecto de la presente invención proporciona mutantes de condroitinasa que muestran una actividad potenciada.

50 En otras realizaciones preferidas, tales mutantes de condroitinasa ABCI muestran una resistencia a la inactivación. Las enzimas mutantes de condroitinasa ABCI se eligen entre BC6 (SEC ID N°: 1), BE7 (SEC ID N°: 2) y BF4 (SEC ID N°: 3).

También se describe un método de diseñar mutantes de condroitinasa ABCI que tienen una actividad alterada. El método comprende alterar la secuencia de nucleótidos o la secuencia de aminoácidos de la condroitinasa ABCI, expresar la condroitinasa ABCI en un vector adecuado y medir la actividad de la enzima mutante.

5 En otra realización, se proporciona una enzima condroitinasa ABCI estable. La enzima puede mostrar una mayor resistencia a la inactivación bajo condiciones de estrés, incluyendo la exposición a la luz UV o al calor. En una realización preferida, la enzima muestra mayor estabilidad en comparación con la enzima condroitinasa ABCI de tipo silvestre después de una sensibilización mediante un estrés.

10 En otra realización, las enzimas de la presente invención pueden usarse para tratar lesiones del sistema nervioso central mediante la administración de una enzima condroitinasa ABCI mutante. En realizaciones preferidas, la enzima condroitinasa ABCI mutante es administrada en una cantidad terapéuticamente efectiva. La enzima condroitinasa ABCI mutante se elige entre el grupo que consiste en BC6 (SEC ID N°: 1), BE7 (SEC ID N°: 2) y BF4 (SEC ID N°: 3). Tales lesiones del sistema nervioso central pueden incluir, pero sin limitarse a ellas, lesiones de la médula espinal.

15 En otra realización, las enzimas de la presente invención pueden ser usadas para promover el brote neuronal mediante la administración de una enzima condroitinasa ABCI mutante. En realizaciones preferidas, la enzima condroitinasa ABCI mutante es administrada en una cantidad terapéuticamente efectiva. La enzima condroitinasa ABCI mutante se elige entre el grupo consistente en BC6 (SEC ID N°: 1), BE7 (SEC ID N°: 2) y BF4 (SEC ID N°: 3).

20 Otras realizaciones de la presente invención se refieren a las enzimas para uso en la promoción de la recuperación funcional neurológica después de una lesión o enfermedad del sistema nervioso central ("CNS"). En realizaciones preferidas, la enzima condroitinasa ABCI mutante es administrada en una cantidad terapéuticamente efectiva. En particular, las enzimas de la presente invención pueden usarse para promover la recuperación funcional neurológica sensorial, motriz o autonómica después de una lesión de la médula espinal. Las composiciones útiles incluyen formulaciones de condroitinasa aceptables, más en particular formulaciones de condroitinasa de liberación prolongada. Las enzimas de la presente invención pueden también dirigirse a promover la recuperación funcional neurológica después de una lesión contusa de la médula espinal. El tipo más común de lesiones de la médula espinal (SCI) incluye contusiones (moradura de la médula espinal) y lesiones por compresión (causadas por una presión sobre la médula espinal). En las lesiones contusas, el tipo más común de lesión, se forma con frecuencia una cavidad o un orificio en el centro de la médula espinal.

30 Los tratamientos de la presente descripción suministran una cantidad efectiva del mutante o de otro agente terapéutico opcional al CNS o al sitio lesionado del CNS. Opcionalmente pueden administrarse otros proteoglicanos de sulfato de condroitina, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, condroitinasa ABC_{TypeI}, condroitinasa ABC_{TypeII}, condroitinasa AC y condroitinasa B, o enzimas de mamífero con actividad similar a la de la condroitinasa, tales como Hyal1, Hyal2, Hyal3 y Hyal4, preferentemente al CNS, y más preferentemente a las lesiones de la zona dañada del CNS.

35 Como es conocido en la técnica, pueden producirse polipéptidos condroitinasa mediante técnicas biológicas estándar o por síntesis química. Por ejemplo, una célula hospedadora transfectada con un vector de ácido nucleico que dirige la expresión de una secuencia de nucleótidos que codifica los polipéptidos sujeto, puede ser cultivada bajo condiciones apropiadas para permitir que tenga lugar la expresión del péptido. El polipéptido condroitinasa puede ser segregado y aislado a partir de una mezcla de células y medio que contiene el polipéptido condroitinasa recombinante. También están descritos métodos de purificación en los que la condroitinasa es aislada en una forma pura que es más estable y activa que los métodos usados actualmente.

40 Alternativamente, el péptido puede ser retenido citoplásmicamente eliminando la secuencia del péptido señal del gen de la condroitinasa recombinante, y las células pueden ser recolectadas y lisadas, y la proteína aislada mediante los métodos de purificación descritos en el presente texto.

45 La condroitinasa puede ser administrada tópicamente, localmente o sistémicamente. La administración tópica o local es preferible por el mayor control de la aplicación. Las condroitinasas, de forma singular o en combinación, pueden ser mezcladas con un vehículo farmacéutico apropiado antes de su administración. Ejemplos de vehículos y aditivos farmacéuticos usados de un modo general son los diluyentes, aglutinantes, lubricantes, agentes colorantes, agentes desintegrantes, agentes tampón, ácidos grasos isotonzantes, agentes isotonzantes, conservantes, anestésicos, tensioactivos convencionales y similares, y son conocidos por los expertos en la técnica. Específicamente, los vehículos farmacéuticos que pueden usarse son dextrano, sucrosa, lactosa, maltosa, xilosa, trehalosa, manitol, xilitol, sorbitol, inositol, seroalbúmina, gelatina, creatinina, polietilenglicol, agentes tensioactivos no iónicos (p. ej. ésteres de ácidos grasos de polioxietilen sorbitán, aceite de ricino endurecido polioxietilenado, ésteres de ácidos grasos de sacarosa, polioxietilen polioxipropilenglicol) y compuestos similares. Los vehículos farmacéuticos pueden

usarse también en combinación, tal como polietilen glicol y/o sacarosa, o ésteres de ácidos grasos y polioxietilen sorbitán, monooleato de polioxietilen sorbitán (20 E. O.) es particularmente preferido.

Puede llevarse a cabo un régimen de tratamiento por medio de la administración de una enzima condroitinasa ABCI mutante de la presente invención. El régimen de tratamiento puede comprender además la administración de condroitinasa ABCII, condroitinasa AC y condroitinasa B o enzimas de mamífero con actividad similar a la de la condroitinasa, tales como Hyal1, Hyal2, Hyal3, Hyal4 y PH2O, a las lesiones de la zona dañada del CNS. El modo de administración, la programación en el tiempo de administración y la dosificación se llevan a cabo de manera que la recuperación funcional de la mejora del CNS está potenciada por la promoción del brote de neuritas.

La cantidad efectiva de condroitinasa puede ser administrada en una dosis única, en dos dosis o en varias dosis. Aun cuando se ha de entender que la dosificación puede ser administrada en cualquier momento, en una realización la dosis se administra dentro de las 12 horas después de la lesión, o lo antes posible. En otra realización, la dosificación se administra a un mamífero lesionado en una, dos o varias dosis; tales dosis serán dependientes de la gravedad de la lesión y de la cantidad de CSPGs presente en la cicatriz neuroglial. Cuando se administran dosis diversas, pueden ser suministradas sobre una base diaria, semanal o bisemanal. El suministro de las dosis puede ser por medio de un catéter o jeringa. Alternativamente, el tratamiento puede ser administrado durante la cirugía, para permitir la aplicación directa a la cicatriz neuroglial.

Por ejemplo, en algunos aspectos, puede usarse una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se definió anteriormente, y un vehículo o diluyente aceptable farmacéuticamente, o una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se definió anteriormente.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados de la manera convencional por cualquier vía en la que sean activos. La administración puede ser sistémica, tópica u oral. Por ejemplo, la administración puede ser, pero sin limitarse a ellas, por las vías parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, transcutánea, oral, bucal, u ocular, o intravaginalmente, por inhalación, mediante inyecciones de absorción prolongada, o mediante implantes. Así pues, los modos de administración para los compuestos de la presente invención (bien sean solos o en combinación con otras sustancias farmacéuticas, pueden ser, pero sin limitarse a ellos, sublingual, inyectable (incluyendo de acción breve, retardada, implante y gránulos inyectados por vía subcutánea o intramuscular), o mediante el uso de cremas vaginales, supositorios, pesarios, anillos vaginales, supositorios rectales, dispositivos intrauterinos, y formas transcutáneas como parches y cremas.

Los modos de administración concretos dependerán de la indicación. La selección de la vía específica de administración y el régimen de dosis se ha de ajustar o valorar por el médico de acuerdo con métodos conocidos por el mismo con el fin de obtener la respuesta clínica óptima. La cantidad de compuesto a administrar es aquella cantidad que sea terapéuticamente efectiva. La dosis a administrar dependerá de las características del sujeto al que se aplica el tratamiento, p. ej. el animal tratado en particular, la edad, el peso, salud, tipo de tratamiento coincidente, si lo hay, y frecuencia de los tratamientos, y puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica (p. ej. por el médico clínico).

Las formulaciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la presente invención y un vehículo adecuado pueden ser formas de dosificación sólidas que incluyen, pero sin limitarse a ellas, comprimidos, cápsulas, sobres, pellas, píldoras, polvos y gránulos; formas de dosificación tópicas que incluyen, pero sin limitarse a ellas, soluciones, polvos, emulsiones, suspensiones fluidas, semisólidos, pomadas, pastas, cremas, geles y jaleas, y espumas; y formas de dosificación parenteral que incluyen, pero sin limitarse a ellas, soluciones, suspensiones, emulsiones, y polvo seco; que comprenden una cantidad efectiva de una enzima de la presente invención. Se sabe también en la técnica que los ingredientes activos pueden ser contenidos en tales formulaciones con diluyentes, cargas, agentes de desintegración, aglutinantes, lubricantes, agentes tensioactivos, vehículos hidrófobos, vehículos solubles en agua, emulsionantes, tampones, humectantes, solubilizantes, conservantes y similares aceptables farmacéuticamente. Los medios y los métodos de administración son conocidos en la técnica, y un experto puede consultar varias referencias farmacológicas para su información. Por ejemplo, puede consultarse Modern Pharmaceutics, Banker & Rhodes, Marcel Dekker, Inc. (1979); y Goodman & Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, 6ª Edición, MacMillan Publishing Co., Nueva York (1980).

Los compuestos de la presente invención pueden ser formulados para administración parenteral mediante inyección, p. ej. mediante inyección en bolo o por infusión continua. Los compuestos pueden ser administrados por infusión subcutánea continua a lo largo de un periodo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 24 horas. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en formas de dosificación unitarias, p. ej. en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

- 5 Para administración oral, los compuestos pueden formularse fácilmente combinando estos compuestos con vehículos aceptables farmacéuticamente bien conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten que los compuestos de la invención sean formulados como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, papillas, suspensiones y similares, para ingestión oral por el paciente que ha de ser tratado. Los preparados farmacéuticos para uso oral pueden obtenerse añadiendo un excipiente sólido, opcionalmente triturando la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir los agentes auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados incluyen, pero sin limitarse a ellos, cargas tales como azúcares, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol; preparados de celulosa tales como, pero sin limitarse a ellos, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, 10 gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, carboximetilcelulosa sódica, y polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes de desintegración tales como, pero sin limitarse a ellos, polivinil pirrolidona entrecruzada, agar o ácido algínico o una sal del mismo, tal como alginato sódico.
- 15 Pueden proporcionarse núcleos de grageas con recubrimientos adecuados. Para este fin pueden usarse soluciones concentradas de azúcar, que opcionalmente pueden contener goma arábica, talco, polivinil pirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de laca, y disolventes orgánicos adecuados, o mezclas de disolventes. Pueden añadirse colorantes o pigmentos a lo comprimidos o recubrimientos de grageas para la identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.
- 20 Los preparados farmacéuticos que pueden usarse oralmente incluyen, pero sin limitarse a ellos, cápsulas adaptadas a presión hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tales como glicerol o sorbitol. Las cápsulas adaptadas a presión pueden contener los ingredientes activos mezclados con cargas tales como, p. ej., lactosa, aglutinantes tales como, p. ej., almidones, y/o lubricantes tales como, p. ej., talco o estearato de magnesio, y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden estar disueltos o suspendidos en líquidos adecuados tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. Además pueden añadirse estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en 25 formas de dosificación adecuadas para tal administración.
- Para administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma, p. ej., de comprimidos o pastillas formuladas de una manera convencional.
- 30 Para administración por inhalación, los compuestos para ser usados de acuerdo con la presente invención son suministrados convenientemente en una presentación en forma de un pulverizador de aerosol en envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor apropiado, p. ej. diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado la unidad de dosificación puede ser establecida proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos, p. ej. de gelatina, para su uso en un inhalador o insuflador, que contienen una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o 35 almidón.
- Los compuestos de la presente invención pueden formularse también en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, p. ej. que contienen bases para supositorios convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos.
- 40 Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos de la presente invención pueden formularse también como preparado retardado. Tales formulaciones de acción prolongada pueden ser administradas por implante (por ejemplo subcutáneo o intramuscular) o mediante inyección intramuscular.
- Las inyecciones de retardo pueden ser administradas en intervalos de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 meses, o más largos. Así, por ejemplo, los compuestos pueden ser formulados con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo como emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como 45 derivados escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble.
- En la administración transcutánea, los compuestos de la presente invención, por ejemplo, puede aplicarse a un emplastro, o pueden ser aplicados mediante sistemas terapéuticos transcutáneos, que se suministran después al organismo.
- 50 Las composiciones farmacéuticas de los compuestos pueden comprender también vehículos o excipientes adecuados sólidos o en fase de gel. Los ejemplos de tales vehículos o excipientes incluyen, pero sin limitarse a ellos, carbonato cálcico, fosfato cálcico, varios azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como, p. ej., polietilenglicoles.

Los compuestos de la presente invención pueden ser también administrados en combinación con otros ingredientes activos, tales como, por ejemplo, coadyuvantes, inhibidores de proteasa, u otros fármacos compatibles, o compuestos en los que se observa que tal combinación es deseable o ventajosa para conseguir los efectos deseados de los métodos descritos en el presente texto.

- 5 Los métodos que siguen se usan para ilustrar las diversas realizaciones de la presente invención. Los métodos son métodos ejemplares y no significa que limiten la invención.

EJEMPLO 1

El presente ejemplo ilustra enzimas condroitinasa mutantes ejemplares de la presente invención. Todos los nucleótidos y aminoácidos se indican como el tipo silvestre y después la versión mutante (Tipo silvestre a Mutante).

Enzima ABCI mutante	Secuencia de nucleótidos	Secuencia de aminoácidos
BC6 (SEC ID N°: 1)	T1206 a C1206 C1114 a A1114	E403 a G403 W372 a C372
BE7 (SEC ID N°: 2)	G1925 a T1925 T2226 a G2226	S642 a I642 I742 a M742
BF4 (SEC ID N°: 3)	T2160 a A2160	N720 a K720e
BC9 (SEC ID N°: 4) *	G1238 a A1238	S413 a N413
BC7 (SEC ID N°: 5) *	A1468 a G1468	K490 a E490
RD4 (SEC ID N°: 6) *	T1661 a A1661	L554 a H554
BE11 (SEC ID N°: 7) *	A1901 a T1901 C1935 a T1935 (en posición de bamboleo del codón – no resulta cambio de AA)	D634 a V634

10 * comparativa

EJEMPLO 2

- 15 El ejemplo presente ilustra la actividad de liasa de la condroitina de mutantes de condroitinasa ABCI ejemplares de acuerdo con la presente invención, después de la exposición a UV. Los genes de condroitinasa ABIC mutantes fueron generados y transformados en bacterias. Las bacterias se desarrollaron y se expresó la condroitinasa mutagenizada. Después se expuso la condroitinasa a la luz UV y se midió su actividad de condroitina liasa. Como se representa en la Fig. 1, los clones BC6 (SEC ID N°: 1), BE7 (SEC ID N°: 2) y BF4 (SEC ID N°: 3) mostraron una mayor actividad de condroitina liasa después de la exposición a la luz UV en comparación con el testigo.

EJEMPLO 3 - COMPARATIVO

- 20 El presente ejemplo ilustra la actividad de condroitina liasa de mutantes ejemplares de condroitinasa ABCI. Se midió la actividad de condroitinasa liasa del Clon BC9, el Clon BC7, el Clon RD4 y el Clon BE11 bajo condiciones normales (es decir, no de estrés), y mostró un descenso de actividad en comparación con la condroitinasa ABCI testigo y de tipo silvestre, como se representa en la Fig. 2.

- 25 Aunque la presente invención ha sido descrita con considerable detalle con referencia a ciertas realizaciones de la misma preferidas, son posibles otras versiones. Por consiguiente las reivindicaciones anexas no han de limitarse a la descripción y a las versiones preferidas contenidas en esta memoria.

LISTA DE SECUENCIAS

5 <110> ACORDA THERAPEUTICS, INC. CAGGIANO, ANTHONY O. IACI, JENNIFER VECCHIONE, ANDREA
MARKENSOHN, ELIZABETH

<120> COMPOSICIONES Y METODOS DE USO DE CONDROITINASA ABCI

10 <130> 127304.03001

<140> AÚN NO ASIGNADA

<141> 26-09-2006

15 <150> 60/720,628

<151> 26-09-2005

<160> 9

20 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 1027

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> Condroitinasa ABCI

<400> 1

Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu
1 5 10 15

Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Asp
20 25 30

Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser Asp Lys Arg Ser Ile Met Gly Asn
35 40 45

Gln Ser Leu Leu Trp Lys Trp Lys Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His
50 55 60

Lys Lys Leu Ile Val Pro Thr Asp Lys Glu Ala Ser Lys Ala Trp Gly
65 70 75 80

Arg Ser Ser Thr Pro Val Phe Ser Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro
85 90 95

Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp
115 120 125

Arg Thr Val Gly Val Ser Leu Asn Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met
130 135 140

30

Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile
 145 150 155 160
 Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Pro
 165 170 175
 Ser Asn Val Ser Gln Gly Glu Ile Tyr Ile Asp Arg Ile Met Phe Ser
 180 185 190
 Val Asp Asp Ala Arg Tyr Gln Trp Ser Asp Tyr Gln Val Lys Thr Arg
 195 200 205
 :
 Leu Ser Glu Pro Glu Ile Gln Phe His Asn Val Lys Pro Gln Leu Pro
 210 215 220
 Val Thr Pro Glu Asn Leu Ala Ala Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu
 225 230 235 240
 Ile Asn Glu Phe Val Gly Gly Glu Lys Glu Thr Asn Leu Ala Leu Glu
 245 250 255
 Glu Asn Ile Ser Lys Leu Lys Ser Asp Phe Asp Ala Leu Asn Thr His
 260 265 270
 Thr Leu Ala Asn Gly Gly Thr Gln Gly Arg His Leu Ile Thr Asp Lys
 275 280 285
 Gln Ile Ile Ile Tyr Gln Pro Glu Asn Leu Asn Ser Gln Asp Lys Gln
 290 295 300
 Leu Phe Asp Asn Tyr Val Ile Leu Gly Asn Tyr Thr Thr Leu Met Phe
 305 310 315 320
 Asn Ile Ser Arg Ala Tyr Val Leu Glu Lys Asp Pro Thr Gln Lys Ala
 325 330 335
 Gln Leu Lys Gln Met Tyr Leu Leu Met Thr Lys His Leu Leu Asp Gln
 340 345 350
 Gly Phe Val Lys Gly Ser Ala Leu Val Thr Thr His His Trp Gly Tyr
 355 360 365
 Ser Ser Arg Cys Trp Tyr Ile Ser Thr Leu Leu Met Ser Asp Ala Leu
 370 375 380
 Lys Glu Ala Asn Leu Gln Thr Gln Val Tyr Asp Ser Leu Leu Trp Tyr
 385 390 395 400
 Ser Arg Gly Phe Lys Ser Ser Phe Asp Met Lys Val Ser Ala Asp Ser
 405 410 415

Ser Asp Leu Asp Tyr Phe Asn Thr Leu Ser Arg Gln His Leu Ala Leu
420 425 430

Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
435 440 445

Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
450 455 460

Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
465 470 475 480

Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile
485 490 495

Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
500 505 510

Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
515 520 525

Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
530 535 540

Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser
545 550 555 560

Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
565 570 575

Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
580 585 590

Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
595 600 605

His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
610 615 620

Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
625 630 635 640

Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
645 650 655

Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
660 665 670

Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
675 680 685

Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700
 Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Asn
 705 710 715 720
 Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735
 Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
 740 745 750
 Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
 755 760 765
 Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
 770 775 780
 Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
 785 790 795 800
 Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
 805 810 815
 His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
 820 825 830
 Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
 835 840 845
 Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
 850 855 860
 Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
 865 870 875 880
 Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
 885 890 895
 Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
 900 905 910
 Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
 915 920 925
 Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
 930 935 940
 Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
 945 950 955 960

Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
 965 970 975

Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
 980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
 995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
 1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
 1025

<210> 2
 <211> 1027
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> condroitinasa ABCI

<400> 2

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

Gly	Arg	Ser	Leu	Gly 165	Ala	Lys	Val	Asp	Ser 170	Ile	Arg	Phe	Lys	Ala 175	Pro
Ser	Asn	Val	Ser 180	Gln	Gly	Glu	Ile	Tyr 185	Ile	Asp	Arg	Ile	Met 190	Phe	Ser
Val	Asp	Asp 195	Ala	Arg	Tyr	Gln	Trp 200	Ser	Asp	Tyr	Gln	Val 205	Lys	Thr	Arg
Leu	Ser 210	Glu	Pro	Glu	Ile	Gln 215	Phe	His	Asn	Val	Lys 220	Pro	Gln	Leu	Pro
Val 225	Thr	Pro	Glu	Asn	Leu 230	Ala	Ala	Ile	Asp	Leu 235	Ile	Arg	Gln	Arg	Leu 240
Ile	Asn	Glu	Phe	Val 245	Gly	Gly	Glu	Lys	Glu 250	Thr	Asn	Leu	Ala	Leu 255	Glu
Glu	Asn	Ile	Ser 260	Lys	Leu	Lys	Ser	Asp 265	Phe	Asp	Ala	Leu	Asn	Thr	His
Thr	Leu	Ala 275	Asn	Gly	Gly	Thr	Gln 280	Gly	Arg	His	Leu	Ile 285	Thr	Asp	Lys
Gln	Ile 290	Ile	Ile	Tyr	Gln	Pro 295	Glu	Asn	Leu	Asn	Ser 300	Gln	Asp	Lys	Gln
Leu 305	Phe	Asp	Asn	Tyr	Val 310	Ile	Leu	Gly	Asn	Tyr 315	Thr	Thr	Leu	Met	Phe 320
Asn	Ile	Ser	Arg	Ala 325	Tyr	Val	Leu	Glu	Lys 330	Asp	Pro	Thr	Gln	Lys 335	Ala
Gln	Leu	Lys	Gln 340	Met	Tyr	Leu	Leu	Met 345	Thr	Lys	His	Leu	Leu 350	Asp	Gln
Gly	Phe	Val 355	Lys	Gly	Ser	Ala	Leu 360	Val	Thr	Thr	His	His 365	Trp	Gly	Tyr
Ser	Ser 370	Arg	Trp	Trp	Tyr	Ile 375	Ser	Thr	Leu	Leu	Met 380	Ser	Asp	Ala	Leu
Lys 385	Glu	Ala	Asn	Leu	Gln 390	Thr	Gln	Val	Tyr	Asp 395	Ser	Leu	Leu	Trp	Tyr 400
Ser	Arg	Glu	Phe	Lys 405	Ser	Ser	Phe	Asp	Met 410	Lys	Val	Ser	Ala	Asp 415	Ser
Ser	Asp	Leu	Asp 420	Tyr	Phe	Asn	Thr	Leu 425	Ser	Arg	Gln	His	Leu 430	Ala	Leu

Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
 435 440 445
 Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
 450 455 460
 Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
 465 470 475 480
 Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
 500 505 510
 Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
 515 520 525
 Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
 530 535 540
 Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser
 545 550 555 560
 Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
 565 570 575
 Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
 580 585 590
 Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
 595 600 605
 His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
 610 615 620
 Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
 625 630 635 640
 Gln Ile His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
 645 650 655
 Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
 660 665 670
 Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
 675 680 685
 Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700

ES 2 393 748 T3

Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Asn
 705 710 715 720
 Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735
 Ala Asp Asn His Leu Met Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
 740 745 750
 Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
 755 760 765
 Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
 770 775 780
 Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
 785 790 795 800
 Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
 805 810 815
 His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
 820 825 830
 Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
 835 840 845
 Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
 850 855 860
 Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
 865 870 875 880
 Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
 885 890 895
 Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
 900 905 910
 Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
 915 920 925
 Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
 930 935 940
 Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
 945 950 955 960
 Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
 965 970 975

Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
1025

<210> 3
<211> 1027
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> condroitinasa ABCI
<400> 3

Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu
1 5 10 15

Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Asp
20 25 30

Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser Asp Lys Arg Ser Ile Met Gly Asn
35 40 45

Gln Ser Leu Leu Trp Lys Trp Lys Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His
50 55 60

Lys Lys Leu Ile Val Pro Thr Asp Lys Glu Ala Ser Lys Ala Trp Gly
65 70 75 80

Arg Ser Ser Thr Pro Val Phe Ser Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro
85 90 95

Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp
115 120 125

Arg Thr Val Gly Val Ser Leu Asn Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met
130 135 140

Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile
145 150 155 160

Gly	Arg	Ser	Leu	Gly	Ala	Lys	Val	Asp	Ser	Ile	Arg	Phe	Lys	Ala	Pro
			165						170					175	
Ser	Asn	Val	Ser	Gln	Gly	Glu	Ile	Tyr	Ile	Asp	Arg	Ile	Met	Phe	Ser
			180					185					190		
Val	Asp	Asp	Ala	Arg	Tyr	Gln	Trp	Ser	Asp	Tyr	Gln	Val	Lys	Thr	Arg
		195					200					205			
Leu	Ser	Glu	Pro	Glu	Ile	Gln	Phe	His	Asn	Val	Lys	Pro	Gln	Leu	Pro
	210					215					220				
Val	Thr	Pro	Glu	Asn	Leu	Ala	Ala	Ile	Asp	Leu	Ile	Arg	Gln	Arg	Leu
225					230					235					240
Ile	Asn	Glu	Phe	Val	Gly	Gly	Glu	Lys	Glu	Thr	Asn	Leu	Ala	Leu	Glu
				245					250					255	
Glu	Asn	Ile	Ser	Lys	Leu	Lys	Ser	Asp	Phe	Asp	Ala	Leu	Asn	Thr	His
			260					265					270		
Thr	Leu	Ala	Asn	Gly	Gly	Thr	Gln	Gly	Arg	His	Leu	Ile	Thr	Asp	Lys
		275					280					285			
Gln	Ile	Ile	Ile	Tyr	Gln	Pro	Glu	Asn	Leu	Asn	Ser	Gln	Asp	Lys	Gln
	290					295					300				
Leu	Phe	Asp	Asn	Tyr	Val	Ile	Leu	Gly	Asn	Tyr	Thr	Thr	Leu	Met	Phe
305					310					315					320
Asn	Ile	Ser	Arg	Ala	Tyr	Val	Leu	Glu	Lys	Asp	Pro	Thr	Gln	Lys	Ala
				325					330					335	
Gln	Leu	Lys	Gln	Met	Tyr	Leu	Leu	Met	Thr	Lys	His	Leu	Leu	Asp	Gln
			340					345					350		
Gly	Phe	Val	Lys	Gly	Ser	Ala	Leu	Val	Thr	Thr	His	His	Trp	Gly	Tyr
		355					360					365			
Ser	Ser	Arg	Trp	Trp	Tyr	Ile	Ser	Thr	Leu	Leu	Met	Ser	Asp	Ala	Leu
	370					375					380				
Lys	Glu	Ala	Asn	Leu	Gln	Thr	Gln	Val	Tyr	Asp	Ser	Leu	Leu	Trp	Tyr
385					390					395					400
Ser	Arg	Glu	Phe	Lys	Ser	Ser	Phe	Asp	Met	Lys	Val	Ser	Ala	Asp	Ser
				405					410					415	
Ser	Asp	Leu	Asp	Tyr	Phe	Asn	Thr	Leu	Ser	Arg	Gln	His	Leu	Ala	Leu
			420					425					430		

eu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
 435 440 445
 he Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
 450 455 460
 ys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
 465 470 475 480
 Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
 500 505 510
 Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
 515 520 525
 Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
 530 535 540
 Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser
 545 550 555 560
 Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
 565 570 575
 Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
 580 585 590
 Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
 595 600 605
 His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
 610 615 620
 Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
 625 630 635 640
 Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
 645 650 655
 Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
 660 665 670
 Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
 675 680 685
 Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700

Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Lys
 705 710 715 720
 Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735
 Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
 740 745 750
 Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
 755 760 765
 Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
 770 775 780
 Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
 785 790 795 800
 Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
 805 810 815
 His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
 820 825 830
 Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
 835 840 845
 Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
 850 855 860
 Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
 865 870 875 880
 Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
 885 890 895
 Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
 900 905 910
 Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
 915 920 925
 Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
 930 935 940
 Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
 945 950 955 960
 Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
 965 970 975

Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
1025

<210> 4
<211> 1027
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> CONDROITINASA ABCI

<400> 4
Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu
1 5 10 15

Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Asp
20 25 30

Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser Asp Lys Arg Ser Ile Met Gly Asn
35 40 45

Gln Ser Leu Leu Trp Lys Trp Lys Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His
50 55 60

Lys Lys Leu Ile Val Pro Thr Asp Lys Glu Ala Ser Lys Ala Trp Gly
65 70 75 80

Arg Ser Ser Thr Pro Val Phe Ser Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro
85 90 95

Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp
115 120 125

Arg Thr Val Gly Val Ser Leu Asn Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met
130 135 140

Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile
145 150 155 160

Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Pro
165 170 175

ES 2 393 748 T3

Ser Asn Val Ser Gln Gly Glu Ile Tyr Ile Asp Arg Ile Met Phe Ser
180 185 190

Val Asp Asp Ala Arg Tyr Gln Trp Ser Asp Tyr Gln Val Lys Thr Arg
195 200 205

Leu Ser Glu Pro Glu Ile Gln Phe His Asn Val Lys Pro Gln Leu Pro
210 215 220

Val Thr Pro Glu Asn Leu Ala Ala Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu
225 230 235 240

Ile Asn Glu Phe Val Gly Gly Glu Lys Glu Thr Asn Leu Ala Leu Glu
245 250 255

Glu Asn Ile Ser Lys Leu Lys Ser Asp Phe Asp Ala Leu Asn Thr His
260 265 270

Thr Leu Ala Asn Gly Gly Thr Gln Gly Arg His Leu Ile Thr Asp Lys
275 280 285

Gln Ile Ile Ile Tyr Gln Pro Glu Asn Leu Asn Ser Gln Asp Lys Gln
290 295 300

Leu Phe Asp Asn Tyr Val Ile Leu Gly Asn Tyr Thr Thr Leu Met Phe
305 310 315 320

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

Gln Leu Lys Gln Met Tyr Leu Leu Met Thr Lys His Leu Leu Asp Gln
340 345 350

Gly Phe Val Lys Gly Ser Ala Leu Val Thr Thr His His Trp Gly Tyr
355 360 365

Ser Ser Arg Trp Trp Tyr Ile Ser Thr Leu Leu Met Ser Asp Ala Leu
370 375 380

Lys Glu Ala Asn Leu Gln Thr Gln Val Tyr Asp Ser Leu Leu Trp Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Glu Phe Lys Ser Ser Phe Asp Met Lys Val Asn Ala Asp Ser
405 410 415

Ser Asp Leu Asp Tyr Phe Asn Thr Leu Ser Arg Gln His Leu Ala Leu
420 425 430

Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
435 440 445

Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
 450 455 460
 Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
 465 470 475 480
 Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
 500 505 510
 Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
 515 520 525
 Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
 530 535 540
 Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser
 545 550 555 560
 Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
 565 570 575
 Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
 580 585 590
 Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
 595 600 605
 His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
 610 615 620
 Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
 625 630 635 640
 Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
 645 650 655
 Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
 660 665 670
 Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
 675 680 685
 Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700
 Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Asn
 705 710 715 720

Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735
 Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
 740 745 750
 Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
 755 760 765
 Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
 770 775 780
 Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
 785 790 795 800
 Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
 805 810 815
 His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
 820 825 830
 Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
 835 840 845
 Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
 850 855 860
 Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
 865 870 875 880
 Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
 885 890 895
 Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
 900 905 910
 Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
 915 920 925
 Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
 930 935 940
 Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
 945 950 955 960
 Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
 965 970 975
 Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
 980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
1025

<210> 5
<211> 1027
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> CONDROITINASA ABCI

<400> 5

Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu
1 5 10 15

Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Asp
20 25 30

Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser Asp Lys Arg Ser Ile Met Gly Asn
35 40 45

Gln Ser Leu Leu Trp Lys Trp Lys Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His
50 55 60

Lys Lys Leu Ile Val Pro Thr Asp Lys Glu Ala Ser Lys Ala Trp Gly
65 70 75 80

Arg Ser Ser Thr Pro Val Phe Ser Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro
85 90 95

Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp
115 120 125

Arg Thr Val Gly Val Ser Leu Asn Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met
130 135 140

Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile
145 150 155 160

Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Pro
165 170 175

Ser Asn Val Ser Gln Gly Glu Ile Tyr Ile Asp Arg Ile Met Phe Ser
180 185 190

Val Asp Asp Ala Arg Tyr Gln Trp Ser Asp Tyr Gln Val Lys Thr Arg
195 200 205

Leu Ser Glu Pro Glu Ile Gln Phe His Asn Val Lys Pro Gln Leu Pro
210 215 220

Val Thr Pro Glu Asn Leu Ala Ala Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu
225 230 235 240

Ile Asn Glu Phe Val Gly Gly Glu Lys Glu Thr Asn Leu Ala Leu Glu
245 250 255

Glu Asn Ile Ser Lys Leu Lys Ser Asp Phe Asp Ala Leu Asn Thr His
260 265 270

Thr Leu Ala Asn Gly Gly Thr Gln Gly Arg His Leu Ile Thr Asp Lys
275 280 285

Gln Ile Ile Ile Tyr Gln Pro Glu Asn Leu Asn Ser Gln Asp Lys Gln
290 295 300

Leu Phe Asp Asn Tyr Val Ile Leu Gly Asn Tyr Thr Thr Leu Met Phe
305 310 315 320

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

Gln Leu Lys Gln Met Tyr Leu Leu Met Thr Lys His Leu Leu Asp Gln
340 345 350

Gly Phe Val Lys Gly Ser Ala Leu Val Thr Thr His His Trp Gly Tyr
355 360 365

Ser Ser Arg Trp Trp Tyr Ile Ser Thr Leu Leu Met Ser Asp Ala Leu
370 375 380

Lys Glu Ala Asn Leu Gln Thr Gln Val Tyr Asp Ser Leu Leu Trp Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Glu Phe Lys Ser Ser Phe Asp Met Lys Val Ser Ala Asp Ser
405 410 415

Ser Asp Leu Asp Tyr Phe Asn Thr Leu Ser Arg Gln His Leu Ala Leu
420 425 430

Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
435 440 445

Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
 450 455 460
 Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
 465 470 475 480
 Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Glu Asn Ala Ser Gln Leu Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
 500 505 510
 Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
 515 520 525
 Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
 530 535 540
 Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser
 545 550 555 560
 Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
 565 570 575
 Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
 580 585 590
 Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
 595 600 605
 His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
 610 615 620
 Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
 625 630 635 640
 Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
 645 650 655
 Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
 660 665 670
 Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
 675 680 685
 Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700
 Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Asn
 705 710 715 720

Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735
 Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
 740 745 750
 Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
 755 760 765
 Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
 770 775 780
 Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
 785 790 795 800
 Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
 805 810 815
 His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
 820 825 830
 Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
 835 840 845
 Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
 850 855 860
 Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
 865 870 875 880
 Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
 885 890 895
 Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
 900 905 910
 Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
 915 920 925
 Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
 930 935 940
 Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
 945 950 955 960
 Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
 965 970 975
 Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
 980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
1025

<210> 6
<211> 1027
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> CONDROITINASA ABCI
<400> 6

Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu
1 5 10 15

Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Asp
20 25 30

Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser Asp Lys Arg Ser Ile Met Gly Asn
35 40 45

Gln Ser Leu Leu Trp Lys Trp Lys Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His
50 55 60

Lys Lys Leu Ile Val Pro Thr Asp Lys Glu Ala Ser Lys Ala Trp Gly
65 70 75 80

Arg Ser Ser Thr Pro Val Phe Ser Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro
85 90 95

Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp
115 120 125

Arg Thr Val Gly Val Ser Leu Asn Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met
130 135 140

Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile
145 150 155 160

Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Pro
165 170 175

Ser Asn Val Ser Gln Gly Glu Ile Tyr Ile Asp Arg Ile Met Phe Ser
180 185 190

Val Asp Asp Ala Arg Tyr Gln Trp Ser Asp Tyr Gln Val Lys Thr Arg
 195 200 205
 Leu Ser Glu Pro Glu Ile Gln Phe His Asn Val Lys Pro Gln Leu Pro
 210 215 220
 Val Thr Pro Glu Asn Leu Ala Ala Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu
 225 230 235
 Ile Asn Glu Phe Val Gly Gly Glu Lys Glu Thr Asn Leu Ala Leu Glu
 245 250 255
 Glu Asn Ile Ser Lys Leu Lys Ser Asp Phe Asp Ala Leu Asn Thr His
 260 265 270
 Thr Leu Ala Asn Gly Gly Thr Gln Gly Arg His Leu Ile Thr Asp Lys
 275 280 285
 Gln Ile Ile Ile Tyr Gln Pro Glu Asn Leu Asn Ser Gln Asp Lys Gln
 290 295 300
 Leu Phe Asp Asn Tyr Val Ile Leu Gly Asn Tyr Thr Thr Leu Met Phe
 305 310 315 320
 Asn Ile Ser Arg Ala Tyr Val Leu Glu Lys Asp Pro Thr Gln Lys Ala
 325 330 335
 Gln Leu Lys Gln Met Tyr Leu Leu Met Thr Lys His Leu Leu Asp Gln
 340 345 350
 Gly Phe Val Lys Gly Ser Ala Leu Val Thr Thr His His Trp Gly Tyr
 355 360 365
 Ser Ser Arg Trp Trp Tyr Ile Ser Thr Leu Leu Met Ser Asp Ala Leu
 370 375 380
 Lys Glu Ala Asn Leu Gln Thr Gln Val Tyr Asp Ser Leu Leu Trp Tyr
 385 390 395 400
 Ser Arg Glu Phe Lys Ser Ser Phe Asp Met Lys Val Ser Ala Asp Ser
 405 410 415
 Ser Asp Leu Asp Tyr Phe Asn Thr Leu Ser Arg Gln His Leu Ala Leu
 420 425 430
 Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
 435 440 445
 Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
 450 455 460

Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
 465 470 475 480
 Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
 500 505 510
 Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
 515 520 525
 Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
 530 535 540
 Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp His Ala Met Ser Ala Lys Ser
 545 550 555 560
 Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
 565 570 575
 Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
 580 585 590
 Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
 595 600 605
 His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
 610 615 620
 Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
 625 630 635 640
 Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
 645 650 655
 Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
 660 665 670
 Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
 675 680 685
 Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700
 Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Asn
 705 710 715 720
 Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735

Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
740 745 750

Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
755 760 765

Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
770 775 780

Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
785 790 795 800

Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
805 810 815

His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
820 825 830

Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
835 840 845

Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
850 855 860

Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
865 870 875 880

Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
885 890 895

Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
900 905 910

Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
915 920 925

Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
930 935 940

Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
945 950 955 960

Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
965 970 975

Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
1025

<210> 7
<211> 1027
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> CONDROITINASA ABCI

<400> 7

Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu
1 5 10 15

Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Asp
20 25 30

Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser Asp Lys Arg Ser Ile Met Gly Asn
35 40 45

Gln Ser Leu Leu Trp Lys Trp Lys Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His
50 55 60

Lys Lys Leu Ile Val Pro Thr Asp Lys Glu Ala Ser Lys Ala Trp Gly
65 70 75 80

Arg Ser Ser Thr Pro Val Phe Ser Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro
85 90 95

Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr
100 105 110

Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp
115 120 125

Arg Thr Val Gly Val Ser Leu Asn Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met
130 135 140

Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile
145 150 155 160

Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Pro
165 170 175

Ser Asn Val Ser Gln Gly Glu Ile Tyr Ile Asp Arg Ile Met Phe Ser
180 185 190

ES 2 393 748 T3

Val Asp Asp Ala Arg Tyr Gln Trp Ser Asp Tyr Gln Val Lys Thr Arg
195 200 205

Leu Ser Glu Pro Glu Ile Gln Phe His Asn Val Lys Pro Gln Leu Pro
210 215 220

Val Thr Pro Glu Asn Leu Ala Ala Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu
225 230 235 240

Ile Asn Glu Phe Val Gly Gly Glu Lys Glu Thr Asn Leu Ala Leu Glu
245 250 255

Glu Asn Ile Ser Lys Leu Lys Ser Asp Phe Asp Ala Leu Asn Thr His
260 265 270

Thr Leu Ala Asn Gly Gly Thr Gln Gly Arg His Leu Ile Thr Asp Lys
275 280 285

Gln Ile Ile Ile Tyr Gln Pro Glu Asn Leu Asn Ser Gln Asp Lys Gln
290 295 300

Leu Phe Asp Asn Tyr Val Ile Leu Gly Asn Tyr Thr Thr Leu Met Phe
305 310 315 320

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

Gln Leu Lys Gln Met Tyr Leu Leu Met Thr Lys His Leu Leu Asp Gln
340 345 350

Gly Phe Val Lys Gly Ser Ala Leu Val Thr Thr His His Trp Gly Tyr
355 360 365

Ser Ser Arg Trp Trp Tyr Ile Ser Thr Leu Leu Met Ser Asp Ala Leu
370 375 380

Lys Glu Ala Asn Leu Gln Thr Gln Val Tyr Asp Ser Leu Leu Trp Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Glu Phe Lys Ser Ser Phe Asp Met Lys Val Ser Ala Asp Ser
405 410 415

Ser Asp Leu Asp Tyr Phe Asn Thr Leu Ser Arg Gln His Leu Ala Leu
420 425 430

Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
435 440 445

Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
450 455 460

Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
 465 470 475 480
 Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
 500 505 510
 Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
 515 520 525
 Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
 530 535 540
 Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser
 545 550 555 560
 Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
 565 570 575
 Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
 580 585 590
 Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
 595 600 605
 His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
 610 615 620
 Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Val Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
 625 630 635 640
 Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
 645 650 655
 Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
 660 665 670
 Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
 675 680 685
 Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700
 Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Asn
 705 710 715 720
 Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735

Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
740 745 750

Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
755 760 765

Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
770 775 780

Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
785 790 795 800

Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
805 810 815

His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
820 825 830

Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
835 840 845

Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
850 855 860

Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
865 870 875 880

Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
885 890 895

Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
900 905 910

Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
915 920 925

Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
930 935 940

Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
945 950 955 960

Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
965 970 975

Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
1025

<210> 8
<211> 2994
<212> DNA
<213> *Proteus vulgaris*

5

<400> 8
gccaccagca atcctgcatt tgatcctaaa aatctgatgc agtcagaaat ttaccatttt 60
gcacaaaata acccattagc agactttctca tcagataaaa actcaatact aacgttatct 120
gataaacgta gcattatggg aaaccaatct cttttatgga aatggaaagg tggtagtagc 180
tttactttac ataaaaaact gattgtcccc accgataaag aagcatctaa agcatgggga 240
cgctcatcca cccccgtttt ctcatTTTgg ctttacaatg aaaaaccgat tgatggttat 300
cttactatcg atttcggaga aaaactcatt tcaaccagt aggctcaggc aggcTTTaaa 360
gtaaaattag atttcactgg ctggcgtact gtgggagtct ctttaaataa cgatcttgaa 420
aatcgagaga tgaccttaaa tgcaaccaat acctcctctg atgggtactca agacagcatt 480
gggcgttctt taggtgctaa agtcgatagt attcgtttta aagcgccttc taatgtgagt 540
cagggtgaaa tctatatcga ccgtattatg ttttctgtcg atgatgctcg ctaccaatgg 600
tctgattatc aagtaaaaac tcgcttatca gaacctgaaa ttcaatttca caacgtaaag 660
ccacaactac ctgtaacacc tgaaaattta gcggccattg atcttattcg ccaacgtcta 720
attaatgaat ttgtcggagg tgaaaaagag acaaacctcg cattagaaga gaatatcagc 780
aaattaaaaa gtgatttcga tgctcttaat actcacactt tagcaaatgg tggaacgcaa 840
ggcagacatc tgatcactga taaacaaatc attatttatc aaccagagaa tcttaactct 900
caagataaac aactatttga taattatggt atttttaggt attacacgac attaattgtt 960
aatattagcc gtgcttatgt gctggaaaaa gatcccacac aaaaggcgca actaaagcag 1020
atgtacttat taatgacaaa gcattttatta gatcaaggct ttgttaaagg gagtgtttta 1080
gtgacaaccc atcactgggg atacagttct cgttggtggt atatttccac gttattaatg 1140
tctgatgcac taaaagaagc gaacctacaa actcaagttt atgattcatt actgtggtat 1200
tcacgtgagt ttaaaagtag ttttgatatg aaagtaagt ctgatagctc tgatctagat 1260
tatttcaata ctttatctcg ccaacattta gccttattac tactagagcc tgatgatcaa 1320
aagcgtatca acttagttaa tactttcagc cattatatca ctggcgcat aacgcaagtg 1380
ccaccgggtg gtaaagatgg ttacgccc gatggtacag catggcgaca tgaaggcaac 1440
tatccgggct actctttccc agcctttaaa aatgcctctc agcttattta tttattacgc 1500
gatacaccat tttcagtggg tgaaagtgg tggaatagcc tgaaaaaagc gatggtttca 1560
gcgtggatct acagtaatcc agaagtggga ttaccgcttg caggaagaca ccctcttaac 1620

```

tcaccttcgt taaaatcagt cgctcaaggc tattactggc ttgccatgtc tgcaaaatca 1680
tcgcctgata aaacacttgc atctatttat cttgcgatta gtgataaaac acaaaatgaa 1740
tcaactgcta tttttggaga aactattaca ccagcgtctt tacctcaagg tttctatgcc 1800
tttaatggcg gtgcttttgg tattcatcgt tggcaagata aaatggtgac actgaaagct 1860
tataacacca atgtttggtc atctgaaatt tataacaaag ataaccgtta tggccgttac 1920
caaagtcatg gtgtcgtca aatagtgagt aatggctcgc agctttcaca gggctatcag 1980
caagaagggtt gggattggaa tagaatgcca ggggcaacca ctatccacct tcctcttaaa 2040
gacttagaca gtcctaaacc tcatacctta atgcaacgtg gagagcgtgg atttagcgga 2100
acatcatccc ttgaagggtca atatggcatg atggcattcg atcttattta tcccgccaat 2160
cttgagcgtt ttgatcctaa tttcactgcg aaaaagagtg tattagccgc tgataatcac 2220
ttaattttta ttggtagcaa tataaatagt agtgataaaa ataaaaatgt tgaaacgacc 2280
ttattccaac atgccattac tccaacatta aatacccttt ggattaatgg acaaaagata 2340
gaaaacatgc cttatcaaac aacacttcaa caagggtgatt ggtaattga tagcaatggc 2400
aatggttact taattactca agcagaaaaa gttaaagttaa gtcgccaaca tcaggtttca 2460
gcggaaaata aaaatcgcca accgacagaa ggaaacttta gctcggcatg gatcgatcac 2520
agcactcgcc ccaaagatgc cagttatgag tatatggtct ttttagatgc gacacctgaa 2580
aaaatgggag agatggcaca aaaattccgt gaaaataatg ggttatatca ggttcttcgt 2640
aaggataaag acgttcatat tattctcgat aaactcagca atgtaacggg atatgccttt 2700
tatcagccag catcaattga agacaaatgg atcaaaaagg ttaataaacc tgcaattgtg 2760
atgactcatc gacaaaaaga cactcttatt gtcagtgcag ttacacctga tttaaatatg 2820
actcgccaaa aagcagcaac tcctgtcacc atcaatgtca cgattaatgg caaatggcaa 2880
tctgctgata aaaatagtga agtgaaaatat caggtttctg gtgataacac tgaactgacg 2940
tttacgagtt actttggtat tccacaagaa atcaaaactct cgccactccc ttga 2994

```

<210> 9
 <211> 1027
 <212> PRT
 <213> Proteus vulgaris

```

<400> 9
Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu
1          5          10          15

Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Asp
20          25          30

Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser Asp Lys Arg Ser Ile Met Gly Asn
35          40          45

Gln Ser Leu Leu Trp Lys Trp Lys Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His
50          55          60

```

Lys Lys Leu Ile Val Pro Thr Asp Lys Glu Ala Ser Lys Ala Trp Gly
 65 70 75 80
 Arg Ser Ser Thr Pro Val Phe Ser Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro
 85 90 95
 Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr
 100 105 110
 Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp
 115 120 125
 Arg Thr Val Gly Val Ser Leu Asn Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met
 130 135 140
 Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile
 145 150 155 160
 Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Pro
 165 170 175
 Ser Asn Val Ser Gln Gly Glu Ile Tyr Ile Asp Arg Ile Met Phe Ser
 180 185 190
 Val Asp Asp Ala Arg Tyr Gln Trp Ser Asp Tyr Gln Val Lys Thr Arg
 195 200 205
 Leu Ser Glu Pro Glu Ile Gln Phe His Asn Val Lys Pro Gln Leu Pro
 210 215 220
 Val Thr Pro Glu Asn Leu Ala Ala Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu
 225 230 235 240
 Ile Asn Glu Phe Val Gly Gly Glu Lys Glu Thr Asn Leu Ala Leu Glu
 245 250 255
 Glu Asn Ile Ser Lys Leu Lys Ser Asp Phe Asp Ala Leu Asn Thr His
 260 265 270
 Thr Leu Ala Asn Gly Gly Thr Gln Gly Arg His Leu Ile Thr Asp Lys
 275 280 285
 Gln Ile Ile Ile Tyr Gln Pro Glu Asn Leu Asn Ser Gln Asp Lys Gln
 290 295 300
 Leu Phe Asp Asn Tyr Val Ile Leu Gly Asn Tyr Thr Thr Leu Met Phe
 305 310 315 320
 Asn Ile Ser Arg Ala Tyr Val Leu Glu Lys Asp Pro Thr Gln Lys Ala
 325 330 335

Gln Leu Lys Gln Met Tyr Leu Leu Met Thr Lys His Leu Leu Asp Gln
340 345 350

Gly Phe Val Lys Gly Ser Ala Leu Val Thr Thr His His Trp Gly Tyr
355 360 365

Ser Ser Arg Trp Trp Tyr Ile Ser Thr Leu Leu Met Ser Asp Ala Leu
370 375 380

Lys Glu Ala Asn Leu Gln Thr Gln Val Tyr Asp Ser Leu Leu Trp Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Glu Phe Lys Ser Ser Phe Asp Met Lys Val Ser Ala Asp Ser
405 410 415

Ser Asp Leu Asp Tyr Phe Asn Thr Leu Ser Arg Gln His Leu Ala Leu
420 425 430

Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr
435 440 445

Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly
450 455 460

Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn
465 470 475 480

Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile
485 490 495

Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn
500 505 510

Ser Leu Lys Lys Ala Met Val Ser Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu
515 520 525

Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg His Pro Leu Asn Ser Pro Ser Leu
530 535 540

Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser
545 550 555 560

Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys
565 570 575

Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala
580 585 590

Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile
595 600 605

His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn
 610 615 620
 Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr
 625 630 635 640
 Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser
 645 650 655
 Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp Asp Trp Asn Arg Met Pro Gly Ala
 660 665 670
 Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His
 675 680 685
 Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu
 690 695 700
 Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala Phe Asp Leu Ile Tyr Pro Ala Asn
 705 710 715 720
 Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala
 725 730 735
 Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp
 740 745 750
 Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro
 755 760 765
 Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro
 770 775 780
 Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly
 785 790 795 800
 Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln
 805 810 815
 His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn
 820 825 830
 Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser
 835 840 845
 Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu
 850 855 860
 Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg
 865 870 875 880

Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr
885 890 895

Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys
900 905 910

Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr
915 920 925

Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys
930 935 940

Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln
945 950 955 960

Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn
965 970 975

Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys
980 985 990

Leu Ser Pro Leu Pro Ala Cys Arg Asp Ala Thr His Glu Arg Ala Pro
995 1000 1005

Glu Thr Ile Cys Ser Ile Asn Cys Cys Asn Phe Ile Asp Glu Asn
1010 1015 1020

Thr Ile Ala Leu
1025

REIVINDICACIONES

1. Una enzima condroitinasa ABCI mutante, la cual enzima comprende la SEC ID NO: 1, SEC ID NO: 2 o SEC ID NO: 3.
2. La enzima condroitinasa ABCI mutante según la reivindicación 1ª, la cual enzima comprende la SEC ID NO: 1.
3. La enzima condroitinasa ABCI mutante según la reivindicación 1ª, la cual enzima comprende la SEC ID NO: 2.
4. La enzima condroitinasa ABCI mutante según la reivindicación 1ª, la cual enzima comprende la SEC ID NO: 3.
5. Una enzima condroitinasa ABCI mutante según una cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 4ª, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central.
6. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 5ª, estando dicha enzima destinada a la administración después de una lesión contusa del sistema nervioso central.
7. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 5ª, estando dicha enzima destinada a la administración después de una lesión no contusa del sistema nervioso central.
8. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 5ª, estando dicha enzima destinada a la administración después de una lesión de la médula espinal.
9. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según una cualquiera de las reivindicaciones 5ª a 8ª, siendo formulada dicha enzima para administración local.
10. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 9ª, estando la enzima formulada para administración intratecal.
11. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso según una cualquiera de las reivindicaciones 5ª a 8ª, estando la enzima formulada para administración tópica.
12. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 5ª, en donde dicha enzima favorece el crecimiento neuronal.
13. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 6ª, en donde dicha enzima favorece el crecimiento neuronal.
14. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 7ª, en donde dicha enzima favorece el crecimiento neuronal.
15. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 8ª, en donde dicha enzima favorece el crecimiento neuronal.
16. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según una cualquiera de las reivindicaciones 12ª a 15ª, en donde dicha enzima es formulada para administración local.
17. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según la reivindicación 16ª, estando la enzima formulada para administración intratecal.
18. La enzima condroitinasa ABCI mutante, para ser usada en el tratamiento de una lesión del sistema nervioso central según una cualquiera de las reivindicaciones 12ª a 15ª, estando la enzima formulada para administración tópica.

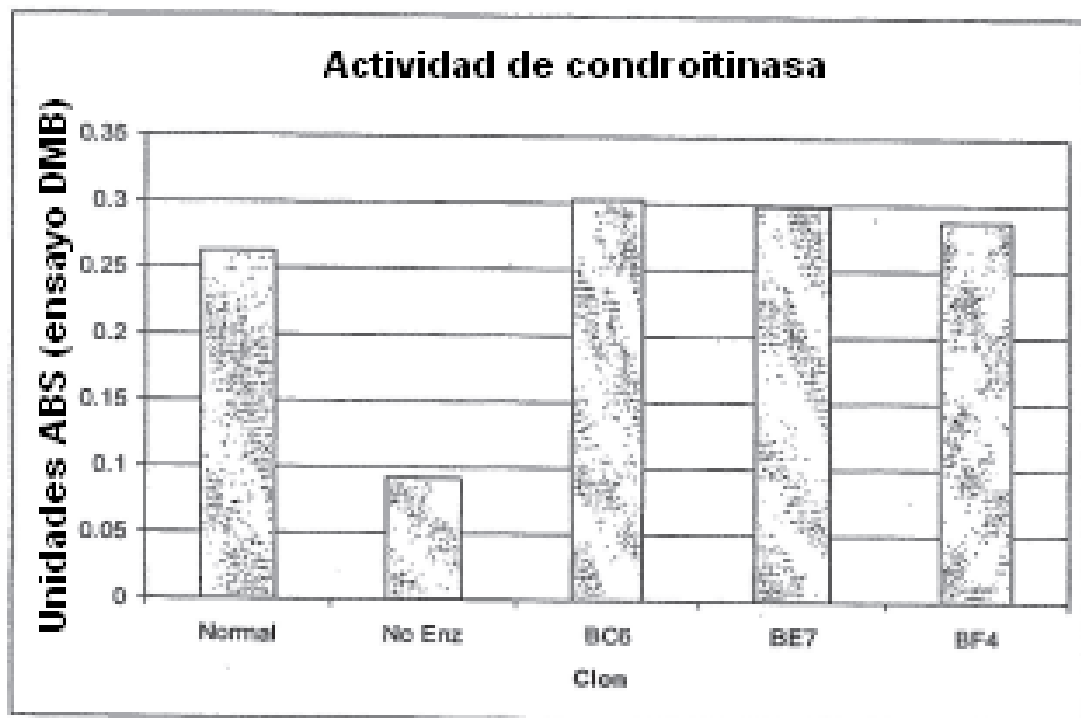


Fig. 1

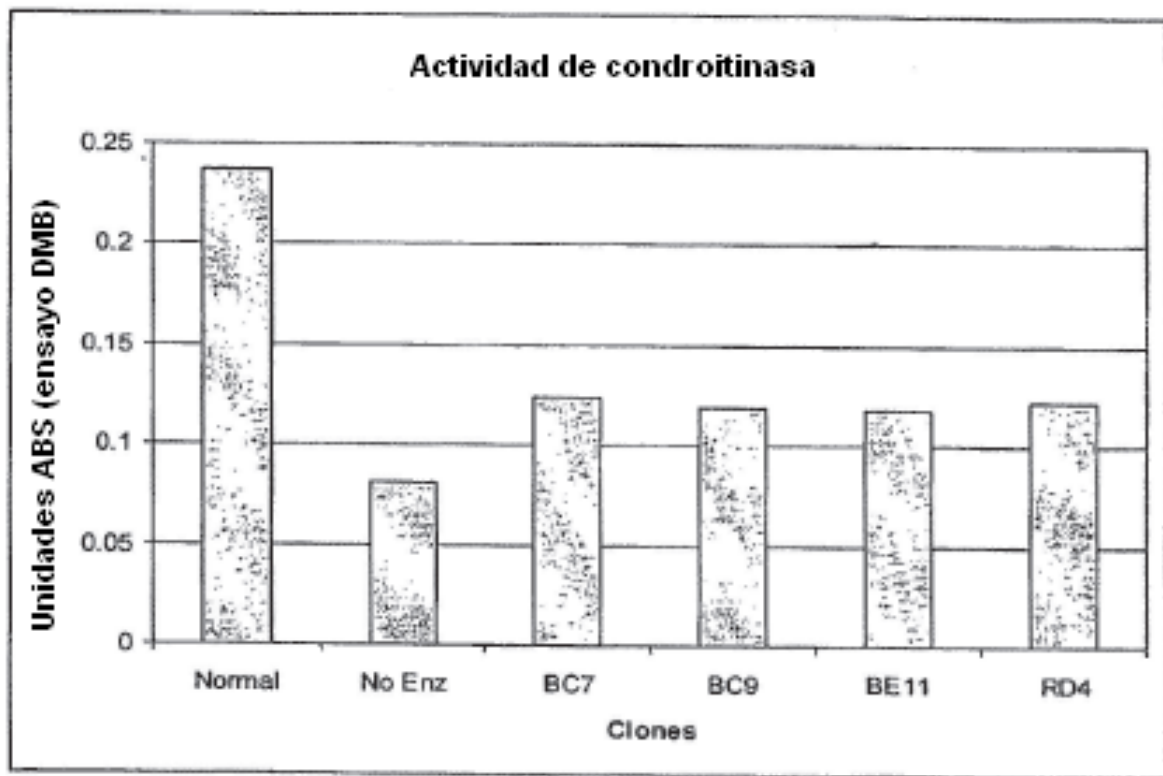


Fig. 2