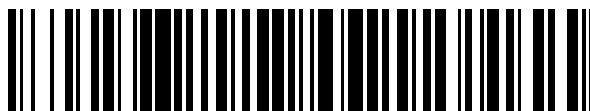


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 448 816**

51 Int. Cl.:

C12N 9/10 (2006.01)

C12N 15/54 (2006.01)

C12P 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.02.2010** **E 10746948 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2013** **EP 2401366**

54 Título: **Biocatalizadores de transaminasa**

30 Prioridad:

26.02.2009 US 155902 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.03.2014

73 Titular/es:

CODEXIS, INC. (100.0%)
200 Penobscot Drive
Redwood City, CA 94063, US

72 Inventor/es:

SAVILE, CHRISTOPHER;
MUNDORFF, EMILY;
MOORE, JEFFREY C.;
DEVINE, PAUL N. y
JANEY, JACOB M.

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 448 816 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**Biocatalizadores de transaminasa****CAMPO TÉCNICO**

- 5 **[0001]** La presente divulgación se refiere a biocatalizadores de transaminasa y a procedimientos de utilización de biocatalizadores.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 **[0002]** Tras la ingestión de un alimento, se liberan un grupo de hormonas denominadas incretinas, que incluyen glucagón como péptido – 1 (GLP – 1) y péptido insulínico – dependiente de glucosa (GIP). Las incretinas estimulan la liberación de insulina y reprimen la liberación de glucagón de manera dependiente, retrasa el vaciado gástrico y aumenta la saciedad. Las incretinas se degradan rápidamente por la Dipeptidil peptidasa IV (DPP – 4).

- 15 **[0003]** La Sitagliptina forma parte de una clase de medicamentos anti hiperglicémicos que inhiben la DPP – 4. La actividad inhibitoria de la DPP – 4 y, por tanto, el retraso de la inactivación de creatinas parece mejorar la función insular incrementando la reactividad de las células alfa y beta a la glucosa, dando como resultado una secreción de glucosa – dependiente de insulina mejorada y una secreción reducida de glucagón inapropiado. Debido a sus efectos anti hiperglicémicos, la Sitagliptina ha sido aprobada para su uso en el tratamiento de diabetes Tipo 2 en
20 numerosos países.

- 25 **[0004]** El proceso actual de fabricación de la Sitagliptina presenta hidrogenación asimétrica de una amida enamina desprotegida (patente US N° 7.468.459, emitida el 23 de diciembre del 2008; Shultz et al., 2007, Acc. Chem. Res. 40 1320 – 1326). El uso de un catalizador de rodio con ligando de tipo JOSIPHOS en metanol a 50 °C y 250 psi presenta Sitagliptina como base libre en un 97 % e.e. La mejora de la cristalización de la base libre produce Sitagliptina con > 99,5 % e.e. Y un 84 % de rendimiento, y la subsecuente reacción con ácido fosfórico da lugar a monohidrato fosfato de Sitagliptina, el principio farmacéutico activo (“API”) en JANUVIA®, en un 97 % del rendimiento completo a partir del sustrato de amida enamina.

- 30 **[0005]** Para más referencias sobre el enfoque de resolución química para sintetizar Sitagliptina véanse Doseop et al., 2005 (*Journal of medicinal chemistry*, 48: 141 – 151), Edmonson et al., 2004 (*Bioorganic & medicinal chemistry*, 14: 5155 – 5155) y la patente WO 2004 / 085378.

- 35 **[0006]** En Oue, 1999, J. Biol. Chem, 274: 2344 – 2349, se trata el diseño de la especificidad del sustrato de una enzima mediante efectos acumulativos de las mutaciones de residuos en sitio no activo.

- [0007]** Se aconsejan otras mejoras en el proceso de fabricación de Sitagliptina.

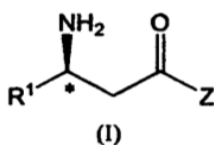
RESUMEN DE LA INVENCION

- 40 **[0008]** La presente invención presenta un polipéptido de transaminasa capaz de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina, en la que el polipéptido de transaminasa
45 comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 % a la SEC ID N° 4 y en la que la secuencia aminoácida incluye, al menos, las siguientes características: (1) el residuo correspondiente a X223 de la SEC ID N° es P; (2) el residuo correspondiente a X69 de la SEC ID N° 2 es G, C, T, A o S y / o el residuo correspondiente a X284 de la SEC ID N° 2 es G; y (3) el residuo correspondiente a X122 de la SEC ID N° 2 es M, I, V o H.

- 50 **[0009]** La invención también presenta un polinucleótido que codifica un polipéptido de la invención.

- [0010]** La invención también presenta una célula huésped que comprende un vector de expresión que incluye un polinucleótido de la invención.

- 55 **[0011]** La invención también presenta un proceso de preparación de un compuesto cuya fórmula estructural (I) es:

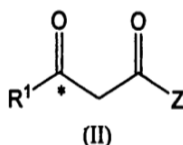


- 65 que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *; con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero opuesto, en el que Z es OR² o NR²R³;

R^1 es C_{1-8} alquilo, arilo, heteroarilo, arilo – C_{1-2} alquilo o heteroarilo – C_{1-2} alquilo;

R^2 y R^3 son hidrógenos independientes, C_{1-8} alquilo, arilo o arilo – C_{1-2} alquilo; o

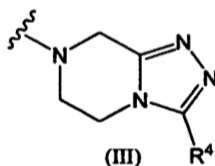
R^2 y R^3 junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4– a 7– que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC_{1-4} alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxí, halógeno, C_{1-4} alcoxi y C_{1-4} alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC_{0-4} alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxí, amino, flúor, C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi y trifluorometil; el proceso incluye la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (II):



con un polipéptido de transaminasa de la invención en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas, en las que, opcionalmente:

i) R^1 es un bencilo en el que el grupo fenil de bencil es sustituido, o no, por uno a 3 sustituyentes seleccionado del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; o

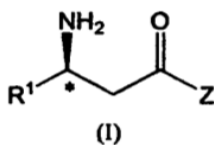
ii) Z es NR^2R^3 , por ejemplo un heterociclo de fórmula estructural (III):



en la que R^4 es hidrógeno o C_{1-4} alquilo, sustituido, o no, por uno a cinco átomos de flúor.

[0012] La invención también presenta una composición que comprende el polipéptido de transaminasa según la invención y:

(a) Un compuesto de fórmula estructural (I):



que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *; en el que:

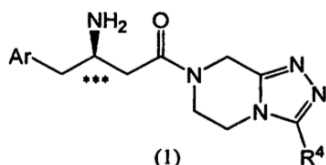
Z es OR^2 o NR^2R^3 ;

R^1 es C_{1-8} alquilo, arilo, heteroarilo, arilo – C_{1-2} alquilo o heteroarilo – C_{1-2} alquilo;

R^2 y R^3 son hidrógenos independientes, C_{1-8} alquilo, arilo o arilo – C_{1-2} alquilo; o

R^2 y R^3 junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4– a 7– que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC_{1-4} alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxí, halógeno, C_{1-4} alcoxi y C_{1-4} alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC_{0-4} alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxí, amino, flúor, C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi y trifluorometil;

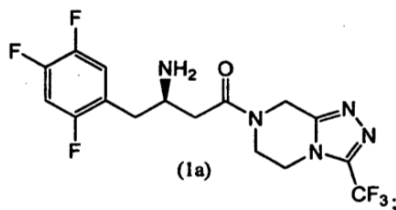
(b) Un compuesto de fórmula estructural (1):



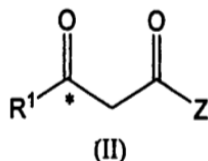
que tiene la configuración – (R) en el centro estereogénico marcado con ***, en el que:

Ar es un fenilo sustituido, o no, por uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; y
R⁴ es hidrógeno o C₁₋₄ alquilo sustituido, o no por uno a cinco átomos de flúor;

(c) El compuesto de fórmula estructural (1a):



(d) Un compuesto de fórmula estructural (II)



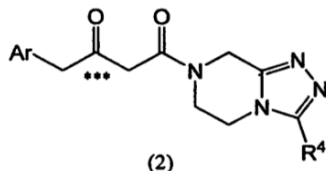
que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *, en el que:

Z es OR² o NR²R³;

R¹ es C₁₋₈ alquilo, arilo, heteroarilo, arilo – C₁₋₂ alquilo o heteroarilo – C₁₋₂ alquilo;

R² y R³ son hidrógenos independientes, C₁₋₈ alquilo, arilo o arilo – C₁₋₂ alquilo; o

R² y R³ junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4– a 7– que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC₁₋₄ alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxi, halógeno, C₁₋₄ alcoxi y C₁₋₄ alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC₀₋₄ alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxi, amino, flúor, C₁₋₄ alquilo, C₁₋₄ alcoxi y trifluorometil;



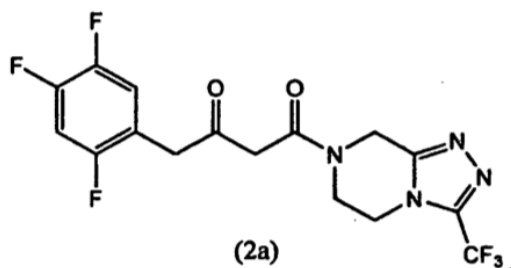
(e) Un compuesto de fórmula estructural (2):

en el que:

Ar es un fenilo sustituido, o no, por uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; y

R⁴ es hidrógeno o C₁₋₄ alquilo sustituido, o no, por uno a cinco átomos de flúor; o

(f) El compuesto de fórmula estructural (2a)



RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

[0013] La presente divulgación se refiere a polipéptidos, polinucleótidos que codifican los polipéptidos y métodos de utilización de los polipéptidos para la conversión biocatalítica de 4-oxo-4-[3-(trifluorometil)-5,6-dihidro [1,2,4] triazol [4,3- α] pirazin-7 (8H)-il]-1-(2,4,5-trifluorofenil) butan-2-ona (el "sustrato de cetoamida") en (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluorometil)-5,6-dihidro [1,2,4] triazol [4,3- α] pirazin-7 (8H)-il]-1-(2,4,5-trifluorofenil) butan-2-amina (el "producto") en presencia de un dador del grupo amino. El producto, que tiene el nombre USAN de Sitagliptina, es el principio activo de JANUVIA®, que ha recibido la aprobación comercial en numerosos países para el tratamiento de la diabetes Tipo 2.

[0014] Ya que las transaminasas naturales medidas por los inventores no actuaban notablemente en el sustrato de cetoamida, las transaminasas modificadas de la presente divulgación son capaces de llevar a cabo fácilmente la conversión del sustrato de cetoamida en el producto. Por tanto, por un lado, la presente divulgación se refiere a transaminasas mejoradas capaces de convertir 4-oxo-4-[3-(trifluorometil)-5,6-dihidro [1,2,4] triazol [4,3- α] pirazin-7 (8H)-il]-1-(2,4,5-trifluorofenil) butan-2-ona ("el sustrato de cetoamida") en (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluorometil)-5,6-dihidro [1,2,4] triazol [4,3- α] pirazin-7 (8H)-il]-1-(2,4,5-trifluorofenil) butan-2-amina ("el producto") en presencia de un dador del grupo amino a niveles medibles mediante un análisis técnico, como la absorción UV-HPLC.

[0015] En algunas realizaciones, las transaminasas mejoradas de la divulgación son capaces de llevar a cabo la conversión del sustrato de cetoamida en el producto con una actividad superior o igual a la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4. En las presentes realizaciones, las transaminasas mejoradas son capaces de formar el producto con un exceso enantiomérico de, al menos, el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más.

[0016] En algunas realizaciones, las transaminasas mejoradas son capaces de llevar a cabo la conversión del sustrato de cetoamida en el producto con, al menos, 1, 5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 1500, 2000 o más de 2000 veces la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4 en condiciones de reacción definidas. En algunas realizaciones, las condiciones de reacción comprenden una temperatura de 45 °C y un pH de 8,5.

[0017] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa mejorada son capaces de convertir el sustrato de cetoamida 4-oxo-4-[3-(trifluorometil)-5,6-dihidro [1,2,4] triazol [4,3- α] pirazin-7 (8H)-il]-1-(2,4,5-trifluorofenil) butan-2-ona en el producto (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluorometil)-5,6-dihidro [1,2,4] triazol [4,3- α] pirazin-7 (8H)-il]-1-(2,4,5-trifluorofenil) butan-2-amina en presencia de un dador del grupo amino con una actividad mejorada respecto a la actividad de la transaminasa de la SEC ID N° 2 y comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más a la secuencia de referencia de las SEC ID N° 4, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100 o 102.

[0018] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa mejorada puede comprender una secuencia aminoácida que contiene una o más diferencias residuales en comparación a la secuencia de la SEC ID N° 2 en las siguientes posiciones residuales correspondientes a: X4, X5, X8, X18, X25, X26, X27, X28, X30, X41, X42, X48, X49, X50, X54, X55, X56, X61, X62, X65, X69, X81, X94, X96, X102, X117, X120, X122, X124, X126, X136, X137, X138, X146, X148, X150, X152, X155, X156, X160, X163, X164, X169, X174, X178, X195, X199, X204, X208, X209, X211, X215, X217, X223, X225, X230, X252, X269, X273, X282, X284, X292, X297, X302, X306, X321 y X329. Las directrices para elegir los diversos residuos aminoácidos que pueden presentarse en las posiciones residuales especificadas se presentan en la siguiente descripción detallada.

[0019] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada mejorada comprende una secuencia aminoácida correspondiente a la secuencia de la SEC ID N° ID NO: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

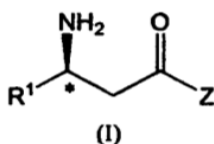
[0020] Por otro lado, la presente divulgación se refiere a polinucleótidos que codifican los polipéptidos de

transaminasa modificada mejorada. En algunas realizaciones, los polinucleótidos pueden formar parte de un vector de expresión que tiene una o más secuencias de control para la expresión del polipéptido de transaminasa. En algunas realizaciones, el polinucleótido puede comprender una secuencia correspondiente a la secuencia de la SEC ID N°: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, o 167.

[0021] Por otro lado, la presente divulgación se refiere a células huésped que comprenden polinucleótidos que codifican las transaminasas modificadas o vectores de expresión capaces de expresar las transaminasas modificadas. En algunas realizaciones, la célula huésped pueden ser células huésped bacterianas, como *E. coli*. Las células huésped pueden utilizarse para la expresión y el aislamiento de las enzimas transaminasa modificada descritas en la presente, o, de manera alternativa, para convertir directamente el sustrato de cetona amida en el producto.

[0022] En algunas realizaciones, las transaminasas modificadas, en forma de células completas, extractos crudos, polipéptidos aislados o polipéptidos purificados, pueden utilizarse individualmente o como una combinación de diferentes transaminasas modificadas.

[0023] Por otro lado, los polipéptidos de transaminasa modificada mejorada descritos en la presente pueden utilizarse en un proceso de transaminación de ciertos aceptores de grupos amino (por ejemplo, una cetona aceptora) en presencia de un dador del grupo amino. En algunas realizaciones, las transaminasas pueden utilizarse en un proceso de preparación de un compuesto de fórmula estructural (I):



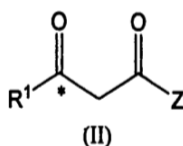
que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *; con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero opuesto, en el que

Z es OR^2 o NR^2R^3 ;

R^1 es C_{1-8} alquilo, arilo, heteroarilo, arilo - C_{1-2} alquilo o heteroarilo - C_{1-2} alquilo;

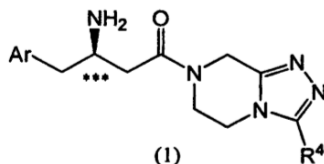
R^2 y R^3 son hidrógenos independientes, C_{1-8} alquilo, arilo o arilo - C_{1-2} alquilo; o

R^2 y R^3 junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4- a 7- que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC_{1-4} alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxilo, halógeno, C_{1-4} alcoxi y C_{1-4} alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC_{0-4} alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxilo, amino, flúor, C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi y trifluorometil; el proceso incluye la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (II):



con un polipéptido transaminasa de la invención en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas para la conversión del compuesto de fórmula (II) en el compuesto de fórmula (I).

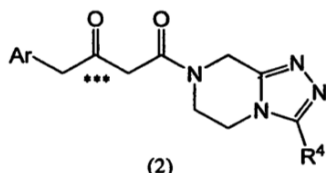
[0024] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa modificada mejorada descritos en la presente pueden utilizarse en un proceso de preparación de un compuesto de fórmula estructural (1):



que tiene la configuración – (R) en el centro estereogénico marcado con ***, con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero que tiene la configuración – (S) opuesta, en la que:

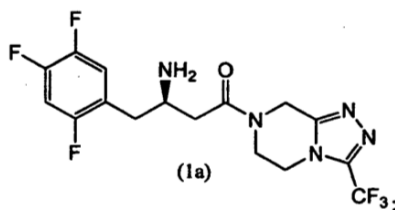
Ar es un fenilo sustituido, o no, por uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; y

R⁴ es hidrógeno o C₁₋₄ alquilo sustituido, o no, por uno a cinco átomos de flúor, en el que el proceso comprende la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (2):

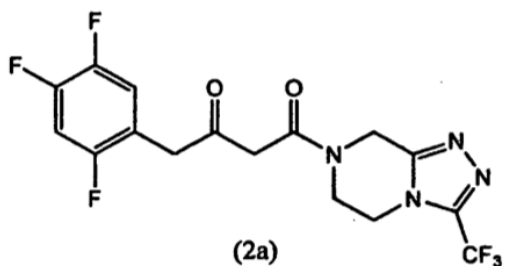


con un polipéptido de transaminasa modificada mejorada descrita en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas para la conversión del compuesto de fórmula (2) en el compuesto de fórmula (1). En algunas realizaciones del proceso, la Ar de la fórmula (2) es 2, 5 – difluorofenilo o 2, 4, 5 – trifluorofenilo, y R⁴ es trifluorometilo. En algunas realizaciones del proceso, la Ar de la fórmula (2) es 2, 4, 5 – trifluorofenilo.

[0025] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa modificada mejorada pueden utilizarse en un proceso de preparación de un compuesto de fórmula (1a), (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con un exceso enantiomérico:



[0026] En estas realizaciones, el proceso comprende la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (2a), 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona:



con un polipéptido de transaminasa modificada mejorada descrita en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas para la conversión del compuesto de fórmula (2a) en el compuesto de fórmula (1a).

[0027] En algunas realizaciones de los procesos anteriores, el compuesto de fórmula (1), el compuesto de fórmula (1) o el compuesto de fórmula (1a) se producen con, al menos, el 70 %, 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de exceso enantiomérico. En algunas realizaciones de los procesos, el compuesto de fórmula (1), el compuesto de fórmula (1) o el compuesto de fórmula (1a) se producen con, al menos, el 99 % de exceso enantiomérico.

[0028] En algunas realizaciones de los procesos anteriores en los que la elección del dador del grupo amino es resultado de un subproducto carbonilo que tiene una presión de vapor mayor que el agua (por ejemplo, un co-producto de bajo punto de ebullición como un compuesto carbonilo orgánico volátil), el proceso puede llevarse a cabo de manera que el subproducto se elimine inyectando a la solución de la reacción un gas no reactivo (por ejemplo, nitrógeno) o aplicando un vacío para bajar la presión de la reacción y eliminando así el subproducto carbonilo presente en la fase gaseosa.

[0029] Los polipéptidos de transaminasa modificada mejorada útiles para los procesos anteriores pueden

comprender una secuencia aminoácida seleccionada de la SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0030] Por otro lado, la presente divulgación se refiere a procesos de preparación de (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina utilizando las transaminasas modificadas reveladas en la presente. En algunas realizaciones, el proceso comprende poner en contacto el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en presencia de un dador del grupo amino con un polipéptido de transaminasa modificada descrito en la presente en condiciones de reacción apropiadas para convertir el sustrato de cetoamida en el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina.

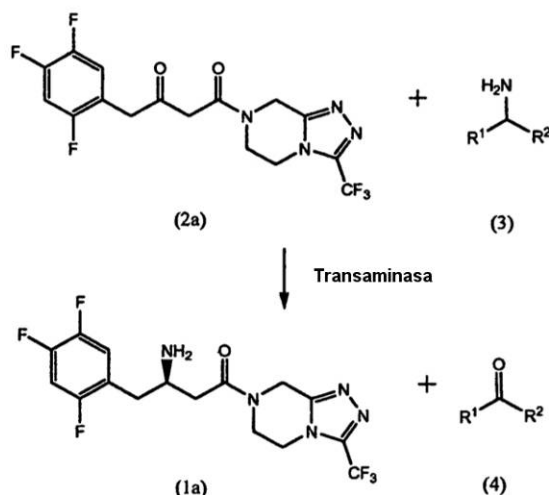
[0031] En algunas realizaciones, el proceso es capaz de formar el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con, al menos, un 90 % de exceso enantiomérico.

[0032] En algunas realizaciones, el proceso es capaz de formar el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con, al menos, un 99 % de exceso enantiomérico.

[0033] En algunas realizaciones, el proceso para convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina comprende poner en contacto el sustrato cetoamida a unos 50 g / L con unos 5 g / L de una transaminasa descrita en la presente en condiciones de reacción de pH 8,5 y 45 °C en presencia de isopropilamina 1 M, en la que, al menos, el 90 % del sustrato de cetoamida se convierte en el producto en 24 horas. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa capaz de llevar a cabo la reacción precedente comprende una secuencia aminoácida correspondiente a la SEC ID N° 80, 86, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0034] La presente divulgación se refiere a biocatalizadores altamente estereoselectivos y eficientes capaces de mediar transformaciones que conllevan la transaminación de ciertos aceptores de grupos amino, por ejemplo, la síntesis de Sitagliptina. Los biocatalizadores son polipéptidos de transaminasa modificada que pueden convertir el sustrato de fórmula (2a) 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona (el “sustrato de cetoamida”) en el producto de fórmula (1a) (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina (el “producto”) en presencia de un dador del grupo amino con la siguiente fórmula (3):



[0035] En algunas realizaciones, las transaminasas modificadas derivan de la transaminasa natural de *Arthrobacter* sp KNK168, que es una enzima dependiente selectiva del *R* – 5' – fosfato de piridoxal que puede catalizar la transferencia reversible de un grupo amino entre un dador del grupo amino y un aceptor del grupo amino, normalmente una cetona proquiral (véanse, por ejemplo, Iwasaki et al., 2006, Appl. Microbiol. Biotechnol. 69 : 499 –

505; y la patente US 7.169.592). La actividad de transaminación estereoselectiva de *R* – de la transaminasa natural de *Arthrobacter sp* KNK168 se ha demostrado en 3, 4 – dimetoxifenilacetona, pero la enzima natural y la transaminasa de la SEC ID N° 2 no muestran actividad notable para el sustrato de cetoamida (2a) 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona. La transaminasa de la SEC ID N° 2 difiere de la enzima natural de *Arthrobacter sp* KNK168 en que tiene una sustitución de isoleuquina (I) en la posición residual X306 con valina (V). Para superar estos defectos, la transaminasa de la SEC ID N° 2 se ha modificado para mediar la conversión eficiente del sustrato de cetoamida de fórmula (2a) en el producto de fórmula (1a) en presencia de un dador del grupo amino, como la isopropilamina. La conversión puede llevarse a cabo en condiciones bajas con un porcentaje alto de conversión y estereoselectividad, haciendo el proceso aplicable a la producción en gran volumen de Sitagliptina.

6.1 Abreviaturas y definiciones

[0036] Para los objetivos de las siguientes descripciones, las abreviaturas empleadas para los aminoácidos genéticamente codificados son los convencionales y son los siguientes:

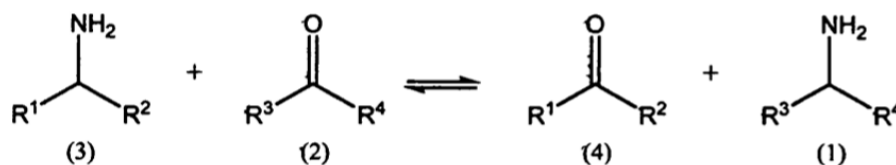
Aminoácido	Abreviatura de tres letras	Abreviatura de una letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Aspartato	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamato	Glu	E
Glatumina	Gln	Q
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleuquina	Ile	I
Leuquina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

[0037] Cuando se utilizan las abreviaturas de tres letras, salvo cuando está específicamente precedida de una “L” o una “D” o el contexto en el que se utiliza es claro, el aminoácido puede estar en configuración – L o – D en el α – carbono (C α). Por ejemplo, cuando “Ala” designa alanina sin especificar la configuración en el α – carbono, “D – Ala”

y "L – Ala" designan D – alanina y L – alanina, respectivamente. Cuando se utilizan las abreviaturas de una letra, las letras mayúsculas designan aminoácidos en configuración – L en el α – carbono y las letras minúsculas designan aminoácidos en configuración – D en el α – carbono. Por ejemplo, "A" designa L – alanina y "a" designa D – alanina. Cuando las secuencias peptídicas se presentan como una sucesión de abreviaturas de una o tres letras (o una combinación de ambas), las secuencias se presentan en dirección N $\rightarrow$ C según la convención.

[0038] Los términos técnicos y científicos utilizados en las presentes descripciones significarán lo que los expertos en la materia normalmente entienden, salvo que se defina específicamente de otro modo. En consecuencia, los siguientes términos pretenden tener los siguientes significados.

[0039] "Aminotransferasa" y "transaminasa" se utilizan en la presente de manera intercambiable para referirse a polipéptidos que tienen una capacidad enzimática de transferir un grupo aminoácido (NH_2) y un átomo de hidrógeno de una amina primaria (3) a un compuesto aceptor de carbonilo (2), convirtiendo la amina dadora en su correspondiente compuesto carbonilo (4) y el aceptor en su correspondiente amina primaria (1):

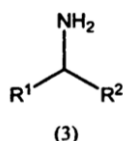


[0040] En las presentes realizaciones, los polipéptidos de transaminasa son capaces de convertir enantioselectivamente el compuesto de fórmula (2a) en el compuesto de fórmula (1a) en presencia de un dador del grupo amino de fórmula (3).

[0041] "Proteína", "polipéptido" y "péptido" se utilizan en la presente de manera intercambiable para denotar un polímero de, al menos, dos aminoácidos covalentemente unidos por un enlace amida, con independencia de la longitud o la modificación post–translacional (por ejemplo, glucosilación, fosforilación, lipidación, miristilación, ubiquitinación, etc.). Se incluyen en esta definición los aminoácidos D – y L – y combinaciones de los mismos.

[0042] "Sustrato" se utiliza en la presente para referirse a un aceptor del grupo amino, como una cetona, que acepta al grupo amino de un dador del grupo amino en una reacción mediada por una transaminasa. En el contexto de la presente divulgación, el sustrato para la transaminasa incluye, entre otros, el compuesto de fórmula (II), el compuesto de fórmula (2) y el compuesto de fórmula (2a), como se describe a continuación. Un "sustrato de cetoamida" se refiere específicamente al compuesto de fórmula (2a), 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – a] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona.

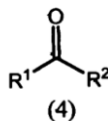
[0043] "dador del grupo amino" se refiere a un compuesto amino capaz de dar un grupo amino a un compuesto carbonilo aceptor (es decir, un aceptor del grupo amino), convirtiéndose así en un subproducto carbonilo. Los dadores de grupos amino son moléculas de fórmula general (3),



en el que R^1 y R^2 , cuando se toman independientemente, son un un alquilo, un grupo alquilarilo o un grupo arilo que se sustituye, o no, por uno o más grupos enzimáticamente no inhibidores. R^1 puede ser igual o diferente a R^2 en estructura o quiralidad. Los grupos R^1 y R^2 , cuando se toman juntos, pueden formar un anillo que es sustituido, o no, o fusionado a otros anillos. Los dadores de grupos amino típicos que pueden utilizarse en la invención incluyen aminoácidos quirales y aquirales, y aminas quirales y aquirales.

[0044] "Amina quiral" se refiere a aminas de fórmula general $\text{R}^1 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{R}^2$ en la que R^1 y R^2 son diferentes y se emplea en la presente en su sentido más amplio, incluyendo una extensa variedad de compuestos alifáticos y alicíclicos de diferentes, y combinados, tipos funcionales, caracterizados por la presencia de un primer grupo amino unido a un segundo átomo de carbono que, además de un átomo de hidrógeno, lleva (i) un grupo divalente que forma una estructura cíclica quiral o (ii) dos sustituyentes (diferentes del hidrógeno) diferentes entre sí en estructura y quiralidad. Los grupos divalentes que forman estructuras cíclicas quirales incluyen, por ejemplo, 2 – metilbutano – 1, 4 – diil, pentano – 1, 4 – diil, hexano – 1, 4 – diil, hexano – 1, 5 – diil, 2 – metilpentano – 1, 5 – diil. Los dos sustituyentes diferentes en el segundo átomo de carbono (los anteriores R^1 y R^2) también pueden variar enormemente e incluir alquilo, aralquilo, arilo, halo, hidroxilo, alquilo bajo, alcoxi bajo, alquiltio bajo, cicloalquilo, carboxi, carboalcoxi, carbamoilo, mono y di (bajo alquilo) carbamoilo sustituido, trifluorometilo, fenilo, nitro, amino, mono y di (bajo alquilo) amino sustituido, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilcarboxamido, arilcarboxamido, etc., así como alquilo, aralquilo o arilo sustituidos por los precedentes.

[0045] “Subproducto carbonilo” se refiere al compuesto carbonilo formado por el dador del grupo amino cuando el grupo amino del dador del grupo amino se transfiere al aceptor del grupo amino en una reacción de transaminación. El subproducto carbonilo tiene la siguiente estructura general de fórmula (4):



en la que R^1 y R^2 se definen anteriormente por el dador del grupo amino.

[0046] “Fosfato de piridoxal”, “PLP”, “5’ – fosfato de piridoxal”, “PYP” y “P5P” se utilizan en la presente de manera intercambiable para referirse al compuesto que actúa como coenzima en reacciones de transaminasa. En algunas realizaciones, el piridoxal fosfato se define por la estructura ácido 1 – (4’ – formil – 3’ – hidroxil – 2’ – metil – 5’ – piridil) metoxifosfónico, número CAS [54 – 47 – 7]. El 5’ – fosfato de piridoxal se produce *in vivo* por fosforilación y oxidación de piridoxol (también conocido como piridoxina o Vitamina B6). En reacciones de transaminación en las que se emplean enzimas transaminasa, el grupo amino del dador del grupo amino se transfiere a la coenzima para producir un subproducto ceto, mientras el 5’ – fosfato de piridoxal se convierte en fosfato de piridoxamina. El 5’ – fosfato de piridoxal se regenera por la reacción con un compuesto ceto diferente (el aceptor del grupo amino). La transferencia del grupo amino del fosfato de piridoxamina al amino aceptor produce una amina quiral y regenera la coenzima. El 5’ – fosfato de piridoxal de la actual invención puede reemplazarse por otro miembro de la familia de la vitamina B₆, incluyendo, entre otros, piridoxal (PL), piridoxamina (PM) y sus equivalentes fosforilados: fosfato de piridoxina (PNP) y fosfato de piridoxamina (PMP).

[0047] “Secuencia codificadora” se refiere a la parte de un ácido nucleico (por ejemplo, un gen) que codifica una secuencia aminoácida de una proteína.

[0048] “Natural” o “de tipo salvaje” se refiere a la forma encontrada en la naturaleza. Por ejemplo, un polipéptido o una secuencia polinucleótida natural o de tipo salvaje o una es una secuencia presente en un organismo que puede aislarse de una fuente natural y que no ha sido modificada de manera intencionada por manipulación humana.

[0049] “Recombinante”, cuando se emplea en referencia a, por ejemplo, una célula, un ácido nucleico o un polipéptido, se refiere a un material, o a un material que corresponde a la forma natural o nativa del material, que ha sido modificado de manera que no existiría en la naturaleza, o es idéntica a esta pero es producida o derivada a partir de materiales sintéticos y / o por manipulación utilizando técnicas recombinantes. Algunos ejemplos incluyen, entre otros, células recombinantes que expresan genes que no se encuentran en la forma nativa (no recombinante) de la célula o expresan genes nativos que se expresan de otra manera en un nivel diferente.

[0050] “Porcentaje de identidad de secuencia”, “porcentaje de identidad” y “porcentaje idéntico” se utilizan en la presente para referirse a comparaciones entre secuencias polinucleótidas o secuencias polipeptídicas, y se determinan comparando dos secuencias alineadas correctamente en una ventana de comparación, en la que la parte de la secuencia polinucleótida o polipeptídica de la ventana de comparación puede comprender adiciones o supresiones (es decir, huecos) si se compara con la secuencia de referencia para el alineamiento correcto de dos secuencias. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones a las que la base de ácido nucleico o el residuo aminoácido idéntico tiene lugar en ambas secuencias o una base de ácido nucleico o un residuo aminoácido se alinean con un hueco para proporcionar el número de posiciones emparejadas, dividiendo el número de posiciones emparejadas por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para proporcionar el porcentaje de secuencia de identidad. La determinación del alineamiento correcto y porcentaje de secuencia de identidad se lleva a cabo utilizando los algoritmos BLAST y BLAST 2.0 (véanse, por ejemplo, Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215: 403 – 410 y Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 3389 – 3402). El software para llevar a cabo análisis con BLAST está disponible públicamente en la página web del *National Center for Biotechnology Information*.

[0051] En resumen, los análisis con BLAST suponen, primero, la identificación por pares de alta puntuación (HSPs) mediante la identificación de palabras cortas de longitud W en la secuencia consultada, que coincide o cumple una puntuación umbral T de valor positivo cuando se alinean con una palabra de la misma longitud en la secuencia de la base de datos. T se refiere a la puntuación umbral de la palabra vecina (Altschul et al., supra). Esta coincidencia inicial de palabras vecinas actúa como una semilla para iniciar las búsquedas para encontrar HSPs más largas que las contengan. Las coincidencias de palabras se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia hasta donde la puntuación de alineamiento acumulada pueda incrementarse. Las puntuaciones acumuladas se calculan usando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de residuos que se corresponde; siempre >0) y N (puntuación de penalización para residuos que no se corresponden; siempre <0). Para secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulada. La extensión de las coincidencias de palabra en cada dirección se paran cuando la puntuación acumulada de alineamiento disminuye en la cantidad X de su valor máximo alcanzado; la puntuación acumulada llega a cero o por debajo, debido a la acumulación de uno o más alineamientos de residuos de

puntuación negativa; o se alcanza el final de cualquier secuencia. Los parámetros del algoritmo BLAST W, T y X determinan la sensibilidad y velocidad del alineamiento. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, un valor de corte de 100, M= 5, N= -4 y una comparación de ambas hebras. Para secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa por defecto una longitud de palabra (W) de 3, una expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (B) (véase, Henikoff y Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA; 89: 10915).

[0052] Otros muchos algoritmos se encuentran disponibles y funcionan de manera similar a BLAST, proporcionando el porcentaje de identidad para dos secuencias. El alineamiento correcto de secuencias para su comparación puede ser dirigido, por ejemplo mediante el algoritmo de alineamiento local de secuencias de Smith y Waterman, 1981, Adv. Appl. Math. 2 : 482, mediante el algoritmo de alineamiento de homólogos de Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Biol 48: 443, mediante el método de búsqueda por similitud de Pearson y Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444, mediante implementaciones computerizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA del GCG Wisconsin Software Package), o mediante inspección visual (véanse, *Current Protocols in Molecular Biology*, F. M. Ausubel et al., eds., *Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc y John Wiley & Sons, Inc.*, (suplemento de 1995) (Ausubel)). Además, la determinación del alineamiento de secuencias y el porcentaje de identidad de secuencia pueden utilizar los programas BESTFIT o GAP en el GCG Wisconsin Software Package (Accelrys, Madison WI), utilizando los parámetros establecidos por defecto.

[0053] “Secuencia de referencia” se refiere a una secuencia definida a la que se compara otra (por ejemplo, alterada) secuencia. Una secuencia de referencia puede ser un subconjunto de una secuencia mayor, por ejemplo, un segmento de un gen completo o una secuencia polipeptídica. Generalmente, una secuencia de referencia es de, al menos, 20 residuos nucleótidos o aminoácidos de longitud, al menos 25 residuos de longitud, al menos 50 residuos de longitud o la longitud completa del ácido nucleico o el polipéptido. Ya que dos polinucleótidos o polipéptidos pueden (1) comprender una secuencia (es decir, una parte de la secuencia completa) similar entre las dos secuencias, y (2) comprender una secuencia divergente entre las dos secuencias, las comparaciones de secuencia entre dos (o más) polinucleótidos o polipéptidos se llevan a cabo, normalmente, comparando las secuencias de dos polinucleótidos en una ventana de comparación para identificar y comparar regiones locales de similitud de secuencia.

[0054] El término “secuencia de referencia” no pretende limitarse a las secuencias de tipo salvaje, y puede incluir secuencias modificadas o alteradas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una “secuencia de referencia” puede ser una secuencia aminoácida modificada o alterada previamente. Por ejemplo, una “secuencia de referencia basada en la SEC ID N° 2 con residuo glicina en la posición X284” se refiere a una secuencia de referencia correspondiente a la SEC ID N° 2 con un residuo glicina en X284 (la versión no alterada de la SEC ID N° tiene alanina en X284).

[0055] “Ventana de comparación” se refiere a un segmento conceptual de, al menos, 20 posiciones nucleótidas o residuos aminoácidos contiguos en los que una secuencia puede compararse a la secuencia de referencia de, al menos, 20 nucleótidos o aminoácidos contiguos y en la que la parte de la secuencia en la ventana de comparación puede incluir adiciones o supresiones (es decir, huecos) del 20 por ciento o menos respecto a la secuencia de referencia comparada (que no incluye adiciones o supresiones) para el alineamiento correcto de las dos secuencias. La ventana de comparación puede ser superior a 20 residuos contiguos, e incluye, opcionalmente, ventanas de 30, 40, 50, 100 o más.

[0056] “Identidad sustancial” se refiere a una secuencia polinucleótida o polipeptídica que tiene, al menos, el 80 por ciento de identidad de secuencia, al menos 85 por ciento de identidad de secuencia, al menos 89 por ciento de identidad de secuencia, al menos 95 por ciento de identidad de secuencia e incluso, al menos, 99 por ciento de identidad de secuencia en comparación con la secuencia de referencia en una ventana de comparación de, al menos, 20 posiciones residuales, con frecuencia, en una ventana de, al menos, 30 – 50 residuos, en los que el porcentaje de identidad de secuencia se calcula comparando la secuencia de referencia a la secuencia que incluye supresiones o adiciones del 20 por ciento o menos de la secuencia de referencia en la ventana de comparación. En realizaciones específicas aplicadas a polipéptidos, el término “identidad sustancial” significa que dos secuencias polipeptídicas, cuando está alineadas correctamente, por ejemplo mediante los programas GAP o BESTFIT utilizando los pesos de huecos por defecto, compartir al menos el 80 por ciento de identidad de secuencia, preferiblemente al menos 89 por ciento de identidad de secuencia, al menos 95 por ciento de identidad de secuencia o más (por ejemplo, 99 por ciento de identidad de secuencia). Preferiblemente, las posiciones residuales que no son idénticas difieren en las sustituciones aminoácidas conservativas.

[0057] “Correspondiente a”, “en referencia a” o “respecto a”, cuando se utilizan en el contexto de la numeración de una secuencia aminoácida o polinucleótida dada, se refieren a la numeración de residuos de una secuencia de referencia especificada cuando la secuencia aminoácida o polinucleótida se compara a la secuencia de referencia. En otras palabras, el número de residuos o la posición de los residuos de un polímero dado se designa respecto a la secuencia de referencia más que por la posición numérica real del residuo en la secuencia aminoácida o polinucleótida dada. Por ejemplo, una secuencia aminoácida dada, como la de la transaminasa modificada, puede alinearse a una secuencia de referencia introduciendo huecos para optimizar el emparejamiento de residuos entre

las dos secuencias. En estos casos, aunque los huecos están presentes, la numeración del residuo de la secuencia aminoácida o polinucleótida dada se hace respecto a la secuencia de referencia a la que ha sido alineada.

[0058] “Estereoselectividad” se refiere a la formación preferente en una reacción química o enzimática de un estereoisómero respecto a otro. La estereoselectividad puede ser parcial, cuando la formación de un estereoisómero es preferida respecto al otro, o puede ser completa solo cuando se forma un estereoisómero. Cuando los estereoisómeros son enantiómeros, la estereoselectividad se denomina enantioselectividad, la fracción (normalmente dada como porcentaje) de un enantiómero en la suma de ambos. Es común en la disciplina informar (normalmente como porcentaje) de exceso enantiomérico (e.e.) calculado según la fórmula $[\text{enantiómero mayor} - \text{enantiómero menor}] / [\text{enantiómero mayor} + \text{enantiómero menor}]$. Cuando los estereoisómeros son diastereoisómeros, la estereoselectividad se denomina diastereoselectividad, la fracción (normalmente dada como porcentaje) de un diastereoisómero en una mezcla de dos diastereoisómeros, comúnmente denominado exceso diastereoisomérico (d.e.). Exceso enantiomérico y exceso diastereoisomérico son tipos de exceso estereoisomérico.

[0059] “Altamente estereoselectivo” se refiere a la reacción química o enzimática capaz de convertir un sustrato (por ejemplo, de fórmula (2a)) en su producto correspondiente (por ejemplo, de fórmula (1a)) con, al menos, un 85 % de exceso estereoisomérico.

[0060] “Propiedad enzimática mejorada” se refiere a una propiedad enzimática mejor realizada o más deseable para un propósito particular en comparación a la propiedad encontrada en una enzima de referencia. Para los polipéptidos de transaminasa modificados descritos en la presente, la comparación se hace, en general, a la enzima transaminasa de tipo salvaje, aunque, en algunas realizaciones, la transaminasa de referencia puede ser otra transaminasa modificada mejorada. Las propiedades enzimáticas para las que pueden hacerse mejoras incluyen, de manera no limitante, la actividad enzimática (que puede expresarse en términos de porcentaje de conversión del sustrato en un período de tiempo), estabilidad térmica, estabilidad del disolvente, perfil de actividad del pH, requisitos de la coenzima, resistencia a inhibidores (por ejemplo, inhibición de producción), estereoespecificidad y estereoselectividad (incluyendo enantioselectividad).

[0061] “Actividad enzimática aumentada” o “actividad mejorada” se refiere a una propiedad mejorada de una enzima modificada, que puede representarse por un incremento en una actividad específica (por ejemplo, producto producido / tiempo / peso de la proteína) o un incremento en porcentaje de conversión del sustrato al producto (por ejemplo, porcentaje de conversión de cantidad inicial de sustrato a producto en un período de tiempo especificado utilizando una cantidad especificada de transaminasa) en comparación a la enzima de referencia. Algunos métodos de determinar la actividad de la enzima se presentan en los Ejemplos. Cualquier propiedad relativa a la actividad enzimática puede verse afectada, incluyendo las propiedades enzimáticas clásicas de K_m , V_{max} o k_{cat} , cambios que pueden permitir el incremento de la actividad enzimática. Las mejoras en la actividad enzimática pueden ser de 1,5 veces la actividad enzimática de la correspondiente enzima modificada o de tipo salvaje a 2, 5, 10, 20, 25, 50, 75, 100 o más veces la actividad enzimática que la que se da de manera natural en una enzima (por ejemplo, una transaminasa) u otra enzima modificada de la que derivan las enzimas que muestran una actividad aumentada. En realizaciones específicas, las enzimas de transaminasa modificadas de la presente divulgación mostraron actividad enzimática en un rango de 1,5 a 500 veces, 1,5 a 100 veces o más que la enzima transaminasa progenitora (es decir, la transaminasa modificada o de tipo salvaje de la que se derivan). Cabe señalar que los expertos comprenderán que la actividad de cualquier enzima es de difusión limitada, al igual que el flujo de volumen catalítico no puede exceder la velocidad de difusión del sustrato, incluyendo cualquier coenzima requerida. El límite de difusión máximo teórico es de 10^8 a 10^9 ($M^{-1} s^{-1}$). Por consiguiente, cualquier mejora de la actividad enzimática de la transaminasa tendrá un límite máximo relacionado con la velocidad de difusión de los sustratos que actúan en la enzima transaminasa. La actividad de la transaminasa puede medirse mediante cualquiera de los ensayos estándares utilizados para medir transaminasas, como el cambio de concentración del sustrato o el producto o el cambio en la concentración del dador del grupo amino. Las comparaciones entre la actividad de las enzimas se realiza utilizando preparaciones definidas de enzima, un ensayo definido en ciertas condiciones y uno o más sustratos definidos, como se describe a continuación en la presente. Generalmente, cuando se comparan enzimas en lisados celulares, se determinan el número de células y la cantidad de proteína testada, además de los sistemas de expresión idénticos y las células huésped para minimizar las variaciones en la cantidad de enzima producida por las células huésped presentes en los lisados.

[0062] “Conversión” se refiere a la transformación enzimática de un sustrato en el producto correspondiente. “Porcentaje de conversión” se refiere al porcentaje del sustrato que se ha convertido en el producto en un período de tiempo en condiciones específicas. Por tanto, por ejemplo, la “actividad enzimática” o “actividad” de un polipéptido de transaminasa puede expresarse como “porcentaje de conversión” del sustrato al producto.

[0063] “Termoestable” o “estable térmicamente” se utilizan de manera intercambiable para referirse a un polipéptido resistente a la inactivación cuando se expone a unas condiciones de temperatura (por ejemplo, de 40 a 80 °C) durante un período de tiempo (por ejemplo, de 0,5 a 24 horas) en comparación a la enzima no tratada, conservando por tanto cierto nivel de actividad residual (más del 60 al 80 %, por ejemplo) tras las exposiciones a temperaturas elevadas.

[0064] “Estable al disolvente” se refiere a un polipéptido que mantiene una actividad similar (más de, por ejemplo, del 60 % al 80 %) tras la exposición a concentraciones variables (por ejemplo, del 5 % al 99 %) de disolvente (por ejemplo, alcohol isopropil, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, 2 – metiltetrahidrofurano, acetona, tolueno, butilacetato, metil, tert – butiléter, acetonitril, etc) durante un período de tiempo (por ejemplo, de 0,5 a 24 horas) en comparación a la enzima no tratada.

[0065] “Estable al pH” se refiere a un polipéptido que mantiene una actividad similar (más de, por ejemplo, del 60 % al 80 %) tras la exposición a pH alto o bajo (por ejemplo, del 4,5 al 6 o del 8 al 12) durante un período de tiempo (por ejemplo, de 0,5 a 24 horas) en comparación a la enzima no tratada.

[0066] “Estable a la temperatura y al disolvente” se refiere a un polipéptido que es tanto termoestable como estable al disolvente.

[0067] “Deriva de” utilizado en la presente en el contexto de enzimas modificadas identifica la enzima originaria y / o el gen que codifica dicha enzima a partir de la cual se basó la modificación. Por ejemplo, la enzima transaminasa modificada de la SEC ID N° 4 se obtuvo mutando la transaminasa de la SEC ID N° 2. Por lo tanto, esta enzima transaminasa modificada de la SEC ID N° 4 “deriva del” polipéptido de la SEC ID N° 2.

[0068] “Aminoácido” o “residuo” utilizados en el contexto de los polipéptidos descritos en la presente, se refieren al monómero específico en una posición de la secuencia (por ejemplo, P8 indica que el “aminoácido” o “residuo” en la posición 8 de la SEC ID N° 2 es una prolina).

[0069] “Aminoácido o residuo hidrofílico” se refiere a un aminoácido o residuo que tiene una cadena lateral que muestra una hidrofobicidad inferior a cero según la escala de hidrofobicidad estándar de Eisenberg et al., 1984, J. Mol. Biol. 179: 125 – 142. Los aminoácidos hidrofílicos genéticamente codificados incluyen L – Thr (T), L – Ser (S), L – His (H), L – Glu (E), L – Asn (N), L – Gln (Q), L – Asp (D), L – Lys (K) y L – Arg (R).

[0070] “Aminoácido o residuo ácido” se refiere a un aminoácido o residuo hidrofílico que tiene una cadena lateral que muestra un valor pK menor de 6 cuando el aminoácido se incluye en un péptido o polipéptido. Los aminoácidos ácidos tienen, normalmente, cadenas laterales cargadas negativamente a pH fisiológico debido a la pérdida de un ión hidrógeno. Los aminoácidos ácidos genéticamente codificados incluyen L – Glu (E) y L – Asp (D).

[0071] “Aminoácido o residuo básico” se refiere a un aminoácido o residuo hidrofílico que tiene una cadena lateral que muestra un valor pK mayor de 6 cuando el aminoácido se incluye en un péptido o polipéptido. Los aminoácidos básicos tienen, normalmente, cadenas laterales cargadas positivamente a pH fisiológico debido a la asociación con un ión hidronio. Los aminoácidos básicos genéticamente codificados incluyen L – Arg (R) y L – Lys (K).

[0072] “Aminoácido o residuo polar” se refiere a un aminoácido o residuo hidrofílico que tiene una cadena lateral sin carga a pH fisiológico, pero que tiene, al menos, un enlace en el que el par de electrones compartidos en común por dos átomos está sujeto más próximo por uno de los átomos. Los aminoácidos polares genéticamente codificados incluyen L – Asn (N), L – Gln (Q), L – Ser (S) y L – Thr (T).

[0073] “Aminoácido o residuo hidrofóbico” se refiere a un aminoácido o residuo que tiene una cadena lateral que muestra una hidrofobicidad superior a cero según la escala de hidrofobicidad estándar de Eisenberg et al., 1984, J. Mol. Biol. 179: 125 – 142. Los aminoácidos hidrofóbicos genéticamente codificados incluyen L – Pro (P), L – Ile (I), L – Phe (F), L – Val (V), L – Leu (L), L – Trp (W), L – Met (M), L – Ala (A) y L – Tyr (Y).

[0074] “Aminoácido o residuo aromático” se refiere a un aminoácido o residuo hidrofílico o hidrofóbico que tiene una cadena lateral que incluye, al menos, un anillo aromático o heteroaromático. Las aminoácidos aromáticos genéticamente modificados incluyen L – Phe (F), L – Tyr (Y) y L – Trp (W). Aunque al tener el pKa de su átomo de nitrógeno heteroaromático L – His (H) se clasifica, a veces, como residuo básico, o como un residuo aromático que en su cadena lateral incluye un anillo heteroaromático, la presente histidina se clasifica como un residuo hidrofílico o como un “residuo forzado” (véase a continuación).

[0075] “Aminoácido o residuo forzado” se refiere a un aminoácido o residuo que tiene geometría forzada. En la presente, los residuos forzados incluyen L – Pro (P) y L – His (H). La histidina tiene geometría forzada porque tiene un anillo de imidazol relativamente pequeño. La prolina tiene geometría forzada porque tiene un anillo de cinco miembros.

[0076] “Aminoácido o residuo no polar” se refiere a un aminoácido o residuo hidrofóbico que tiene una cadena lateral sin carga a pH fisiológico y que tiene enlaces en los que la pareja de electrones compartidos en común por dos átomos está sujeta de manera equitativa por ambos átomos (es decir, la cadena lateral no es polar). Los aminoácidos no polares genéticamente codificados incluyen L – Gly (G), L – Leu (L), L – Val (V), L – Ile (I), L – Met (M) y L – Ala (A).

[0077] “Aminoácido o residuo alifático” se refiere a un aminoácido o residuo hidrofóbico que tiene una cadena

lateral de hidrocarburo alifático. Los aminoácidos alifáticos genéticamente codificados incluyen L – Ala (A), L – Val (V), L – Leu (L) y L – Ile (I).

[0078] “Cisteína” o L – Cys (C) es inusual ya que puede formar puentes disulfuro con otros aminoácidos L – Cys (C) u otros aminoácidos con sulfanilo o sulfhidrilo. Los “residuos de tipo cisteína” incluyen cisteína y otros aminoácidos que contienen partes sulfhidrilo disponibles para la formación de puentes disulfuro. La habilidad de L – Cys (C) (y otros aminoácidos con – SH que contienen cadenas laterales) para existir en un péptido en la forma reducida sin – SH o en forma oxidada con puente disulfuro afecta si L – Cys (C) aporta carácter hidrofóbico o hidrofílico neto a un péptido. Mientras L – Cys (C) muestra una hidrofobicidad de 0,29 según la escala estándar de Eisenberg (Eisenberg et al., 1984, *supra*), cabe destacar que para los objetivos de la presente divulgación, L – Cys (C) está categorizada en un grupo único propio.

[0079] “Aminoácido o residuo pequeño” se refiere a un aminoácido o residuo que tiene una cadena lateral compuesta total de tres carbonos y / o heteroátomos o menos (excluyendo el α – carbono y los hidrógenos). Los aminoácidos o residuos pequeños pueden categorizarse como alifáticos, no polares, polares o ácidos, según las definiciones anteriormente descritas. Los aminoácidos pequeños genéticamente codificados incluyen L – Ala (A), L – Val (V), L – Cys (C), L – Asn (N), L – Ser (S), L – Thr (T) y L – Asp (D).

[0080] “Aminoácido o residuo con hidroxil” se refiere a un aminoácido que contiene un resto de hidroxil (- OH). Los aminoácidos que contienen hidroxil genéticamente codificados incluyen L – Ser (S) L – Thr (T) y L – Tyr (Y).

[0081] “Diferencia aminoácida” o “diferencia residual” se refiere a un cambio en el residuo en una posición específica de una secuencia polipeptídica cuando se compara a la secuencia de referencia. Por ejemplo, una diferencia residual en la posición X8, en la que la secuencia de referencia tiene una serina, se refiere a un cambio del residuo en posición X8 a cualquier residuo diferente a la serina. Como se describe en la presente, una enzima puede incluir una o más diferencias residuales respecto a una secuencia de referencia, en la que se indican las múltiples diferencias residuales mediante una lista con las posiciones específicas en las que han tenido lugar los cambios respecto a la secuencia de referencia (por ejemplo, “una o más diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 en las siguientes posiciones residuales: X4; X8; X26; X48; X60; X61; X62; X65; X81; X94; X96; X102; X124; X136; X137; X150; X152; X160; X163; X169; X174; X178; X195; X199; X208; X209; X211; X215; X217; X225; X230; X252; X269; X273; X282; X292; X297; X306; X321; y X329”).

[0082] Sustituciones o mutaciones aminoácidas “conservativas” se refiere a la intercambiabilidad de residuos que tiene cadenas laterales similares y, por lo tanto, que supone la sustitución del aminoácido en el polipéptido con aminoácidos de la misma clase definida de aminoácidos, o similar. Sin embargo, como se utiliza en la presente, en alguna realizaciones, las mutaciones conservativas no incluyen sustituciones de un residuo hidrofílico a hidrofílico, hidrofóbico a hidrofóbico, con hidroxil a con hidroxil, o pequeño a pequeño, si la mutación conservativa puede ser una sustitución de un alifático a un alifático, de no polar a no polar, de polar a polar, de ácido a ácido, de básico a básico, de aromático a aromático o de restringido a restringido. Además, como se utiliza en la presente, A, V, L o I pueden mutarse conservativamente a otro residuo alifático o a otro residuo no polar. La siguiente tabla muestra ejemplos de sustituciones conservativas.

[0083]

Tabla 1

Residuo	Posibles mutaciones conservativas
A, L, V, I	Otro alifático (A, L, V, I) Otro no polar (A, L, V, I, G, M)
G, M	Otro no polar (A, L, V, I, G, M)
D, E	Otro ácido (D, E)
K, R	Otro básico (K, R)
P, H	Otro restringido (P, H)
N, Q, S, T	Otro polar
Y, W, F	Otro aromático (Y, W, F)
C	Ninguno

[0084] “Sustitución no conservativa” se refiere a la sustitución o mutación de un aminoácido en el polipéptido con un aminoácido cuya cadena lateral tiene propiedades significativamente diferentes. Las sustituciones no conservativas pueden utilizar aminoácidos entre, más que dentro de, los grupos definidos en la lista anterior. En una realización, una mutación no conservativa afecta (a) a la estructura del segmento principal del péptido en el área de la sustitución (por ejemplo, prolina por glicina) (b) a la carga o hidrofobicidad, o (c) a la mayoría de la cadena lateral.

[0085] “Supresión” se refiere a la modificación del polipéptido mediante la eliminación de uno o más aminoácidos del polipéptido de referencia. Las supresiones pueden comprender la eliminación de 1 o más aminoácidos, 2 o más aminoácidos, 5 o más aminoácidos, 10 o más aminoácidos, 15 o más aminoácidos o 20 o más aminoácidos, hasta el 10 % del número total de aminoácidos, hasta el 20 % del número total de aminoácidos o hasta el 30 % del número total de aminoácidos que forman el polipéptido mientras conserve la actividad enzimática y / o las propiedades mejoradas de una enzima transaminasa modificada. En diversas realizaciones, la supresión puede comprender un segmento continuo o discontinuo.

[0086] “Inserción” se refiere a la modificación del polipéptido mediante la adición de uno o más aminoácidos al polipéptido de referencia. En algunas realizaciones, las enzimas transaminasa mejorada modificada comprenden inserciones de uno o más aminoácidos en el polipéptido de transaminasa natural, así como inserciones de uno o más aminoácidos a otros polipéptidos de transaminasa mejorada. Las inserciones pueden realizarse en partes internas del polipéptido, o en los extremos carboxi o amino. Las inserciones aquí utilizadas incluyen proteínas de fusión ya conocidas en la disciplina. La inserción puede ser un segmento contiguo de aminoácidos o estar separada por uno o más aminoácidos en el polipéptido natural.

[0087] “Fragmento” como se utiliza en la presente se refiere a un polipéptido que tiene una supresión en el extremo amino – terminal y / o carboxi – terminal, pero en el que la secuencia aminoácida restante es idéntica a la posiciones correspondientes en la secuencia. Los fragmentos pueden ser de, al menos, 14 aminoácidos de largo, de, al menos, 20 aminoácidos de largo, de, al menos, 50 aminoácidos de largo o superiores y hasta el 70%, 80%, 90%, 95%, 98% y 99% de la longitud total del polipéptido de transaminasa, por ejemplo el polipéptido de la SEC ID N° 4.

[0088] “Polipéptido aislado” se refiere a un polipéptido que está sustancialmente separado de otros contaminantes que lo acompañan de manera natural, por ejemplo, proteínas, lípidos y polinucleótidos. El término abarca los polipéptidos que han sido eliminados o purificados de su medio o sistema de expresión natural (por ejemplo, célula huésped o síntesis *in vitro*). Las enzimas transaminasa mejoradas pueden estar presentes en una célula, en el medio celular o preparadas de varias maneras, como lisados o preparaciones aisladas. Por tanto, en algunas realizaciones, la enzima transaminasa mejorada puede ser un polipéptido aislado.

[0089] “Polipéptido sustancialmente puro” se refiere a una composición en la que la especie de polipéptido es la especie predominante presente (es decir, en una base molar o de peso es más abundante que cualquier otra especie macromolecular individual en la composición), y es generalmente una composición sustancialmente purificada cuando la especie en cuestión comprende, al menos, un 50 % de la especie macromolecular presente en moles o en % en peso. Generalmente, una composición de transaminasa sustancialmente pura comprende un 60 % o más, un 70 % o más, un 80 % o más, un 90 % o más, un 95 % o más y un 98 % o más de todas las especies moleculares en moles o en % en peso presente en la composición. En algunas realizaciones, la especie en cuestión se purifica a homogeneidad esencial (es decir, la especie contaminante no puede detectarse en la composición mediante métodos de detección convencionales) en la que la composición consiste esencialmente en una única especie macromolecular. Las especies disolventes, las moléculas pequeñas (< 500 Daltons) y las especies elementales de ión no se consideran especies moleculares. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa mejorada aislada es una composición polipeptídica sustancialmente pura.

[0090] “Hibridación severa” como se utiliza en la presente se refiere a las condiciones bajo las cuales los híbridos de ácido nucleico son estables. Como ya conocen los expertos en la disciplina, la estabilidad de los híbridos se refleja en la temperatura de fusión (T_m) de los híbridos. En general, la estabilidad de un híbrido es una función de la fuerza de ión, la temperatura, el contenido GC y la presencia de agentes caotrópicos. Los valores de T_m para los polinucleótidos puede calcularse utilizando métodos para predecir temperaturas de fusión (véanse, por ejemplo, Baldino et al., *Methods Enzymology* 168: 761 – 777; Bolton et al., *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 48: 1390; Bresslauer et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 8893 – 8897; Freier et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 9373 – 9377; Kierzek et al., *Biochemistry* 25: 7840 – 7846; Rychlik et al., 1990, *Nucleic Acids Res* 18: 6409 – 6412 (erratum, 1991, *Nucleic Acids Res* 19: 698); Sambrook et al., *supra*); Suggs et al., 1981, en *Developmental Biology Using Purified Genes* (Brown et al., eds.), págs 683 – 693, Academic Press; y Wetmur, 1991, *Crit Rev Biochem Mol Biol* 26: 227 – 259). En algunas realizaciones, el polinucleótido codifica el polipéptido descrito en la presente y se hibridiza bajo condiciones definidas, como condiciones moderada o altamente severas, para el complemento de una secuencia que codifica una enzima transaminasa modificada de la presente divulgación.

[0091] “Severidad de hibridación” se refiere a las condiciones de hibridación, como las condiciones de lavado, en la hibridación de ácidos nucleicos. Generalmente, las reacciones de hibridación se llevan a cabo en condiciones de baja severidad, seguidas de lavados de severidad variable pero más elevada. El término “hibridación moderadamente severa” se refiere a las condiciones que permiten al ADN diana unirse a un ácido nucleico complementario que tiene un 60 % de identidad, preferiblemente un 75 % de identidad, un 85 % de identidad con el ADN diana; con más del 90 % de identidad con el polinucleótido diana. Las condiciones moderadamente severas ejemplares son condiciones equivalentes a la hibridación en 50 % de formamida, 5 x de solución Denhart, 5 x SSPE, 0,2 SDS a 42 °C, seguida de un lavado en 0,2 x SSPE, 0,2 SDS a 42 °C. “Hibridación altamente severa” se refiere,

en general, a las condiciones que están a 10 °C o menos de la temperatura de fusión T_m como se determina en condiciones de solución para una secuencia nucleótida definida. En algunas realizaciones, una condición de severidad alta se refiere a condiciones que permiten la hibridación de solo algunas secuencias de ácido nucleico que forman híbridos estables en NaCl 0,018 M a 65 °C. (es decir, si un híbrido no es estable en NaCl 0,018 M a 65 °C, no será estable en condiciones de severidad alta, como se contempla en la presente). Las condiciones de severidad alta puede presentarse, por ejemplo, por hibridación en condiciones equivalente a 50 % de formamida, 5 x solución Denhart, 5 x SSPE, 0,2 % SDS a 42 °C, seguida de lavado en 0,1 X SSPE y 0,1 % SDS a 65 °C. Otras condiciones de severidad alta son la hibridación en condiciones equivalentes a hibridación en 5 x SSC con 0,1 % (p:v) SDS a 65 °C y lavado con 0,1 % SDS a 65 °C. Otras condiciones de severidad de hibridación, así como condiciones moderadamente severas, se describen las referencias citadas anteriormente.

[0092] Polinucleótido “heterólogo” se refiere a cualquier polinucleótido que se introduce en una célula huésped mediante técnicas de laboratorio, e incluye polinucleótidos que se eliminan de una célula huésped, se someten a manipulación en laboratorio y se introducen en una célula huésped.

[0093] “Codón optimizado” se refiere a los cambios en los codones del polinucleótido que codifica una proteína por aquellos preferentemente empleados en un organismo particular de manera que la proteína codificada se expresa eficientemente en el organismo de interés. Aunque el código genético está degenerado en el sentido de que la mayoría de aminoácidos están representados por varios codones, llamados codones “equivalentes” o “sinónimos”, es de destacar que el uso de codones por organismos particulares no es aleatorio y tiene preferencia hacia tripletes de codones particulares. Esta preferencia de utilización de codón puede ser superior en referencia a un gen dado, genes de función común u origen ancestral, proteínas altamente expresadas contra proteínas de bajo número de copias y regiones que codifican proteínas agregadas del genoma de un organismo. En algunas realizaciones, los polinucleótidos que codifican las enzimas transaminasas pueden estar optimizadas por un codón para la correcta producción a partir de organismo huésped seleccionado para la expresión.

[0094] “Preferencia de utilización de codones altos, preferidos y apropiados” se refiere de manera intercambiable a codones que se utilizan a frecuencia más alta en las regiones que codifican proteínas que otros codones que codifican el mismo aminoácido. Los codones preferidos pueden determinarse en relación al uso de codones en un único gen, un conjunto de genes de función u origen común, genes altamente expresados, la frecuencia del codón en las regiones que codifican la proteína agregada del organismo completo, la frecuencia de codón en las regiones que codifican la proteína agregada de organismos relacionados o combinaciones de los mismos. Los codones cuya frecuencia incrementa con el nivel de expresión génica son, normalmente, codones apropiados para la expresión. Se conocen numerosos métodos para determinar la frecuencia de codón (por ejemplo, uso del codón, el uso de codones) y preferencia de codón en organismos específicos, incluyendo análisis multivariado, por ejemplo, utilizando análisis de conglomerados o análisis de correspondencia, y el número efectivo de codones utilizados en un gen (véanse GCG CodonPreference, Genetics Computer Group Wisconsin Package; CodonW, John Peden, Universidad de Nottingham; McInerney, J. O, 1998, *Bioinformatics* 14: 372 – 73; Stenico et al., 1994, *Nucleic Acids Res.* 22:2437 – 46; Wright, F., 1990, *Gene* 87: 23 – 29). Las tablas de uso de codones están disponibles para numerosos organismos (véanse, por ejemplo, Wada et al., 1992, *Nucleic Acids Res.* 20: 2111 – 2118; Nakamura et al., 2000, *Nucl. Acids Res.* 28: 292; Duret, et al., supra; Henaut and Danchin, “*Escherichia coli* and *Salmonella*,” 1996, Neidhardt, et al. Eds., ASM Press, Washington D.C., págs 2047 – 2066. La fuente de los datos para obtener el uso de codones puede depender de la secuencia nucleótida disponible capaz de codificar una proteína. Este conjunto de datos incluye secuencias de ácido nucleico ya conocidas para codificar proteínas expresadas (por ejemplo, secuencias codificadoras de proteínas completas – CDS), marcadores de secuencia expresada (EST) o regiones codificadoras predichas de secuencia genómicas (véanse, por ejemplo, Mount, D., *Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis*, Capítulo 8, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001; Uberbacher, E. C., 1996, *Methods Enzymol.* 266: 259 – 281; Tiwari et al., 1997, *Comput. Appl. Biosci.* 13: 263 – 270).

[0095] “Secuencia de control” se define en la presente para incluir todos los componentes necesarios o ventajosos para la expresión de un polinucleótido y / o polipéptido de la presente divulgación. Cada secuencia de control puede ser nativa o foránea al polinucleótido de interés. Dichas secuencias de control incluyen, de manera no limitante, un líder, una secuencia de poliadenilación, una secuencia propeptídica, un activador, una secuencia de señal peptídica y un terminador de transcripción.

[0096] “Unido operablemente” se define en la presente como una configuración en la que una secuencia de control se encuentra situada apropiadamente (es decir, en una relación funcional) en una posición cercana a un polinucleótido de interés de manera que la secuencia de control dirige o regula la expresión del polinucleótido y / o polipéptido de interés.

[0097] “Secuencia activadora” es una secuencia de ácido nucleico que se reconoce por una célula huésped para la expresión de un polinucleótido de interés, como una secuencia codificadora. La secuencia de control puede comprender una secuencia activadora apropiada. La secuencia activadora contiene secuencias de control transcripcionales, que median la expresión de un polinucleótido de interés. El activador puede ser cualquier secuencia de ácido nucleico que muestra actividad transcripcional en la célula huésped elegida, incluyendo mutados, truncados y activadores híbridos, y puede obtenerse de los genes que codifican polipéptidos extracelulares

o intracelulares, ya sean homólogos o heterólogos a la célula huésped.

6.2 Descripción detallada de las realizaciones

[0098] En las presentes realizaciones, las transaminasas modificadas se mejoran en su capacidad de convertir estereoselectivamente el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina en comparación con la transaminasa de la SEC ID N° 2. Las transaminasas, incluyendo las descritas anteriormente, contienen normalmente una coenzima, fosfato de piridoxal (PLP), que participa en la reacción de transaminación. El PLP puede obtenerse de la célula huésped en la que el polipéptido se ha sintetizado, o añadiendo PLP a una solución del polipéptido. Puesto que la transaminasa se describe respecto a la secuencia aminoácida, los expertos en la disciplina comprenderán que el polipéptido activo contiene PLP o un análogo apropiado como coenzima.

[0099] En algunas realizaciones, la mejora de la actividad enzimática es respecto a otra transaminasa modificada, como el polipéptido de la SEC ID N° 4. La actividad mejorada del sustrato de cetoamida puede manifestarse por un incremento en la cantidad del sustrato convertido en el producto (por ejemplo, porcentaje de conversión) por la enzima modificada respecto a la enzima de referencia (por ejemplo, la de tipo salvaje) en condiciones definidas. La actividad mejorada puede incluir una velocidad superior de formación del producto resultante en un incremento en la conversión del sustrato de cetoamida en el producto en un período de tiempo definido en una condiciones definidas. El incremento en la actividad (por ejemplo, porcentaje de conversión incrementado y / o velocidad de conversión) también puede estar caracterizado por la conversión del sustrato en la misma cantidad de producto con una cantidad menor de enzima. La cantidad de producto puede ser calculada mediante diversas técnicas, por ejemplo, separación de la mezcla de reacción (por ejemplo, mediante cromatografía) y detección del producto separado por absorción UV o espectrometría de masas en tándem (MS / MS) (véase, por ejemplo, el Ejemplo 4). Un método ejemplar de detección de producto por UV utiliza una longitud de onda incidente de 210 nm y una longitud de trayectoria de 1,0 cm, que tiene un límite de detección de Sitagliptina de 5 μ g / ml. La detección de producto por UV, normalmente, sigue a la separación de la mezcla por cromatografía, particularmente HPLC en un medio de cromatografía de fase inversa, por ejemplo una columna Agilent Eclipse XDB – C8 (4,6 x 150 mm, 5 μ m), utilizando un eluyente de 45: 55 10 mM NH₄Ac / MeCN a una velocidad de flujo de 1,5 ml / mon y una temperatura de columna de 40 °C. En algunas realizaciones, la detección por UV utiliza una longitud de onda incidente de 268 nm, que tiene un límite de detección similar al límite de detección a 210 nm.

[0100] En algunas realizaciones, la mejora en la actividad de la enzima es superior o igual a la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4 en condiciones de reacción definidas, como se presentan en los Ejemplos 6 o 7. Una condición de reacción definida ejemplar para comparar la actividad de la SEC ID N° 2 o la SEC ID N° 4 es 2 g / l de sustrato de cetoamida, isopropilamina 0,5 M, 22 °C, pH de 7,5, 5 % DMSO, 100 μ M PLP y 20 mg / ml de polipéptido de transaminasa, como se da posteriormente en la descripción de las condiciones de reacción para las transaminasas enumeradas en la Tabla 2. Las condiciones de reacción definidas para la comparación de ciertas transaminasas modificadas también se presentan en la descripción de las transaminasas enumeradas en la Tabla 2, y en las descripciones correspondientes en Ejemplos 7 a 11. En algunas realizaciones, las transaminasas modificadas tienen, al menos, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 1500, 2000 veces o más de 2000 veces la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4 en las condiciones de reacción definidas. Dado que la enzima transaminasa de la SEC ID N° 2 no actúa notablemente en el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona, una transaminasa modificada con actividad superior o igual a la SEC ID N° 4 para convertir el sustrato de cetoamida en el producto correspondiente se mejora respecto a la enzima representada por la SEC ID N° 2.

[0101] En algunas realizaciones, la actividad enzimática mejorada también se asocia a otras mejoras de las propiedades de la enzima. En algunas realizaciones, la mejora en la propiedad de la enzima se da respecto a la estabilidad térmica, como a 45 °C o más.

[0102] En algunas realizaciones, la actividad enzimática mejorada también se asocia a mejoras en la estabilidad del disolvente, como del 25 al 40 % o del 25 al 50 % de dimetilsulfóxido (DMSO). En algunas realizaciones, la transaminasa mejorada es resistente a la inactivación mediante un componente de la reacción, como el dador del grupo amino. En algunas realizaciones, las transaminasas modificadas son estables a isopropilamina 1 M o hasta 2 M.

[0103] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa mejorado también es capaz de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con, al menos, el 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % o más de exceso enantiomérico (e.e.).

[0104] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa modificada de la presente divulgación son

capaces de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con una actividad superior o igual a la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4 en presencia de un dador del grupo amino, particularmente isopropilamina, y comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 4.

[0105] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa modificada de la presente divulgación son capaces de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con una actividad superior o igual a la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4 en presencia de un dador del grupo amino, particularmente isopropilamina, y comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más a la secuencia de referencia enumerada en la Tabla 2, por ejemplo, la SEC ID N°: 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100 o 102, como se describe a continuación.

[0106] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que tiene una o más diferencias residuales en comparación a la secuencia transaminasa de referencia. Las diferencias residuales pueden ser sustituciones no conservativas, sustituciones conservativas o una combinación de sustituciones conservativas y no conservativas. Respecto a la diferencias residuales y a las descripciones de las posiciones del residuo, las transaminasas reveladas en la presente pueden describirse en referencia a la secuencia aminoácida de la transaminasa natural de *Arthrobacter sp* KNK168 o la transaminasa de la SEC ID N° 2, o una transaminasa modificada, como el polipéptido de la SEC ID N° 4. Para las presentes descripciones, la posición del residuo aminoácido en la secuencia de referencia se determina en la transaminasa comenzando por el residuo inicial de metionina (M) (es decir, M representa un residuo en posición 1), aunque los expertos en la disciplina entenderán que este residuo inicial de metionina puede ser eliminado mediante procesos biológicos, como en una célula huésped o en un sistema de traducción *in vitro*, para generar una proteína madura que carece del residuo inicial de metionina.

[0107] La posición de la secuencia polipeptídica en la que hay un aminoácido particular o un cambio aminoácido (“diferencia residual”) se describe, a veces, en la presente como “Xn” o “posición n”, donde n se refiere a la posición del residuo respecto a la secuencia de referencia.

[0108] Una mutación de sustitución específica, que es un reemplazamiento del residuo específico en una secuencia de referencia con un residuo diferente específico puede denominarse según la nomenclatura convencional “X (número) Y”, donde X es la única letra para identificar el residuo en la secuencia de referencia, “número” es la posición del residuo en la secuencia de referencia, e Y es la única para identificar la sustitución del residuo en la secuencia modificada.

[0109] En algunas realizaciones, las diferencias residuales pueden tener lugar en una o más de las siguientes posiciones residuales: X4; X5; X8; X18; X25; X26; X27; X28; X30; X41; X42; X48; X49; X50; X54; X55; X60; X61; X62; X65; X69; X81; X94; X96; X102; X117; X120; X122; X124; X126; X136; X137; X138; X146; X148; X150; X152; X155; X156; X160; X163; X164; X169; X174; X178; X195; X199; X204; X208; X209; X211; X215; X217; X223; X225; X230; X252; X269; X273; X282; X284; X292; X297; X302; X306; X321; y X329. En algunas realizaciones, las diferencias residuales o combinaciones de las mismas están asociadas a propiedades mejoradas de la enzima. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa pueden tener, de manera adicional, 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 diferencias residuales en otras posiciones residuales aminoácidas. En algunas realizaciones, las diferencias residuales en otras posiciones residuales comprenden sustituciones con residuos aminoácidos conservativos.

[0110] En las presentes realizaciones, las diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 en las posiciones residuales que afectan al sustrato que se une a la transaminasa permiten la colocación del sustrato de cetoamida de fórmula estructural (I), descrita a continuación, en particular el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona. Sin ser limitados por la teoría, al menos dos regiones, una primera región de unión al sustrato y una segunda región de unión al sustrato, interactúan con diferentes elementos estructurales del sustrato de cetoamida. La primera región de unión comprende posiciones residuales X62, X136, X137, X195, X199, X208, X209, X223, X225, y X282, mientras que la segunda región de unión comprende posiciones residuales X69, X122 y X284. En consecuencia, los polipéptidos de transaminasa de la presente tiene una o más diferencias residuales en las posiciones residuales que comprenden X62, X69, X122, X136, X137, X195, X199, X208, X209, X223, X225, X282, y X284. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa de la presente tienen, al menos, dos o más, tres o más, cuatro o más, cinco o más o seis o más diferencias residuales en las posiciones residuales específicas asociadas al sustrato de unión.

[0111] En algunas realizaciones, las diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 están en una o más posiciones residuales que forman una primera región de unión al sustrato comprendida en las posiciones residuales X62, X136, X137, X195, X199, X208, X209, X223, X225, y X282. En consecuencia, en algunas realizaciones, la transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que incluye, al menos, una diferencia residual en comparación a la SEC ID N° 2 en las posiciones residuales X62, X136, X137, X195, X199, X208, X209, X223, X225, y X282.

[0112] En algunas realizaciones, las diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 están en una o más posiciones residuales que forman una segunda región de unión al sustrato que incluye las posiciones residuales X69, X122 y X284. En consecuencia, en algunas realizaciones, la transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que incluye, al menos, una diferencia residual en comparación a la SEC ID N° 2 en las posiciones residuales X69, X122 y X284.

[0113] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que incluye diferencias residuales en la primera región de unión en combinación con diferencias residuales en la segunda región de unión. En consecuencia, en algunas realizaciones, la transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida en que incluye uno o más diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 en las posiciones residuales X62, X136, X137, X195, X199, X208, X209, X223, X225, y X282 en combinación con una o más diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 en las posiciones residuales X69, X122 y X284.

[0114] En algunas realizaciones de las transaminasas modificadas de la divulgación, los residuos aminoácidos en una posición residual puede definirse en términos de "características" aminoácidas (por ejemplo, tipo o propiedad de aminoácidos) que pueden aparecer en esa posición. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los residuos aminoácidos en las posiciones especificadas anteriormente pueden seleccionarse de las siguientes características: X4 es un residuo aromático; X5 es un residuo básico, X8 es un residuo restringido, X18 es una cisteína (C) o un residuo alifático; X25 es un residuo polar, X26 es un residuo aromático o restringido; X27 es un residuo polar; X28 es un residuo registrado; X30 es un residuo polar o no polar; X41 es un residuo restringido o polar; X42 es un residuo no polar; X48 es un residuo polar, ácido, alifático o no polar; X49 es un residuo polar; X50 es un residuo alifático; X54 es un residuo restringido; X55 es un residuo alifático; X60 es un residuo aromático; X61 es un residuo aromático; X62 es un residuo aromático o polar; X65 es un residuo alifático; X69 es una cisteína (C) o un residuo no polar, polar o alifático; X81 es un residuo no polar; X94 es un residuo alifático; X96 es un residuo alifático; X102 es un residuo alifático o básico; X117 es un residuo no polar, X120 es un residuo aromático, X122 es un residuo restringido, no polar o alifático; X124 es un residuo polar o restringido; X126 es un residuo polar; X136 es un residuo aromático; X137 es un residuo polar o alifático; X138 es un residuo básico o restringido; X146 es un residuo básico; X148 es un residuo alifático o aromático; X150 es un residuo aromático, restringido o polar; X152 es una cisteína (C) o un residuo polar, no polar o alifático; X155 es un residuo polar o no polar; X156 es un residuo polar; X160 es un residuo alifático; X163 es un residuo alifático o restringido; X164 es un residuo alifático o restringido; X169 es un residuo alifático; X174 es un residuo alifático, X178 es residuo polar; X195 es un residuo aromático o polar; X199 es un residuo alifático o aromático; X204 es un residuo alifático; X208 es una cisteína (C) o un residuo restringido, polar, no polar, aromático o básico; X209 es un residuo alifático; X211 es un residuo alifático; X215 es una cisteína (C); X217 es un residuo polar; X223 es un residuo restringido; X225 es un residuo aromático; X230 es un residuo alifático; X252 es un residuo aromático o alifático; X269 es un residuo restringido; X273 es un residuo aromático; X282 es un residuo polar; X284 es un residuo no polar; X292 es un residuo polar; X297 es un residuo polar; X302 es un residuo alifático; X306 es un residuo alifático; X321 es un residuo restringido y X329 es un residuo restringido o aromático. En algunas realizaciones, en las que el residuo aminoácido en la correspondiente posición residual de la secuencia de referencia (por ejemplo, la SEC ID N° 2) están incluidas en la categoría de aminoácidos descrita para la posición especificada, puede utilizarse un aminoácido diferente dentro de esa categoría aminoácida teniendo en cuenta las directrices descritas en la presente.

[0115] En algunas realizaciones, el residuo aminoácido en las posiciones residuales especificadas anteriormente puede seleccionarse de las siguientes características: X4 es Y, F, o W, particularmente Y; X5 es K o R, particularmente K; X8 es H o P, particularmente P; X18 es C, A, V, o I, particularmente C o I; X25 es N, Q, S, o T, particularmente Q; X26 es F, W, H o P, particularmente H; X27 es N, Q, S, o T, particularmente T; X28 es P o H, particularmente P; X30 es N, Q, S, T, G, M, A, V, L o I, particularmente Q o M; X41 es P, H, N, Q, S, o T, particularmente H o S; X42 es G, M, A, V, L o I, particularmente G; X48 es N, Q, S, T, D, E, G, M, A, V, L, o I, particularmente Q, D, V, G, o A; X49 es N, Q, o T, particularmente T; X50 es A, V, L o I, particularmente L; X54 es P o H; X55 es A, V, o L, particularmente V; X60 es F o W, particularmente F; X61 es Y, F, o W, particularmente Y; X62 es S, T, N, Q, Y, F, o W, particularmente T, Y o F; X65 es A, L o I, particularmente A; X69 es C, G, M, A, L I, S, T, N o Q, particularmente G, C, T, A, o S; X81 es G, M, A, V, L, I, particularmente G; X94 es A, V, L o I, particularmente I o L; X96 es A, V o L, particularmente L; X102 es A, V, L, I, K o R, particularmente L o K; X117 es G, M, A, V, L o I, particularmente G; X120 es Y, W, o F, particularmente Y; X122 es G, M, A, V, I, L, P o H, particularmente M, I, L, V, o H; X124 es T, N, Q, P, o H, particularmente T, H o N; X 126 es N, Q, o T, particularmente T; X136 es Y, F o W, particularmente Y o F; X137 es S, T, N, Q, A, V, L o I, particularmente T o I; X138 es K, P o H, particularmente K o P; X146 es K o R, particularmente R; X148 es A, V, L I, W, o F, particularmente A o F; X150 es F, W, H, P, S, T, N, o Q, particularmente F, H, or S; X152 es C, G, M, A, L, I, S, T, N, o Q, particularmente G, I, L, S o C; X155 es N, S, T, G, M, A, V, L o I, particularmente M, V o T; X156 es N, Q, S, o T, particularmente Q; X160 es A, V, L o I, particularmente

L; X163 es P, H, A, V, o L, particularmente H o V; X164 es A, V, L, I, P o H, particularmente V o P; X169 es V, L o I, particularmente L; X174 es A, V, L o I, particularmente A; X178 es S, N, o Q, particularmente S; X195 es F, Y, W, S, T, N o Q, particularmente F o Q; X199 es A, L, I, Y, F, W, particularmente W o I; X204 es A, V, L, o I, particularmente A; X208 es H, C, G, K, N, Y, D o S; X209 es V, L o I, particularmente L; X211 es A, V, o I, particularmente I; X215 es C; X217 es S, T, N o Q, particularmente N; X223 es H o P, particularmente P; X225 es W o Y, particularmente Y; X230 es A, V, o L, particularmente V; X252 es A, V, I, Y, F, o W, particularmente F; X269 es H o P, particularmente P; X273 es Y, F o W, particularmente Y; X282 es S, N o Q, particularmente S; X284 es G, M, V, L o I, particularmente G; X292 es T, N, o Q, particularmente T; X297 es S, T, N o Q, particularmente S; X302 es A, L, o I, particularmente A; X306 es A, L o I, particularmente L; X321 es H o P, particularmente P; y X329 es H, P, Y, F, o W, particularmente H.

[0116] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que incluye, al menos, las siguientes características: X69 es C, G, M, A, L, I, S, T, N o Q, particularmente G, C, T, A, o S; X122 es G, M, A, V, L, I, P o H, particularmente M, I, V, L, o H; y X223 es H o P, particularmente P.

[0117] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que incluye, al menos, las siguientes características: X122 es G, M, A, V, L, I, P o H, particularmente M, I, V, L o H; X223 es H o P, particularmente P; y X284 es G, M, V, L o I, particularmente G.

[0118] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que incluye, al menos, las siguientes características: X69 es C, G, M, A, L, I, S, T, N o Q, particularmente G, C, T, A, o S; X122 es G, M, A, V, L, I, P o H, particularmente M, I, V, L, o H; X223 es H o P, particularmente P; y X284 es G, M, A, V, L o I, particularmente G.

[0119] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada comprende una secuencia aminoácida que incluye, al menos, las siguientes características: X69 es C o T; X122 es M o I; X223 es P; y X284 es G.

[0120] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada con una o más de las características especificadas o combinaciones de características en las posiciones residuales X69, X122, X223, y X284, pueden tener, adicionalmente, una o más diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 en las siguientes posiciones residuales: X4; X5; X8; X18; X25; X26; X27; X28; X30; X41; X42; X48; X49; X50; X54; X55; X60; X61; X62; X65; X81; X94; X96; X102; X117; X120; X124; X126; X136; X137; X138; X146; X148; X150; X152; X155; X156; X160; X163; X164; X169; X174; X178; X195; X199; X204; X208; X209; X211; X215; X217; X225; X230; X252; X269; X273; X282, X292; X297; X302; X306; X321; y X329. Además de las posiciones residuales X69, X122, X223, y X284, estas otras posiciones residuales se asocian con efectos en varias propiedades del polipéptido de transaminasa y, por tanto, puede haber diferencias residuales en comparación a la SEC ID N° 2 para provocar cambios deseables en las propiedades de la proteína.

[0121] Como se ha visto anteriormente, las posiciones residuales X62, X136, X137, X19S, X199, X208, X209, X225, y X282 a lo largo de las posiciones residuales X69, X122, X223, y X284, están asociadas con la unión del sustrato a la enzima y, por tanto, el polipéptido de transaminasa puede tener diferencias residuales en estas posiciones en comparación a la SEC ID N° 2 para provocar cambios deseables en las propiedades de la proteína.

[0122] Las posiciones residuales X4, X5, X8, X26, X48, X60, X65, X81, X96, X102, X124, X160, X163, X169, X174, X178, X211, X217, X225, X230, X252, X269, X273, X292, X297, X306, X321, X329 también se asocian a incrementos adicionales de la actividad de la enzima, y, por tanto, el polipéptido de transaminasa puede tener diferencias residuales en estas posiciones en comparación a la SEC ID N° 2 para provocar cambios deseables en la actividad de la enzima, por ejemplo, un incremento en la eficiencia de conversión en condiciones de carga alta de sustrato.

[0123] Las posiciones residuales X18, X25, X27, X28, X30, X41, X42, X49, X50, X54, X55, X117, X120, X126, X138, X146, X148, X150, X152, X155, X156, X164, X204, X302 también se asocian a incrementos adicionales en la termoestabilidad y / o la estabilidad de disolvente, como DMSO, y, por tanto, el polipéptido de transaminasa puede tener diferencias residuales en estas posiciones en comparación a la SEC ID N° 2 para provocar cambios deseables en la termoestabilidad y / o estabilidad de disolvente.

[0124] Las posiciones residuales X61, X94, X215 también se asocian con la habilidad de soportar la reacción a altas concentraciones del dador del amino isopropilamina, y, por tanto, el polipéptido de transaminasa puede tener diferencias residuales en estas posiciones en comparación a la SEC ID N° 2 para provocar el incremento en la eficiencia de la conversión a alta (por ejemplo, 1 – 2 M) concentraciones de isopropilamina.

[0125] Cabe señalar que las diferencias residuales de la SEC ID N° 2 en las posiciones residuales asociadas a las diferentes propiedades de las enzimas pueden utilizarse en diversas combinaciones para formar polipéptidos de transaminasa con características enzimáticas deseables, por ejemplo, combinación del incremento de la actividad enzimática, estabilidad de disolvente y temperatura y utilización de un dador amino. Se describen en la presente combinaciones ejemplares.

[0126] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada tiene las características en una o más posiciones residuales X69, X122, X223, y X284 como se ha descrito anteriormente, incluye, al menos, las siguientes características adicionales: X26 es P, H, F, o W, particularmente H, y/o X62 es S, T, N, Q, Y, F, o W, particularmente T o F; X65 es A, L o I, particularmente A; X136 es Y, F o W, particularmente Y o F; X199 es A, L, I, Y, F, o W, particularmente W o I; y X209 es V, L o I, particularmente L.

[0127] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada tiene las características en una o más posiciones residuales X69, X122, X223, y X284 como se ha descrito anteriormente, incluye, al menos, las siguientes características adicionales: X61 es Y, F, o W, particularmente Y; X62 es S, T, N, Q, Y, F, o W, particularmente T o F; X65 es A, L o I, particularmente A; X94 es A, V, L o I, particularmente I o L; X136 es Y, F, o W, particularmente Y o F; X199 es A, L, I, Y, F, o W, particularmente W o I; X209 es V, L o I, particularmente L; X215 es C; y X282 es S, N o Q, particularmente S.

[0128] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada tiene las características en una o más posiciones residuales X69, X122, X223, y X284 como se ha descrito anteriormente, incluye, al menos, las siguientes características adicionales: X8 es H o P, particularmente P; X61 es Y, F, o W, particularmente Y; X62 es S, T, N, Q, Y, F, o W, particularmente T o F; X65 es A, L o I, particularmente A; X81 es G, M, A, V, L o I, particularmente G; X94 es A, V, L o I, particularmente I o L; X136 es Y, F, o W, particularmente Y o F; X199 es A, L, I, Y, F, o W, particularmente W o I; X209 es V, L o I, particularmente L; X215 es C; X217 es S, T, N, o Q, particularmente N; X269 es H o P, particularmente P; X282 es S, N o Q, particularmente S. X297 es S, T, N o Q, particularmente S; y X321 es H o P, particularmente P.

[0129] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada tiene las características en una o más posiciones residuales X69, X122, X223, y X284 como se ha descrito anteriormente, incluye, al menos, las siguientes características adicionales: X8 es H o P, particularmente P; X61 es Y, F, o W, particularmente Y; X62 es Y, F, W, S, T, N o Q, particularmente T o F; X65 es A, L o I, particularmente A; X81 es G, M, A, V, L o I, particularmente G; X94 es A, V, L o I, particularmente I o L; X96 es A, V o L, particularmente L; X124 es P, H, T, N, o Q, particularmente T, H o N; X136 es Y, F o W, particularmente Y o F; X199 es A, L, I, Y, F o W, particularmente W o I; X209 es V, L o I, particularmente L; X215 es C; X217 es S, T, N o Q, particularmente N; X269 es H o P, particularmente P; X282 es S, N o Q, particularmente S; X297 es S, T, N o Q, particularmente S; y X321 es H o P, particularmente P.

[0130] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada tiene las características en una o más posiciones residuales X69, X122, X223, y X284 como se ha descrito anteriormente, incluye, al menos, las siguientes características adicionales: X8 es H o P, particularmente P; X60 es F o W, particularmente F; X61 es Y, F, o W, particularmente Y; X62 es Y, F, W, S, T, N o Q, particularmente T o F; X65 es A, L o I, particularmente A; X81 es G, M, A, V, L o I, particularmente G; X94 es A, V, L o I, particularmente I o L; X96 es A, V o L, particularmente L; X124 es P, H, T, N, o Q, particularmente T, H o N; X126 es N, Q, o T, particularmente T; X136 es Y, F o W, particularmente Y o F; X150 es F, W, H, P, S, T, N, o Q, particularmente F, H, o S; X152 es C, G, M, A, L, I, S, T, N, o Q, particularmente G, I, L, S o C; X169 es V, L, o I, particularmente L; X 199 es Y, F, W, A, L o I, particularmente W o I; X209 es V, L o I, particularmente L; X215 es C; X217 es S, T, N o Q, particularmente N; X269 es H o P, particularmente P; X273 es Y, F, o W, particularmente Y; X282 es S, N o Q, particularmente S; X297 es S, T, N o Q, particularmente S; y X321 es H o P, particularmente P.

[0131] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada que tiene las características en una o más posiciones residuales: X122 es un residuo restringido, no polar o alifático, particularmente M, I, L, V, o H; X223 es residuo restringido, particularmente P; X284 es residuo no polar, particularmente G. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa puede tener adicionalmente 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 diferencias residuales en otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el número de diferencias residuales en las otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada puede comprender una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% a la secuencia aminoácida de referencia basada en la SEC ID N° 2 que tiene las características descritas para las posiciones residuales especificadas anteriormente (es decir, X122; X223; y X284) (por ejemplo, la SEC ID N° 8 o 10), con la condición de que el polipéptido de transaminasa modificada con polipéptidos comprenda una secuencia aminoácida que incluya, al menos, las características descritas para los residuos especificados.

[0132] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada que tiene las características en una o más posiciones residuales: X69 es C o un residuo no polar, alifático o polar, particularmente G, C, T, A o S; X122 es un residuo restringido, no polar o alifático, particularmente M, I, L, V, o H; X223 es residuo restringido, particularmente P; X284 es residuo no polar, particularmente G. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa puede tener adicionalmente 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 diferencias residuales en otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el número de diferencias puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,

11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 diferencias residuales en las otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada puede comprender una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% a la secuencia aminoácida de referencia basada en la SEC ID N° 2 que tiene las características descritas para las posiciones residuales especificadas anteriormente (es decir, X69; X122; X223; y X284) (por ejemplo, la SEC ID N° 4), con la condición de que el polipéptido de transaminasa modificada con polipéptidos comprenda una secuencia aminoácida que incluya, al menos, las características descritas para los residuos especificados.

[0133] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada que tiene las características en una o más posiciones residuales: X65 es un residuo alifático, particularmente A; X69 es C o un residuo no polar, alifático o polar, particularmente G, C, T, A o S; X122 es un residuo restringido, no polar o alifático, particularmente M, I, L, V, o H; X223 es residuo restringido, particularmente P; X284 es residuo no polar, particularmente G. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa puede tener adicionalmente 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 diferencias residuales en otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el número de diferencias puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 diferencias residuales en las otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada puede comprender una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% a la secuencia aminoácida de referencia basada en la SEC ID N° 2 que tiene las características descritas para las posiciones residuales especificadas anteriormente (es decir, la SEC ID N° 6), con la condición de que el polipéptido de transaminasa modificada con polipéptidos comprenda una secuencia aminoácida que incluya, al menos, las características descritas para los residuos especificados. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada puede comprender una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 6.

[0134] En algunas realizaciones, la transaminasa modificada que tiene las características en una o más posiciones residuales: X122 es un residuo restringido, no polar o alifático, particularmente M, I, L, V, o H; X174 es un residuo alifático, particularmente A; X223 es residuo restringido, particularmente P; X284 es residuo no polar, particularmente G. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa puede tener adicionalmente 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 diferencias residuales en otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el número de diferencias puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 diferencias residuales en las otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada puede comprender una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% a la secuencia aminoácida de referencia basada en la SEC ID N° 2 que tiene las características descritas para las posiciones residuales especificadas anteriormente (es decir, la SEC ID N° 12), con la condición de que el polipéptido de transaminasa modificada con polipéptidos comprenda una secuencia aminoácida que incluya, al menos, las características descritas para los residuos especificados. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada puede comprender una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 12.

[0135] La Tabla 2 que se presenta a continuación presenta un ejemplo de polipéptido de transaminasa modificada, con dos números de SEC ID en cada fila, el número impar se refiere a la secuencia nucleótida que codifica la secuencia aminoácida presentada por el número par. Las diferencias residuales están basadas en la comparación a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 2, una transaminasa derivada de *Arthrobacter sp* KNK168 y difiere de la enzima natural en que tiene una sustitución de isoleucina (I) en la posición residual X306 con valina (V). En la columna Actividad, los niveles de actividad incrementados (es decir, “+”, “++”, “+++”, etc) se definieron de la siguiente manera: “+” indica, al menos, igual pero no superior a 2 veces la actividad de la SEC ID N° 4 (condiciones del ensayo: 2 g / l de sustrato de cetoamida, isopropilamina 0,5 M, 22 °C, pH 7,5, 5 % DMSO, 100 µM PLP); “++” indica de 50 a 100 veces superior a la actividad de la SEC ID N° 4 (condiciones del ensayo: 2 g / l de sustrato de cetoamida, isopropilamina 0,5 M, 22 °C, pH 7,5, 5 % MeOH, 100 µM PLP); “+++” indica de 1,1 a 5 veces superior a la actividad de la SEC ID N° 22 (condiciones del ensayo: 5 – 10 g / l de sustrato de cetoamida, isopropilamina 0,5 – 1 M, 22 – 30 °C, pH 7,5, 5 % MeOH, 100 µM PLP); “++++” indica de 1,1 a 5 veces superior a la actividad de la SEC ID N° 48 (condiciones del ensayo: 10 – 40 g / l de sustrato de cetoamida, isopropilamina 1 M, 30 – 45 °C, pH 8,5, 10 % MeOH, 100 µM PLP); “+++++” indica de 1,1 a 5 veces superior a la actividad de la SEC ID N° 58 (condiciones del ensayo: 40 – 100 g / l de sustrato de cetoamida, isopropilamina 1 M, 45 °C, pH 8,5, 10 % MeOH – 25 % DMSO, 250 µM PLP); “++++++” indica de 1,1 a 5 veces superior a la actividad de la SEC ID N° 104 (condiciones del ensayo: 40 – 100 g / l de sustrato de cetoamida, isopropilamina 1 M, 45 °C, pH 8,5, 50 % DMSO, 1000 µM PLP). Se describen en los Ejemplos 6 a 11 condiciones de ensayo ejemplares para medir la actividad utilizando metanol y DMSO.

[0136]

Tabla 2

	SEC ID Nº	Diferencias residuales respecto a la SEC ID Nº 2	Nº diferencias residuales	Actividad
5	1 / 2	–	–	–
	3 / 4	V69G; F122V; S223P; A284G	4	+
10	5 / 6	V65A; V69G; F122I; S223P	4	+
	7 / 8	F122L; S223P; A284G	3	+
15	9 / 10	F122I; S223P; A284G	3	+
	11 / 12	F122L; S174A; S223P; A284G	4	+
	13 / 14	Y26H; V65A; V69G; F122I; S223P; A284G	6	+
20	15 / 16	Y26H; H62T; V65A; V69G; F122I; T178S; V199W; S223P; F225Y; T282S; A284G	11	++
25	17 / 18	Y26H; H62F; V65A; V69G; F122V; G136Y; V199I; A209L; S223P; F225Y; T282S; A284G	12	++
	19 / 20	Y26H; H62T; V65A; V69G; F122V; G136Y; E137T; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	++
30	21 / 22	Y26H; H62T; V65A; V69G; F122I; G136Y; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	++
35	23 / 24	Y26H; H62T; V65A; V69G; F122I; G136Y; E137T; V199I; A209L; S223P; F225Y; T282S; A284G	13	++
	25 / 26	Y26H; V65A; V69G; F122V; G136Y; E137I; S174A; V199I; A209L; S223P; I230V; A284G	12	++
40	27 / 28	Y26H; H62T; V65A; V69G; F122H; G136Y; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	+++
45	29 / 30	Y26H; H62T; V65A; V69T; F122I; G136Y; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	+++
50	31 / 32	Y26H; H62T; V65A; V69C; F122I; G136Y; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	+++
	33 / 34	Y26H; H62T; V65A; V69A; F122I; G136Y; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	+++
55	35 / 36	Y26H; L61Y; H62T; V65A; V69G; F122I; G136Y; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	13	+++
60	37 / 38	Y26H; H62Y; V65A; V69G; F122I; G136Y; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	+++
65	39 / 40	Y26H; H62T; V65A; V69G; F122I; G136F; E137I; V199I; A209L; S223P; T282S; A284G	12	+++

ES 2 448 816 T3

5	41 / 42	S4Y; Y26H; H62T; V65A; V69G; M94I; F122I; G136Y; E137T; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	15	+++
	43 / 44	H62T; V65A; V69G; M94I; F122I; G136Y; E137I; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	13	+++
	45 / 46	H62T; V65A; V69G; M94I; F122I; G136Y; E137T; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	13	+++
	47 / 48	H62T; V65A; V69C; M94I; F122I; G136Y; E137T; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	13	+++
	49 / 50	S8P; H62T; V65A; V69C; M94I; F122I; G136Y; E137T; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	14	++++
10	51 / 52	L61Y; H62T; V65A; V69S; M94I; F122I; G136F; E137T; V152I; V199I; A209L; G213C; S223P; T282S; A284G	15	++++
15	53 / 54	L61Y; H62T; V65A; V69C; M94I; F122V; G136F; E137T; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	14	++++
	55 / 56	L61Y; H62T; V65A; V69T; M94I; F122V; G136F; E137T; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	14	++++
	57 / 58	L61Y; H62T; V65A; V69T; M94I; F122I; G136F; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	13	++++
20	59 / 60	L61Y; H62T; V65A; V69T; M94I; F122H; G136F; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	13	++++
25	61 / 62	L61Y; H62T; V65A; V69C; M94I; F122I; G136Y; E137T; F160L; A169L; V199I; A209L; G215C; S223P; L269P; T282S; A284G	17	++++
	63 / 64	L61Y; H62T; V65A; V69C; M94L; F122I; G136Y; E137T; A169L; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G; V306L	16	++++
	65 / 66	L61Y; H62T; V65A; V69C; M94I; Q102L; F122I; G136F; Y150F; V152I; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	16	++++
30	67 / 68	S8P; P48A; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; Q102K; F122I; G 136F; I163V; V199I; A209L; L211I; G215C; G217N; S223P; L252F; L273Y; T282S; A284G; S321P	24	+++++
35	69 / 70	S8P; P48A; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; F122I; G136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; T282S; A284G; P297S; S321P	21	+++++
	71 / 72	S8P; L61Y; H62T; V65A; V69T; M94I; F122I; G136F; V199I; A209L; G215C; S223P; T282S; A284G	14	+++++
40				
45				
50				
55				
60				
65				

ES 2 448 816 T3

5	73 / 74	S8P; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94L; I96L; F122I; G136F; T178S; V199I; A209L; G215C; S223P; L269P; T282S; A284G; P297S; S321P	20	+++++
10	75 / 76	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; G136F; V152L; T178S; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L252F; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	25	+++++
15	77 / 78	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94L; I96L; F122I; G136F; A169L; T178S; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; T282S; A284G; S292T; P297S; S321P	24	+++++
20	79 / 80	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; G136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	23	+++++
25	80 / 82	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94L; I96L; F122I; G136F; A169L; T178S; V199I; A209L; G215C; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	23	+++++
30	83 / 84	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; S124T; G136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	24	+++++
35	85 / 86	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; S124H; G136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	24	+++++
40	87 / 88	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; S124N; G136F; A169L; V199I; A209L; G215 C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	24	+++++
45	89 / 90	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; G136F; Y150H; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	24	+++++
50	91 / 92	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124H; G136F; Y150H; V152S; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	26	+++++
55				
60				
65				

ES 2 448 816 T3

5	93 / 94	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	26	+++++
10	95 / 96	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124N; G 136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	24	+++++
15	97 / 98	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122I; S124H; G136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	24	+++++
20	99 / 100	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124N; G136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	24	+++++
25	101 / 102	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124N; G136F; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P; Q329H	25	+++++
30	103 / 104	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	+++++
35	105 / 106	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; S126T; G136F; R138K; Y150S; V152G; Q155M; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	+++++
40	107 / 108	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; R138P; Q146R; Y150S; V152S; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	+++++
45	109 / 110	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; S126T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	+++++
50	111 / 112	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; I163H; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	+++++
55				
60				
65				

ES 2 448 816 T3

5	113 / 114	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y148A; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
10	115 / 116	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; W156Q; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
15	117 / 118	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; R164V; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
20	119 / 120	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y148F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
25	121 / 122	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; E120Y; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
30	123 / 124	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; Q155V; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
35	125 / 126	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; R164P; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
40	127 / 128	S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; Q155T; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
45	129 / 130	S8P; E50L; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
50	131 / 132	S8P; L18I; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
55				
60				
65				

ES 2 448 816 T3

5	133 / 134	S8P; D25Q; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
10	135 / 136	S8P; E42G; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
15	137 / 138	S8P; P48D; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
20	139 / 140	S8P; P30Q; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N ;S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
25	141 / 142	S8P; L28P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
30	143 / 144	S8P; I41H; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; VI 991; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
35	145 / 146	S8P; P30M; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
40	147 / 148	S8P; S54H; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
45	149 / 150	S8P; L18C; I55V; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V 152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	28	++++++
50	151 / 152	S8P; P48G; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
55				
60				
65				

ES 2 448 816 T3

5	153 / 154	S8P; P48V; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V 199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
10	155 / 156	S8P; I41S; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
15	157 / 158	S8P; E27T; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
20	159 / 160	S8P; S54P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G 136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
25	161 / 162	S8P; P48Q; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	27	++++++
30	163 / 164	A5K; S8P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; S126T; G136F; Y150S; V152C; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	28	++++++
35	165 / 166	S8P; S49T; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; E117G; F122M; S124T; S126T G136F; Y150S; V152S; A169L; V199I; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; V302A; S321P	30	++++++
40	167 / 168	S8P; S54P; Y60F; L61Y; H62T; V65A; V69T; D81G; M94I; I96L; F122M; S124T; S126T; G136F; Y150S; V152S; A169L; V199I; D204A; A209L; G215C; G217N; S223P; L269P; L273Y; T282S; A284G; P297S; S321P	29	++++++
45				
50				
55				

[0137] Como se ha visto anteriormente, en algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa mejorada incluye una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa mejorada pueden tener 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 diferencias residuales en comparación a la transaminasa representada por la SEC ID N° 2. En algunas realizaciones, el número de diferencias residuales puede ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 en comparación con la SEC ID N° 2.

[0138] Como se ha visto anteriormente, en algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa mejorada incluye una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168, con la condición de que la secuencia aminoácida de transaminasa mejorada comprenda cualquiera de las diferencias residuales contenidas en cualquiera de las secuencias polipeptídicas enumeradas en la Tabla 2 en comparación con la SEC ID N° 2. En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa mejorada pueden tener 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 diferencias residuales en comparación a la transaminasa representada por la SEC ID N° 2. En algunas realizaciones, el número de diferencias residuales puede ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 diferencias residuales en otras posiciones residuales. En algunas realizaciones, las diferencias residuales en otras posiciones residuales comprenden sustituciones con residuos aminoácidos conservativos.

[0139] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa mejorada capaces de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina en presencia de un dador del grupo amino con niveles de producto detectables mediante HPLC – UV a 210 nm comprende una secuencia aminoácida correspondiente a la SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 64, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0140] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 50, 100 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 4. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 50, 100 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 4 comprende una secuencia aminoácida correspondiente a la SEC ID N° 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0141] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 1,1, 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 22. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 1,1, 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 22 comprende una secuencia aminoácida correspondiente a la SEC ID N° 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0142] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 1,1 a 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 48. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 1,1 a 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 48 comprende una secuencia aminoácida correspondiente a la SEC ID N° 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0143] En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 1,1 a 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 58. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa modificada es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad 1,1 a 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 58 comprende una secuencia aminoácida correspondiente a la SEC ID N° 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0144] Como se ha descrito anteriormente, en algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa mejorado también es capaz de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con, al menos, un 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % o más de exceso enantiomérico. Algunos ejemplos de polipéptidos de transaminasa con los niveles especificados de

enantioselectividad pueden comprender una secuencia aminoácida correspondiente a la SED ID N° 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0145] En algunas realizaciones, los polipéptidos de transaminasa modificada mejorada pueden comprender supresiones de polipéptidos de transaminasa modificado descritos en la presente. Por lo tanto, en cada una de las realizaciones de los polipéptidos de transaminasa de la divulgación, las supresiones pueden comprender la eliminación de 1 o más aminoácidos, 2 o más aminoácidos, 5 o más aminoácidos, 10 o más aminoácidos, 15 o más aminoácidos o 20 o más aminoácidos, hasta el 10 % del número total de aminoácidos, hasta el 20 % del número total de aminoácidos o hasta el 30 % del número total de aminoácidos que forman el polipéptido mientras conserve la actividad funcional de la actividad transaminasa. En algunas realizaciones, las supresiones pueden comprender 1 – 2, 1 – 3, 1 – 4, 1 – 5, 1 – 6, 1 – 7, 1 – 8, 1 – 9, 1 – 10, 1 – 11, 1 – 12, 1 – 14, 1 – 15, 1 – 16, 1 – 18, 1 – 20, 1 – 22, 1 – 24, 1 – 26, 1 – 30, 1 – 35, 1 – 40, 1 – 45, 1 – 50, 1 – 55, o 1 – 60 aminoácidos residuales. En algunas realizaciones, el número de supresiones puede ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 aminoácidos. En algunas realizaciones, las supresiones pueden comprender supresiones de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 o 30 aminoácidos residuales.

[0146] Como se ha descrito anteriormente, los polipéptidos de transaminasa de la presente divulgación pueden estar en forma de polipéptidos de fusión en los que los polipéptidos de transaminasa se fusionan a otros polipéptidos, como, por citar algún ejemplo no limitante, marcadores de anticuerpos (por ejemplo, epítopo myc), secuencias de purificación (por ejemplo, marcadores de His para la unión a metales) y señales de localización de células (por ejemplo, señales de secreción). Por lo tanto, los polipéptidos de transaminasa pueden utilizarse con o sin fusiones a otros polipéptidos.

[0147] Los polipéptidos descritos en la presente no son restrictivos a los aminoácidos genéticamente codificados. Además de los aminoácidos genéticamente modificados, los polipéptidos descritos en la presente pueden comprender, ya sea total o parcialmente, aminoácidos naturales y / o sintéticos no codificados. Ciertos aminoácidos no codificados hallados normalmente pueden incluir los polipéptidos descritos en la presente, pero no de manera limitante: los estereoisómeros – D de los aminoácidos genéticamente modificados; ácido 2, 3 – diaminopropiónico (Dpr); ácido α – aminoisobutírico (Aib); ácido ϵ – aminohexanoico (Aha); ácido δ – aminoaléico (Ava); N – metilglicina o sarcosina (MeGly o Sar); ornitina (Orn); citrulina (Cit); t – butilalanina (Bua); t – butilglicina (Bug); N – metilisoleucina (Melle); fenilglicina (Phg); ciclohexilalanina (Cha); norleucina (Nle); naftilalanina (Nal); 2 – clorofenilalanina (Ocf); 3 – clorofenilalanina (Mcf); 4 – clorofenilalanina (Pcf); 2 – fluorofenilalanina (Off); 3 – fluorofenilalanina (Mff); 4 – fluorofenilalanina (Pff); 2 – bromofenilalanina (Obf); 3 – bromofenilalanina (Mbf); 4 – bromofenilalanina (Pbf); 2 – metilfenilalanina (Omf); 3 – metilfenilalanina (Mmf); 4 – metilfenilalanina (Pmf); 2 – nitrofenilalanina (Onf); 3 – nitrofenilalanina (Mnf); 4 – nitrofenilalanina (Pnf); 2 – cianofenilalanina (Ocf); 3 – cianofenilalanina (Mcf); 4 – cianofenilalanina (Pcf); 2 – trifluorometilfenilalanina (Otf); 3 – trifluorometilfenilalanina (Mtf); 4 – trifluorometilfenilalanina (Ptf); 4 – aminofenilalanina (Paf); 4 – iodofenilalanina (Pif); 4 – aminometilfenilalanina (Pamf); 2, 4 – diclorofenilalanina (Opff); 3, 4 – diclorofenilalanina (Mpcf); 2, 4 – difluorofenilalanina (Opff); 3, 4 – difluorofenilalanina (Mpff); pirid – 2 – ilalanina (2pAla); pirid – 3 – ilalanina (3pAla); pirid – 4 – ilalanina (4pAla); naft – 1 – ilalanina (1nAla); naft – 2 – ilalanina (2nAla); tiazolilalanina (taAla); benzotienilalanina (bAla); tienilalanina (tAla); furilalanina (fAla); homofenilalanina (hPhe); homotirosina (hTyr); homotriptófano (hTrp); pentafluorofenilalanina (5ff); estirilalanina (sAla); autrialalanina (aAla); 3, 3 – difenilalanina (Dfa); ácido 3 – amino – 5 – fenipentanóico (Afp); penicillamina (Pen); ácido 1, 2, 3, 4 – tetrahidroisoquinolina – 3 – carboxílico (Tic); β – 2 – tienilalanina (Thi); metionina sulfóxido (Mso); N(w) – nitroarginina (nArg); homolisina (hLys); fosfometilfenilalanina (pmPhe); fosfoserina (pSer); fosfotreonina (pThr); ácido homoaspártico (hAsp); ácido homoglutámico (hGlu); ácido 1 – aminociclopent – (2 o 3) – ano – 4 carboxílico; ácido piperídico (PA); acetidina – 3 – ácido carboxílico (ACA); ácido 1 – ami – nocioiclopentano – 3 – carboxílico; allilglicina (aOly); propargilglicina (pgGly); homoalanina (hAla); norvalina (nVal); homoleucina (hLeu); homovalina (hVal); homoisoleucina (hIle); homoarginina (hArg); N – acetil lisina (AcLys); ácido 2, 4 – diaminobutírico (Dbu); ácido 2, 3 – diaminobutírico (Dab); N – metilvalina (MeVal); homocisteína (hCys); homoserina (hSer); hidroxiprolina (Hyp) y homoprolina (hPro). Resultarán evidentes para los expertos en la disciplina otros aminoácidos no codificados que pueden comprender los polipéptidos descritos en la presente (véanse, por ejemplo, los aminoácidos presentado en Fasman, 1989, *CRC Practical Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, CRC Press, Boca Raton, FL, págs 3 – 70 y las referencias citadas en la presente). Estos aminoácidos pueden tener configuración L – o D –.

[0148] Los expertos en la disciplina reconocerán que los aminoácidos o residuos portadores de grupos protectores de cadena lateral también pueden comprender los polipéptidos descritos en la presente. Entre los muchos ejemplos de aminoácidos protegidos, que en este caso pertenecen a la categoría aromática, incluyen (los grupos protectores se enumeran entre paréntesis), de manera no limitante: Arg (tos), Cys (metilbencilo), Cys (nitropiridinasulfenilo), Glu (δ – benciléster), Gln (xantil), Asn (N – δ – xantil), His (bom), His(bencilo), His (tos), Lys (fmoc), Lys (tos), Ser (O – bencilo), Thr (O – bencilo) y Tyr (O – bencilo).

[0149] Los aminoácidos no codificadores que son forzados conformacionalmente de los que pueden componerse los polipéptidos descritos en la presente incluyen, de manera no limitante, aminoácidos N – metil (en configuración

L-), ácido 1 – aminociclopent – (2 o) - ene – 4 – carboxílico, ácido piperídico, ácido acetidina – 3 – carboxílico, homoprolina (hPro) y ácido 1 – aminociclopentano – 3 – carboxílico.

[0150] Como se ha descrito anteriormente, las diferentes modificaciones introducidas en el polipéptido natural para generar la enzima transaminasa modificada pueden dirigirse a una propiedad específica de la enzima.

[0151] Por otra parte, la presente divulgación se refiere a polinucleótidos que codifican los polipéptidos de transaminasa mejorada. Los polinucleótidos pueden estar unidos operativamente a una o más secuencias reguladoras heterólogas que controlan la expresión génica para crear un polinucleótido recombinante capaz de expresar el polipéptido de transaminasa. Los constructos de expresión que contienen un polinucleótido heterólogo que codifican la transaminasa modificada pueden introducirse en las células huésped apropiadas para expresar el polipéptido de transaminasa correspondiente.

[0152] Debido al conocimiento de los codones correspondiente a los diferentes aminoácidos, la disponibilidad de una secuencia proteica presenta una descripción de todos los polinucleótidos capaces de codificar al sujeto. La degradación del código genético, en la que los mismos aminoácidos se codifican por codones alternativos o sinónimos permite hacer un gran número de ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos de transaminasa mejorada presentados en este documento. Por lo tanto, habiendo identificado una secuencia aminoácida particular, los expertos en la disciplina podrían hacer cualquier número de ácidos nucleicos diferentes simplemente modificando la secuencia de uno o más codones de manera que no cambia la secuencia aminoácida de la proteína. En este aspecto, la presente divulgación contempla específicamente cada una de las posibles variaciones de polinucleótidos que podrían hacerse seleccionando combinaciones basadas en posibles elecciones de codones, y todas estas variaciones se consideran específicamente descritas para cualquier polipéptido descrito en la presente, incluyendo las secuencias aminoácidas de la Tabla 2.

[0153] En algunas realizaciones, los polinucleótidos se pueden seleccionar y / o modificar para comprender codones que se seleccionan preferiblemente para unirse a la célula huésped en la que la proteína está siendo producida. Por ejemplo, los codones preferidos utilizados en bacterias se utilizan para expresar el gen en bacterias; los codones preferidos utilizados en levaduras se utilizan para la expresión en levaduras; y los codones preferidos utilizados en mamíferos se utilizan para la expresión en células de mamíferos. Ya que no todos los codones necesitan reemplazarse para optimizar el uso de codones de las transaminasas (por ejemplo, debido a que la secuencia natural puede haber preferido codones y debido a que el uso de codones preferidos puede no exigirse para todos los residuos aminoácidos), los polinucleótidos de codones optimizados que codifican los polipéptidos de transaminasa pueden contener codones preferibles de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, o más del 90% de posiciones de codón de región codificadora de longitud completa.

[0154] En algunas realizaciones, el polinucleótido codifica un polipéptido de transaminasa que comprende una secuencia aminoácida que es, al menos, idéntica en un 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 4, en la que el polipéptido es capaz de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina en presencia de un dador del grupo amino con una actividad mejorada en comparación a la actividad de la transaminasa de la SEC ID N° 2 derivada de *Arthrobacter sp* KNK168.

[0155] En algunas realizaciones, el polinucleótido codifica un polipéptido de transaminasa que comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, o 102, en la que el polipéptido tiene una o más propiedades mejoradas para convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina en presencia de un dador del grupo amino. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa codificado tiene una actividad superior o igual a la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4.

[0156] En algunas realizaciones, el polipéptido que codifica un polipéptido de transaminasa comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0157] En algunas realizaciones, el polipéptido que codifica un polipéptido de transaminasa comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a la secuencia de referencia de la SEC ID N° 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18,

20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168, con la condición de que la secuencia aminoácida transaminasa comprende cualquiera de las diferencias residuales comprendidas en cualquiera de las secuencias polipeptídicas enumeradas en la Tabla 2 en comparación a la SEC ID N° 2.

[0158] En algunas realizaciones, los polinucleótidos que codifican los polipéptidos de transaminasa mejorada se seleccionan de la SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, o 167.

[0159] En algunas realizaciones, los polinucleótidos son capaces de hibridarse en condiciones altamente severas a un polinucleótido que comprende la SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, o 167 o a un complemento de los mismos, en el que los polinucleótidos que se hibridan severamente codifican un polipéptido de transaminasa capaz de convertir 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina en presencia de un dador del grupo amino con una actividad superior o igual a la del polipéptido de la SEC ID N° 4.

[0160] En algunas realizaciones, los polinucleótidos codifican los polipéptidos descritos en la presente, pero tienen una identidad de secuencia del 80 % o más, del 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% o más en el nivel nucleótido a un polinucleótido de referencia que codifica la transaminasa modificada descrita en la presente. En algunas realizaciones, el polinucleótido de referencia se selecciona de las SEC ID N° 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, o 167.

[0161] Un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido de transaminasa mejorada puede manipularse de diversas maneras para proporcionar la expresión del polipéptido. En algunas realizaciones, los polinucleótidos que codifican los polipéptidos de transaminasa modificada pueden presentarse como vectores de expresión en los que una o más secuencias de control regulan la expresión de los polinucleótidos. La manipulación del polinucleótido aislado antes de su inserción en un vector puede ser deseable o necesario dependiendo del vector de expresión. Las técnicas de modificación de polinucleótidos y secuencias de ácido nucleico utilizando métodos de ADN recombinante ya se conocen en la disciplina. Se proporciona una guía en Sambrook et al., 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press; y *Current Protocols* en Molecular Biology, Ausubel, F, Ed., Greene Pub. Associates, 1998, actualizado en 2006.

[0162] En algunas realizaciones, las secuencias de control incluyen, entre otros, activadores, secuencia líder, secuencia de poliadenilación, secuencia propeptídica, secuencia de péptido señal y terminador de transcripción. Para células huésped bacterianas, los activadores adecuados para dirigir la transcripción de los constructos de ácido nucleico para la presente divulgación, incluyen los activadores obtenidos del operón lac de *E. coli*, el operón trp de *E. coli*, bacteriófago λ , gen agarasa de *Streptomyces coelicolor* (dagA), gen levansucrasa de *Bacillus subtilis* (sacB), gen alfa – amilasa de *Bacillus licheniformis* (amyL), gen amilasa maltogénico de *Bacillus stearothermophilus* (amyM), gen alfa – amilasa de *Bacillus amyloliquefaciens* (amyQ), gen penicilinas de *Bacillus licheniformis* (penP), genes xylA y xylB y gen beta – lactamasas procarióticas de *Bacillus subtilis* (Villa – Kamaroff et al., 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 3727 – 3731), así como el activador tac (DeBoer et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 21 – 25).

[0163] Para las células huésped fúngicas filamentosas, los activadores adecuados para dirigir la transcripción de los constructos de ácido nucleico para la presente divulgación, incluyen los activadores obtenidos de genes de amilasa de *Aspergillus oryzae* TAKA, proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei*, alfa – amilasa de *Aspergillus niger*, ácido alfa – amilasa de *Aspergillus niger*, glucoamilasa de *Aspergillus niger* o de *Aspergillus awamori* (glaA), lipasa de *Rhizomucor miehei*, proteasa alcalina de *Aspergillus oryzae*, isomerasa triosa fosfato de *Aspergillus oryzae*, acetamidasa de *Aspergillus nidulans* y proteasa de *Fusarium oxysporum* de tipo tripsina (véase, por ejemplo, WO 96 / 00787), así como el activador NA2 – tpi (un híbrido de los activadores a partir de genes para alfa – amilasa neutral de *Aspergillus niger* e isomerasa triosa fosfato de *Aspergillus oryzae*), y activadores mutados, truncados e híbridos de los mismos.

[0164] En una levadura huésped, los activadores apropiados pueden ser de genes para enolasa (ENO – 1) de *Saccharomyces cerevisiae*, galactocinasa de *Saccharomyces cerevisiae* (GAL1), alcohol deshidrogenasa / gliceraldehído – 3 – fosfato deshidrogenasa (ADH2 / GAP) de *Saccharomyces cerevisiae* y quinasa 3 –

fosfoglicerato de *Saccharomyces cerevisiae*. Otros activadores apropiados para células huésped de levadura se describen en Romanos et al., 1992, Yeast 8: 423 – 488.

[0165] La secuencia de control también puede ser una secuencia de terminación de transcripción adecuada, una secuencia reconocida por una célula huésped para terminar la transcripción. La secuencia de terminación se une operablemente al extremo 3' terminal de la secuencia de ácido nucleico que codifica el polipéptido. Cualquier terminador funcional en la célula huésped elegida puede utilizarse en la presente invención.

[0166] Por ejemplo, los terminadores de transcripción ejemplares para células huésped fúngicas filamentosas pueden obtenerse de genes para TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae*, glucoamilasa de *Aspergillus niger*, antranilato sintasa de *Aspergillus nidulans*, alfa-glucosidasa de *Aspergillus niger* y proteasa de tipo tripsina de *Fusarium oxysporum*.

[0167] Los terminadores preferidos para células huésped de levadura se obtienen de los genes para enolasa de *Saccharomyces cerevisiae*, citocromo C (CYC1) de *Saccharomyces cerevisiae* y gliceraldehído – 3 – deshidrogenasa fosfato de *Saccharomyces cerevisiae*. Otros terminadores adecuados para células huésped de levadura se describen en Romanos et al., 1992, supra.

[0168] La secuencia de control también puede ser una secuencia líder adecuada, una región no traducida de un ARNm importante para la traducción por la célula huésped. La secuencia líder está unida operativamente al extremo 5' terminal de la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido. Cualquier secuencia líder funcional en la célula huésped elegida puede utilizarse en la presente invención. Los líderes preferidos para células huésped fúngicas filamentosas se obtienen de los genes para TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae* y triosa fosfato isomerasa de *Aspergillus nidulans*. Los líderes adecuados para células huésped de levadura se obtienen de los genes para enolasa (ENO – 1) de *Saccharomyces cerevisiae*, 3 – fosfoglicerato – quinasa de *Saccharomyces cerevisiae*, factor alfa de *Saccharomyces cerevisiae* y alcohol deshidrogenasa / gliceraldehído – 3 – fosfato deshidrogenasa (ADH2 / GAP) de *Saccharomyces cerevisiae*.

[0169] La secuencia de control también puede ser una secuencia de poliadenilación, una secuencia unida operativamente al extremo 3' terminal de la secuencia de nucleótidos y que, cuando está transcrita, es reconocida por la célula huésped como una señal para añadir residuos de poliadenosina al ARNm transcrito. Cualquier secuencia de poliadenilación funcional en la célula huésped elegida se puede utilizar en la presente invención. Las secuencias de poliadenilación preferidas para células huésped fúngicas filamentosas se obtienen a partir de los genes para TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae*, glucoamilasa de *Aspergillus niger*, antranilato sintasa de *Aspergillus nidulans*, proteasa de tipo tripsina de *Fusarium oxysporum*, y alfa – glucosidasa de *Aspergillus niger*. Se describen secuencias de poliadenilación adecuadas para células huésped de levadura en Guo y Sherman, 1995, Molecular Cellular Biology 15: 5983 – 5990.

[0170] La secuencia de control también puede ser una región codificadora de un péptido señal que codifica una secuencia aminoácida enlazada al extremo amino terminal de un polipéptido y dirige el polipéptido codificado a la vía secretora de la célula. El extremo 5' terminal de la secuencia codificadora de la secuencia de nucleótidos puede contener de manera inherente una región codificadora de un péptido señal unido de manera natural en el marco de lectura de traducción al segmento de la región codificadora que codifica el polipéptido secretado. Alternativamente, el extremo 5' terminal de la secuencia codificadora puede contener una región codificadora de un péptido señal que es extranjera a la secuencia codificadora. La región codificadora de un péptido señal extranjera puede requerirse donde la secuencia codificadora no contiene una región codificadora de un péptido señal de forma natural.

[0171] Las regiones codificadoras de péptidos señal eficaces para células huésped bacterianas son las regiones codificadoras de un péptido señal obtenidas de los genes para amilasa maltogénica de *Bacillus* de NCIB 11837, alfa – amilasa de *Bacillus stearothermophilus*, subtilisina de *Bacillus licheniformis*, beta – lactamasa de *Bacillus licheniformis*, proteasas neutrales (nprT, nprS, nprM) de *Bacillus stearothermophilus*, y *Bacillus subtilis* prsA. Se describen más péptidos señal en Simonen y Palva, 1993, Microbiological Reviews 57: 109 – 137.

[0172] Las regiones codificadoras de péptidos señal eficaces para células huésped fúngicas filamentosas son las regiones codificadoras de un péptido señal obtenidas de los genes para TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae*, amilasa neutra de *Aspergillus niger*, glucoamilasa de *Aspergillus niger*, proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei*, celulasa de *Humicola insolens* y lipasa de *Humicola lanuginosa*.

[0173] Los péptidos señal apropiados para células huésped de levadura se obtienen a partir de los genes para factor alfa de *Saccharomyces cerevisiae* e invertasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Se describen otras regiones codificadoras de péptidos señal adecuados en Romanos et al., 1992, supra.

[0174] La secuencia de control también puede ser una región codificadora de propéptido que codifica para una secuencia de aminoácidos situada en el amino terminal de un polipéptido. El polipéptido resultante se conoce como una proenzima o un propolipéptido (o un zimógeno en algunos casos). Un propéptido es generalmente inactivo y se puede convertir en un polipéptido maduro activo por escisión autocatalítica o catalítica del propéptido del

propolipéptido. La región de codificación de propéptido se puede obtener a partir de los genes para proteasa alcalina de *Bacillus subtilis* (aprE), proteasa neutra de *Bacillus subtilis* (nprT), factor alfa de *Saccharomyces cerevisiae*, proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei*, y lacasa de *Myceliophthora thermophila* (véase, por ejemplo, la patente WO 95/ 33836).

5 **[0175]** Cuando tanto el péptido señal como las regiones de propéptido están presentes en el amino terminal de un polipéptido, la región de propéptido está situada junto al amino terminal de un polipéptido y la región de péptido señal está situada junto al amino terminal de la región de propéptido.

10 **[0176]** También puede ser deseable añadir secuencias reguladoras, que permitan la regulación de la expresión del polipéptido respecto al crecimiento de la célula huésped. Ejemplos de sistemas reguladores son los que causan que la expresión del gen se active o desactive como respuesta a un estímulo físico o químico, incluyendo la presencia de un compuesto regulador. En las células huésped procarióticas, las secuencias reguladoras adecuadas incluyen los sistemas operadores lac, tac, y trp. En células huésped de levaduras, las secuencias reguladoras adecuadas
15 incluyen, por ejemplo, el sistema ADH2 o el sistema GAL1. En hongos filamentosos, las secuencias reguladoras adecuadas incluyen el activador TAKA de alfa – amilasa, activador de glucoamilasa de *Aspergillus niger*, y activador de glucoamilasa de *Aspergillus oryzae*.

20 **[0177]** Otros ejemplos de secuencias reguladoras son los que permiten la amplificación del gen. En sistemas eucarióticos, estos incluyen el gen de dihidrofolato – reductasa, que se amplifica en presencia de metotrexato, y los genes de metalotioneína, que se amplifican con metales pesados. En estos casos, la secuencia nucleótida que codifica el polipéptido de transaminasa de la invención se uniría operativamente a la secuencia reguladora.

25 **[0178]** Por lo tanto, en otra realización la presente divulgación también se dirige a un vector de expresión recombinante que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de transaminasa modificada o una variante de este, y una o más regiones reguladoras de expresión como un activador y un terminador, un origen de replicación, etc. dependiendo del tipo de huésped en el que se van a introducir. Las secuencias de ácido nucleico y de control descritas anteriormente pueden unirse entre ellas para producir un vector de expresión recombinante que
30 puede incluir uno o más sitios de restricción convenientes para permitir la inserción o sustitución de la secuencia de ácido nucleico que codifica el polipéptido en dichos sitios. De manera alternativa, la secuencia de ácido nucleico de la presente divulgación puede expresarse insertando la secuencia de ácido nucleico o un constructo de ácido nucleico que comprenda la secuencia en un vector adecuado para la expresión. Creando el vector de expresión, la secuencia codificadora se localiza en el vector, de manera que la secuencia codificadora se une operablemente a las secuencia de control apropiada para su expresión.

35 **[0179]** El vector de expresión recombinante puede ser cualquier vector (por ejemplo, un plásmido o un virus) que pueda someterse convenientemente a procedimientos de ADN recombinante y que pueda provocar la expresión de la secuencia de polinucleótidos. La elección del vector dependerá de la compatibilidad del vector con la célula huésped en la que se introducirá el vector. Los vectores pueden ser plásmidos circulares cerrados o lineales.

40 **[0180]** El vector de expresión puede ser un vector de replicación autónoma, es decir; un vector que existe como una entidad extracromosómica cuya replicación es independiente de la replicación cromosómica, por ejemplo, un plásmido, un elemento extracromosómico, un minicromosoma o un cromosoma artificial. El vector puede contener medios para asegurar la autorreplicación. Alternativamente, el vector puede ser aquel que, cuando se introduce en la
45 célula huésped, se integra en el genoma y se replica junto al (los) cromosoma(s) en que ha sido integrado. Además, puede utilizarse un único vector o plásmido o dos o más vectores o plásmidos que contienen el ADN total que va a ser introducido en el genoma de la célula huésped, o un transposón.

50 **[0181]** El vector de expresión de la presente invención contiene preferiblemente uno o más marcadores seleccionables que permiten una fácil selección de las células transformadas. Un marcador seleccionable es un gen cuyo producto proporciona resistencia biocida o vírica, resistencia a metales pesados, prototrofia a auxótrofos y similares. Ejemplos de marcadores seleccionables bacterianos son los genes del de *Bacillus subtilis* o *Bacillus licheniformis* o marcadores que confieren resistencia antibiótica como la ampicilina, canamicina, cloranfenicol o resistencia a la tetraciclina. Los marcadores adecuados para las células huésped de levadura son ADE2, HIS3,
55 LEU2, LYS2, MET3, TRP1 y URA3.

60 **[0182]** Los marcadores seleccionables para el uso en un células huésped fúngica filamentosa incluyen, pero no se limitan a, amdS (acetamidasa), argB (ornitina carbamoiltransferasa), bar (fosfinotricina acetiltransferasa), hph (higromicina fosfotransferasa), niaD (nitrato reductasa), pyrG (orotidina 5 – fosfato descarboxilasa), sC (sulfato adeniltransferasa) y trpC (antranilato sintasa), así como equivalentes de los mismos. Las realizaciones para la utilización en una célula de *Aspergillus* incluyen los genes amdS y pyrG de *Aspergillus nidulans* o *Aspergillus oryzae* y el gen bar de *Sterptomyces hygroscopicus*.

65 **[0183]** Los vectores de expresión para expresar transaminasas pueden contener un(os) elemento(s) que permite(n) la integración del vector en el genoma de la célula huésped o la replicación autónoma del vector en la célula independiente del genoma. Para la integración del genoma en la célula huésped, el vector puede depender de

la secuencia de ácido nucleico que codifica el polipéptido o de cualquier elemento del vector para la integración del vector en el genoma por recombinación homóloga o no homóloga.

[0184] Alternativamente, el vector de expresión puede contener secuencias de nucleótidos adicionales para dirigir la integración por recombinación homóloga en el genoma de la célula huésped. Las secuencias de ácidos nucleicos adicionales permiten al vector integrarse en el genoma de la célula huésped en una(s) ubicación(es) precisa(s) en el(los) cromosoma(s). Para aumentar la probabilidad de integración en una ubicación precisa, los elementos integracionales deberían contener, preferiblemente, un número suficiente de ácidos nucleicos, tal como de 100 a 10.000 pares de bases, preferiblemente de 400 a 10.000 pares de bases, y más preferiblemente de 800 a 10.000 pares de bases con un alto grado de identidad con la secuencia sometida correspondiente para mejorar la probabilidad de recombinación homóloga. Los elementos integracionales pueden ser cualquier secuencia que sea homóloga a la secuencia diana en el genoma de la célula huésped. Además, los elementos integracionales pueden ser secuencias nucleótidas codificadoras o no codificadoras. Por otro lado, el vector se puede integrar en el genoma de la célula huésped por recombinación no homóloga.

[0185] Para la replicación autónoma, el vector puede comprender, además, un origen de replicación que permite al vector replicar de manera autónoma en la célula huésped en cuestión. Ejemplos de orígenes bacterianos de replicación son P15A ori, o los orígenes de replicación de plásmidos pBR322, pUC19, pACYC177 (tiene el plásmido P15A ori), o pACYC184, que permite replicación en *E. coli*, y pUB110, pE194, pTA1060, o pAM β 1, que permite replicación en *Bacillus*. Ejemplos de orígenes de replicación para su utilización en una célula huésped de levadura son los orígenes de replicación de 2 micrones, ARS1, ARS4, la combinación de ARS1 y CEN3, y la combinación de ARS4 y CEN6. El origen de replicación puede ser cualquiera que tenga una mutación que haga su funcionamiento sensible a la temperatura en la célula huésped (véase, por ejemplo, Ehrlich, 1978, Proc Natl Acad Sci. USA 75: 1433).

[0186] Puede insertarse más de una copia de una secuencia de ácido nucleico de la presente invención en una célula huésped para incrementar la producción del producto genético. Puede obtenerse un aumento en el número de copias de la secuencia de ácido nucleico integrando, al menos, una copia adicional de la secuencia en el genoma de la célula huésped o incluyendo un gen marcador seleccionable amplificable con la secuencia de ácido nucleico donde las células que contienen copias amplificadas del gen marcador seleccionable y, por tanto, pueden seleccionarse copias adicionales de la secuencia de ácido nucleico para cultivar las células en presencia del agente seleccionable apropiado.

[0187] Muchos de los vectores de expresión para su utilización en la presente invención están disponibles comercialmente. Los vectores de expresión comerciales adecuados incluyen vectores de expresión p3xFLAGTMTM de Sigma – Aldrich Chemicals, St. Louis MO., un activador de CMV y el sitio de poliadenilación de hGH para la expresión en células huésped de mamíferos y un origen de replicación de pBR322 y marcadores de resistencia a la ampicilina para la amplificación en *E. coli*. Otros vectores de expresión adecuados son pBluescriptII SK (–) y pBK – CMV, disponibles comercialmente en Stratagene, La Jolla CA, y los plásmidos que se derivan de pBR322 (Gibco BRL), pUC (Gibco BRL), pREP4, pCEP4 (Invitrogen) o pPoly (Lathe et al., 1987, Gene 57: 2193–201).

[0188] En otro aspecto, la presente divulgación se refiere a una célula huésped que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de transaminasa mejorada de la presente divulgación, el polinucleótido está unido operativamente a una o más secuencias de control para la expresión de la enzima transaminasa en la célula huésped. Las células huésped para su utilización en la expresión de los polipéptidos de transaminasa codificada por los vectores de expresión de la presente invención son ya conocidos en la disciplina e incluyen de manera no limitante, células bacterianas como *E. coli*, *Lactobacillus*, *Streptomyces* y células de *Salmonella typhimurium*, células fúngicas como células de levadura (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae* o *Pichia pastoris* (N° de acceso ATCC 201178)); células de insecto tales que *Drosophila* S2 y células de *Spodoptera* Sf9; células animales tales que CHO, COS, BHK, 293, células del melanoma de Bowes y células de plantas. Son ya conocidos en la disciplina los medios de cultivo apropiados y las condiciones de crecimiento para las células huésped descritas anteriormente.

[0189] Los polinucleótidos para la expresión de la transaminasa pueden introducirse en las células mediante diversos procedimientos conocidos en la disciplina. Las técnicas incluyen, entre otras, electroporación, bombardeo de partículas biolísticas, transfección mediada por liposomas, transfección con cloruro de calcio y fusión de piroclastos. Serán evidentes para los expertos en la disciplina diversos procedimientos para la introducción de polinucleótidos en células.

[0190] Un ejemplo de célula huésped es *Escherichia coli* W3110. El vector de expresión se creó por la unión operativa de un polinucleótido que codifica una transaminasa mejorada al plásmido pCK110900 unido operativamente al activador lac en control del represor lacI. El vector de expresión contiene también el origen de replicación de P15a y el gen de resistencia al cloranfenicol. Las células que contienen el polinucleótido objeto en *Escherichia coli* W3110 se aislaron por someter las células a la selección de cloranfenicol.

[0191] Las transaminasas mejoradas y los polinucleótidos que codifican dichos polinucleótidos pueden prepararse utilizando métodos empleados comúnmente por los expertos en la disciplina. Como se ha señalado anteriormente, la

secuencia de aminoácidos natural y su correspondiente polinucleótido que codifica a la enzima transaminasa de tipo salvaje de *Arthrobacter sp* KNK168 de la que se deriva la secuencia progenitora SEC ID N° 2, se encuentra disponible en la patente US N° 7.169.592. En algunas realizaciones, la secuencia de polinucleótidos progenitora es un codón optimizado para incrementar la expresión de la transaminasa en una célula huésped especificada. La secuencia de polinucleótidos designada como SEC ID N° 1 fue la secuencia progenitora utilizada como punto de partida para la mayoría de los experimentos y la construcción de bibliotecas de transaminasa modificada.

[0192] Las transaminasas modificada pueden obtenerse sometiendo el polinucleótido que codifica la transaminasa de origen natural a mutagénesis y / o métodos de evolución dirigida. Un ejemplo de técnica de evolución dirigida es la mutagénesis y / o el barajado de ADN como se describe en Stemmer, 1994, Proc Natl Acad Sci y en las patentes USA 91: 10747 – 10751; WO 95/22625, WO 97/0078, WO 97/35966, WO 98/27230, WO 00/42651 y US N° 6.537.746.

[0193] Otros procedimientos de evolución dirigida que pueden utilizarse incluyen, entre otros, el proceso de ampliación escalonada por recombinación *in vitro* (StEP) (Zhao et al., 1998, Nat. Biotechnol. 16: 258 – 261), mutagénesis dirigida por PCR (Caldwell et al., 1994, PCR Methods Appl. 3: S136 – S140) y mutagénesis de cassette (Black et al., 1996, Proc Natl Acad Sci USA 93: 3525 – 3529). Las técnicas de mutagénesis y evolución dirigida útiles para los objetivos del presente documento se describen también en las siguientes referencias: Ling, et al., 1997, "Approaches to DNA mutagénesis: an overview", Anal. Biochem. 254 (2): 157 – 78, Dale et al., 1996, "Oligonucleotide – directed random mutagénesis using the phosphorothioate method", Methods Mol. Biol. 57: 369 – 74, Smith, 1985, "In vitro mutagénesis", Ann. Rev. Gent. 19:423 – 462, Botstein et al., 1985, "Strategies and applications of in vitro mutagénesis", Science 229: 1193 – 1201, Carter, 1986, "Site – directed mutagénesis", Biochem. J. 237: 1 – 7, Kramer et al., 1984, "Point Mismatch Repair", Cell 38: 879 – 887, Wells et al., 1985, "Cassette mutagénesis: an efficient method for generation of multiple mutations at defined sites", Gene 34: 315 – 323, Minshull et al., 1999, "Protein evolution by molecular breeding", Curr Opin Chem Biol 3:284 – 290, Christians et al., 1999, "Directed evolution of thymidine kinase for AZT phosphorylation using DNA family shuffling", Nature Biotech 17: 259 – 264, Cramer et al., 1998, "DNA shuffling of a family of genes from diverse species accelerates directed evolution", Nature 391: 288 – 291, Cramer et al., 1997 "Molecular evolution of an arsenate detoxification pathway by DNA shuffling", Nature Biotech 15: 436 – 438, Zhang et al., 1997, "Directed evolution of an effective fructosidase from a galactosidase by DNA shuffling and screening", Proc Natl Acad Sci USA 94: 45 – 4 – 4509, Cramer et al., 1996, "Improved green fluorescent protein by molecular evolution using DNA shuffling", Nature Biotech 14: 315 – 319, y Stemmer, 1994, "Rapid evolution of a protein in vitro by DNA shuffling", Nature 370: 389 – 391.

[0194] En algunas realizaciones, mediante el cribado por transaminasas con propiedad de la enzima mejorada deseada, se obtienen los clones tras el tratamiento mutagénico. La medición de la actividad de la enzima transaminasa de las bibliotecas de expresión puede realizarse utilizando técnicas estándar como la separación del producto (por ejemplo, por HPLC), la detección del producto mediante la medición de la absorción de la luz ultravioleta del sustrato y de los productos separados y / o la detección utilizando la espectrometría de masas en tándem (por ejemplo MS/MS). A continuación, se describen en el Ejemplo 4 ejemplos de ensayos. La velocidad de incremento en el producto deseado por unidad de tiempo indica la actividad relativa (enzimática) del polipéptido de transaminasa en una cantidad fija de lisado (o un polvo liofilizado realizado a partir de estos). Cuando la propiedad de la enzima mejorada deseada sea la estabilidad térmica, la actividad enzimática puede medirse tras someter las preparaciones enzimáticas a una temperatura definida y medir la cantidad de la actividad enzimática restante tras los tratamientos de calor. Los clones contienen un polinucleótido que codifica las transaminasas deseadas aisladas y secuenciadas posteriormente para identificar los cambios en la secuencia de los nucleótidos (si los hubiese) y utilizadas para expresar la enzima en una célula huésped.

[0195] Cuando se conoce la secuencia del polipéptido modificada, los polinucleótidos que codifican la enzima pueden prepararse por métodos en fase sólida según los procedimientos sintéticos conocidos. En algunas realizaciones, los fragmentos de aproximadamente 100 bases pueden sintetizarse individualmente para luego unirse (por ejemplo, por procedimientos de ligadura química o enzimática o procedimientos mediados por polimerasa) formando cualquier secuencia continua deseada. Por ejemplo, los polinucleótidos y los oligonucleótidos de la presente invención pueden prepararse por síntesis química utilizando, por ejemplo, el método de la fosforamidita descrito por Beaucage et al., 1981, Tet Lett 22: 1859 – 69, o el método descrito por Matthes et al., 1984, EMBO J. 3: 801 – 05, por ejemplo, tal como se practica en los métodos sintéticos automatizados. Según el método de la fosforamidita, se sintetizan los oligonucleótidos por ejemplo, en un sintetizador automático de ADN y se purifican, se hibridan, se ligan y se clonan en vectores adecuados. Además, cualquier ácido nucleico puede adquirirse de cualquier fabricante como The Great American Gene Company, Ramona, CA, ExpressGen Inc. Chicago, IL, Operon Technologies Inc., Alameda, CA, entre otros.

[0196] Las enzimas transaminasa modificadas expresadas en una célula huésped pueden ser recuperadas de las células o del medio de cultivo utilizando cualquiera de las técnicas ya conocidas para la purificación de proteínas, incluyendo, entre otros, el tratamiento con lisozima, la utilización de ultrasonidos, la filtración, precipitación por salado, ultracentrifugación y cromatografía. Las soluciones adecuadas para la lisis y la alta extracción de eficiencia de las proteínas a partir de bacterias como *E. coli*, están disponibles comercialmente con la marca comercial CellLytic BTM de Sigma – Aldrich de St Louis MO.

[0197] Las técnicas cromatográficas para aislar el polipéptido de transaminasa incluyen, entre otras, la cromatografía de fase inversa, la cromatografía líquida de alta resolución, la cromatografía iónica, la electroforesis en gel y la cromatografía de afinidad. Las condiciones para purificar una enzima particular dependerán, en parte, de factores como la carga neta, la hidrofobicidad, la hidrofiliidad, el peso molecular, la forma molecular, etc, y serán evidentes para los expertos en la materia. En algunas realizaciones, las transaminasas modificadas pueden expresarse como proteínas de fusión con marcas de purificación como los marcadores en His que tienen afinidad por los metales o los marcadores de anticuerpos para unirse a los anticuerpos, por ejemplo, el marcador del epítipo de myc.

[0198] En algunas realizaciones, las técnicas de afinidad pueden utilizarse para aislar las enzimas transaminasas mejoradas. Para la purificación por cromatografía de afinidad puede utilizarse cualquier anticuerpo que se una al polipéptido de transaminasa. Para la producción de anticuerpos, diversos animales huésped que incluyen de manera no limitante a conejos, ratones, ratas, etc, pueden inmunizarse con una inyección de un polipéptido modificado. El polipéptido puede unirse a un vehículo adecuado como BSA por medio de un grupo funcional de cadena lateral o conectores unidos a un grupo funcional de cadena lateral. Pueden utilizarse varios adyuvantes para incrementar la respuesta inmunológica dependiendo de las especies huésped, incluyendo de manera no limitante el adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales como el hidróxido de aluminio, sustancias de superficie activa como la lisolecitina, los polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite, hemocianina de lapa californiana, dinitrofenol y adyuvantes humanos potencialmente útiles como el BCG (bacilo de Calmette – Guérin) y *Corynebacterium parvum*.

[0199] Por otra parte, los polipéptidos de transaminasa mejorada descritos en el presente documento pueden utilizarse en un proceso de transaminación para algunos aceptores del grupo amino (por ejemplo, un aceptor de cetona) en presencia de un dador del grupo amino. Para la descripción de los compuestos del presente documento se aplicarán los siguientes significados.

[0200] “Alquilo” pretende incluir a los grupos alquilo de la longitud designada en una configuración lineal o ramificada. Algunos ejemplos de dichos grupos de alquilo son metil, etil, propil, isopropil, butil, sec – butil, terc – butil, pentil, isopentil, hexil, isohexil y similares. Los grupos alquilo están sustituidos o no sustituidos entre uno y tres grupos seleccionados independientemente de los grupos formados por halógeno, hidroxil, carboxil, aminocarbonil, amino, C₁₋₄ alcoxi y C₁₋₄ alquiltio.

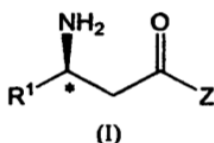
[0201] “Cicloalquilo” se refiere a los anillos cíclicos de alcanos de entre cinco y doce átomos de carbono totales o cualquier número dentro de este intervalo (es decir, ciclopentil, ciclohexil, cicloheptil etc).

[0202] “Halógeno” pretende incluir los átomos de halógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0203] “Arilo” se refiere a un grupo aromático, incluyendo fenil y naftil. “Arilo” es sustituido o no sustituido entre uno y cinco sustituyentes seleccionados independientemente entre flúor, hidroxil, trifluorometil, amino, C₁₋₄ alquil y C₁₋₄ alcoxi.

[0204] “Heteroarilo” se refiere a un heterociclo aromático con 5 o 6 miembros que contiene al menos un heteroátomo de anillo seleccionado de O, S y N. Los heteroarilos también incluyen heteroarilos fusionados con otras clases de anillos no aromáticos como los arilos, cicloalquilos y los heterociclos. Algunos ejemplos de grupos de heteroarilo incluyen de manera no limitante al pirrolil, isoxazolil, isotiazolil, pirazolil, piridinil, oxazolil, 1,2,4 – oxadiazolil, 1,3,4 – oxadiazolil, tiadiazolil, tiazolil, imidazolil, triazolil, tetrazolil, furilo, triazinil, tienil, pirimidinil, pirazinil, bencisoxazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, dihidrobenzofuranilo, idolinil, piridazinil, indazolil, isoindolil, dihidrobenzotienil, indolizil, cinolinil, ftalazinil, quinazolinil, naftitidinil, carbazolil, benzodioxolil, quinoxalinil, purinil, furazanil, isobencilfuranil, bencimidazolil, benzofuranil, benzotienil, quinolil, indolil, isoquinolil y dibenzofuranil. “Heteroarilo” está sustituido o no sustituido entre uno y cinco sustituyentes seleccionados independientemente entre flúor, hidroxil, trifluorometil, amino, C₁₋₄ alquil y C₁₋₄ alcoxi.

[0205] En algunas realizaciones, las transaminasas pueden utilizarse en un proceso de preparación de un compuesto de fórmula estructural (I):



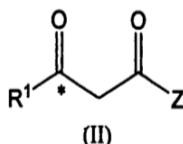
que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *; con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero opuesto, en el que

Z es OR² o NR²R³;

R¹ es C₁₋₈ alquilo, arilo, heteroarilo, arilo – C₁₋₂ alquilo o heteroarilo – C₁₋₂ alquilo;

R^2 y R^3 son hidrógenos independientes, C_{1-8} alquilo, arilo o arilo - C_{1-2} alquilo; o

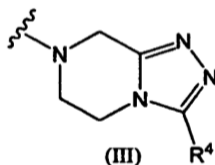
R^2 y R^3 junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4- a 7- que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC_{1-4} alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxil, halógeno, C_{1-4} alcoxi y C_{1-4} alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC_{0-4} alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxil, amino, flúor, C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi y trifluorometil; el proceso incluye la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (II):



con un polipéptido transaminasa de la invención en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas para la conversión del compuesto de fórmula (II) en el compuesto de fórmula (I).

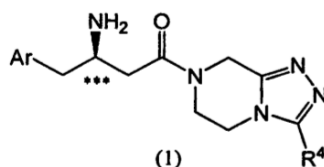
[0206] En algunas realizaciones del proceso, R^1 de la fórmula (II) es bencilo, en el que el grupo fenilo está sustituido o no sustituido entre uno y tres sustituyentes seleccionados del grupo de flúor, trifluorometil y trifluorometoxi.

[0207] En algunas realizaciones del proceso, Z de la fórmula (II) es NR^2R^3 .



[0208] En algunas realizaciones del proceso, el NR^2R^3 de fórmula (II) es heterociclo de fórmula estructural (III): en la que R^4 es hidrógeno o C_{1-4} alquilo, sustituido, o no, por uno a cinco átomos de flúor.

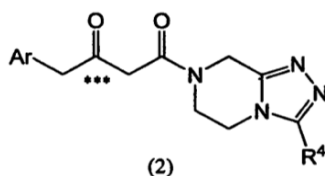
[0209] En algunas realizaciones, las transaminasas pueden utilizarse en un proceso de preparación de un compuesto de fórmula estructural (1):



que tiene la configuración - (R) en el centro estereogénico marcado con ***, con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero que tiene la configuración - (S) opuesta, en la que:

Ar es un fenilo sustituido, o no, por uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; y

R^4 es hidrógeno o C_{1-4} alquilo sustituido, o no, por uno a cinco átomos de flúor, en el que el proceso comprende la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (2):



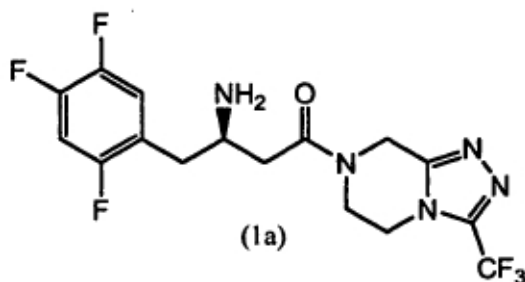
con un polipéptido de transaminasa modificada mejorada descrita en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas para la conversión del compuesto de fórmula (2) en el compuesto de fórmula (1).

[0210] En algunas realizaciones del proceso, la Ar de la fórmula (2) es 2, 5 - difluorofenilo o 2, 4, 5 - trifluorofenilo,

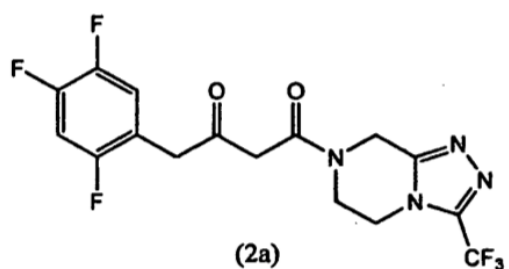
y R⁴ es trifluorometilo.

[0211] En algunas realizaciones del proceso, la Ar de la fórmula (2) es 2, 4, 5 – trifluorofenilo.

[0212] En algunas realizaciones, las transaminasas pueden utilizarse en un proceso de preparación de un compuesto de fórmula (1a), (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con un exceso enantiomérico:



[0213] En estas realizaciones, el proceso comprende la etapa de contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (2a), 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona:



con un polipéptido de transaminasa modificada mejorada descrita en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas para la conversión del compuesto de fórmula (2a) en el compuesto de fórmula (1a).

[0214] En algunas realizaciones de los procesos anteriores, el compuesto de fórmula (I), el compuesto de fórmula (1) o el compuesto de fórmula (1a) se producen con, al menos, el 70 %, 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de exceso enantiomérico.

[0215] En algunas realizaciones de los procesos, el compuesto de fórmula (I), el compuesto de fórmula (1) o el compuesto de fórmula (1a) se producen con, al menos, el 99 % de exceso enantiomérico.

[0216] En algunas realizaciones del proceso, las transaminasas mejoradas son seleccionadas entre la SEC ID N°: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0217] Se describen junto con sus síntesis, entre otras, las patentes US N° 7.326.708 y 7.468.459, el compuesto de la fórmula (II), el compuesto de la fórmula (2) y el compuesto de la fórmula (2a).

[0218] Como ya se ha señalado anteriormente, el polipéptido de transaminasa del presente documento utiliza fosfato de piridoxal (PLP) como coenzima, que puede estar unido a la enzima cuando se prepara, por ejemplo, cuando se proporciona a la célula huésped en el que se expresa el polipéptido. En algunas realizaciones, el PLP, los análogos de PLP o los precursores de PLP pueden añadirse al medio de las células huésped durante la expresión del polipéptido de transaminasa. En algunas realizaciones de los procesos, el PLP o los análogos de PLP pueden añadirse a la reacción para proporcionar la coenzima necesaria para la actividad enzimática. La cantidad de PLP requerida para la actividad enzimática puede determinarse por un experto en la disciplina.

[0219] En algunas realizaciones, el proceso comprende poner en contacto o incubar el sustrato de cetamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – α] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona) con una transaminasa mejorada en presencia de un dador del grupo amino en condiciones de

reacción adecuadas para convertir el sustrato de cetoamida en el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – *il*] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con un tasa y / o actividad de conversión entre 50 y 100 veces o mayor que la de la SEC ID N° 4. Ejemplos de polipéptidos comprenden una secuencia de aminoácidos correspondientes a las SEC ID N°: 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0220] En algunas realizaciones, el proceso comprende poner en contacto o incubar el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – *il*] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona) con una transaminasa mejorada en presencia de un dador del grupo amino en condiciones de reacción adecuadas para convertir el sustrato de cetoamida en el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – *il*] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con un tasa y / o actividad de conversión entre 1,1 y 5 veces o mayor que la de la SEC ID N° 22. Ejemplos de polipéptidos comprenden una secuencia de aminoácidos correspondientes a las SEC ID N°: 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0221] En algunas realizaciones, el proceso comprende poner en contacto o incubar el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – *il*] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona) con una transaminasa mejorada en presencia de un dador del grupo amino en condiciones de reacción adecuadas para convertir el sustrato de cetoamida en el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – *il*] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con un tasa y / o actividad de conversión entre 1,1 y 5 veces o mayor que la de la SEC ID N° 48. Ejemplos de polipéptidos comprenden una secuencia de aminoácidos correspondientes a la SEC ID N°: 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0222] En algunas realizaciones, el proceso comprende poner en contacto o incubar el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – *il*] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona) con una transaminasa mejorada en presencia de un dador del grupo amino en condiciones de reacción adecuadas para convertir el sustrato de cetoamida en el producto (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – *il*] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina con un tasa y / o actividad de conversión entre 1,1 y 5 veces o mayor que la de la SEC ID N° 58. Ejemplos de polipéptidos comprenden una secuencia de aminoácidos correspondientes a la SEC ID N°: 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

[0223] En algunas realizaciones de los procesos anteriores, la condición de reacción para llevar a cabo el proceso puede comprender un pH entre 7,0 y 9,0. En algunas realizaciones, la condición de reacción para el proceso es un pH de 8,5.

[0224] En algunas realizaciones, la condición de reacción para llevar a cabo el proceso puede comprender una temperatura que oscila entre 25 °C y 50 °C. En algunas realizaciones, la condición de reacción es una temperatura de 45 °C.

[0225] En algunas realizaciones, la condición de reacción es un pH de 8,5 y una temperatura de 45 °C.

[0226] En algunas realizaciones del proceso, el disolvente orgánico comprende un disolvente polar como el metanol o el DMSO.

[0227] En algunas realizaciones, el disolvente orgánico es DMSO, que puede estar presente desde el 10 % al 40 % volumen / volumen (v / v); entre el 25 % y el 40 % (v / v), entre el 10 % y el 50 % (v / v) o entre el 25 % y el 50 % (v / v) de DMSO. En algunas realizaciones, el DMSO está presente en el 30 % (v / v), en el 35 % (v / v), en el 40 % (v / v) o en el 50 % (v / v).

[0228] Como ya se ha tratado anteriormente, el dador del grupo amino utilizado en el proceso puede ser una amina quiral o una amina aquiral. El dador del grupo amina aquiral posee una ventaja al no estar limitado en su reacción con un estereoisómero específico, por lo que requiere menos del dador del grupo amino. Pueden utilizarse diversos dadores del grupo amino adecuados, incluyendo, a modo de ejemplo y no de limitación, la isopropilamina (también denominada como 2 – aminopropano), L, D, DL alanina, fenilalanina, glutamato, glutamina, leucina (o cualquier otro α – aminoácido adecuado), 3 – ácido aminobutírico (o cualquier otro β – aminoácido) y metilbencilamina. En algunas realizaciones, el dador del grupo amino es la isopropilamina. En algunas realizaciones, pueden utilizarse otros dadores del grupo amino, incluyendo, entre otros, α – feniletanamina y (R) – 1 – feniletanamina, 2 – amino – 4 – fenilbutano, glicina, ácido L – glutámico, L – glutamato, glutamato monosódico, ácido

L – aspártico, L – lisina, L – ornitina, β – alanina, taurina, n – ptilamina, ciclohexilamina, 1,4 – butanodiamina, 1,6 – hexanodiamina, 6 – ácido aminohexanoico, 4 – ácido aminobutírico, tiramina, bencialmina, 2 – aminobutano, 2 – amino – 1 – butanol, 1 – amno – 1 – feniletano, 1 – amino – 1 – (2 – metoxi – 5 – fluorofenil) etano, 1 – amino – 1 – fenilpropano, 1 – amino – 1 – (4 – hidroxifenil) propano, 1 – amino – 1 – (4 – bromofenil) propano, 1 – amino – 1 – (4 nitrofenil) propano, 1 – fenil – 2 – aminopropano, 1 – (3 – trfluorometilfenil) – 2 – aminopropano, 2 – aminopropanol, 1 – amino – 1 – fenilbutano, 1 – fenil – 2 – aminobutano, 1 – (2,5 – dimetoxi – 4 – metilfenil) – 2 – aminobutano, 1 fenil – 3 – aminobutano, 1 – (4 – hidroxifenil) – 3 – aminobutano, 1 – amino – 2 – metilciclopentano, 1 – amino – 3 – metilciclopentano, 1 – amino – 2 – metilciclohexano, 1 – amino – 1 – (2 – naftil) etano, 3 – metilciclopentilamina, 2 – metilciclopentilamina, 2 – etilciclopentilamina, 2 – metilciclohexilamina, 3 – metilciclohexilamina, 1 – aminotetralina, 2 – aminotetralina, 2 – amino – 5 – metoxitetralina y 1 – aminoindano, incluyendo cuando sea posible los dos isómeros únicos (R) y (S) y todas las sales posibles de las aminas.

[0229] En algunas realizaciones de los procesos descritos anteriormente, la etapa en el proceso puede comprender además la eliminación del carbonilo por un producto formado del dador del grupo amino cuando se transfiera el grupo amino al aceptor del grupo amino. Dicha eliminación *in situ* puede reducir la velocidad de la reacción inversa de manera que prevalece la reacción hacia adelante y a continuación, se convierte más sustrato en producto.

[0230] La eliminación del carbonilo por un producto puede realizarse de diferentes maneras. Cuando el dador del grupo amino es un aminoácido como la alanina, el subproducto carbonilo, un ácido ceto, puede eliminarse por reacción con un peróxido (véase, por ejemplo, la patente US 2008/0213845). Los peróxidos que pueden utilizarse incluyen, entre otros, peróxido de hidrógeno, peroxiácidos (perácidos) como el ácido peracético ($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$), ácido trifluoroperacético y ácido metacloroperoxibenzoico; peróxido orgánicos como el peróxido de t – butilo ($(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$ u otros oxidantes selectivos como perrutenato de tetrapropilamonio, MnO_2 , KMnO_4 , tetróxido de rutenio y compuestos relacionados. Alternativamente, la eliminación del piruvato puede lograrse a través de su reducción a lactato mediante el empleo de lactato deshidrogenasa para desplazar el equilibrio a la amina del producto (véase, por ejemplo, Koszelewski et al., 2008, Adv. Syn. Catal. 350: 2761 – 2766). La eliminación del piruvato puede también lograrse a través de su descarboxilación a dióxido de carbono y acetaldehído empleando piruvato descarboxilasa (véase, por ejemplo, Höhne et al., al, 2008, Chem BioChem 9: 363 – 365).

[0231] En algunas realizaciones, cuando se elige el dador del grupo amino da lugar a un subproducto carbonilo que tiene una presión de vapor mayor que el agua (por ejemplo, un coproducto de baja ebullición como un compuesto de carbonilo orgánico volátil), el subproducto carbonilo puede eliminarse por inyección de la solución de reacción con un gas no reactivo o aplicando un vacío para disminuir la presión de reacción y eliminar el subproducto carbonilo presente en la fase de gas. Un gas no reactivo es un gas que no reacciona con los componentes de la reacción. Diversos gases no reactivos incluyen nitrógeno y gases nobles (por ejemplo, gases inertes). En algunas realizaciones, el gas no reactivo es el gas nitrógeno.

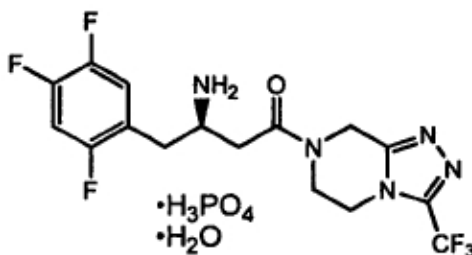
[0232] En algunas realizaciones, el dador del aminoácido utilizado en el proceso es una isopropilamina que forma el carbonilo por acetona del producto hasta trasladar el grupo amino al aceptor del grupo amino. La acetona puede eliminarse por inyección con gas nitrógeno o aplicando un vacío a la solución de reacción y eliminando la acetona de la fase de gas por una trampa de acetona, como un condensador o cualquier otra trampa de frío. Alternativamente, la acetona puede eliminarse por reducción a isopropanol utilizando una cetoreductasa.

[0233] En algunas realizaciones de los procesos anteriormente descritos donde se elimina el subproducto carbonilo, el correspondiente dador del grupo amino puede añadirse durante la reacción de transaminación para completar el dador del grupo amino y / o mantener el pH de la reacción. La adición del dador del grupo amino también desplaza el equilibrio hacia la formación del producto, incrementado de este modo la conversión del sustrato en producto. Por consiguiente, en algunas realizaciones en el que el dador del grupo amino es una isopropilamina y el producto de acetona se elimina *in situ*, la isopropilamina puede añadirse a la solución para completar el dador del grupo amino perdido durante la eliminación de la acetona y mantener el pH de la reacción (por ejemplo, 8,5). Alternativamente, en realizaciones en las que se utilizan los aminoácidos como dador del grupo de amino, el subproducto cetoácido carbonilo puede volver a reciclarse en el aminoácido por reacción con amoniaco y NADH utilizando una enzima deshidrogenasa adecuada del aminoácido, añadiendo así el dador del grupo amino.

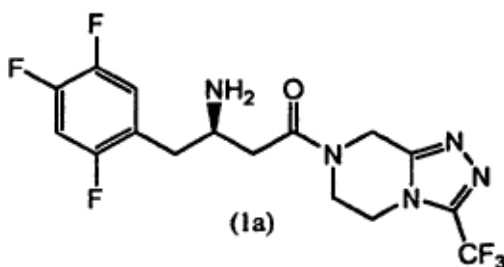
[0234] En algunas realizaciones, el proceso para convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona] al producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina comprende poner en contacto el sustrato de cetoamida entre 10 y 50 g/L con 1 y 20 g/L de una transaminasa descrita anteriormente en condiciones de reacción del pH entre 7,5 y 9,0 y una temperatura que oscila entre 30 °C y 50 °C en presencia de una isopropilamina de entre 1 M y 2 M, en el que al menos el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 92 %, el 94 %, el 96 % o el 98 % o más del sustrato de cetoamida se convierte en producto en 24 horas. En algunas realizaciones, el polipéptido de transaminasa capaz de realizar la reacción anterior comprende una secuencia de aminoácidos correspondiente a las SEC ID N: 80, 86, 96, 98, 100, 102, 110 o 166.

[0235] En algunas realizaciones, los procesos descritos anteriormente pueden además comprender la etapa de aislar el compuesto de la fórmula estructural (I), el compuesto de la fórmula estructural (1) o el compuesto de la fórmula estructural (1a) del disolvente de reacción.

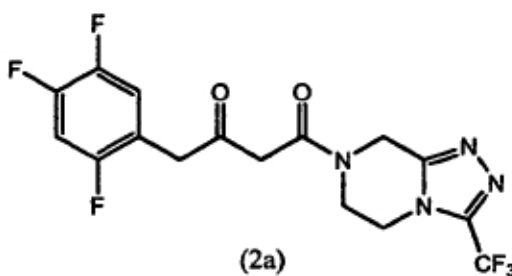
[0236] En algunas realizaciones, los procesos descritos anteriormente pueden además comprender una etapa de convertir el compuesto de la fórmula estructural (1) o el compuesto de la fórmula estructural (1a) en una sal farmacéuticamente aceptable poniendo en contacto el componente con un ácido farmacéuticamente aceptable en un disolvente de reacción adecuado. En algunas realizaciones, el ácido farmacéuticamente aceptable es un ácido fosfórico y una sal farmacéuticamente aceptable es una sal de dihidrógeno – fosfato. En algunas realizaciones, la sal de (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina es una sal de monohidrato de fosfato que tiene la siguiente fórmula química:



[0237] En algunas realizaciones, en un proceso para la preparación de (2*R*) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – *a*] pirazina – 7 (8*H*) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina monohidrato de fosfato (1:1), la mejora en el proceso comprende una etapa de conversión del compuesto de la fórmula (1a) al compuesto de la fórmula (2a) con un polipéptido de transaminasa de la divulgación en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico adecuado en condiciones de reacción adecuadas en el que el compuesto de la fórmula (1a) es:



y el compuesto de la fórmula (2a) es:



[0238] En algunas realizaciones de la preparación de la sal de monohidrato de fosfato, el dador amino es isopropilamina.

[0239] Los procedimientos para preparar diversas sales se describen en las patentes US N° 7.326.708 y 7.468.459. Un proceso para preparar el monohidrato de fosfato de Sitagliptina se presenta en el Ejemplo 13.

[0240] En algunas realizaciones, los procesos pueden además comprender una etapa de cristalización de una sal farmacéuticamente aceptable del disolvente de reacción.

[0241] Se revela también en el presente documento que son composiciones de las transaminasas y sustratos / productos. En algunas realizaciones, las composiciones pueden comprender el compuesto de la fórmula (I), el compuesto de la fórmula (1) o el compuesto de la fórmula (1a) y una transaminasa mejorada de la divulgación. Cualquiera de las transaminasas modificadas pueden formar parte de la composición.

[0242] En algunas realizaciones, la composición puede comprender el compuesto de la fórmula (II), el compuesto de la fórmula (2) o el compuesto de la fórmula (2a) y una transaminasa mejorada descrita en el presente documento.

[0243] En algunas realizaciones, las composiciones pueden además comprender un dador del grupo amino, por ejemplo, de la fórmula (3). En algunas realizaciones de las composiciones, el dador del grupo amino puede comprender isopropilamina, alanina, 3 – ácido aminobutírico o metilbencilamina. En algunas realizaciones de las composiciones, el dador del grupo amino es una isopropilamina.

EJEMPLOS

[0244] En los siguientes ejemplos representativos, se ilustran diferentes características y realizaciones de la divulgación con carácter ilustrativo y no limitantes.

Ejemplo 1: Adquisición de genes transaminasa de tipo salvaje y construcción de vectores de expresión.

[0245] La transaminasa (TA) que codifica a los genes diseñados para la expresión en *E. coli* basado en la secuencia de aminoácidos citada de la transaminasa y un algoritmo de optimización de codón se describe en el Ejemplo 1 de la Solicitud de la publicación de la patente de US 20080248539. Los genes se sintetizaron utilizando oligonucleótidos compuestos normalmente por 42 nucleótidos y el gen clonado en el vector de expresión pCK110700 (representado como Fig. 1 en la Solicitud de publicación de la patente de US 20050153417) o pCK110900 (representado como Fig. 3 en la Solicitud de publicación de la patente de US 20060195947) bajo control de un activador lac. Este vector de expresión contiene también el origen de replicación de P15a y un gen de resistencia al cloranfenicol. Los plásmidos resultantes se transformaron en *E. coli* W3110 utilizando procedimientos estándar. Los genes optimizados del codón y los polipéptidos codificados se enumeran en la Tabla 2 y sus secuencias se presentan como SEC ID N°: 1 y 2.

[0246] Del mismo modo, los genes que codifican las transaminasas modificada de la presente divulgación enumeradas en la Tabla 2 (SEC ID N°: 3 – 168) se clonaron en el vector pCK110700 o en el pCK110900 para la expresión en *E. coli* W3110.

Ejemplo 2: Producción de polvos de transaminasa – procedimiento del matraz oscilante.

[0247] Una única colonia microbiana de *E. coli* contiene un plásmido que codifica una transaminasa de interés inoculada en 50 mL de caldo de Luria Bertani que contiene 30 µg/ mL de cloranfenicol y un 1 % de glucosa. Las células se cultivaron durante la noche (al menos 16 horas) en un incubador a 30 °C con agitación a 250 rpm. El cultivo se diluyó en 250 mL de M9YE (1,0 g/L de cloruro de amonio, 0,5 g/L de cloruro de sodio, 6,0 g/L de monohidrógeno fosfato disódico, 3,0 g/L dihidrógeno de fosfato de potasio, 2,0 g/L de extracto de levadura de Tastona – 154, 1 L/L de agua desionizada) que contiene 30 µg/ mL de cloranfenicol y 100 µM de piridoxina en un matraz de 1 L con una densidad óptica de 0,2 a 600 nm (DO₆₀₀) y se dejó crecer a 30 °C. La expresión del gen transaminasa se indujo por adición del isopropil – β – D – 1 tiogalactósido (IPTG) a una concentración final de 1mM cuando la DO₆₀₀ del cultivo sea entre 0,6 y 0,8 y la incubación continuó durante la noche (al menos 16 horas). Las células se extrajeron por centrifugación (5.000 rpm, 15 min, 4 °C) y se descartó el sobrenadante. El pellet celular se resuspendió con un mismo volumen de frío (4 °C) en un tampón de 100 mM de trietanolamina (cloruro), un pH de 7,5 que contiene 100 o 500 µM 5 – fosfato de piridoxal (PLP) y se extrajo por centrifugación como se ha dicho anteriormente. Las células lavadas se resuspendieron en dos volúmenes de tampón de trietanolamina fría (cloruro) que contiene PLP y se pasaron a través de una prensa francesa dos veces a 12.000 psi mientras que se mantuvo a 4 °C. Los restos celulares se eliminaron por centrifugación (9.000 rpm, 45 min, 4 °C). El sobrenadante del lisado claro se recogió y se conservó a 20 °C. La liofilización del lisado claro congelado proporcionó un polvo seco de una enzima transaminasa cruda. Alternativamente, el pellet celular (antes o después del lavado) puede conservarse entre 4 °C y 80 °C.

Ejemplo 3: Producción de transaminasa – procedimiento de fermentación

[0248] Una única colonia microbiana de *E. coli* contiene un plásmido con un gen transaminasa de interés inoculado en 2 mL de caldo M9YE (1,0 g/L cloruro de amonio, 0,5 g/L de cloruro de sodio, 6,0 g/L de monohidrógeno fosfato disódico, 3,0 g/L dihidrógeno de fosfato de potasio, 2,0 g/L de extracto de levadura de Tastona – 154, 1 L/L de agua desionizada) que contiene 30 µg/ mL de cloranfenicol y un 1 % de glucosa. Las células se cultivaron durante la noche (al menos 12 horas) en un incubador a 37 °C con agitación a 250 rpm. Tras el cultivo durante la noche, 0,5 mL de dicho cultivo se diluyó en 250 mL de caldo M9YE que contiene 30 µg/ mL de cloranfenicol y un 1 % de glucosa en un matraz de 1 L y se dejó crecer a 37 °C con una agitación de 250 rpm. Cuando la DO₆₀₀ del cultivo oscile entre 0,5 y 1,0, se eliminan las células del incubador y a continuación bien se utilizan inmediatamente, bien se conservan a 4 °C.

[0249] Las fermentaciones de escala experimental se llevaron a cabo a 30 °C en un fermentador de 15 L ventilado y agitado utilizando 6,0 L de medio de crecimiento (0,88 g / L sulfato de amonio, 0,98 g / L de citrato de sodio, 12,5 g / L de tihidrato de hidrógeno de fosfato de dipotasio, 6,25 g / L dihidrógeno de fosfato de potasio, 3,3 g / L de

extracto de levadura de Tastona – 154, 0,083 g / L de citato de amonio férrico, 8,3 ml / L de una solución de elementos traza que contiene 2 g / L de cloruro de calcio dihidratado, 2,2 g / L de sulfato de zinc heptahidratado, 0,5 g / L de sulfato de manganeso monohidratado, 1 g / L de sulfato de cobre heptahidratado, 0,1 g / L molibdato de amonio tetrahidratado y 0,02 g / L tetraborato de sodio. El recipiente se esterilizó a 121 °C y 15 PSI durante 30 minutos, después de la esterilización se añadió 100 µM de piridoxina. El fermentador se inoculó en un cultivo exponencial tardío de *E. coli* W3110 que contiene un plásmido que codifica el gen transaminasa de interés (cultivado en un matraz oscilante descrito anteriormente para iniciar la OD₆₀₀ entre 0,5 y 1,0. El fermentador se agitó entre 250 – 1250 rpm y se suministró aire al recipiente de fermentación entre 0,6 – 25 L / min para mantener un nivel de saturación de oxígeno disuelto del 50 % o mayor. El pH del cultivo se mantuvo a 7,0 añadiendo el 20 % v / v de hidróxido de amonio. El crecimiento del cultivo se mantuvo añadiendo una solución de alimentación que contiene 500 g / L de cerelesa dextrosa, 12 g / L de cloruro de amonio y 5,1 g / L de sulfato de magnesio heptahidratado. Una vez que el cultivo alcanzó una OD₆₀₀ de 70 + – 10, la expresión de la transaminasa se indujo por adición de isopropil – β – D – 1 tiogalactósido (IPTG) a una concentración final de 1 mM y la fermentación continuó durante otras 18 horas. El cultivo se enfrió hasta los 4 °C y se mantuvo a esa temperatura hasta la extracción. Las células se recogieron por centrifugación a 5.000 G durante 40 minutos en una centrifugadora Sorval RC12BP a 4 °C. Las células extraídas se utilizaron directamente en el siguiente proceso de recuperación de aguas abajo o pueden conservarse a 4 °C o incluso congelarse a – 80 °C hasta dicha utilización.

[0250] El pellet celular se resuspendió en 2 volúmenes de tampón de 100 mM de trietanolamina (cloruro), un pH de 7,5 que contiene 100 o 500 µM de 5 – fosfato de piridoxal (PLP) a 4 °C en cada volumen de pasta celular húmeda. La transaminasa intracelular se liberó de las células pasando por la suspensión a través de un homogeneizador dotado con un conjunto de válvulas de homogeneización de dos etapas utilizando una presión de 12.000 psig. El homogenado celular se enfrió a – 20 °C inmediatamente después de la alteración. Una solución del 11 % p / v de polietileneimina con pH 7,2 se añadió al lisado a una concentración final del 0,5 % p / v. Una solución de Na₂SO₄ 1 M se añadió al lisado a una concentración final de 100 mM. A continuación, el lisado se agitó durante 30 minutos. La suspensión resultante se aclaró por centrifugación a 5.000 G en una centrifugadora de Sorval RC12BP a 4 °C durante 30 minutos. El sobrenadante claro se decantó y se concentró 10 veces utilizando una membrana de ultrafiltración de celulosa con un peso molecular cortado de 30 kD. El concentrado final se distribuyó en recipientes poco profundos, se congeló a – 20 °C y se liofilizó a polvo. El polvo de transaminasa se conservó a – 80 °C.

Ejemplo 4: Cribado de alto rendimiento para identificar variantes de la transaminasa *Arthrobacter* sp. KNK168 capaz de convertir estereoselectivamente un sustrato de cetoamida en Sitagliptina.

[0251] Método por HPLC aquiral para determinar la conversión del sustrato de cetoamida en Sitagliptina:

La conversión enzimática del sustrato de cetoamida (preparada como se describe en la patente de US N° 7.326.708) en Sitagliptina se determinó utilizando una HPLC Agilent 1200 equipada con una columna de Agilent Eclipse XDB – C8 (4,6 x 150 mm, 5 µm), que utiliza 45:55 10 mM de NH₄Ac/MeCN como eluyente con una velocidad de flujo de 1,5 ml / min y una temperatura de columna de 40 °C. Tiempo de retención: para el sustrato de cetoamida, 1,7 min, para la Sitagliptina 1,4 min. El sustrato de cetoamida y el producto en el eluyente se determinaron como área pico a 210 nm o 286 nm con una longitud de trayectoria de 1 cm. Utilizando estas condiciones, el límite de detección de la Sitagliptina fue de 5 µg/mL. Normalmente, se utilizó una longitud de onda incidente de 210 nm para medir la actividad de las transaminasas con una actividad similar o igual a la de la SEC ID N° 4.

[0252] Método por HPLC quiral para determinar la estereopureza de la Sitagliptina: La pureza estereoisomérica de la Sitagliptina se determinó utilizando una HPLC Agilent 1200 equipada con una columna de Daicel Chiralpak AD – H (4,6 x 150 mm, 5 µm) que utiliza 60:40:0,1:0,1 de EtOH / heptano / dietilamina / agua como eluyentes con una velocidad de flujo de 0,8 ml/min y una temperatura de columna de 35 °C. Tiempo de retención: para el sustrato de cetoamida 6,3 min; para el enantiómero – (S) 8,4 min y para la Sitagliptina 10,8 min. El sustrato de cetoamida y el producto se determinaron como área pico a 210 nm o 286 nm con una longitud de trayectoria de 1 cm.

[0253] Cromatografía líquida – espectrometría de masas (LC/MS) método para detectar la conversión de bajo nivel del sustrato de cetoamida en Sitagliptina: La conversión enzimática de bajo nivel del sustrato de cetoamida en Sitagliptina se determinó utilizando un método de LC/MS/MS. Cinco microlitros de muestra se cargaron en una columna HPLC Eclipse XDB – C8 (4,6 x 150 mm) y se eluyeron isocráticamente con una fase móvil de 40: 60 con 0,2 % de formiato de amonio y metanol en 1,0 mL / min. El tiempo de retención de la Sitagliptina fue de 1,5 min a 35 °C. La espectrometría de masas se utilizó para detectar en un triple cuadrupolo Quattro de Waters. Se estableció Q1 para pasar el ión M + H a 408,1 y Q3 se estableció para pasar el ión hija a 235,1. La celda de colisión (Q2) tuvo una energía de colisión de 17,0 y el flujo de gas argón fue de 0,3 mL / min. La ionización fue por APCI con una descarga de corona de 5 µA, la temperatura de la fuente fue de 130 °C y la temperatura de la sonda de 600 °C. El flujo de gas de la desolvatación fue de 100 L / min y el gas de cono se estableció en 50 L / min. Utilizando estas condiciones, el límite de detección de la Sitagliptina fue de 71 pg / mL.

Ejemplo 5: Cribado de alto rendimiento para identificar variantes de la transaminasa *Arthrobacter* sp. KNK168 capaz de convertir estereoselectivamente un sustrato de cetoamida en Sitagliptina.

[0254] El gen que codifica la transaminasa, construido como se describe en el Ejemplo 1, se mutagenizó utilizando métodos descritos anteriormente y la población de moléculas de ADN alteradas se utilizaron para transformar una cepa huésped de *E. coli* adecuada. Se seleccionaron transformantes resistentes a los antibióticos y se procesaron para identificar aquellos que expresan una transaminasa con una capacidad mejorada para transaminar el sustrato de cetoamida estereoselectivamente en Sitagliptina en presencia de un dador del grupo amino adecuado (es decir; isopropilamina). La selección celular, el cultivo, la expresión inducida de las enzimas variantes transaminasa y la colección de los pellets celulares se describen a continuación.

[0255] Las colonias de *E. coli* recombinante que llevan un gen que codifica la transaminasa se recogieron utilizando un robot seleccionador de colonias Q – Bot® (Genetix USA, Inc., Boston, Ma) en placas de microtítulos de 96 pocillos poco profundos que contienen en cada pocillo 180 µL de caldo de LB, un 1 % de glucosa y 30 µg / mL de cloranfenicol (CAM). Las células se cultivaron toda la noche a 30 °C con agitación a 200 rpm. Una alícuota de 10 µL de este cultivo se transfirió luego a placas de 96 pocillos profundos que contienen 390 µL de caldo de M9YE, 100 µM de piridoxina y 30 µg / mL de CAM. Tras la incubación de las placas de pocillo profundas a 30 °C con agitación a 250 rpm durante 2 – 3 horas, la expresión del gen recombinante en las células cultivadas se indujeron por adición de IPTG a una concentración final de 1 nM. Las placas se incubaron a 30 °C con agitación a 250 rpm durante 18 horas.

[0256] Las células se paletizaron por centrifugación (4.000 rpm, 10 min, 4 °C), se resuspendieron en un tampón de lisis de 200 µL y se lisaron por agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. El tampón de lisis contenía un tampón de 100 mM de trietanolamina (cloruro), un pH 7,5 o 8,5, 1 mg/mL de lisozima, 500 µg / mL de sulfato de polimixina B (PMBS) y entre 100 y 400 µM de PLP. Tras sellar las placas con aluminio/ cinta de sellado térmico de laminado de propileno (Velocity 11, Menlo Park, CA, Cat# 06643 – 001), se agitó fuertemente durante 2 horas a temperatura ambiente. Los restos celulares se paletizaron por centrifugación (4.000 rpm, 10 min, 4 °C) y el sobrenadante claro se analizó directamente o se conservó a 4 °C hasta su utilización.

[0257] Para el cribado en metanol o DMSO en un pH de 7,5, con transaminasas modificadas en fase inicial (es decir, " envoltantes" en fase inicial), una alícuota de 10 µL de una solución de sustrato de cetoamida (40 mg / mL) en metanol o DMSO se añadieron a cada pocillo de una placa de pocillos profundos de Costar®, seguido tras la adición de 90 µL de hidrocloreto de isopropilamina 1,1 M utilizando un instrumento robótico de Biomek NXp (Beckman Coulter, Fullerton, CA). A este le siguió la adición de 100 µL del sobrenadante de lisado recuperado, también se realizó utilizando el Biomek NXp para proporcionar una reacción que comprende 2 mg / ml de sustrato de cetoamida, 500 mM de clorhidrato de amina isopropil, 50 mM de trietanolamina, con un pH de 7,5, y 5 % de metanol o DMSO (v / v). Las placas se termosellaron con aluminio / cinta de sellado térmico de laminado de polipropileno (Velocity 11, Menlo Park, CA, Cat # 06643–001) a 175 °C durante 2,5 segundos y se agitó durante la noche (al menos 16 horas) a 30 °C. Las reacciones se enfriaron mediante la adición de 1 ml de acetonitrilo utilizando un robot manipulador de líquidos Phoenix (Art Robbins Instruments, Sunnyvale, CA). Las placas se volvieron a sellar herméticamente, se agitaron durante 5 min, y después se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min. Una alícuota de 200 µL de la mezcla de reacción aclarada se transfirió a una nueva placa de polipropileno de pocillo poco profundo (Costar # 3365), se selló y se analizó como se describe en el Ejemplo 4.

[0258] Para el cribado en el 25 % de DMSO con un pH de 8,5 con transaminasas la modificadas en última fase (es decir, " envoltantes" de última etapa), se añadió una alícuota de 50 µL de una solución de sustrato de cetoamida (400 mg / mL) en dimetilsulfóxido (DMSO) a cada pocillo de una placa de pocillos profundos de Costar® tras la adición de 50 µL de hidrocloreto de isopropilamina 4 M utilizando un instrumento robótico de Biomek NX (Beckman Coulter, Fullerton, CA). A continuación se añadió 100 µL del sobrenadante de lisado recuperado, también se realizó utilizando el Biomek NX para proporcionar una reacción que comprende 100 mg / ml de sustrato de cetoamida, hidrocloreto de amina isopropilo 1 M, 50 mM de trietanolamina, un pH de 8,5 y 25 % de DMSO (v / v). Las placas se termosellaron con aluminio / cinta de sellado térmico de laminado de polipropileno (Velocity 11, Menlo Park, CA, Cat # 06643–001) a 175 °C durante 2,5 segundos y luego se agitó durante la noche (al menos 16 horas) a 30 °C. Las reacciones se enfriaron mediante la adición de 1 ml de acetonitrilo utilizando un robot manipulador de líquidos Phoenix (Art Robbins Instruments, Sunnyvale, CA). Las placas se volvieron a sellar herméticamente, se agitaron durante 5 min, y después se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min. Una alícuota de 10 µL de la mezcla de reacción aclarada se transfirió a una nueva placa de polipropileno de pocillo poco profundo (Costar # 3365) que contiene 190 µL de acetonitrilo, se selló y se analizó como se describe en el Ejemplo 4.

[0259] Para el cribado en el 50 % de DMSO con un pH de 8,5 con transaminasas modificadas en última fase (es decir, " envoltantes" de última etapa), se añadió una alícuota de 100 µL de una solución de sustrato de cetoamida (100 mg / mL) en dimetilsulfóxido (DMSO) a cada pocillo de una placa de pocillos profundos de Costar® tras la adición de 50 µL de hidrocloreto de isopropilamina 4 M utilizando un instrumento robótico de Biomek NX (Beckman Coulter, Fullerton, CA). A continuación se añadió 50 µL del sobrenadante de lisado recuperado, también se realizó utilizando el Biomek NX para proporcionar una reacción que comprende 50 mg / ml de sustrato de cetoamida, hidrocloreto de amina isopropilo 1 M, 50 mM de trietanolamina, un pH de 8,5 y 50 % de DMSO (v / v). Las placas se termosellaron con aluminio / cinta de sellado térmico de laminado de polipropileno (Velocity 11, Menlo Park, CA, Cat # 06643–001) a 175 °C durante 2,5 segundos y luego se agitó durante la noche (al menos 16 horas) a 30 °C. Las reacciones se enfriaron mediante la adición de 1 ml de acetonitrilo utilizando un robot manipulador de líquidos

Phoenix (Art Robbins Instruments, Sunnyvale, CA). Las placas se volvieron a sellar, se agitaron durante 5 min y se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min. Una alícuota de 10 µL de la mezcla de reacción aclarada se transfirió a una nueva placa de polipropileno de pocillo poco profundo (Costar # 3365) que contiene 190 µL de acetonitrilo, se selló y se analizó como se describe en el Ejemplo 4.

[0260] La transaminasa de la SEC ID N° 2 expresada en los Ejemplos 1 y 2 no exhibió actividad detectable sobre el sustrato de cetoamida utilizando los métodos de detección del Ejemplo 4. Las variantes de la transaminasa *Arthrobacter sp.* KNK168 capaz de convertir el sustrato de cetoamida en Sitagliptina se identificaron utilizando los procedimientos y los métodos revelados anteriormente. Numerosas repeticiones de estos procesos en los que se utilizaron uno o más aislados mejorados de una ronda se utilizaron como material de partida para las siguientes rondas de mutagénesis y cribado, se utilizaron para desarrollar o "evolucionar" las variantes de transaminasa *Arthrobacter sp.* KNK168 con una capacidad mejorada para reducir el sustrato de cetoamida estereoselectivamente en Sitagliptina.

Ejemplo 6: Transaminación estereoselectiva en metanol del sustrato de cetoamida por transaminasas modificadas designadas como "+" en la Tabla 2 derivada de la transaminasa *Arthrobacter sp.* KNK168.

[0261] Las transaminasas mejoradas designadas como "+" en la Tabla 2 derivadas de la transaminasa *Arthrobacter sp.* KNK168 se analizaron a continuación en una escala experimental en DMSO. Una solución de 500 µL de variante transaminasa (20 mg / mL) en un tampón de 100 mM de cloruro de trietanolamina con pH de 7,5 con 250 µM de 5 – fosfato de piridoxal se añadió a un vial de reacción de 5 mL equipado con una barra de agitación magnética. Posteriormente se añadió a la solución de transaminasa 450 µL de hidrocloreto de isopropilamina 1,1 M, seguido de 50 µL de solución de sustrato de cetoamida (40 mg / mL) en DMSO. La reacción se mezcló a 22 °C y se controló mediante un análisis por HPLC de las muestras tomadas periódicamente de la mezcla de reacción (véase el Ejemplo 4 para condiciones analíticas). La Tabla 2 presenta la SEC ID N° correspondiente a las variantes transaminasas designadas como "+", el número de diferencias en los residuos de aminoácidos de las transaminasas de tipo salvaje y la actividad de cada uno de los sustratos de cetoamida respecto a la de la enzima que posee una secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 4.

[0262] Para algunas de las transaminasas modificadas, la conversión del sustrato de cetoamida en Sitagliptina puede también lograrse utilizando dadores del grupo amino como la D – alanina, 3 – ácido aminobutírico o α – metilbencilamina en una concentración adecuada.

Ejemplo 7: Transaminación estereoselectiva en metanol del sustrato de cetoamida por transaminasas modificadas designadas como "++" en la Tabla 2 derivadas de *Arthrobacter sp.* KNK168.

[0263] Las transaminasas mejoradas designadas como "++" en la Tabla 2 derivadas de las variantes *Arthrobacter sp.* KNK168 se analizaron a continuación en una escala experimental. Una solución de 500 µL de variante transaminasa (20 mg / mL) en un tampón de 100 mM de cloruro de trietanolamina con pH de 7,5 con 250 µM de 5 – fosfato de piridoxal se añadió a un vial de reacción de 5 mL equipado con una barra de agitación magnética. Posteriormente se añadió a la solución de transaminasa 450 µL de hidrocloreto de isopropilamina 1,1 M, seguido de 50 µL de solución de sustrato de cetoamida (40 mg / mL) en metanol. La reacción se mezcló a 22 °C y se controló mediante un análisis por HPLC de las muestras tomadas periódicamente de la mezcla de reacción (véase el Ejemplo 4 para condiciones analíticas). La Tabla 2 presenta la SEC ID N° correspondiente a las variantes transaminasas designadas como "++", el número de diferencias en los residuos de aminoácidos de las transaminasas de tipo salvaje y la actividad de cada uno de los sustratos de cetoamida respecto a la de la enzima que posee una secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 4.

Ejemplo 8: Transaminación estereoselectiva en metanol del sustrato de cetoamida por transaminasas modificadas designadas como "+++" en la Tabla 2 derivadas de *Arthrobacter sp.* KNK168.

[0264] Las transaminasas mejoradas designadas como "+++" en la Tabla 2 derivadas de las variantes *Arthrobacter sp.* KNK168 se analizaron a continuación en una escala experimental en metanol. Una solución de 500 µL de variante transaminasa (20 mg / mL) en un tampón de 100 mM de cloruro de trietanolamina con pH de 7,5 con 250 µM de 5 – fosfato de piridoxal se añadió a un vial de reacción de 5 mL equipado con una barra de agitación magnética. Posteriormente se añadió a la solución de transaminasa 450 µL de hidrocloreto de isopropilamina 2,2 M, seguido de 50 µL de solución de sustrato de cetoamida (100 o 200 mg / mL) en metanol. La reacción se mezcló a 30 °C y se controló mediante un análisis por HPLC de las muestras tomadas periódicamente de la mezcla de reacción (véase el Ejemplo 4 para condiciones analíticas). La Tabla 2 presenta la SEC ID N° correspondiente a las variantes transaminasas designadas como "+++", el número de diferencias en los residuos de aminoácidos de las transaminasas de tipo salvaje y la actividad de cada uno de los sustratos de cetoamida respecto a la de la enzima que posee una secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 22.

Ejemplo 9: Transaminación estereoselectiva en metanol del sustrato de cetoamida por transaminasas modificadas designadas como "++++" en la Tabla 2 derivadas de *Arthrobacter sp.* KNK168.

[0265] Las transaminasas mejoradas designadas como “++++” en la Tabla 2 derivadas de las variantes *Arthrobacter sp.* KNK168 se analizaron a continuación en una escala experimental en metanol. Una solución de 500 µL de variante transaminasa (20 mg / mL) en un tampón de 100 mM de cloruro de trietanolamina con pH de 8,5 con 250 µM de 5 – fosfato de piridoxal se añadió a un vial de reacción de 5 mL equipado con una barra de agitación magnética. Posteriormente se añadió a la solución de transaminasa 400 µL de hidrocloreuro de isopropilamina 2,5 M, seguido de 100 µL de solución de sustrato de cetoamida (200 mg / mL) en metanol. La reacción se mezcló a 45 °C y se controló mediante un análisis por HPLC de las muestras tomadas periódicamente de la mezcla de reacción (véase el Ejemplo 4 para condiciones analíticas). La Tabla 2 presenta la SEC ID N° correspondiente a las variantes transaminasas designadas como “++++”, el número de diferencias en los residuos de aminoácidos de las transaminasas de tipo salvaje y la actividad de cada uno de los sustratos de cetoamida respecto a la de la enzima que posee una secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 48.

Ejemplo 10: Transaminación estereoselectiva en DMSO del sustrato de cetoamida por transaminasas modificadas designadas como “++++” en la Tabla 2 derivadas de *Arthrobacter sp.* KNK168.

[0266] Las transaminasas mejoradas designadas como “++++” en la Tabla 2 derivadas de las variantes *Arthrobacter sp.* KNK168 se analizaron a continuación en una escala experimental en DMSO. Una solución de 250 µL de variante transaminasa (20 mg / mL) en un tampón de 100 mM de cloruro de trietanolamina con pH de 8,5 con 250 µM de 5 – fosfato de piridoxal se añadió a un vial de reacción de 5 mL equipado con una barra de agitación magnética. Posteriormente se añadió a la solución de transaminasa 500 µL de hidrocloreuro de isopropilamina 2 M, seguido de 250 µL de solución de sustrato de cetoamida (200 mg / mL) en DMSO. La reacción se mezcló a 45 °C y se controló mediante un análisis por HPLC de las muestras tomadas periódicamente de la mezcla de reacción (véase el Ejemplo 4 para condiciones analíticas). La Tabla 2 presenta la SEC ID N° correspondiente a las variantes transaminasas designadas como “++++”, el número de diferencias en los residuos de aminoácidos de las transaminasas de tipo salvaje y la actividad de cada uno de los sustratos de cetoamida respecto a la de la enzima que posee una secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 58.

Ejemplo 11: Transaminación estereoselectiva en DMSO del sustrato de cetoamida por transaminasas modificadas designadas como “++++” en la Tabla 2 derivadas de *Arthrobacter sp.* KNK168.

[0267] Las transaminasas mejoradas designadas como “++++” en la Tabla 2 derivadas de las variantes *Arthrobacter sp.* KNK168 se analizaron a continuación en una escala experimental en DMSO. Una solución de 250 µL de variante transaminasa (8 mg / mL) en un tampón de 100 mM de cloruro de trietanolamina con pH de 8,5 con 4000 µM de 5 – fosfato de piridoxal se añadió a un vial de reacción de 5 mL equipado con una barra de agitación magnética. Posteriormente se añadió a la solución de transaminasa 250 µL de hidrocloreuro de isopropilamina 4 M, seguido de 500 µL de solución de sustrato de cetoamida (100 mg / mL) en DMSO. La reacción se mezcló a 45 °C y se controló mediante un análisis por HPLC de las muestras tomadas periódicamente de la mezcla de reacción (véase el Ejemplo 4 para condiciones analíticas). La Tabla 2 presenta la SEC ID N° correspondiente a las variantes transaminasas designadas como “++++”, el número de diferencias en los residuos de aminoácidos de las transaminasas de tipo salvaje y la actividad de cada uno de los sustratos de cetoamida respecto a la de la enzima que posee una secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 104.

Ejemplo 12: Proceso I para la conversión del sustrato de cetoamida en Sitagliptina

[0268] El siguiente ejemplo ilustra un proceso a gran escala utilizado para incrementar la conversión del sustrato 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina. En este proceso se utiliza la inyección mediante nitrógeno para eliminar el coproducto de acetona e incrementa la conversión del sustrato en el producto. La adición de isopropilamina en agua ayuda a mantener constante el volumen y mantiene el pH de la reacción.

[0269] El proceso a gran escala contiene los siguientes componentes de reacción:

Sustrato de cetoamida:	20 g (98 %) (48,2 nmol)
Isopropilamina – HCL:	18,44 g (193 nmol)
Fosfato de piridoxal (PLP)	200 mg (98 %) (0,79 nmol)
Transaminasa (SEC ID N° 86):	2,2 g
Trietanolamina 0,1 M pH 8,5:	140 mL
DMSO:	20 mL + 40 mL
4 M iPr amina (base libre):	38,5 mL

[0270] Proceso: A un matraz redondo de tres bocas (RB) de 500 mL con 4 deflectores y equipado con un mezclador, sonda de pH, sonda de temperatura, aguja para la inyección mediante nitrógeno y una aguja de vacío, se añadió 18,25 g de hidrocloreuro de isopropilamina (4 equiv.) seguido de 200 mg de 5 – fosfato de piridoxal (vitamina B6). Esto se disolvió en 140 mL de pH 8,5, con agua tamponada de trietanolamina 0,1 M. Se añadió DMSO (20 ml) seguido por 2 g de polvo de enzima transaminasa (SEC ID N° 86). Se aumentó la temperatura de la solución hasta

alcanzar 45 °C y el pH se ajustó de nuevo a 8,5 con isopropilamina 4 M acuosa. Una vez estabilizada (~ 5 min) se añadió una solución de 20 g de sustrato disuelto en 40 mL de DMSO durante 3 horas. Durante la adición, y a lo largo de la reacción, el pH se redujo de manera constante. El pH se controló por la adición continua de isopropilamina 4 M acuosa cuando el pH disminuye más de 0,1 unidades. Además, el nitrógeno se inyectó en la reacción entre 2 horas y 12 horas. Tras 21 horas, la conversión era del 93 %. Un total de 38,5 mL de isopropilamina 4 M (3,056 equiv) se añadió a la reacción durante el proceso. La unidad de control de pH tuvo un termopar, una sonda de pH e isopropilamina 4 M en agua para controlar el pH.

[0271] Una impureza de aducto de enamina del sustrato – producto presente en la mezcla del producto (tiempo de retención de 4,1 min en condiciones de separación descritas a continuación) se destruyó por la acidificación de la mezcla en un pH 2,0 con 10,5 mL de HCl 6 N seguido de agitación durante 1 hora a 45 °C. Posteriormente, se añadieron 6 g de Celite, se agitó otra hora y a continuación se filtró con una almohadilla de Celite (filtro de 85 mm ID, una almohadilla con un grosor de 10 mm de Celite humedecida) con lavados agitados (4 x 30 mL) de agua/DMSO (90/10 con 1 gota de HCl 6 N). Los análisis muestran un rendimiento del 91 % de Sitagliptina y un 7 % de sustrato de cetoamida.

[0272] El producto además se procesó añadiendo 200 mL de acetato de isopropilo (IPAC) seguido de 32 mL de NaOH 5 N y se agitó hasta que el pH fuera ~ 11. Se separaron las capas (35 min sedimentando con emulsión en capa orgánica) y se extrajo la capa acuosa con otros 200 mL de acetato de isopropilo. Se llevó a cabo una extracción final con 100 mL adicionales de acetato de isopropilo. Se combinaron las tres capas de acetato de isopropilo, se dejaron sedimentar durante 30 min y se drenó el agua residual. A continuación se lavó el producto en la capa orgánica con 150 mL de salmuera (sedimenta en < 1h), se separó y se secó con Na₂SO₄ y luego se filtró. El disolvente se cambió a isopropanol (66,29 g de solución de isopropanol (IPA). El análisis del producto final muestra lo siguiente:

26,8 % de p/s de Sitagliptina (17,73 g).
1,89 % de p/s de sustrato de cetoamida (1,25 g).
~ 60,3 mL de IPA

[0273] Las condiciones de HPLC para separar la mezcla del producto fueron las siguientes:

Columna:	Zorbax Eclipse Plus C18, 4,6 x 50 mm, 1,8 µm
Gradiente:	min H ₂ O (0,1 % de H ₃ PO ₄) / CH ₃ CN
0	90/10
5	5/95
6	5/95
6,01	90/10
8	stop

Flujo:	1,5 mL / min
Temperatura de columna:	25 °C
Volumen de la muestra:	5 µL
Detector:	UV @ 210 nm

[0274] Las muestras para los análisis por HPLC se prepararon en 0,2 mg / mL en 1/1 H₂O (0,1 % de H₃PO₄) / CH₃CN. El tiempo de retención en condiciones cromatográficas anteriores fueron las siguientes:

Sitagliptina:	2,2 min
Sustrato de cetoamida:	3,2 min
Sustrato de cetoamida (enol):	3,9 min
Sustrato – producto de enamina:	4,1 min

[0275] La depuración con gas nitrógeno elimina la acetona, el producto de la reacción de transaminación desplaza de este modo el equilibrio de la reacción catalizada de la transaminasa hacia la formación del producto y por lo tanto, hay un mayor porcentaje de conversión del sustrato en el producto. Además, la adición continua de isopropilamina no sólo permite mantener el pH de la condición de reacción sino que rellena el dador del grupo amino perdido en la reacción de transaminación. Aunque el polipéptido de la transaminasa que tiene la SEC ID N° 86 se utilizó en este proceso, se entiende que este proceso puede emplear cualquiera de las transaminasas modificadas posteriores descritas en el presente documento.

Ejemplo 13: Proceso II para incrementar la conversión del sustrato de cetoamida en Sitagliptina

[0276] El siguiente ejemplo ilustra un segundo proceso a gran escala utilizado para incrementar la conversión del sustrato 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina. En este proceso se utiliza un vacío para

eliminar el producto de acetona e incrementar la conversión del sustrato en el producto. Al igual que en el ejemplo anterior, la adición de isopropilamina en agua ayuda a mantener constante el volumen y mantiene el pH de la reacción.

5 [0277] Materiales

Componente de reacción	Cantidad	Equivalencia en moles
Sustrato de cetoamida:	1000 g (96 %) (2,36 mol)	1,0
Isopropilamina – HCl:	903 g (9,45 mol)	4,0
Fosfato de piridoxal (PLP)	10 g (98 %) (0,04 mol)	0,017
Transaminasa (SEC ID N° 102):	50,0 g	
Trietanolamina:	104 g	
DMSO:	1.5 L + 2 L	
isopropilamina 4 M acuosa (base libre)	157 mL	

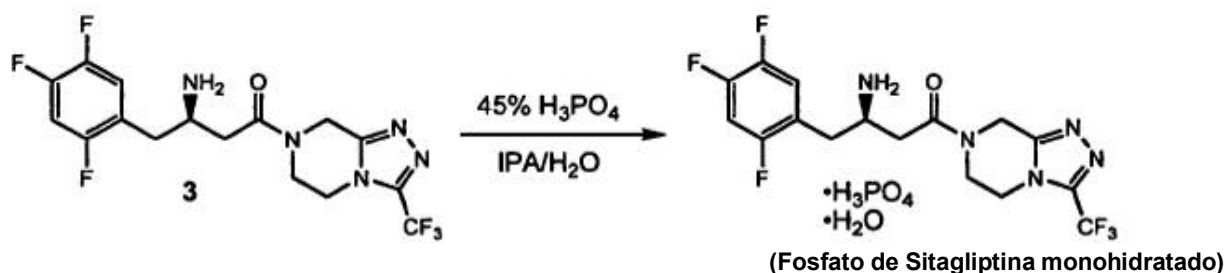
[0278] El equipo para el proceso posee las siguientes características: una unidad de control con un termopar, una sonda de pH y un depósito de isopropilamina 4 M en agua para controlar el pH. El recipiente de reacción está conectado a un sistema de vacío con su correspondiente controlador (ajustado a 375 torr) y una sonda reactor (Metter Toledo, Maryland, USA) para medir la acetona y la formación del producto.

[0279] Proceso: A un matraz redondo de tres bocas (RB) de 22 mL se agitó mecánicamente y se fijó a una sonda Reactor a una línea de alimentación de base conectada al depósito de isopropilamina 4 M acuosa, a una línea de alimentación de cetoamida conectada a un depósito de sustrato de cetoamida, a una sonda de pH y a un sistema de vacío para una unidad de control y una trampa. El matraz se cargó con 900 g de hidrocloreuro de isopropilamina seguido por adición de 6,4 L de agua desionizada, 93 mL de trietanolamina (2 m / s de velocidad periférica) y se añadió 10 g de 5 – fosfato de piridoxal (pH 8,4). A continuación se cargó el matraz con 50 g de polipéptido de transaminasa disuelto que tiene la SEC ID N° 102. Tras 10 min de mezcla a temperatura ambiente, se añadió 1,5 L de DMSO durante 30 min y el reactor se calentó a 40 °C. Una vez estabilizada la temperatura, la sonda de pH se cambió por una sonda de temperatura y el pH se mantuvo con un pH de 8,5 con un controlador de pH y una solución de isopropilamina de 4 M. El sustrato de cetoamida (1 Kg) se disolvió en 2 L de DMSO y se colocó en un embudo de adición de 5 L. El vacío (~ 500 torr al inicio, después fueron 375 durante la noche tras la adición) se aplicó al recipiente de reacción y la solución de cetoamida se añadió al reactor durante 4 horas (667 mL / h). Un total de 1,45 equiv de isopropilamina se añadió tras 25 horas. Se produjo una conversión de sustrato al producto del 94 %.

[0280] Tras dejar la reacción actuar durante 1 día, se añadieron 580 mL de HCl 5 N a la solución de reacción hasta un pH de 2 y la solución se agitó durante 2 horas a 45 °C. La solución se filtró en un embudo de Buchner de amplio diámetro utilizando dos capas de tejido de algodón dando como resultado 12,3 kg de filtrado. El residuo filtrado se agitó en un 55 de DMSO en HCl 0,01 N y a continuación se aclaró con 3 x 2 L adicionales de 5 % de DMSO en HCl 86,6 kg 0,01 N en total). El residuo se situó en una solución ácida acuosa, se lavó (~ 18 L en total) en un extractor y después se colocó en 9 L de acetato de isopropilo. El pH se ajustó a 10 con NaOH 5 N (1,4 L), la solución se agitó a 165 rpm en un recipiente de ChemGlass de 50 L, se dejó sedimentar las capas durante 10 minutos y se separó el acetato de isopropilo. La solución se volvió a extraer con 9 L de acetato de isopropilo y dichas capas de acetato de isopropilo extraídas se combinaron y se dejaron sedimentar durante 20 horas. Las capas de acetato de isopropilo se lavaron con 6 L de salmuera (5,9 kg). La solución de IPAC se analizó y contenía 861 g de Sitagliptina. El disolvente se cambió de IPAC (861 g en 19 L de IPAC, rendimiento de análisis del 90 %) a IPA en un evaporador rotatorio de vacío durante 1 hora a 30 °C concentrando el 50 % del volumen. En este momento la base libre de Sitagliptina se precipitó fuera de la solución. Se añadió 2 L de un 1 % de agua en IPA para disolver el precipitado. Se añadió 8 L de un 1 % de agua en IPA durante 1 hora con una temperatura de baño entre 35 – 40 °C. Una vez que se forman los precipitados adicionales, se añade 400 mL adicionales de agua para disolver el precipitado. La solución se deja sedimentar en un evaporador rotatorio de vacío durante la noche y después se traslada a otro matraz redondo con 2 L adicionales de un 1 % de agua en IPA. La concentración dio 2,5746 kg de una solución de IPA / agua de Sitagliptina.

Ejemplo 14: Preparación de fosfato de Sitagliptina monohidratado

[0281] Se ilustra a continuación la preparación del fosfato de Sitagliptina monohidratado:



[0282] Los materiales para la preparación de la sal de fosfato monohidratado de Sitagliptina son los siguientes:

Componente de reacción	Cantidad	Equivalencia en moles
Crudo 3	757 g (1,86 mol)	1,0
45 % p / p de H ₃ PO ₄	411 g (1,89 mol)	1,02
Agua	347 + 491 + 100 mL	0,017
Isopropanol	1,63 + 1,36 + 0,17 + 0,5 + 0,5 + 1,65 L	
Semilla	1,4 L	0,005
88/12 isopropanol / agua		

[0283] Proceso. A una solución que contiene 757 g de crudo 3 en 1630 mL de isopropanol y 347 mL de agua se añadió 1,36 L de isopropanol seguido de 491 mL de agua desionizada. La solución se transfirió a un recipiente de agitación de 20 L y a continuación se cargó con 411 g con un 45 % p / p de H₃PO₄ (Fisher 85 %) y 172 mL de IPA. La solución se calentó entre 72 y 80 °C para disolver la sal inicial de fosfato y se cargó con 100 mL adicionales de agua y 500 mL de isopropanol para disolver completamente la sal de fosfato. La solución se enfrió entre 62 y 66 °C y se sembró con 5 g de fosfato de Sitagliptina puro. La reacción se dejó sedimentar 3 horas a 60 – 65 °C, a continuación se enfrió a 20 – 25 °C durante 5 horas y posteriormente durante la noche. La reacción se cargó con 2,65 L de isopropanol durante 2 horas (la solución es ~ 6:1 isopropanol / agua), se dejó reposar 1 hora a temperatura ambiente y 2 horas a 2 °C. El material se filtró humedeciéndolo con 88/12 de isopropanol / agua. La torta resultante se lavó con un total de 1,4 L de 88/ 12 isopropanol / agua y se secó en atmósfera durante 3 horas, después se transfirió a una bandeja para secarla a ~ 40 °C en un horno de vacío con barrido con nitrógeno (200 torr) durante 3 días produciendo 966 g de fosfato hidratado de Sitagliptina. El material satisfizo (o excedió) todas las especificaciones de pureza para fabricar fosfato hidratado de Sitagliptina y no muestra un disolvente residual, enzima (< 18 ppm), cofactor de PLP (< 0,1 ppm) o endotoxina (< 0,05 ng).

Ejemplo 15: Proceso III para incrementar la conversión del sustrato de cetoamida en Sitagliptina

[0284] El siguiente ejemplo ilustra un tercer proceso a gran escala utilizado para incrementar la conversión del sustrato 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 –ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 –amina. Normalmente, el proceso utiliza el mismo equipo y condiciones descritas en el Ejemplo 12 aunque con una mayor concentración de DMSO y sustrato.

[0285] Proceso: La reacción se realizó en un recipiente equipado con un agitador mecánico, una sonda de temperatura, una sonda de pH y un sistema de adición de base. El sistema de adición de base se utilizó para controlar el pH entre 8,6 y 8,4 utilizando una base libre de isopropilamina 4 M en agua. Al recipiente se le añadió 1,92 L de agua, seguido de 109 mL (0,82 mL, 0,33 equiv) de trietanolamina y 1,64 L (6,56 mol, 2,67 equiv) de solución de isopropilamina 4 M. El pH se ajustó a 8,5 utilizando HCl 12 N (424 mL). El reactor se cargó después con 6,7 g (0,027 mol, 0,011 equiv) de PLP seguido por 40 g de polipéptido de transaminasa que tiene la SEC ID N° 110 y la mezcla se disolvió cuidadosamente con una agitación suave. El recipiente se colocó en el bloque del reactor con la sonda de temperatura, el sistema de adición de base, la sonda de pH y se ajustó a 400 rpm (nota: el lazo de control de pH se encuentra apagado en este momento). A continuación, se añade 2,22 L de DMSO a la solución en agitación y el reactor se calienta a 45 °C. Cuando se estabiliza la temperatura, el lazo de control de pH se enciende y se ajusta a un pH de 8,5 (pH controlado con isopropilamina 4 M en agua). En este momento, se incrementa la agitación a 600 rpm, aunque la velocidad periférica se mantiene por debajo de los 2 m / s para evitar la agitación excéntrica (vortex). A continuación, se disolvió 1,0 kg (el peso corregido de 1 kg como cetoamida recibida oscila normalmente entre un ps del 96 – 98 % como hemihidrato, 2,46 mol, 1,00 equiv) de cetoamida en un 1,11 L de DMSO. Esta solución de DMSO / cetoamida se añadió al reactor durante 2 – 3 horas. El reactor se agitó a 45 °C con el pH mantenido entre 8,6 – 8,4 durante otras 13 horas siendo llevada a cabo la eliminación de acetona con 300 torr de vacío y 2 fps de barrido con nitrógeno. Tras ~ 15 horas de tiempo de reacción totales (1,3 – 2,0 equiv de absorción de isopropilamina), la reacción tuvo una conversión del 90 – 95 % según los análisis por HPLC de fase inversa.

[0286] Como se describe a continuación, puede utilizarse una filtración o un procedimiento de tratamiento final de extracción directa para preparar el producto para el proceso aguas abajo.

[0287] Tratamiento final de filtración: El lazo de control de pH se apagó y se añadieron 13 g de Solka – flocc al recipiente seguido de HCl 12 M hasta un pH de 2 – 3. La reacción se dejó madurar aproximadamente durante 1 – 2 horas a 45 °C y a 1000 rpm. La suspensión se filtró (por ejemplo, en un plástico filtrado de Buchner con papel de filtro en una escala de 1 kg o un filtro de chispa sin bucle reciclado en la escala de planta piloto). El recipiente y el filtro se enjuagó con 1 L de 0,01 N HCl. A este filtrado de ácido acuoso se le añadió 3 L de IPAC y el pH de la fase acuosa se ajustó a un pH de 11 con NaOH 19 N. Las capas se agitaron, más tarde se dejaron sedimentar y se separaron (con leve calor o un vacío que acelera la separación de la fase). Esto se repitió dos veces más con 3 L de IPAC y los orgánicos combinados se lavaron con 3 L de salmuera (pH 11). La solución resultante de IPAC de base libre de Sitagliptina se analizó para determinar (rendimiento del análisis entre el 88 – 92 %; 882 –922 g) y el disolvente se cambió a IPA por mediante aguas abajo para producir el fosfato monohidratado de Sitagliptina.

[0288] Tratamiento final de extracción directa: El lazo de control de pH se apaga y se añadió HCl 12 M hasta conseguir un pH de 2 – 3. La reacción se dejó madurar durante 1 – 2 horas a 45 °C y a 1000 rpm. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió a continuación 3 L de IPA, seguido de 3 L de IPAC. El pH de la capa acuosa se ajustó a 11 con NaOH 19 N. La mezcla se agitó entre 20 – 45 °C (el calor puede utilizarse para romper la emulsión), se dejó sedimentar y se separó. La capa IPAC/IPA se apartó y la capa acuosa se extrajo con 3 L de 80/20 (vol / vol) de IPAC / IPA. Los extractos combinados de IPAC/IPA se lavaron con 3 L de salmuera. La solución resultante de IPAC / IPA de la base libre de Sitagliptina se analizó para determinar (rendimiento del análisis entre el 87 – 90 %; 872 –902 g) y el disolvente se cambió a IPA mediante aguas abajo paroducir el fosfato monohidratado de Sitagliptina.

Ejemplo 16: Proceso IV para incrementar la conversión del sustrato de cetoamida en Sitagliptina

[0289] El siguiente ejemplo ilustra un cuarto proceso a gran escala utilizado para incrementar la conversión del sustrato de cetoamida en un producto de base libre de Sitagliptina y la posterior preparación del fosfato de Sitagliptina. Normalmente, el proceso utiliza el mismo equipo y condiciones descritas en los Ejemplos 12, 14 y 15 aunque con algunas modificaciones que se detallan a continuación.

[0290] Se preparó una solución tampón combinada 0,59 L solución de isopropilamina 4 M, 0,67 L de agua y 39 mL de trietanolamina entre 0 – 35 °C. El pH del tampón se ajustó entre 8,4 – 9,2 a 20 – 25 °C utilizando ácido clorhídrico 12 N. Esta mezcla se cargó con 1,22 g de PLP y 16,25 g de polipéptido de transaminasa de la SEC ID N° 110 a 15 – 25 °C. El PLP y la enzima se disolvieron agitándolos. A continuación, se cargó la mezcla con 0,72 L de DMSO a 15 – 46 °C mínimo durante 30 minutos. La mezcla enzimática se calentó a 44 – 46 °C y se ajustó a un pH entre 8,4 – 8,7 con solución isopropilamina 4 M. Hasta que no se enfrió la mezcla enzimática de la siguiente reacción, se controló el pH y se cargó en cuanto fuese necesario solución de isopropilamina 4 M para mantener el pH dentro del intervalo 8,4 – 8,7.

[0291] El sustrato de cetoamida, 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5,6 – dihidro [1,2,4] triazol [4,3 – a] pirazina – 7 (8H) – il] – 1 – (2,4,5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona (406,28 g, 1,00 mol) se disolvió en 0,48 L de DMSO y la solución de DMSO / cetamida se añadió a la mezcla enzimática aproximadamente entre 2 – 8 horas. Esta mezcla enzimática se dejó reaccionar a 44 – 46 °C y un pH de 8,4 – 8,7 durante otras 7 – 22 horas. Durante la adición de la solución de DMSO / cetamida y su posterior reacción, la presión del reactor se varió en cuanto fuese necesario para evaporar la acetona y, de ese modo, impulsar a la reacción a formar el producto de base libre de Sitagliptina. Además, durante el curso de la reacción, se cargó una solución de isopropilamina 4 M (mínimo 0,25 L o 1,0 mol equiv) en cuanto fuese necesario para mantener el pH entre 8,4 – 8,7.

[0292] La mezcla de reacción se enfrió llenando 65 g de Solka floc a 44 – 46 °C. Tras llenarla con Solka floc, se cargó con ácido clorhídrico 12 N en la mezcla hasta alcanzar un pH de 2 – 3. La mezcla se agitó a 44 – 46 °C con un pH de 2 – 3 durante al menos 3 horas. La mezcla se filtró a 44 – 46 °C y la torta sobrante se lavó con ácido clorhídrico 0,01 N (1,02 L – 4,47 L). El filtrado combinado y lavado con ácido clorhídrico 0,01 N se enfrió a 15 – 25 °C y a continuación se añadió 2,44 L de acetato de isopropil (IPAC). El pH se ajustó entre 10,5 – 11,5 con hidróxido de sodio 19 N. La mezcla se agitó entre 15 – 40 °C, se sedimentó, y se separó. La capa orgánica superior se apartó y la capa acuosa inferior se extrajo con 1,22 L de IPAC a 15 – 25 °C. Los dos extractos orgánicos se combinaron y lavaron con agua (0,20 L – 1,23 L) a 15 – 40 °C. La capa orgánica final proporcionó 4,07 L de una corriente de crudo de base libre de Sitagliptina en 100g/L (407,31 g, 1,00 mol) utilizada en la preparación del fosfato monohidratado de Sitagliptina.

[0293] Los 4,07 L de la corriente de crudo de base libre de Sitagliptina se concentraron al vacío con 1,68 L a 20 – 35 °C y el disolvente se cambió a isopropanol utilizando un mínimo de 2,52 L de isopropanol. Esta solución se cargó con 0,27 L de agua para disolver todos los sólidos. La adición de agua mejora la formación del monohidrato al inicio de la cristalización. El ácido fosfórico acuoso (1,02 mol) se añadió a esta solución y se calentó para que se disolviese.

[0294] La solución se enfrió a 62 – 68 °C, se sembró con 2,62 g de fosfato monohidratado de Sitagliptina molida (por ejemplo, promedio de 10 – 20 micrones superior o igual al 95 % entre 25 – 45 micrones como determinó el análisis de Microtrac) y se dejó madurar durante 3 – 6 horas a 62 – 68 °C. La suspensión se enfrió a 20 – 25 °C durante al menos 2 horas. La suspensión se cargó con 0,48 L de isopropanol durante un mínimo de 2 horas mientras se mantiene una temperatura entre 20 – 25 °C. La suspensión se enfrió entre 15 °C y 20 °C durante al menos 2 horas. La suspensión se filtró entre – 15 °C y 20 °C y la torta húmeda se lavó con isopropanol acuoso (contenido mínimo de agua 8 % en peso). La torta húmeda se secó a una temperatura máxima de 45 °C *in vacuo* para producir fosfato monohidratado de Sitagliptina.

Ejemplo 17: Proceso V para incrementar la conversión del sustrato de cetoamida en Sitagliptina

[0295] El siguiente ejemplo ilustra un quinto proceso a gran escala utilizado para incrementar la conversión del sustrato de cetoamida en un producto de base libre de Sitagliptina y la posterior preparación del fosfato de

Sitagliptina. Normalmente, el proceso a gran escala utiliza el mismo equipo y condiciones descritas en el Ejemplo 16 aunque con algunas modificaciones que se detallan a continuación.

[0296] La solución tampón se preparó añadiendo 50,68 L de solución isopropilamina 4 M, 58, 1 L de agua y 3,36 L de trietanolamina a 20 – 25 °C. El pH del tampón se ajustó a 8,8 – 9,2 a 20 – 25 °C utilizando ácido clorhídrico 12 N. La mezcla se cargó con 0,11 kg de PLP y 1,40 kg de enzima transaminasa de la SEC ID N° 110 a 20 – 25 °C. El PLP y la enzima se disolvieron mediante agitación (se confirma a los 30 min). A continuación, se cargó 61,76 L de DMSO en la mezcla a 20 – 46 °C. La mezcla se calentó a 44 – 46 °C, una vez alcanzada dicha temperatura, se cargó solución de isopropilamina 4 M para ajustar el pH a 8,4 – 8,7.

[0297] El sustrato de cetoamida (35.000 kg) se disolvió en 41,18 L de DMSO y esta solución de DMSO / cetoamida se añadió a la mezcla aproximadamente durante 2 – 3 horas. La mezcla se dejó actuar a 44 – 46 °C con un pH de 8,4 – 8,7 durante otras 12 – 22 horas. Durante la adición de la solución de DMSO / cetoamida y su posterior maduración, la presión del reactor varió para eliminar la acetona (condiciones de presión normales para la eliminación de acetona: ~ 325 – 350 mm vacío Hg y ~ 3 – 6 scfm barrido de espacio de cabeza con nitrógeno). Además, durante el curso de la reacción, se cargó con solución de isopropilamina 4 M cuanto fuese necesario para mantener el pH entre 8,4 – 8,7. Los resultados de la conversión de reacción fueron entre un 88 – 93 % tras 15 – 17 horas de tiempo de reacción total que incluye el tiempo de transferencia de DMSO / cetoamida.

[0298] La reacción se enfrió llenando 5,60 kg de lechada de Solka floc en 42 L de agua. Tras llenar el Solka floc, se cargó ácido clorhídrico 12 N en la mezcla hasta alcanzar un pH de 2 – 3. La reacción se agitó a 44 – 46 °C con un pH de 2 – 3 durante 3 horas. La mezcla se filtró a 44 – 46 °C y la torta sobrante se lavó con 154 L con solución de ácido clorhídrico 0,01 N.

[0299] El filtrado combinado y la solución de lavado se enfriaron a 15 – 25 °C y se añadió 210 L de acetato de isopropil (IPAc). El pH de la mezcla se ajustó a 10,5 – 11,5 con hidróxido de sodio 19 N. La mezcla se agitó a 15 – 25 °C, se sedimentó, y se separó (Extracción # 1). La capa orgánica superior se apartó y la capa acuosa inferior se extrajo con 105 L de IPAc a 15 – 25 °C (Extracción # 2). Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con 17,50 L de agua a 32 – 38 °C (Extracción # 3). La capa orgánica resultante produjo 29,44 kg de análisis de corriente de crudo de base libre de Sitagliptina (~ 85,9 % de rendimiento de análisis).

[0300] La corriente de crudo de base libre, 294,40 L en 100 g / L (29,44 kg, 72,28 mol), se concentró al vacío (30 – 60 mmHg) en 121,59 L a 20 – 35 °C. La mezcla se disolvió cambiando de isopropanol utilizando 182,39 L a isopropanol. La mezcla se cargó con 19,72 L de agua para disolver todos los sólidos. A continuación, se añadió a la mezcla 15,87 kg de ácido fosfórico acuoso al 45 % en peso, que se calentó a 72 – 80 °C para que se disolviera. La solución de la mezcla se enfrió a 62 – 66 °C y se sembró con 0,19 kg de fosfato monohidratado de Sitagliptina triturada. La mezcla se dejó madurar durante 3 horas a 62 – 66 °C y se enfrió a 20 – 25 °C durante 2 horas. La mezcla se cargó con 34,40 L de isopropanol durante 2 horas mientras se mantenga la temperatura de la mezcla a 20 – 25 °C. La mezcla se enfrió entre – 15 °C y 0 °C durante 2 horas. La suspensión se filtró entre – 15 °C y 0 °C y la torta húmeda se lavó con 70,05 L de isopropanol acuoso (8 % de agua en ps mínimo). La torta húmeda se secó a 40 °C *in vacuo* para producir el fosfato monohidratado de Sitagliptina (37,34 kg físico, rendimiento ~ 98 %).

[0301] Si bien se han ilustrado y descrito numerosas realizaciones específicas, se apreciará aquellos cambios que puedan realizarse sin desviarse del alcance de las reivindicaciones.

LISTADO SECUENCIAL

<110> SAVILE, Christopher
MUNDORFF, Emily
MOORE, Jeffrey C.
DEVINE, Paul N.
JANEY, Jacob M.

<120> BIOCATALIZADOR TRANSAMINASA

<130> 376247-035WO

<150> 61/155,902

<151> 2009-02-26

<160> 168

<170> Patente en versión 3.5

<210> 1

<211> 993

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ATA117

<400> 1

```

atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat      60
atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaacccgc tggctggtgg tgcctgcttg      120
atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac      180
ctgcactctg acgttaccta caccgttttc caccgttgga acggtaacgc tttccgtctg      240
gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg      300
accaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa      360
gcattcgttt ctgtttctat caccgtggt tactcttcta cccagggtga acgtgacatc      420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttcgt accagtggat cgtaccgttt      480
gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt      540
tcttctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcagttcag      600
gaaaccacg accgtggttt cgaagctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct      660
gaagggtctg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt      720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac      780
gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgtgacga agttctgggt      840
tgcactaccg ctggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac      900
ggtgttccgg gtccggttac ccagtcctat atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa      960

```

5 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac taa 993

<210> 2
 10 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 15 <223> ATA117

<400> 2

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu His Ser Asp
 50 55 60

Val Thr Tyr Thr Val Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Phe Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Gly Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Val Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Ala Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Ser Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Thr Thr Ala Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 45
 <210> 3
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 55
 <400> 3
 atggcctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgcctgcttg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgcactctg acgttaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcagtcgttt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccaggtga acgtgacatc 420
 65

accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 5 gaccgcatcc gtgacgggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgctcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcagttcag 600
 gaaacccacg accgtgggtt cgaagctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 10 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacgggtg ttgttcggtc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 15 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgcactaccg gtgggtgggtgt ttggccggtc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 20 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

25 <210> 4
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 4

35 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

45 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

50 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu His Ser Asp
 50 55 60

55 Val Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

60 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95

65 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

70 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Val Val Ser Val Ser Ile Thr

	115		120		125											
5	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Gly	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
	130						135					140				
10	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Tyr	Ala	Val	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
15	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Ala	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg
					165					170					175	
20	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
25	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Val	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
30	Ala	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Gly	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
	210						215					220				
35	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
40	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
45	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
50	Leu	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
		275						280					285			
55	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Pro	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
	290						295					300				
60	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu
	305					310					315					320
65	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Thr	Pro	Val	Gln	Tyr						
				325						330						
	<210>	5														
	<211>	990														
	<212>	ADN														
	<213>	Secuencia Artificial														

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 5

atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggctggtgg tgetgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgcactctg acgtaccta caccgggttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgtctg 300
 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccagggtga acgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcagttcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgaagctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 gaaggccggg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgcactaccg ctggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgetgacccc ggtacagtac 990

<210> 6

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 6

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

5 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu His Ser Asp
 50 55 60
 10 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 15 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95
 20 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 25 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 30 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Gly Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 35 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 40 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 45 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 50 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Val Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 55 Ala Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 60 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 65 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Thr Thr Ala Gly Gly Val Trp
 275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 7
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

<400> 7
atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgctgcttgg 120
atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
ctgcactctg acgttaccta caccgttttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg 300
accaagacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga gctgctgaa 360
gcattagttt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccaggtga acgtgacatc 420
accaaaccac gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgctg 540
tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcagttcag 600
gaaaccacg accgtggttt cgaagctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggcatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggtgacat caccctgggt gaactgctgg acgtgacga agttctgggt 840
tgactaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 8
<211> 330
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 8

5

10 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

15 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

20 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

25 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu His Ser Asp
50 55 60

30 Val Thr Tyr Thr Val Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

35 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
85 90 95

40 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

45 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Leu Val Ser Val Ser Ile Thr
115 120 125

50 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Gly Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

55 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

60 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

65 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Val Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Ala Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val	Ile Lys Asp Gly Val	Val Arg Ser Pro Gly Arg	
	225	230	235	240
10	Ala Ala Leu Pro Gly	Ile Thr Arg Lys Thr	Val Leu Glu Ile Ala Glu	
		245	250	255
15	Ser Leu Gly His Glu	Ala Ile Leu Ala Asp	Ile Thr Leu Ala Glu Leu	
		260	265	270
20	Leu Asp Ala Asp Glu	Val Leu Gly Cys Thr	Thr Gly Gly Gly Val Trp	
		275	280	285
25	Pro Phe Val Ser Val	Asp Gly Asn Pro Ile	Ser Asp Gly Val Pro Gly	
		290	295	300
30	Pro Val Thr Gln Ser	Ile Ile Arg Arg Tyr	Trp Glu Leu Asn Val Glu	
		305	310	315
35	Ser Ser Ser Leu Leu	Thr Pro Val Gln Tyr		
		325	330	
40	<210> 9			
	<211> 990			
	<212> ADN			
	<213> Secuencia Artificial			
45	<220>			
	<223> Variante de ATA117			
50	<400> 9			
	atggcctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
	atcacctact ctgactacga actggaccog gctaaccgcg tggttggtgg tgctgcttgg			120
	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
	ctgcactctg acgttaccta caccgttttc caccgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg			300
	acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
	gcaatcgttt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccaggtga acgtgacatc			420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt			540
	tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcagttcag			600

5 gaaacccacg accgtggttt cgaagctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 10 tgcactaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 15 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

20 <210> 10
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 10

30 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

35 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

40 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu His Ser Asp
 50 55 60

45 Val Thr Tyr Thr Val Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

50 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95

55 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

60 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Gly Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

65

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

5 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Val Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

20 Ala Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
210 215 220

25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
225 230 235 240

30 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

35 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
260 265 270

40 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Thr Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

45 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

50 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

55 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 11
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

60 <220>
<223> Variante de ATA117

<400> 11
atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat

65

atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgc tggttggtgg tgctgcttgg 120
 5 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgcactctg acgttaccta caccgttttc caggtttgga acggtaacgc tttcgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgtg 300
 10 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcattagttt ctgtttctat caccgtggt tactcttcta cccagggtga acgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagg ctgttcgtcg tactccgct 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcagttcag 600
 20 gaaacccaacg accgtgggtt cgaagctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 30 tgcactaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttcogg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

35
 <210> 12
 <211> 330
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

45 <400> 12

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

50 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

55 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

60 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu His Ser Asp
 50 55 60

65 Val Thr Tyr Thr Val Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

	65		70		75		80									
5	Asp	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Met	Arg	Ile
					85					90					95	
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Leu	Val	Ser	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Gly	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
		130					135					140				
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Tyr	Ala	Val	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
30	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Ala	Met	Val	Ala	Gln	Ala	Val	Arg
					165					170					175	
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Val	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
45	Ala	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Gly	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
		210					215					220				
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
65	Leu	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
			275					280					285			
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Pro	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
		290					295					300				
75	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu

	305	310	315	320
5	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr			
		325	330	
10	<210> 13 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
15	<220> <223> Variante de ATA117			
20	<400> 13 atggcctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
	atcacctact ctgaccacga actggaccgc gtaaacccgc tggctgggtg tgcctgcttg			120
	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
25	ctgcactctg acgctaccta caccgggttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgtg			300
	accaggagc aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
30	gcaatcggtt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccagggtga acgtgacatc			420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
35	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt			540
	tcttctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggtg acctgatccg tgcagttcag			600
	gaaaccacg accgtgggtt cgaggctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct			660
40	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacgggt ttgttcgttc tccgggtcgt			720
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac			780
45	gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt			840
	tgcactaccg gtgggtgggt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac			900
50	ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa			960
	tcttcttctc tgcctgacccc ggtacagtac			990
55	<210> 14 <211> 330 <212> PRT <213> Secuencia Artificial			
60	<220> <223> Variante de ATA117			
65	<400> 14			

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

5	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu	245	250	255
10	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu	260	265	270
15	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Thr Thr Gly Gly Gly Val Trp	275	280	285
20	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	290	295	300
25	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	305	310	315
30	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330	
35	<210> 15			
40	<211> 990			
45	<212> ADN			
50	<213> Secuencia Artificial			
55	<220>			
60	<223> Variante de ATA117			
65	<400> 15			
70	atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
75	atcacctact ctgaccacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120
80	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
85	ctgacttctg acgctaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
90	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgtg			300
95	accaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
100	gcaatcgttt ctgtttctat caccgtggt tactcttcta cccagggtga acgtgacatc			420
105	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
110	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg ttctccgcgt			540
115	tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcattggcag			600
120	gaaaccacg accgtggttt cgaggctccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct			660
125	gaagggtccg gttacaacgt tggtgttata aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt			720
130	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac			780

gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 5 tgetcaaccg gtgggtggtg ttggcgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
 10
 <210> 16
 <211> 330
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 20 <400> 16
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 25 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 30 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 35 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 50 55 60
 40 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95
 45 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Gly Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 60 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 65

	165	170	175	
5	Arg Ser Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190			
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Trp Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205			
15	Ala Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220			
20	Tyr Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240			
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255			
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu 260 265 270			
35	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
50	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
55	<210> 17 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
60	<220> <223> Variante de ATA117			
65	<400> 17 atggcttttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60 atcacctact ctgaccacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgctgcttgg 120 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180 ctgttctctg acgctaccta caccgggttc cagtttggga acggtaacgc tttccgtctg 240			

	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg	300
5	accaggagcg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa	360
	gcagtagttt ctgtttctat caccgctggt tactcttcta ccccatatga gcgtgacatc	420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt	480
10	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgctg tactccgctg	540
	tcttctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag	600
15	gaaaccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct	660
	gaagggtccg gttacaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt	720
20	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac	780
	gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt	840
	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggcggttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac	900
25	ggtgttccg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa	960
	tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac	990
30	<210> 18 <211> 330 <212> PRT <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> Variante de ATA117	
40	<400> 18 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr 1 5 10 15	
45	Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn 20 25 30	
50	Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro 35 40 45	
55	Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Phe Ser Asp 50 55 60	
60	Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu 65 70 75 80	
65	Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile 85 90 95	

5 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Val Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 10 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 15 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 20 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 25 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 30 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 35 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 40 Tyr Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 45 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 50 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 55 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 60 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 65 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

<210> 19
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 19
 atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgaccacga actggacccg gctaaccgc tggttggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgacctctg acgctaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcagtagttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta ccccatatac tcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgatga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 20
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 20

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn

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

	260	265	270	
5	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
20	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
25	<210> 21 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
30	<220> <223> Variante de ATA117			
35	<400> 21 atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat atcacctact ctgaccacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccaggggttac ctgacctctg acgctacctc caccggggtc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg accaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa gcaatcgttt ctgtttctat caccggtggg tactcttcta ccccatatat tcgtgacatc accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgctg tactccgcgt tcttctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac ggtgttcggg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa	60 120 180 240 300 360 420 480 540 600 660 720 780 840 900 960		
65				

tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac

990

5 <210> 22
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 22

15 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

20 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

25 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

30 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 50 55 60

35 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

40 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95

45 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Ile Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

60 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

65 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

70 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 45
 <210> 23
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 55
 <400> 23
 atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgaccacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgacctctg acgctaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg 300
 60
 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccggtggg tactcttcta ccccatatac tcgtgacatc 420
 65

5 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 10 gaaacccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gttacaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 15 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 20 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

25 <210> 24
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 24

35 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

45 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

50 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 50 55 60

55 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

60 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95

65 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

65 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr

	115	120	125
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Thr Arg Asp Ile Thr Lys His Arg 130 135 140		
10	Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe 145 150 155 160		
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg 165 170 175		
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190		
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205		
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220		
35	Tyr Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240		
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255		
45	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu 260 265 270		
50	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285		
55	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300		
60	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320		
65	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330		
	<210> 25		
	<211> 990		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 25

```

atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat      60
atcacctact ctgaccacga actggacccg gctaaccgcg tggctggtgg tgcctgcttg      120
atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac      180
ctgcactctg acgctaccta caccgggttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg      240
gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg      300
accaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa      360
gcagtagttt ctgtttctat caccgtggt tactcttcta cccatatat tctgacatc      420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt      480
gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagg ccgttcgtcg tactccgct      540
tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag      600
gaaaccacg accgtggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct      660
gaagggtccg gtttcaacgt tgttgtgtc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt      720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac      780
gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt      840
tgactaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac      900
ggtgttccg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa      960
tcttcttctc tgcctgacccc ggtacagtac      990

```

<210> 26

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 26

```

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1           5           10           15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
                20           25           30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
          35           40           45

```

	Ser	Glu	Ala	Arg	Ile	Ser	Ile	Phe	Asp	Gln	Gly	Tyr	Leu	His	Ser	Asp
	50						55					60				
5	Ala	Thr	Tyr	Thr	Gly	Phe	His	Val	Trp	Asn	Gly	Asn	Ala	Phe	Arg	Leu
	65					70					75					80
10	Asp	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Met	Arg	Ile
					85					90					95	
15	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
20	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Val	Val	Ser	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
25	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Tyr	Ile	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
	130						135					140				
30	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Tyr	Ala	Val	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
35	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Ala	Met	Val	Ala	Gln	Ala	Val	Arg
					165					170					175	
40	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
45	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
50	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Gly	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
	210						215					220				
55	Phe	Asn	Val	Val	Val	Val	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
60	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
65	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
70	Leu	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Thr	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
		275						280					285			

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 27
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

<400> 27
atggcctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgaccacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgctgcttgg 120
atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
ctgacctctg acgctaccta caccgggttc caggtttgga acggtaacgc tttcgtctg 240
gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg 300
accaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
gcacatgttt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccatataat tcgtgacatc 420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctgggt 660
gaagggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 28
<211> 330
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 28

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala His Val Ser Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Ile Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val	Ile Lys Asp Gly Val	Val Arg Ser Pro Gly Arg	
	225	230	235	240
10	Ala Ala Leu Pro Gly	Ile Thr Arg Lys Thr	Val Leu Glu Ile Ala Glu	
		245	250	255
15	Ser Leu Gly His Glu Ala	Ile Leu Ala Asp Ile Thr	Leu Ala Glu Leu	
		260	265	270
20	Leu Asp Ala Asp Glu Val	Leu Gly Cys Ser Thr Gly	Gly Gly Val Trp	
		275	280	285
25	Pro Phe Val Ser Val Asp	Gly Asn Pro Ile Ser Asp	Gly Val Pro Gly	
		290	295	300
30	Pro Val Thr Gln Ser Ile	Ile Arg Arg Tyr Trp	Glu Leu Asn Val Glu	
		310	315	320
35	Ser Ser Ser Leu Leu Thr	Pro Val Gln Tyr		
		325	330	
40	<210> 29			
	<211> 990			
	<212> ADN			
	<213> Secuencia Artificial			
45	<220>			
	<223> Variante de ATA117			
50	<400> 29			
	atggccttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
55	atcacctact ctgaccacga actggaccgg gctaaccggc tggctgggtg tgctgcttgg			120
	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
60	ctgacctctg acgctaccta caccacgttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgtg			300
65	acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
	gcaatcggtt ctgtttctat caccggtggg tactcttcta cccatatat tcgtgacatc			420
70	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt			540
75	tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			600

gaaaccacg accgtggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
5 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
10 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtggtggtgt ttggcgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
ggtgttccgg gtccggttac ccagctctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
15 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 30
20 <211> 330
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
25 <223> Variante de ATA117

<400> 30

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
30 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
35 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
40 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
50 50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
45 65 70 75 80

Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
50 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
55 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
60 115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Ile Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
65 130 135 140

5 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 20 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 30 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 35 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 40 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 45 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 50 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 <210> 31
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 60 <400> 31
 atggcttttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat
 65

atcacctact ctgaccacga actggacccg gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 5 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgacctctg acgtaccta cacctgtttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgtctg 300
 10 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta ccccatatat tcgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 20 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggtgacat caccctgggt gaactgctgg acgtgacga agttctgggt 840
 30 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 35 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 32
 <211> 330
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

45 <400> 32

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Cys Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

	65					70										75						80
5	Asp	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Met	Arg	Ile						
					85					90					95							
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu						
				100					105					110								
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Ile	Val	Ser	Val	Ser	Ile	Thr						
			115					120					125									
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Tyr	Ile	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg						
		130					135					140										
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Tyr	Ala	Val	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe						
	145					150					155					160						
30	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Ala	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg						
					165					170					175							
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp						
				180					185					190								
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu						
			195					200					205									
45	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Gly	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly						
		210					215					220										
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg						
	225					230					235				240							
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu						
					245					250					255							
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu						
				260					265					270								
65	Leu	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp						
		275						280					285									
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Pro	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly						
		290					295					300										
75	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu						

	305	310	315	320	
5	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr				
		325		330	
10	<210> 33				
	<211> 990				
	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
15	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
	<400> 33				
20	atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat				60
	atcacctact ctgaccacga actggaccgg gctaacccgc tggtctggtg tgctgcttgg				120
	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac				180
25	ctgacctctg acgctaccta caccgctttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg				240
	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg				300
30	accaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa				360
	gcaatcgttt ctgtttctat caccgctggg tactcttcta ccccatatat tctgacatc				420
35	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt				480
	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt				540
	tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag				600
40	gaaaccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct				660
	gaagggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt				720
45	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac				780
	gaagctatcc tggtgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt				840
	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac				900
50	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa				960
	tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac				990
55	<210> 34				
	<211> 330				
	<212> PRT				
60	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
65	<400> 34				

1 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 5 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 10 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 15 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 20 Ala Thr Tyr Thr Ala Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 25 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 30 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 35 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 40 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Ile Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 45 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 50 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 55 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 60 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 65 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
260 265 270

Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 35

<211> 990

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 35

atggctttct	ctgctgacac	ctctgaaatc	gtttacaccc	acgacaccgg	tctggactat	60
atcacctact	ctgaccacga	actggaccgc	gctaaccgcg	tggttggtgg	tgctgcttgg	120
atcgaagggtg	ctttcgttcc	gccgtctgaa	gctcgtatct	ctatcttcga	ccagggttac	180
tatacctctg	acgctaccta	caccgggttc	cacgtttgga	acggtaacgc	tttccgtctg	240
gacgaccaca	tcgaacgtct	gttctctaac	gctgaatcta	tcggtatcat	cccgcgctg	300
accaggacg	aagttaaaga	aatcgctctg	gaactgggtg	ctaaaaccga	actgcgtgaa	360
gcaatcgttt	ctgtttctat	caccgctggg	tactcttcta	ccccatatat	tcgtgacatc	420
accaaacatc	gtccgcaggt	ttacatgtac	gctgttccgt	accagtggat	cgtaccgttt	480
gaccgcatcc	gtgacgggtg	tcacgctatg	gttgctcagt	ctgttcgtcg	tactccgcgt	540
tcttctatcg	accgcaggt	taaaaacttc	cagtgggggtg	acctgatccg	tgcaattcag	600
gaaaccacg	accgtgggtt	cgagctgccg	ctgctgctgg	acggtgacgg	tctgctggct	660
gaagggtccg	gtttcaacgt	tggtgttatc	aaagacgggtg	ttgttcgttc	tccgggtcgt	720
gctgctctgc	cgggtatcac	ccgtaaaacc	gttctggaaa	tcgctgaatc	tctgggtcac	780

gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 5 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaacc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
 10
 <210> 36
 <211> 330
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 20 <400> 36
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 25 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 30 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 35 40 45
 35 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 40 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 45 85 90 95
 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Ile Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 60 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 65

	165	170	175	
5	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190			
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205			
15	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220			
20	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240			
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255			
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu 260 265 270			
35	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
50	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
55	<210> 37 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial <220> <223> Variante de ATA117 <400> 37			
60	atggcttttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
65	atcacctact ctgaccacga actggacctcg gctaaccgcg tggttggtgg tgctgcttgg			120
70	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatat ctattctcga ccagggttac			180
75	ctgtattctg acgctaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc ttccgtctg			240

gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg 300
 5 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccgcgtgt tactcttcta ccccatatat tcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 10 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 15 gaaacccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 gaaggccggg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 20 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtgggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaacc gatctctgac 900
 25 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

30 <210> 38
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Variante de ATA117

40 <400> 38

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

45 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

50 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

55 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Tyr Ser Asp
 50 55 60

60 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Met Arg Ile
 85 90 95

65

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 5
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 10
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Ile Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 15
 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 20
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 25
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 30
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 35
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Gly Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 40
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 45
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 50
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 55
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 60
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 65
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

5
 <210> 39
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 10
 <400> 39
 atggctttct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgaccacga actggacccg gctaaccgcg tggetggtgg tgctgcttgg 120
 15
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgacctctg acgctaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 20
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gctgaatcta tgcgtatcat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat cacccggtggt tactcttcta cccatttat tctgacatc 420
 25
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 30
 tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg acggtgacgg tctgctggct 660
 35
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 40
 tgctcaaccg gtggtggtgt ctggcgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 45
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

50
 <210> 40
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 55
 <400> 40
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 60
 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn

65

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

	260	265	270	
5	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
20	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
25	<210> 41 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
30	<220> <223> Variante de ATA117			
35	<400> 41 atggcattct atgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
40	atcacctact ctgaccacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120
45	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
50	ctgacctctg acgctaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
55	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgcgctg			300
60	accaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa			360
65	gcaatcgttt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccgtatac gcgtgacatc			420
70	accaaaccac gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
75	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt			540
80	tcttctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			600
85	gaaaccacac accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgatgg tctgctggt			660
90	gaagggtccgg gtttcaacgt tgttgttata aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt			720
95	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac			780
100	gaagctatcc tggtgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt			840
105	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac			900
110	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa			960

tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac

990

5 <210> 42
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 42
 15 Met Ala Phe Tyr Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 20 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp His Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 25 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 30 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 50 55 60
 35 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 40 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
 85 90 95
 45 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Thr Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 60 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 65 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 45
 <210> 43
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 55
 <400> 43
 atggcattct ctgctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctatt cggactacga actggatccg gctaaccgcg tggctggtgg tgetgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgacctctg acgctaccta caccgggttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtattat cccgccgtg 300
 60
 acccaggacg aagttaaaga aatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccctggtt tactcttcta ccccatatat tcgtgacatc 420
 65

accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 5 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgctc tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctaatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgatgg tctgctggct 660
 10 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 15 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 20 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

25 <210> 44
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 44

35 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

45 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

50 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 50 55 60

55 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

60 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
 85 90 95

65 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr

85

	115		120		125
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr	Pro Tyr Ile Arg Asp	Ile Thr Lys His Arg		
	130	135	140		
10	Pro Gln Val Tyr Met Tyr	Ala Val Pro Tyr Gln	Trp Ile Val Pro Phe		
	145	150	155	160	
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly	Val His Ala Met Val	Ala Gln Ser Val Arg		
		165	170	175	
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser	Ile Asp Pro Gln Val	Lys Asn Phe Gln Trp		
		180	185	190	
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala	Ile Gln Glu Thr His	Asp Arg Gly Phe Glu		
		195	200	205	
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp	Cys Asp Gly Leu Leu	Ala Glu Gly Pro Gly		
		210	215	220	
35	Phe Asn Val Val Val Ile	Lys Asp Gly Val Val	Arg Ser Pro Gly Arg		
		225	230	235	240
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile	Thr Arg Lys Thr Val	Leu Glu Ile Ala Glu		
		245	250	255	
45	Ser Leu Gly His Glu Ala	Ile Leu Ala Asp Ile	Thr Leu Ala Glu Leu		
		260	265	270	
50	Leu Asp Ala Asp Glu Val	Leu Gly Cys Ser Thr	Gly Gly Gly Val Trp		
		275	280	285	
55	Pro Phe Val Ser Val Asp	Gly Asn Pro Ile Ser	Asp Gly Val Pro Gly		
		290	295	300	
60	Pro Val Thr Gln Ser Ile	Ile Arg Arg Tyr Trp	Glu Leu Asn Val Glu		
		305	310	315	320
65	Ser Ser Ser Leu Leu Thr	Pro Val Gln Tyr			
		325	330		
	<210>	45			
	<211>	990			
	<212>	ADN			
	<213>	Secuencia Artificial			

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 45

atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctatt cggactacga actggatccg gctaaccgcg tggtcgggtg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgacctctg acgctaccta caccgggttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtattat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgtaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta ccccgatac gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgatgg tctgctggct 660
 gaaggccggg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaate tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttcggg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 46

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 46

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

ES 2 448 816 T3

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
 50 55 60
 5
 Ala Thr Tyr Thr Gly Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 10
 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
 85 90 95
 15
 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 20
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 25
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Thr Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 30
 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 35
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 40
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 45
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 50
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 55
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 60
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 65
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300

5 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320

10 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

15 <210> 47
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 47

25 atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 ctgacctctg acgctaccta cacctgtttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa 360
 35 gcaatcgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta ccccatatac gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 40 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 45 gaaggcccg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 50 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 55 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

60 <210> 48
 <211> 330
 <212> PRT

65

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 48

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Cys Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Thr Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg			
	225	230	235	240
10	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu			
		245	250	255
15	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu			
		260	265	270
20	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp			
		275	280	285
25	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly			
		290	295	300
30	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu			
		305	310	315
35	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr			
		325	330	
40	<210> 49			
	<211> 990			
	<212> ADN			
	<213> Secuencia Artificial			
45	<220>			
	<223> Variante de ATA117			
50	<400> 49			
	atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
55	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120
	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
60	ctgacctctg acgtaccta cacctgttcc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgctg			300
65	accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
	gcaatcgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta ccccatatac gcgtgacatc			420
70	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgctg tactccgctg			540
75	tcttccatcg accgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag			600

gaaacccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 50
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 50

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Cys Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Thr Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

5 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 20 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 30 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 35 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 40 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 45 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 50 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 <210> 51
 <211> 990
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 60 <223> Variante de ATA117
 <400> 51
 atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60

atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggctgggtg tgctgcttgg 120
 5 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gtcgttatct ctatcttcga ccagggttac 180
 tatacttctg acgctaccta cacctccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 10 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgtg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccgtggt tactcttcta cccattcac acgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctattccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtg tcaacgtatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 20 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 30 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctggtg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 35 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 52
 <211> 330
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

45 <400> 52

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

65 Ala Thr Tyr Thr Ser Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

	65		70		75		80									
5	Asp	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Ile	Arg	Ile
					85					90					95	
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Ile	Val	Ser	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Thr	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
		130					135					140				
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Tyr	Ala	Ile	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
30	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Ala	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg
					165					170					175	
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
45	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Cys	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
		210					215					220				
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
65	Leu	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
		275						280					285			
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Pro	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
		290					295					300				
75	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu

	305	310	315	320	
5	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr				
		325		330	
10	<210> 53				
	<211> 990				
	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
15	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
	<400> 53				
20	atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat				60
	atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggttggtgg tgctgcttgg				120
	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccaggggttac				180
25	tatactttctg acgtaccta cacctgtttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg				240
	gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgctg				300
30	accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa				360
	gcagtggttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcac acgtgacatc				420
	accaaaccatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt				480
35	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt				540
	tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag				600
40	gaaaccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct				660
	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt				720
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac				780
45	gaagctatcc tggtgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt				840
	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac				900
50	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa				960
	tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac				990
55	<210> 54				
	<211> 330				
	<212> PRT				
	<213> Secuencia Artificial				
60	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
	<400> 54				
65					

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

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

5 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
260 265 270

10 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

15 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

20 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

25 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 55
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

35 <400> 55
atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgc tggtggtgg tgetggttg 120
40 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
45 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgtg 300
actcaggacg aagttaaaga gatcgtctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
50 gcagtgggtt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccattcac acgtgacatc 420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgct 540
55 tcttctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
jaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
60 jaagggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
jctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780

85

gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
5 tgc tcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
ggtgttcggg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

10
<210> 56
<211> 330
<212> PRT
15 <213> Secuencia Artificial
<220>
<223> Variante de ATA117
20 <400> 56

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

5	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp	
	180 185 190	
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu	
	195 200 205	
15	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly	
	210 215 220	
20	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg	
	225 230 235 240	
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu	
	245 250 255	
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu	
	260 265 270	
35	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp	
	275 280 285	
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	
	290 295 300	
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	
	305 310 315 320	
50	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	
	325 330	
55	<210> 57	
	<211> 990	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Variante de ATA117	
60	<400> 57	
	atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat	60
65	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg	120
70	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac	180
75	tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg	240

gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgctg 300
 5 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 10 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgctg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 15 gaaacccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 gaagggtccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacgggtg ttgttcggtc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 20 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 25 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

30 <210> 58
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 58

40 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

45 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

50 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

55 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

80 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
 85 90 95

85

5 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 10 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 15 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 20 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 25 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 30 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 35 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 40 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 45 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 50 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 55 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 60 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 65 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

<210> 59
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 59
 atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgtg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcacatgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgctg 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 gaaggccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggtgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 60
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 60

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn

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

	260	265	270	
5	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
20	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
25	<210> 61 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
30	<220> <223> Variante de ATA117			
35	<400> 61 atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180 tatacctctg acgctaccta cacctgtttc cacgtttgga acggtaacgc ttccgctctg 240 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgctg 300 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360 gcaatcgttt ctgtttctat caccggtggt tactcttcta cccatatac gcgtgacatc 420 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgtta 480 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacttaatg gttgctcagt ctgttcgctg tactccgcgt 540 tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600 gaaacccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctgggt 660 gaagggtccg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780 gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840 tgctcaaccg gtgggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acgtaaccc gatctctgac 900 ggtgttccgg gtccggtaac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960			
65				

tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac

990

5

<210> 62

<211> 330

<212> PRT

10

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

15

<400> 62

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

20

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

25

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

30

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

35

Ala Thr Tyr Thr Cys Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

40

Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

45

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

50

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Thr Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

55

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Leu
 145 150 155 160

60

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

65

5 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

10 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
210 215 220

15 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
225 230 235 240

20 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

25 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
260 265 270

30 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

35 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

40 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

45 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 63
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

50 <400> 63
atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgetgcttgg 120
55 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
tatacctctg acgctaccta cacctgttcc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
60 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatctc tgcgtatcat cccgccgctg 300
acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
gcaatcgttt ctgtttctat caccggtggt tactcttcta ccccatatac gcgtgacatc 420

5 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacttaatg gttgctcagt ctgttcgctc tacgccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 10 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttata aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 15 gaagctatcc tggtgacat caccttggct gaactgctgg acgtgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 20 ggtgttccgg gtccgttaac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

25 <210> 64
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Variante de ATA117

35 <400> 64

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

45 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

50 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

55 Ala Thr Tyr Thr Cys Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

60 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Leu Arg Ile
 85 90 95

65 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr

	115		120		125
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Tyr Thr Arg Asp Ile Thr Lys His Arg	130	135	140	
10	Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe	145	150	155	160
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg	165	170	175	
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp	180	185	190	
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu	195	200	205	
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly	210	215	220	
35	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg	225	230	235	240
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu	245	250	255	
45	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu	260	265	270	
50	Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp	275	280	285	
55	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	290	295	300	
60	Pro Leu Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	305	310	315	320
65	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330		
	<210>	65			
	<211>	990			
	<212>	ADN			
	<213>	Secuencia Artificial			

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 65

atggctttct cagctgacac ctctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccaggggttac 180
 tatacttctg acgctaccta cacctgtttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgctg 300
 accctggacg aagttaaaga gatcgtctct gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgttc gctattccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540
 tcttctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 66

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 66

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Ser Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 5
 Ala Thr Tyr Thr Cys Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 10
 Asp Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
 85 90 95
 15
 Ile Pro Pro Leu Thr Leu Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 20
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 25
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 30
 Pro Gln Val Tyr Met Phe Ala Ile Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 35
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 40
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 45
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 50
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 55
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 60
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 65
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu
 260 265 270
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

5 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

10 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

15 Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

20 <210> 67
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Variante de ATA117

30 <400> 67

atggcctttct cagctgacac cccggaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60

atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctgggtg tgctgcttgg 120

atcgaagggtg ctttcgttcc ggcgctctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180

tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacggttgga acggtaacgc tttccgtctg 240

ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta ttcggttgat cccgccgtg 300

35 accaaagacg aagttaaaga gatcgtctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa 360

gcaatcggtt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420

40 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480

gaccgcgtcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt 540

agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600

45 gaaaccacg accgtggttt cgagctgccg attctgctgg actgcgaaa cctgctggct 660

gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720

50 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gtttttgaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780

gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgtatg acgctgacga agttctgggt 840

tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900

55 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960

ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

60 <210> 68
<211> 330
<212> PRT

65

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 68

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Ala
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Lys Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Val Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Leu Pro Ile Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg			
	225	230	235	240
10	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Phe Glu Ile Ala Glu			
		245	250	255
15	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Leu Ala Glu Leu			
		260	265	270
20	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp			
		275	280	285
25	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Pro Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly			
		290	295	300
30	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu			
		305	310	315
35	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr			
		325	330	
35	<210> 69			
	<211> 990			
	<212> ADN			
	<213> Secuencia Artificial			
40	<220>			
	<223> Variante de ATA117			
45	<400> 69			
	atggctttct cagctgacac cccggaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
	atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctggagg tgctgcttgg			120
	atcgaaggtg ctttcgttcc ggcgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
50	tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta ttcgtattat cccgccgtg			300
55	accaggacg aagttaaaga gatcgtctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
	gcaatcgttt ctgtttctat caccggtggg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
60	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgcgt			540
	agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			600
65				

5 gaaacccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 10 gaagctatcc tggtgacat caccgccggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
 ggtgttcogg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 15 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

20 <210> 70
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 70

30 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

35 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

40 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Ala
 35 40 45

45 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

50 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

55 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Ile
 85 90 95

60 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

65 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

70 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 5 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 20 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 30 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 35 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 40 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 45 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 50 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 <210> 71
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 71
 atggcctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat

atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 5 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 gacgaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatcta tccgtatcat cccgccgtg 300
 10 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtac gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg tactccgct 540
 tcttctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 20 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct 660
 gaagggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 30 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaccc gatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcggt actgggaact gaacgttgaa 960
 tcttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
 35

<210> 72

<211> 330

<212> PRT

40 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

45 <400> 72

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

50 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

55 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

60 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Tyr Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

65 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

	65		70		75		80									
5	Asp	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Ile	Arg	Ile
				85					90						95	
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Ile	Val	Ser	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
		130					135					140				
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Tyr	Ala	Val	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
30	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Ala	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg
					165					170					175	
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
45	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Cys	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
		210					215					220				
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
65	Leu	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
		275						280					285			
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Pro	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
		290					295					300				
75	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu

	305	310	315	320
5	Ser Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330	
10	<210> 73 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
15	<220> <223> Variante de ATA117			
20	<400> 73 atggcctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
25	atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120
30	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggttac			180
35	tatacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
40	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatctt tgcgtttgat cccgccgtg			300
45	accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa			360
50	gcaatcgttt ctgtttctat cacccggtgt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420
55	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt			480
60	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacgctatg gttgctcagt ctgttcgtcg ttccccgcgt			540
65	agctctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag			600
70	gaaaccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct			660
75	gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt			720
80	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac			780
85	gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt			840
90	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaact tatctctgac			900
95	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa			960
100	ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac			990
105	<210> 74 <211> 330 <212> PRT <213> Secuencia Artificial			
110	<220> <223> Variante de ATA117			
115	<400> 74			

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

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
260 265 270

Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 75

<211> 990

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 75

atggctttct	cagctgacac	ccctgaaatc	gtttacaccc	acgacaccgg	tctggactat	60
atcacctact	ctgactacga	actggaccgg	gctaaccggc	tggtctggtg	tgctgcttgg	120
atcgaagggtg	ctttcggttc	gccgtctgaa	gctcgatatc	ctatcttcga	ccagggtttt	180
tatactttctg	acgtaccta	caccaccttc	cacgtttgga	acggtaacgc	tttccgtctg	240
ggggaccaca	tcgaacgtct	gttctctaac	gcggaatcta	ttcgtttgat	cccgccgctg	300
accagggacg	aagttaaaga	gatcgctctg	gaactgggtg	ctaaaaccga	actgcgtgaa	360
gcaatcgttt	ctgtttctat	caccgcgtgt	tactcttcta	ccccattcga	gcgtgacatc	420
accaaacatc	gtccgcaggt	ttacatgtat	gctctgccgt	accagtggat	cgtaccgttt	480
gaccgcatcc	gtgacggtgt	tcacgctatg	gttgctcagt	ctgttcgtcg	ttccccgcgt	540
agctctatcg	accgcaggt	taaaaacttc	cagtgggggtg	acctgatccg	tgcaattcag	600
gaaaccacg	accgtggttt	cgagctgccg	ctgctgctgg	actgcgacaa	cctgctggct	660
gaagggtccg	gtttcaacgt	tggtgttatc	aaagacggtg	ttgttcgttc	tccgggtcgt	720
gctgctctgc	cgggtatcac	ccgtaaaacc	gtttttgaaa	tcgctgaatc	tctgggtcac	780

gaagctatcc tggctgacat cccccggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 5 tgetcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

10 <210> 76
 <211> 330
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 20 <400> 76

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

25 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

30 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

35 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

40 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

45 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

60 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Leu Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

65 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Ala Met Val Ala Gln Ser Val Arg

	165	170	175	
5	Arg Ser Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190			
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205			
15	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220			
20	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240			
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Phe Glu Ile Ala Glu 245 250 255			
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu 260 265 270			
35	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
50	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
55	<210> 77 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
60	<220> <223> Variante de ATA117			
65	<400> 77 atggcttttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggttggtgg tgctgcttgg atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgatatc ctatcttcga ccagggtttt tatacttctg acgctacctc caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc ttccgctctg	60 120 180 240		

5 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatctt tgcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcaatcgttt ctgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 10 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt ctgttcgtcg ttccccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 15 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 20 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgctgg acgctgacga agttctgggt 840
 25 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gttactgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

30
 <210> 78
 <211> 330
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

40 <400> 78

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

45 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

50 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

55 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

60 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

65 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Leu Arg Leu
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 5
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 10
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 15
 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 20
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 25
 Arg Ser Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 30
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 35
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 40
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 45
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 50
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 55
 Leu Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 60
 Pro Phe Val Thr Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 65
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

<210> 79
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 79
 atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggtggtgg tgcgtcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcgatcgttt ctgtttctat caccgcgtgg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaagggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggt ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaacct tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 80
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 80

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn

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

	260	265	270	
5	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
20	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
25	<210> 81 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
30	<220> <223> Variante de ATA117			
35	<400> 81			
40	atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat	60		
45	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctgggtg tgctgcttgg	120		
50	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt	180		
55	tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg	240		
60	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaac gcggaatctt tgcgtttgat cccgccgctg	300		
65	accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa	360		
70	gcaatcgttt ctgtttctat caccgcgtgg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc	420		
75	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt	480		
80	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt ctgttcgtcg ttccccgcgt	540		
85	agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag	600		
90	gaaacccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacgg tctgctggct	660		
95	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt	720		
100	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac	780		
105	gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt	840		
110	tgctcaaccg gtgggtggtg ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac	900		
115	ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa	960		

ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac

990

5 <210> 82
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 82

15 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

20 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

25 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

30 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

35 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

40 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Leu Arg Leu
 85 90 95

45 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

60 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

65 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

Arg Ser Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Gly Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 45
 <210> 83
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 55
 <400> 83
 atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgatatc ctatcttcga ccagggtttt 180
 tataacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acgtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 60
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatcggtta ctgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 65

accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 5 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 10 gaaaccacag accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaagggtccgg gtttcaacgt tgttgttata aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 15 gaagctatcc tggtgacat caccgccggt gaactgtacg acgtgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 20 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

 25 <210> 84
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 30 <220>
 <223> Variante de ATA117

 <400> 84

 35 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

 40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

 45 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

 50 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

 55 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

 60 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

 65 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Thr Val Ser Ile Thr

	115		120		125	
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg					
	130		135		140	
10	Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe					
	145		150		155	160
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg					
		165		170		175
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp					
		180		185		190
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu					
		195		200		205
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly					
		210		215		220
35	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg					
		225		230		235
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu					
		245		250		255
45	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu					
		260		265		270
50	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp					
		275		280		285
55	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly					
		290		295		300
60	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu					
		305		310		315
65	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr					
		325		330		
	<210>	85				
	<211>	990				
	<212>	ADN				
	<213>	Secuencia Artificial				

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 85

atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggtgtgtgg tgctgcttgg 120
atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgtaa 360
gcgacgttcc atgtttctat caccggtggg tactcttcta cccatttcga gcgtgacatc 420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcaccc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
gaaaccacag accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtgggtggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 86

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 86

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15
Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30
Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 5
 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 10
 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 15
 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 20
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val His Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 25
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 30
 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 35
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 40
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 45
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 50
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 55
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 60
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 65
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 87
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

<400> 87
atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggtctgtgg tgctgcttgg 120
atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
accaggagcg aagttaaaga gatcgtctct gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa 360
gcgatcgta atgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgct 540
agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
gaaaccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggt ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggtgacat caccctgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
ggtgttcggg gtccggttac ccagtctatc atcgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
cttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 88
<211> 330
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 88

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Asn Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val	Ile Lys Asp Gly Val	Val Arg Ser Pro Gly Arg	
	225	230	235	240
10	Ala Ala Leu Pro Gly	Ile Thr Arg Lys Thr	Val Leu Glu Ile Ala Glu	
		245	250	255
15	Ser Leu Gly His Glu	Ala Ile Leu Ala Asp	Ile Thr Pro Ala Glu Leu	
		260	265	270
20	Tyr Asp Ala Asp Glu	Val Leu Gly Cys Ser Thr	Gly Gly Gly Val Trp	
		275	280	285
25	Pro Phe Val Ser Val	Asp Gly Asn Ser Ile Ser	Asp Gly Val Pro Gly	
		290	295	300
30	Pro Val Thr Gln Ser	Ile Ile Arg Arg Tyr Trp	Glu Leu Asn Val Glu	
		310	315	320
35	Pro Ser Ser Leu Leu	Thr Pro Val Gln Tyr		
		325	330	
40	<210> 89			
	<211> 990			
	<212> ADN			
	<213> Secuencia Artificial			
45	<220>			
	<223> Variante de ATA117			
50	<400> 89			
	atgggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
55	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120
	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt			180
60	tatacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg			300
65	accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
	gcgatcgttt ctgtttctat caccgctggg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420
70	accaaaccatc gtccgcaggt ttacatgcat gctgttcctg accagtggat cgtaccgttt			480
	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt			540
75	agctctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag			600

gaaacccacg accgtggttt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 5 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 10 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaacct tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 15 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 90
 <211> 330
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 25 <223> Variante de ATA117

<400> 90

30 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

35 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

40 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

45 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

50 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

55 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

60 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

65 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Ile Val Ser Val Ser Ile Thr
 115 120 125

70 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

5 Pro Gln Val Tyr Met His Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 20 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 30 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 35 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 40 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 45 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 50 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 55 <210> 91
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 91
 atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat

5 ataacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tataacttctg acgctaccta caccaccttc cacgttttga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgtctg 300
 10 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggtc atgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgcac gctagcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 20 gaaacccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggccggg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 30 tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gtttctggtg acggtaaact tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

35 <210> 92
 <211> 330
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

45 <400> 92

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

ES 2 448 816 T3

	65				70					75				80		
5	Gly	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Ile	Arg	Leu
					85					90					95	
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Met	Val	His	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
		130					135					140				
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	His	Ala	Ser	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
30	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Leu	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg
					165					170					175	
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
45	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Cys	Asp	Asn	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
		210					215					220				
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Pro	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
65	Tyr	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
			275					280					285			
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
		290					295					300				
75	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu

	305	310	315	320	
5	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr				
		325		330	
10	<210> 93				
	<211> 990				
	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
15	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
	<400> 93				
	atggcttttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat				60
20	atcacctact ctgactacga actggaccog gctaaccocg tggctggtgg tgctgcttgg				120
	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt				180
25	tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg				240
	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg				300
	accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa				360
30	gcgattgtta ccgtttctat cacccggtgt tactcttcta cccatttcga gcgtgacatc				420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagt gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt				480
35	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt				540
	agctctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag				600
40	gaaacccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct				660
	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt				720
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac				780
45	gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt				840
	tgtcgaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaact tatctctgac				900
50	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa				960
	ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac				990
55	<210> 94				
	<211> 330				
	<212> PRT				
	<213> Secuencia Artificial				
60	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
	<400> 94				
65					

ES 2 448 816 T3

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

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
260 265 270

Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 95
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

<400> 95
atggctttct cagctgacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggttggtgg tgctgcttgg 120
atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgtaccta caccacctc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
accaggagcg aagttaaaga gatcgtctcg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
gcgatggtta acgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttata aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780

gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcggt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 96
 <211> 330
 <212> FRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 96

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Asn Val Ser Ile Thr
 115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg

	165	170	175	
5	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190			
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205			
15	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220			
20	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240			
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255			
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu 260 265 270			
35	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
50	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
55	<210> 97 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
60	<220> <223> Variante de ATA117			
65	<400> 97			
70	atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
75	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgc tggetggtgg tgetgcttg			120
80	atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctattctcga ccagggtttt			180
85	tatacttctg acgctacctt caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc ttccgtctg			240

5
 10
 15
 20
 25

```

ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
gcgatcgctt atgtttctat caccgctggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgctg 540
agctctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
gaaaccacg accgtgggtt cgagctgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggctgacat caccgggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtggtggtgt ttggcgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
  
```

30
 35

```

<210> 98
<211> 330
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
  
```

35
 40

```

<220>
<223> Variante de ATA117
<400> 98
  
```

40

```

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1           5           10           15
  
```

45

```

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
          20           25           30
  
```

50

```

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
          35           40           45
  
```

55

```

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
          50           55           60
  
```

60

```

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65           70           75           80
  
```

65

```

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
          85           90           95
  
```

	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu	
				100					105					110			
5	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Ile	Val	His	Val	Ser	Ile	Thr	
			115					120					125				
10	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg	
		130					135					140					
15	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Tyr	Ala	Val	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe	
	145					150					155					160	
20	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Leu	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg	
					165					170					175		
25	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp	
				180					185					190			
30	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu	
			195					200					205				
35	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Cys	Asp	Asn	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly	
		210					215					220					
40	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg	
	225					230					235					240	
45	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu	
					245					250					255		
50	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Pro	Ala	Glu	Leu	
				260					265					270			
55	Tyr	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp	
		275						280					285				
60	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly	
		290					295					300					
65	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu	
	305					310					315					320	
	Pro	Ser	Ser	Leu	Leu	Thr	Pro	Val	Gln	Tyr							
					325					330							

<210> 99
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 99
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctgggtg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacggttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcggttgat ccgcgcgtg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta acgtttctat caccggtggg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgctg 540
 agctctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccggggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggcgttc gtttctgttg acggtaacct tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 100
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 100

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn

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

	260	265	270	
5	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
20	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
25	<210> 101 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
30	<220> <223> Variante de ATA117			
35	<400> 101 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt tatacttctg acgtaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg accaggacg aagttaaaga gatcgtctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa gcgatggtta acgtttctat caccgcgtgg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc accaaaccatc gtccgcaggt ttacatgtat gctgttccgt accagtggat cgtaccgttt gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgtgacga agttctgggt tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa	60 120 180 240 300 360 420 480 540 600 660 720 780 840 900 960		
65				

ccttcttctc tgctgacccc ggtacactac

990

5 <210> 102
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 102

15 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

20 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

25 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

30 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

35 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

40 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

45 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Asn Val Ser Ile Thr
 115 120 125

55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

60 Pro Gln Val Tyr Met Tyr Ala Val Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

65 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

70 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val His Tyr
 325 330
 45
 <210> 103
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 55
 <400> 103
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cagtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 60
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 65

5 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 5 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcac 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 10 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgcggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 15 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaacctc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 20 ccttcttctc tgetgacccc ggtacgtac 990

25 <210> 104
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 104

35 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

45 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

50 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

55 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

60 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

65 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr

	115		120		125
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg	130	135	140	
10	Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe	145	150	155	160
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg	165	170	175	
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp	180	185	190	
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu	195	200	205	
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly	210	215	220	
35	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg	225	230	235	240
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu	245	250	255	
45	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu	260	265	270	
50	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp	275	280	285	
55	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	290	295	300	
60	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	305	310	315	320
65	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330		
	<210>	105			
	<211>	990			
	<212>	ADN			
	<213>	Secuencia Artificial			

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 105

atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctgggtg tgctgcttgg 120
atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttggtttgat cccgccgctg 300
acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
gcgatgggta ccgttacgat caccggtggg tactcttcta cccattcga gaaagacatc 420
accaaaccac gtccgcaagt ttacatgagc gctggcccggt acatgtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt ctgttcgtcg tacaccgctg 540
agctctatcg acccgcgagg taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcaa 600
gaaaccacag accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaagggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggctgacat caccggggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaacgc tatctctgac 900
gggtgttcgg gtccgggttac ccagttctat atccgtcgtt actgggaact gaaagttgaa 960
ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 106

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 106

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 5
 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 10
 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 15
 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 20
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Thr Ile Thr
 115 120 125
 25
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Lys Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 30
 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Gly Pro Tyr Met Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 35
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 40
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 45
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 50
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 55
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 60
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 65
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 107
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

<400> 107
atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaacccgc tggctggtgg tgctgcttgg 120
atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
gcgatgggta ccgtttcgat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcctgacatc 420
accaaacatc gtccgcgcgt ttacatgagc gcttccccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcaccc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcaa 600
gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaagggtccg gtttcaacgt tgttgttata aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggctgacat cccccgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtgggtgggt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
ggtgttccg gtcgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 108
<211> 330
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 108

5
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 108
 10 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 15 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 20 25 30
 20 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 25 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 30 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 35 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 40 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 45 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 50 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Pro Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 55 Pro Arg Val Tyr Met Ser Ala Ser Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 60 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 65 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240			
10	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255			
15	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu 260 265 270			
20	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
25	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
30	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
35	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
40	<210> 109 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
45	<220> <223> Variante de ATA117			
50	<400> 109 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctgggtg tgctgcttgg atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gtcgttatct ctatcttcga ccagggtttt tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat ccgcccgtg accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa gcgatgggta ccgttacgat caccgggtgt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			60 120 180 240 300 360 420 480 540 600

5 gaaacccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 5 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat cccccgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 10 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 110
 <211> 330
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

25 <400> 110

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Thr Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

5 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 20 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 30 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 35 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 40 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 45 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 50 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 55 <210> 111
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 60 <400> 111
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 65

atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 5 tataacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgtg 300
 10 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcgatggtta cgtttctat caccgtggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcctg accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgccatc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 20 gaaaccacg accgtggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaagggtccg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat cccccggct gaactgtacg acgtgacga agttctgggt 840
 30 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgtg acggtaacgc tatctctgac 900
 ggtgttccg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
 35
 <210> 112
 <211> 330
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 45 <400> 112
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 50 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 55 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 60 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 65 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

	65		70		75		80
5	Gly Asp His Ile	Glu Arg Leu Phe Ser	Asn Ala Glu Ser Ile	Arg Leu			
		85	90	95			
10	Ile Pro Pro Leu Thr	Gln Asp Glu Val Lys	Glu Ile Ala Leu	Glu Leu			
		100	105	110			
15	Val Ala Lys Thr	Glu Leu Arg Glu Ala Met	Val Thr Val Ser	Ile Thr			
		115	120	125			
20	Arg Gly Tyr Ser Ser	Thr Pro Phe Glu Arg Asp	Ile Thr Lys His	Arg			
		130	135	140			
25	Pro Gln Val Tyr Met	Ser Ala Cys Pro Tyr	Gln Trp Ile Val	Pro Phe			
		145	150	155	160		
30	Asp Arg His Arg Asp	Gly Val His Leu Met	Val Ala Gln Ser	Val Arg			
		165	170	175			
35	Arg Thr Pro Arg Ser	Ser Ile Asp Pro Gln	Val Lys Asn Phe	Gln Trp			
		180	185	190			
40	Gly Asp Leu Ile Arg	Ala Ile Gln Glu Thr	His Asp Arg Gly	Phe Glu			
		195	200	205			
45	Leu Pro Leu Leu Leu	Asp Cys Asp Asn Leu	Leu Ala Glu Gly	Pro Gly			
		210	215	220			
50	Phe Asn Val Val Val	Ile Lys Asp Gly Val	Val Arg Ser Pro	Gly Arg			
		225	230	235	240		
55	Ala Ala Leu Pro Gly	Ile Thr Arg Lys Thr	Val Leu Glu Ile	Ala Glu			
		245	250	255			
60	Ser Leu Gly His Glu	Ala Ile Leu Ala Asp	Ile Thr Pro Ala	Glu Leu			
		260	265	270			
65	Tyr Asp Ala Asp Glu	Val Leu Gly Cys Ser	Thr Gly Gly Gly	Val Trp			
		275	280	285			
70	Pro Phe Val Ser Val	Asp Gly Asn Ser Ile	Ser Asp Gly Val	Pro Gly			
		290	295	300			

	65		70		75		80									
5	Gly	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Ile	Arg	Leu
					85					90					95	
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
		130					135					140				
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Ser	Ala	Cys	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
30	Asp	Arg	His	Arg	Asp	Gly	Val	His	Leu	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg
					165					170					175	
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
45	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Cys	Asp	Asn	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
		210					215					220				
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Pro	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
65	Tyr	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
		275						280					285			
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
		290					295					300				

	305	310	315	320	
5	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr				
		325		330	
10	<210> 113 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial				
15	<220> <223> Variante de ATA117				
20	<400> 113 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60	
	atcacctact ctgactacga actggaccocg gctaaccocg tggctggtgg tgctgcttgg			120	
	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt			180	
25	tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240	
	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg			300	
	acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgtaa			360	
30	gcgatggtta ccgtttctat caccocgtgg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420	
	accaaacatc gtccgcaggt tgctatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt			480	
35	gaccgcattc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt			540	
	agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			600	
	gaaaccacag accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct			660	
40	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt			720	
	gtgctctctg cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac			780	
45	gaagctatcc tggctgacat cccccgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt			840	
	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaact tatctctgac			900	
50	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa			960	
	ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac			990	
55	<210> 114 <211> 330 <212> PRT <213> Secuencia Artificial				
60	<220> <223> Variante de ATA117				
	<400> 114				
65					

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

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

5 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
260 265 270

10 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

15 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

20 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

25 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 115
<211> 990
<212> ADN
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Variante de ATA117

35 <400> 115
atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgc tggctggtgg tgctgcttgg 120
40 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttcgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
45 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
gcgatgggta ccgtttctat caccctggtg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
50 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagcagat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
55 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaagggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
60 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780

gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 5 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
 10
 <210> 116
 <211> 330
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 20 <400> 116
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 25 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 30 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 35 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 40 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 45 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 50 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 55 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 60 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 65 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gln Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg

	165	170	175	
5	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190			
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205			
15	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220			
20	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240			
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255			
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu 260 265 270			
35	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
50	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
55	<210> 117 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial <220> <223> Variante de ATA117 <400> 117			
60	atggcggttct cagcggacac ccttgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat	60		
65	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg	120		
70	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt	180		
75	tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg	240		

	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg	300
5	accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa	360
	gcgatggta cggtttctat caccggtggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc	420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt	480
10	gaccgcatcg tggacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgct	540
	agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag	600
15	gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct	660
	gaaggtccg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt	720
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac	780
20	gaagctatcc tggtgacat cccccgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt	840
	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac	900
25	ggtgttccg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa	960
	ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac	990
30	<210> 118 <211> 330 <212> PRT <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> Variante de ATA117 <400> 118	
40	Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr 1 5 10 15	
45	Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn 20 25 30	
50	Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro 35 40 45	
55	Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp 50 55 60	
60	Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu 65 70 75 80	
65	Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu 85 90 95	

5 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

10 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125

15 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

20 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

25 Asp Arg Ile Val Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

30 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

35 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205

40 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220

45 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240

50 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255

55 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270

60 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

65 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300

70 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320

75 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

5 <210> 119
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Variante de ATA117

 10 <400> 119
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 15 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 20 ggggaccaca tgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat ccgcccgtg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcgatggtta ccgtttctat caccgcgtg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 25 accaaacatc gtccgcaggt ttttatgagc gcttgccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgct 540
 30 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 35 gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttate aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgcggt gaactgtacg acgtgacga agttctgggt 840
 40 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 45 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

50 <210> 120
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Variante de ATA117

 55 <400> 120

 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 60 1 5 10 15

 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn

85

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

	260	265	270		
5	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp	275	280	285	
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	290	295	300	
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	305	310	315	320
20	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330		
25	<210> 121				
	<211> 990				
	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
30	<400> 121				
	atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat				60
	atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggttggtgg tgctgcttgg				120
35	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gtcgttatct ctatcttcga ccagggtttt				180
	tatactttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg				240
40	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg				300
	accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgttat				360
	gcgatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc				420
45	accaaaccatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt				480
	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt				540
50	agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag				600
	gaaaccacag accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct				660
55	gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt				720
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac				780
	gaagctatcc tggtgacat caccctgggt gaactgtacg acgtgacga agttctgggt				840
60	tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac				900
	ggtgttcagg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa				960
65					

cctttctctc tgctgacccc ggtacagtac

990

5 <210> 122
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 122

15 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

20 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

25 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

30 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

35 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

40 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

45 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Tyr Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125

55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

60 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

65 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

70 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 45
 <210> 123
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 123
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 55
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 60
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccggtggg tactcttcta cccatttcga gcgtgacatc 420
 65

5 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt acgtgtggat cgtaccgttt 480
 gacgcacatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 10 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgtgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtgggtg ttggcgggtc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
 15 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 20 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

25 <210> 124
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 124

35 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

45 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

50 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

55 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

60 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

65 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr

	115	120	125
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg 130 135 140		
10	Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Val Trp Ile Val Pro Phe 145 150 155 160		
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg 165 170 175		
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190		
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205		
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220		
35	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240		
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255		
45	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu 260 265 270		
50	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285		
55	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300		
60	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320		
65	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330		
	<210> 125		
	<211> 990		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 125

5 atggcggttct cagcggacac ccttgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgetgcttgg 120
 10 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgatatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 15 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccgctggg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 20 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccg accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc ctgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgct 540
 25 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaagggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 30 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat cccccggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 35 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 40 ccttcttctc tgetgacccc ggtacagtac 990

<210> 126

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 126

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 5
 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 10
 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 15
 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 20
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 25
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 30
 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 35
 Asp Arg Ile Pro Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 40
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 45
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 50
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 55
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 60
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 65
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

<210> 127
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 127
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgtaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt acaactggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctgggt 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccocgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaact tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 128
 <211> 330
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 128

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Thr Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val	Ile Lys Asp Gly Val	Val Arg Ser Pro Gly Arg	
	225	230	235	240
10	Ala Ala Leu Pro Gly	Ile Thr Arg Lys Thr	Val Leu Glu Ile Ala Glu	
		245	250	255
15	Ser Leu Gly His Glu	Ala Ile Leu Ala Asp	Ile Thr Pro Ala Glu Leu	
		260	265	270
20	Tyr Asp Ala Asp Glu	Val Leu Gly Cys Ser Thr	Gly Gly Gly Val Trp	
		275	280	285
25	Pro Phe Val Ser Val	Asp Gly Asn Ser Ile Ser	Asp Gly Val Pro Gly	
		290	295	300
30	Pro Val Thr Gln Ser	Ile Ile Arg Arg Tyr Trp	Glu Leu Asn Val Glu	
		305	310	315
35	Pro Ser Ser Leu Leu	Thr Pro Val Gln Tyr		
		325	330	
40	<210> 129			
	<211> 990			
	<212> ADN			
	<213> Secuencia Artificial			
45	<220>			
	<223> Variante de ATA117			
50	<400> 129			
	atggcggttct cagcggacac cctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
55	atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctgggtg tgctgcttgg			120
	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctctg gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt			180
60	tatacttctg acgtaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg			300
65	accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
	gcgatgggta ccgtttctat caccgtgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420
70	accaaacatc gtcgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt			480
	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt			540
75	agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			600

5 gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 10 gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtggtg ttggcggttc gtttctgttg acgtaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 15 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

20 <210> 130
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 130

30 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

35 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

40 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

45 Ser Leu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

50 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

55 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

60 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

65 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125

70 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

75

Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 5 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 20 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 30 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 35 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 40 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 45 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 50 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 <210> 131
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 131
 atggcggttct cagcggacac ccttgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tattgactat
 60

atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggtctggtg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 5 tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 10 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcgatggta ccgtttctat caccctggtt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccg accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgctg 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 20 gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttata aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 30 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

35
 <210> 132
 <211> 330
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

45 <400> 132

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

50 Gly Ile Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

55 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

60 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

65 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

	65		70		75		80									
5	Gly	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Ile	Arg	Leu
					85					90					95	
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
		130					135					140				
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Ser	Ala	Cys	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
30	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Leu	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg
					165					170					175	
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
45	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Cys	Asp	Asn	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
		210					215					220				
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235					240
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Pro	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
65	Tyr	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
		275						280					285			
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
		290					295					300				
75	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu

	305	310	315	320	
5	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr				
		325		330	
10	<210> 133				
	<211> 990				
	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
15	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
	<400> 133				
	atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60	
20	atcacctact ctcagtacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120	
	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccaggggttt			180	
25	tatacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240	
	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg			300	
	accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgtaa			360	
30	gcgatggtta ccgtttctat caccgcgtgt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420	
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt			480	
35	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt			540	
	agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggtg acctgatccg tgcaattcag			600	
40	gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct			660	
	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt			720	
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgtgaatc tctgggtcac			780	
45	gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgtgacga agttctgggt			840	
	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaacgc tatctctgac			900	
50	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa			960	
	ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac			990	
55	<210> 134				
	<211> 330				
	<212> PRT				
	<213> Secuencia Artificial				
60	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
	<400> 134				
65					

ES 2 448 816 T3

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

5 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Gln Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

10 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

15 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

20 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

25 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

30 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
115 120 125

35 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

40 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

45 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

50 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

55 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

60 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
210 215 220

Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
225 230 235 240

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
260 265 270

Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

<210> 135

<211> 990

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 135

atggcgttct cagcggacac cctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60

atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120

atcggtggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180

tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240

ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300

accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360

gcatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420

accaaacatc gtcgcgaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480

gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540

agctctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600

gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660

gaaggtccgg qtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720

gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctgqaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780

gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
 ggtgttcggg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 136
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 136

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Gly Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg

	165	170	175
5	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190		
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205		
15	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220		
20	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240		
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255		
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu 260 265 270		
35	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285		
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300		
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320		
50	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330		
55	<210> 137 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial <220> <223> Variante de ATA117 <400> 137		
60	atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg atcgaaggtg ctttcgttcc ggattctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg	60 120 180 240	

5 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 10 gaccgcaccc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 15 gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 20 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 25 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

30 <210> 138
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Variante de ATA117

40 <400> 138

40 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

45 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

50 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Asp
 35 40 45

55 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

60 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

65

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 5
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 10
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 15
 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 20
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 25
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 30
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 35
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 40
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 45
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 50
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 55
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 60
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 65
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

5
 <210> 139
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

10
 <220>
 <223> Variante de ATA117

15
 <400> 139
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccag gctaaccgcg tggttggtgg tgetgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 20
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggtta ccgtttctat caccgcgtgg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 25
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccg accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 30
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 35
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggttat aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 40
 tgetcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaacct tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagctctat atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 45
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

50
 <210> 140
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55
 <220>
 <223> Variante de ATA117

60
 <400> 140
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Gln Ala Asn

65

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

	260	265	270	
5	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285			
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300			
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320			
20	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330			
25	<210> 141 <211> 990 <212> ADN <213> Secuencia Artificial			
30	<220> <223> Variante de ATA117			
35	<400> 141 atggcggttct cagcggacac cctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
40	atcacctact ctgactacga acctgacccg gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120
45	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt			180
50	tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
55	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaat gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgtg			300
60	accaggagcg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
65	gcgatgggta ccgtttctat cacccggtgt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420
70	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt			480
75	gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgct			540
80	agctctatcg acccgaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			600
85	gaaacccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct			660
90	gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt			720
95	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac			780
100	gaagctatcc tggctgacat cccccgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt			840
105	tgctcaaccg gtgggtggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaaact tatctctgac			900
110	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa			960

ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac

990

5 <210> 142
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 142
 15 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 20 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Pro Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 25 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 30 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 35 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 40 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 45 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 50 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 55 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 60 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 65 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 70 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 45
 <210> 143
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 143
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctggtgg tgctgcttgg 120
 catgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgatatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 55
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcggttgat cccgccgctg 300
 60
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 65

accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 5 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 10 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 15 gaagctatcc tggctgacat cccccgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 20 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 144
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 144

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp His Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

	115	120	125
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg 130 135 140		
10	Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe 145 150 155 160		
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg 165 170 175		
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp 180 185 190		
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu 195 200 205		
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly 210 215 220		
35	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg 225 230 235 240		
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu 245 250 255		
45	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu 260 265 270		
50	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp 275 280 285		
55	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly 290 295 300		
60	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu 305 310 315 320		
65	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr 325 330		
	<210> 145		
	<211> 990		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 145

atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggacatg gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttcogtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgtaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgctg 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaagggtccg gtttcaacgt tgttgttatc aaagacgggt ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaact tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 146

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 146

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Met Ala Asn
 20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

5 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80

10 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

15 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110

20 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125

25 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140

30 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160

35 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175

40 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190

45 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205

50 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220

55 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240

60 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255

65 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270

Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300

5

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320

10

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

15

<210> 147
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

20

<220>
 <223> Variante de ATA117

25

<400> 147
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctgggtg tgctgcttg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatcc atatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta ccgttttctat caccggtggg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctgggt 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtgggt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaact tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

60

<210> 148
 <211> 330
 <212> PRT

65

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 148

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile His Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

	210	215	220	
5	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg			
	225	230	235	240
10	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu			
		245	250	255
15	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu			
		260	265	270
20	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp			
		275	280	285
25	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly			
		290	295	300
30	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu			
		305	310	315
35	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr			
		325	330	
40	<210> 149			
	<211> 990			
	<212> ADN			
	<213> Secuencia Artificial			
45	<220>			
	<223> Variante de ATA117			
50	<400> 149			
	atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg ttgtgactat			60
55	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg			120
	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctgtcttcga ccagggtttt			180
60	tatacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240
	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg			300
65	accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa			360
	gcgatgggta ccgtttctat caccgcgtgg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc			420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccg accagtggat cgtaccgttt			480
70	gaccgcaccc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt			540
	agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag			600

gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 5 gaagggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 10 tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gtttctgttg acggtaaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 15 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

 <210> 150
 <211> 330
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Variante de ATA117
 25 <400> 150

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

5 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 10 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 15 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 20 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 25 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 30 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 35 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 40 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 45 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 50 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 55 <210> 151
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 60 <220>
 <223> Variante de ATA117
 65 <400> 151
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60

atcacctact ctgactacga actggacccg gctaaccgcg tggtctggtg tgctgcttgg 120
 atcgaagggtg ctttcgttcc gggttctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 5 tatacttctg acgtaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttcgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgtg 300
 10 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
 gcgatggtta ccgtttctat caccctggtt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 15 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgctg 540
 agctctatcg accgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 20 gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 25 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgtgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccctggct gaactgtacg acgtgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaacctc tatctctgac 900
 30 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

35
 <210> 152
 <211> 330
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

45 <400> 152

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

50 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30

55 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Gly
 35 40 45

60 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60

65 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu

ES 2 448 816 T3

	65		70		75		80									
5	Gly	Asp	His	Ile	Glu	Arg	Leu	Phe	Ser	Asn	Ala	Glu	Ser	Ile	Arg	Leu
					85					90					95	
10	Ile	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Asp	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ala	Leu	Glu	Leu
				100					105					110		
15	Val	Ala	Lys	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ile	Thr
			115					120					125			
20	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ser	Thr	Pro	Phe	Glu	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Arg
		130					135					140				
25	Pro	Gln	Val	Tyr	Met	Ser	Ala	Cys	Pro	Tyr	Gln	Trp	Ile	Val	Pro	Phe
	145					150					155					160
30	Asp	Arg	Ile	Arg	Asp	Gly	Val	His	Leu	Met	Val	Ala	Gln	Ser	Val	Arg
					165					170					175	
35	Arg	Thr	Pro	Arg	Ser	Ser	Ile	Asp	Pro	Gln	Val	Lys	Asn	Phe	Gln	Trp
				180					185					190		
40	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Ala	Ile	Gln	Glu	Thr	His	Asp	Arg	Gly	Phe	Glu
			195					200					205			
45	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Cys	Asp	Asn	Leu	Leu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gly
		210					215					220				
50	Phe	Asn	Val	Val	Val	Ile	Lys	Asp	Gly	Val	Val	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg
	225					230					235				240	
55	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Ile	Ala	Glu
					245					250					255	
60	Ser	Leu	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala	Asp	Ile	Thr	Pro	Ala	Glu	Leu
				260					265					270		
65	Tyr	Asp	Ala	Asp	Glu	Val	Leu	Gly	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Val	Trp
		275						280					285			
70	Pro	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Ile	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Gly
		290					295					300				
75	Pro	Val	Thr	Gln	Ser	Ile	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp	Glu	Leu	Asn	Val	Glu

	305		310		315		320			
5	Pro	Ser	Ser	Leu	Leu	Thr	Pro	Val	Gln	Tyr
				325					330	
10	<210>	153								
	<211>	990								
	<212>	ADN								
	<213>	Secuencia Artificial								
15	<220>									
	<223>	Variante de ATA117								
	<400>	153								
20	atggcggttct	cagcggacac	ccctgaaatc	gtttacaccc	acgacaccgg	tctggactat			60	
	atcacctact	ctgactacga	actggaccgc	gctaaccgcg	tggtcgttgg	tgtcgttgg			120	
	atcgaaggtg	ctttcgttcc	ggtttctgaa	gctcgtatct	ctatcttcga	ccagggtttt			180	
25	tatacttctg	acgctaccta	caccaccttc	cacgtttgga	acggtaacgc	tttccgtctg			240	
	ggggaccaca	tcgaacgtct	gttctctaata	gcggaatcta	ttcgtttgat	ccgcgcgtg			300	
30	acccaggacg	aagttaaaga	gatcgtctctg	gaactgggtg	ctaaaaccga	actgcgtgaa			360	
	gcgatggtta	ccgtttctat	caccgcgtgt	tactcttcta	ccccattcga	gcgtgacatc			420	
	accaaacatc	gtccgcaggt	ttacatgagc	gcttgcccg	accagtggat	cgtaccgttt			480	
35	gaccgcatcc	gtgacgggtg	tcacctgatg	gttgctcagt	cagttcgtcg	tacaccgcgt			540	
	agctctatcg	acccgcaggt	taaaaacttc	cagtgggtg	acctgatccg	tgcaattcag			600	
40	gaaaccacg	accgtgggtt	cgagttgccg	ctgctgctgg	actgcgacaa	cctgctgggt			660	
	gaaggtccgg	gtttcaacgt	tggtgttatc	aaagacgggt	ttgttcgttc	tccgggtcgt			720	
	gctgctctgc	cgggtatcac	ccgtaaaacc	gttctggaaa	tcgctgaatc	tctgggtcac			780	
45	gaagctatcc	tggtgacat	caccccggt	gaactgtacg	acgctgacga	agttctgggt			840	
	tgctcaaccg	gtggtggtgt	ttggccgttc	gtttctgttg	acggtaactc	tatctctgac			900	
50	gggtgtccgg	gtccggttac	ccagtctatc	atccgtcgtt	actgggaact	gaacgttgaa			960	
	ccttcttctc	tgctgacccc	ggtacagtac						990	
55	<210>	154								
	<211>	330								
	<212>	PRT								
	<213>	Secuencia Artificial								
60	<220>									
	<223>	Variante de ATA117								
	<400>	154								
65										

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

Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
245 250 255

5 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
260 265 270

10 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
275 280 285

15 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
290 295 300

20 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
325 330

25 <210> 155
<211> 990
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Variante de ATA117

35 <400> 155
atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
40 tctgaagggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgtg 300
45 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctctg gaactggttg ctaaaaccga actgctgaa 360
gcgatggtta ccgtttctat caccctggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
50 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcaccc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
55 gaaacccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
60 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780

gaagctatcc tggctgacat caccocggct gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtgggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 5 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
 10
 <210> 156
 <211> 330
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 20 <400> 156
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 25 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 30 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ser Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 35 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 40 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 45 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 50 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 55 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 60 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 65 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg

	165	170	175	
5	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp	180	185	190
10	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu	195	200	205
15	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly	210	215	220
20	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg	225	230	235
25	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu	245	250	255
30	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu	260	265	270
35	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp	275	280	285
40	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	290	295	300
45	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	305	310	315
50	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330	
55	<210> 157			
60	<211> 990			
65	<212> ADN			
70	<213> Secuencia Artificial			
75	<220>			
80	<223> Variante de ATA117			
85	<400> 157			
90	atggcggttct cagcggacac cctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat			60
95	atcacctact ctgactacac tctggaccgc gctaaccgc tggctggtgg tgctgcttgg			120
100	atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt			180
105	tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg			240

ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 5 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta ccgtttctat caccgcgtgt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 10 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 15 gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 20 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 25 ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990
 30
 <210> 158
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 40
 <400> 158
 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15
 45 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Thr Leu Asp Pro Ala Asn
 20 25 30
 50 Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
 35 40 45
 55 Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 60 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 5
 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
 115 120 125
 10
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 15
 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 20
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 25
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 30
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 35
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 40
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 45
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 50
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 55
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 60
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 65
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

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

5 <210> 159
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 10 <220>
 <223> Variante de ATA117

 15 <400> 159
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgg gctaaccggc tggctgggtg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatcc ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 20 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgtctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgtctct gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 25 gcgatgggta ccgtttctat caccggtggg tactcttcta cccatttcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 30 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaacccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctgggt 660
 35 gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 40 tgctcaaccg gtgggtgggtg ttggccgttc gtttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 45 ccttcttctc tgcgtgacccc ggtacagtac 990

50 <210> 160
 <211> 330
 <212> PRT
 <213>

 55 <220>
 <223>

 <400> 160

 60 Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
 1 5 10 15

 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn

85

	260	265	270		
5	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp	275	280	285	
10	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	290	295	300	
15	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	305	310	315	320
20	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330		
25	<210> 161				
	<211> 990				
	<212> ADN				
	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
	<223> Variante de ATA117				
30	<400> 161				
	atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat				60
	atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctgggtg tgctgcttgg				120
35	atcgaaggtg ctttcgttcc gcagtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt				180
	tatacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg				240
40	ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg				300
	accaggagcg aagttaaaga gatcgtctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgctgtaa				360
45	gcgatgggta ccgtttctat caccctgggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc				420
	accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gcttgcccgt accagtggat cgtaccgttt				480
	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt				540
50	agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtggggtg acctgatccg tgcaattcag				600
	gaaaccacag accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct				660
55	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt				720
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac				780
	gaagctatcc tggctgacat caccctgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt				840
60	tgctcaaccg gtggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaaact tatctctgac				900
	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa				960

ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac

990

<210> 162
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 162

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Gln
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Ser Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 5
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 10
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 15
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 20
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 25
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285
 30
 Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly
 290 295 300
 35
 Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320
 40
 Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330
 45
 <210> 163
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Variante de ATA117
 <400> 163
 atggcggttct caaaagacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
 55 tatacttctg acgctaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 60 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatgggta ccgttacgat caccggtggt tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
 65

	accaaacatc gtcgcgaggt ttacatgagc gcttgcccggt accagtggat cgtaccgttt	480
5	gaccgcatcc gtgacggtgt tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt	540
	agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag	600
	gaaaccacg accgtggttt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct	660
10	gaaggtccgg gtttcaacgt tgttggtatc aaagacggtg ttgttcgttc tccgggtcgt	720
	gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac	780
15	gaagctatcc tggctgacat caccgccggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt	840
	tgctcaaccg gtgggtggtgt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac	900
	ggtgttccgg gtccggttac ccagtctatc atccgtcggt actgggaact gaacgttgaa	960
20	ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac	990

25

<210>	164
<211>	330
<212>	PRT
<213>	Secuencia Artificial

30 **<220>**
<223> Variante de ATA117

<400> 164

35 Met Ala Phe Ser Lys Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

40 Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

80 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

65 Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Thr Ile Thr

	115		120		125
5	Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg	130	135	140	
10	Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe	145	150	155	160
15	Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg	165	170	175	
20	Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp	180	185	190	
25	Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu	195	200	205	
30	Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly	210	215	220	
35	Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg	225	230	235	240
40	Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu	245	250	255	
45	Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu	260	265	270	
50	Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp	275	280	285	
55	Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Val Pro Gly	290	295	300	
60	Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu	305	310	315	320
65	Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr	325	330		
	<210>	165			
	<211>	990			
	<212>	ADN			
	<213>	Secuencia Artificial			

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 165

atggcgttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggttggtgg tgctgcttgg 120
atcgaaggtg ctttcgttcc gccgacggaa gctcgtatct ctatcttcga ccagggtttt 180
tatacttctg acgtaccta caccaccttc cacgtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat ccgcccgtcg 300
accaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactgggtg ctaaaaccgg cctgcgtgaa 360
gcgatgggta ccgttacgat caccogtggg tactcttcta cccattcga gcgtgacatc 420
accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gctagcccgt accagtggat cgtaccgttt 480
gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
gaaaccacg accgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
gaaggtccgg gtttcaacgt tggtgttata aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
gaagctatcc tggctgacat caccocgggt gaactgtacg acgtgacga agttctgggt 840
tgctcaaccg gtgggtgggt ttggccgttc gtttctgttg acggtaactc tatctctgac 900
ggtgccccgg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 166

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 166

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15
Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30
Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Thr Glu Ala Arg Ile Ser Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
 50 55 60
 5
 Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 10
 Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
 85 90 95
 15
 Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
 100 105 110
 20
 Val Ala Lys Thr Gly Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Thr Ile Thr
 115 120 125
 25
 Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
 130 135 140
 30
 Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Ser Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
 145 150 155 160
 35
 Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
 165 170 175
 40
 Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
 180 185 190
 45
 Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Asp Arg Gly Phe Glu
 195 200 205
 50
 Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly
 210 215 220
 55
 Phe Asn Val Val Val Ile Lys Asp Gly Val Val Arg Ser Pro Gly Arg
 225 230 235 240
 60
 Ala Ala Leu Pro Gly Ile Thr Arg Lys Thr Val Leu Glu Ile Ala Glu
 245 250 255
 65
 Ser Leu Gly His Glu Ala Ile Leu Ala Asp Ile Thr Pro Ala Glu Leu
 260 265 270
 Tyr Asp Ala Asp Glu Val Leu Gly Cys Ser Thr Gly Gly Gly Val Trp
 275 280 285

Pro Phe Val Ser Val Asp Gly Asn Ser Ile Ser Asp Gly Ala Pro Gly
 290 295 300

Pro Val Thr Gln Ser Ile Ile Arg Arg Tyr Trp Glu Leu Asn Val Glu
 305 310 315 320

Pro Ser Ser Leu Leu Thr Pro Val Gln Tyr
 325 330

<210> 167
 <211> 990
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Variante de ATA117

<400> 167
 atggcggttct cagcggacac ccctgaaatc gtttacaccc acgacaccgg tctggactat 60
 atcacctact ctgactacga actggaccgc gctaaccgcg tggctggtgg tgctgcttgg 120
 atcgaaggtg ctttcgttcc gccgtctgaa gctcgtatcc ctatcttcga ccagggtttt 180
 tatacttctg acgctaccta caccaccttc caggtttgga acggtaacgc tttccgtctg 240
 ggggaccaca tcgaacgtct gttctctaata gcggaatcta ttcgtttgat cccgccgctg 300
 acccaggacg aagttaaaga gatcgctctg gaactggttg ctaaaaccga actgcgtgaa 360
 gcgatggtta cagttacgat caccgcgttg tactcttcta cccatttcga gcgtgacatc 420
 accaaacatc gtccgcaggt ttacatgagc gctagcccg accagtggat cgtaccgttt 480
 gaccgcatcc gtgacgggtg tcacctgatg gttgctcagt cagttcgtcg tacaccgcgt 540
 agctctatcg acccgcaggt taaaaacttc cagtgggggtg acctgatccg tgcaattcag 600
 gaaaccacg ctcgtgggtt cgagttgccg ctgctgctgg actgcgacaa cctgctggct 660
 gaaggtccgg gcttcaacgt tggtgttatc aaagacgggtg ttgttcgttc tccgggtcgt 720
 gctgctctgc cgggtatcac ccgtaaaacc gttctggaaa tcgctgaatc tctgggtcac 780
 gaagctatcc tggtgacat caccocgggt gaactgtacg acgctgacga agttctgggt 840
 tgctcaaccg gtggtgggtg ttggccgttc gttctgttg acggttaactc tatctctgac 900
 ggtgttcggg gtccgggttac ccagtctatc atccgtcgtt actgggaact gaacgttgaa 960
 ccttcttctc tgctgacccc ggtacagtac 990

<210> 168
 <211> 330
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Variante de ATA117

<400> 168

Met Ala Phe Ser Ala Asp Thr Pro Glu Ile Val Tyr Thr His Asp Thr
1 5 10 15

Gly Leu Asp Tyr Ile Thr Tyr Ser Asp Tyr Glu Leu Asp Pro Ala Asn
20 25 30

Pro Leu Ala Gly Gly Ala Ala Trp Ile Glu Gly Ala Phe Val Pro Pro
35 40 45

Ser Glu Ala Arg Ile Pro Ile Phe Asp Gln Gly Phe Tyr Thr Ser Asp
50 55 60

Ala Thr Tyr Thr Thr Phe His Val Trp Asn Gly Asn Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80

Gly Asp His Ile Glu Arg Leu Phe Ser Asn Ala Glu Ser Ile Arg Leu
85 90 95

Ile Pro Pro Leu Thr Gln Asp Glu Val Lys Glu Ile Ala Leu Glu Leu
100 105 110

Val Ala Lys Thr Glu Leu Arg Glu Ala Met Val Thr Val Thr Ile Thr
115 120 125

Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Pro Phe Glu Arg Asp Ile Thr Lys His Arg
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Met Ser Ala Ser Pro Tyr Gln Trp Ile Val Pro Phe
145 150 155 160

Asp Arg Ile Arg Asp Gly Val His Leu Met Val Ala Gln Ser Val Arg
165 170 175

Arg Thr Pro Arg Ser Ser Ile Asp Pro Gln Val Lys Asn Phe Gln Trp
180 185 190

Gly Asp Leu Ile Arg Ala Ile Gln Glu Thr His Ala Arg Gly Phe Glu
195 200 205

Leu Pro Leu Leu Leu Asp Cys Asp Asn Leu Leu Ala Glu Gly Pro Gly

ES 2 448 816 T3

	210					215					220					
5	Phe 225	Asn	Val	Val	Val	Ile 230	Lys	Asp	Gly	Val	Val 235	Arg	Ser	Pro	Gly	Arg 240
10	Ala	Ala	Leu	Pro	Gly 245	Ile	Thr	Arg	Lys	Thr 250	Val	Leu	Glu	Ile	Ala 255	Glu
15	Ser	Leu	Gly	His 260	Glu	Ala	Ile	Leu	Ala 265	Asp	Ile	Thr	Pro	Ala 270	Glu	Leu
20	Tyr	Asp	Ala 275	Asp	Glu	Val	Leu	Gly 280	Cys	Ser	Thr	Gly	Gly 285	Gly	Val	Trp
25	Pro 290	Phe	Val	Ser	Val	Asp	Gly 295	Asn	Ser	Ile	Ser	Asp 300	Gly	Val	Pro	Gly
30	Pro 305	Val	Thr	Gln	Ser	Ile 310	Ile	Arg	Arg	Tyr	Trp 315	Glu	Leu	Asn	Val	Glu 320
35	Pro	Ser	Ser	Leu	Leu 325	Thr	Pro	Val	Gln	Tyr 330						
40																
45																
50																
55																
60																
65																

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido de transaminasa capaz de convertir el sustrato de cetoamida 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – ona en el producto (2R) – 4 – oxo – 4 – [3 – (trifluorometil) – 5, 6 – dihidro [1, 2, 4] triazol [4, 3 – α] pirazin – 7 (8H) – il] – 1 – (2, 4, 5 – trifluorofenil) butan – 2 – amina, en la que el polipéptido de transaminasa comprende una secuencia aminoácida que es idéntica en, al menos, el 80 % a la SEC ID N° 4 y en la que la secuencia aminoácida incluye, al menos, las siguientes características: (1) el residuo correspondiente a X223 de la SEC ID N° es P; (2) el residuo correspondiente a X69 de la SEC ID N° 2 es G, C, T, A o S y / o el residuo correspondiente a X284 de la SEC ID N° 2 es G; y (3) el residuo correspondiente a X122 de la SEC ID N° 2 es M, I, V o H.

2. El polipéptido de transaminasa de la reivindicación 1 en la que el polipéptido de transaminasa es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto:

- i) en condiciones de reacción definidas en presencia de una isopropilamina dadora del grupo amino a niveles de producto detectables por UV – HPLC a 210 nm en la que la condición de reacción comprende 2 g / L de sustrato de cetoamida, isopropilamina 0,5 M, 22 °C, pH 7,5, 5 % de DMSO, 100 μ M de fosfato de piridocal, 20 mg / mL de polipéptido de transaminasa y opcionalmente una actividad superior o igual a la actividad del polipéptido de la SEC ID N° 4 en condiciones de reacción definidas;
- ii) con al menos un 90 % de exceso enantiomérico; o
- iii) con al menos un 99 % de exceso enantiomérico.

3. El polipéptido de transaminasa de la reivindicación 1 en la que la secuencia de aminoácidos incluye las siguientes características:

- i) X69 es G, C, T, A o S; X122 es M, I, V o H y X223 es P;
- ii) X122 es M, I, V o H; X223 es P y X284 es G;
- iii) X69 es G, C, T, A o S; X122 es M, I, V o H; X223 es P y X284 es G o;
- iv) X69 es C o T; X122 es M o I; X223 es P y X284 es G.

4. El polipéptido de transaminasa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la que la secuencia de aminoácidos comprende adicionalmente una diferencia residual comparada a la SEC ID N° 2 en una o más de las siguientes posiciones residuales: X4; X5; X8; X18; X25; X26; X27; X28; X30; X41; X42; X48; X49; X50; X54; X55; X60; X61; X62; X65; X69; X81; X94; X96; X102; X117; X120; X122; X124; X126; X136; X137; X138; X146; X148; X150; X152; X155; X156; X160; X163; X164; X169; X174; X178; X195; X199; X204; X208; X209; X211; X215; X217; X223; X225; X230; X252; X269; X273; X282; X284; X292; X297; X302; X306; X321; y X329, opcionalmente en las que las diferencias residuales aminoácidos en las posiciones residuales se seleccionan de los siguientes:

X4 es Y; X5 es K; X8 es P; X18 es C o I; X25 es Q; X26 es H; X27 es C; X28 es P; X30 es Q o M; X41 es H o S; X42 es G; X48 es Q, D, V, G o A; X49 es T; X50 es L; X54 es P o H; X55 es V; X60 es F; X61 es Y; X62 es T, Y o F; X65 es A; X81 es G; X94 es I o L; X96 es L; X102 es L o K; X117 es G; X120 es Y; X124 es T, H o N; X126 es T; X136 es Y o F; X137 es T o I; X138 es K o P; X146 es R; X148 es A o F; X150 es F, H o S; X152 es G, I, L S o C; X155 es M, V o T; X156 es Q; X160 es L; X163 es H o V; X164 es V o P; X169 es L; X174 es A; X178 es S; X195 es F o Q; X199 es W o I; X204 es A; X208 es H, C, G, K, N, Y, D o S; X209 es L; X211 es I; X215 es C; X217 es N; X225 es Y; X230 es V; X252 es F; X269 es P; X273 es Y; X282 es S; X292 es T; X297 es S; X302 es A; X306 es L; X321 es P y X329 es H.

5. El polipéptido de transaminasa de la reivindicación 4 en el que la secuencia de transaminasa incluye adicionalmente al menos las siguientes características:

- i) X26 es H, y/o X62 es T o F; X65 es A; X136 es Y o F; X199 es W o I; y X209 es L;
- ii) X61 es Y; X62 es T o F; X65 es A; X94 es I o L; X136 es Y o F; X199 es W o I; X209 es L; X215 es C; y X282 es S;
- iii) X8 es P; X61 es Y; X62 es T o F; X65 es A; X81 es G; X94 es I o L; X136 es Y o F; X199 es W o I; X209 es L; X215 es C; X217 es N; X269 es P; X282 es S; X297 es S; y X321 es P;
- iv) X8 es P; X60 es F; X61 es Y; X62 es T o F; X65 es A; X81 es G; X94 es I o L; X96 es L; X124 es T, H o N; X136 es Y o F; X169 es L; X199 es W o I; X209 es L; X215 es C; X217 es N; X269 es P; X273 es Y; X282 es S; X297 es S; y X321 es P; o
- v) X8 es P; X60 es F; X61 es Y; X62 es T o F; X65 es A; X81 es G; X94 es I o L; X96 es L; X124 es T, H o N; X126 es T; X136 es Y o F; X150 es F, H, o S; X152 es G, I, L, S o C; X169 es L; X199 es W o I; X209 es L; X215 es C; X217 es N; X269 es P; X273 es Y; X282 es S; X297 es S; y X321 es P.

6. El polipéptido de transaminasa de la reivindicación 1 en el que:

- i) La secuencia de aminoácidos corresponde a la secuencia SECs ID N°: 110, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76,

78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168;

ii) La transaminasa es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad, 50 a 100 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 4, en la que opcionalmente la secuencia aminoácido corresponde a la secuencia de la SEC ID N°: 110, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

iii) La transaminasa es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad, 1,1 a 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 22, en la que opcionalmente la secuencia aminoácida corresponde a la secuencia de la SEC ID N°: 110, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

iv) La transaminasa es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad, 1,1 a 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 48, en la que opcionalmente la secuencia aminoácida corresponde a la secuencia de la SEC ID N°: 110, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

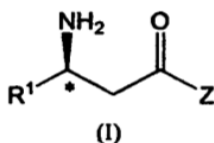
v) La transaminasa es capaz de convertir el sustrato de cetoamida en el producto con una actividad, 1,1 a 5 o más veces superior a la del polipéptido de la SEC ID N° 58, en la que opcionalmente la secuencia aminoácida corresponde a la secuencia de la SEC ID N°: 110, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 o 168.

7. Un polinucleótido que codifica a un polinucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6 en el que opcionalmente el polinucleótido corresponde a la secuencia de SEC ID N° 109: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, o 167.

8. Una células huésped que incluye un vector de expresión que comprende un polinucleótido de la reivindicación 7, que comprende además una secuencia de control, en la que por ejemplo:

- i) la secuencia de control comprende un activador o;
- ii) la secuencia de control comprende una señal de secreción, en la que la célula huésped es opcionalmente *E. coli*.

9. Un proceso de preparación de un compuesto cuya fórmula estructural (I) es:



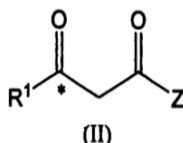
que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *; con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero opuesto, en el que

Z es OR² o NR²R³;

R¹ es C₁₋₈ alquilo, arilo, heteroarilo, arilo – C₁₋₂ alquilo o heteroarilo – C₁₋₂ alquilo;

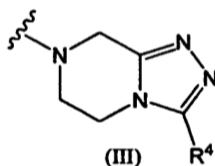
R² y R³ son hidrógenos independientes, C₁₋₈ alquilo, arilo o arilo – C₁₋₂ alquilo; o

R² y R³ junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4– a 7– que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC₁₋₄ alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxilo, halógeno, C₁₋₄ alcoxi y C₁₋₄ alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC₀₋₄ alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxilo, amino, flúor, C₁₋₄ alquilo, C₁₋₄ alcoxi y trifluorometil; el proceso incluye la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (II):

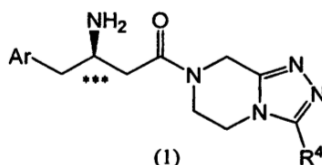


con un polipéptido de transaminasa de la invención en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas, en las que, opcionalmente:

- i) R^1 es un bencilo en el que el grupo fenil de bencil es sustituido, o no, por uno a 3 sustituyentes seleccionado del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; o
- ii) Z es NR^2R^3 , por ejemplo un heterociclo de fórmula estructural (III):

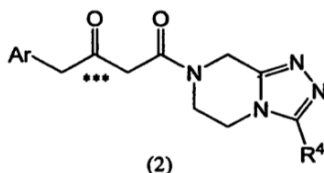


10. Un proceso según la reivindicación 9 de preparación de un compuesto de fórmula estructural (1):



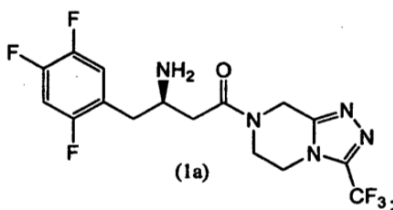
que tiene la configuración – (R) en el centro estereogénico marcado con ***, con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero que tiene la configuración – (S) opuesta, en la que:

Ar es un fenilo sustituido, o no, por uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; y
 R^4 es hidrógeno o C_{1-4} alquilo sustituido, o no, por uno a cinco átomos de flúor, en el que el proceso comprende la etapa de poner en contacto una cetona proquiral de fórmula estructural (2):

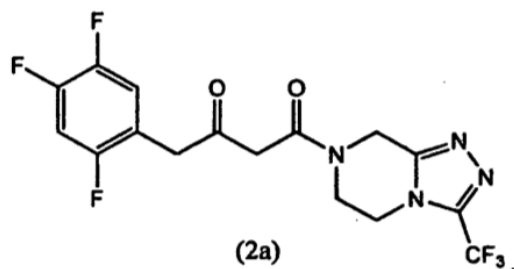


con un polipéptido de transaminasa modificada mejorada descrita en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas para la conversión del compuesto de fórmula (2) en el compuesto de fórmula (1). En algunas realizaciones del proceso, la Ar de la fórmula (2) es 2, 5 – difluorofenilo o 2, 4, 5 – trifluorofenilo, y R^4 es trifluorometilo. En algunas realizaciones del proceso, la Ar de la fórmula (2) es 2, 4, 5 – trifluorofenilo.

11. Un proceso según las reivindicaciones 9 o 10 de preparación de un compuesto de fórmula (1a):



comprende la etapa de poner en contacto un sustrato de la fórmula (2a):



con un polipéptido de transaminasa de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6 en presencia de un dador del grupo amino en un disolvente orgánico apropiado en las condiciones de reacción adecuadas.

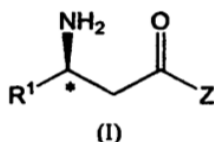
12. El proceso de las reivindicaciones 9, 10 o 11:

- i) el compuesto de fórmula (I), el compuesto de fórmula (1) o el compuesto de fórmula (1a) se producen con, al menos, el 90 % de exceso enantiomérico.
- ii) el compuesto de fórmula (I), el compuesto de fórmula (1) o el compuesto de fórmula (1a) se producen con, al menos, el 99 % de exceso enantiomérico.
- iii) En la que el dador del grupo amino se selecciona entre isopropilamina, alanina, ácido 3 – aminobutírico o metilbencilamina, por ejemplo en la que el dador del grupo amino es isopropilamina;
- iv) Comprende además la etapa de eliminar el subproducto carbonilo de la reacción, en la que opcionalmente el dador del grupo amino es un aminoácido y el subproducto carbonilo es un ácido ceto, en el que el subproducto carbonilo tiene una presión de vapor mayor que el agua y se elimina el subproducto carbonilo inyectando un gas no reactivo o aplicando un vacío, en el que por ejemplo:
 - a) el gas no reactivo es gas nitrógeno o;
 - b) el dador del grupo amino es isopropilamina y el subproducto carbonilo es acetona;
- v) en la que la condición de reacción tiene un pH que oscila entre 7,0 y 9,0, como en la que la condición de reacción tiene un pH de 8,5 o se mantiene el pH añadiendo isopropilamina;
- vi) en la que la condición de reacción tiene una temperatura que oscila entre 25 y 50 °C, en la que opcionalmente la condición de reacción tiene una temperatura de 45 °C.
- vii) en el que el disolvente comprende dimetilsulfóxido, en el que opcionalmente el dimetilsulfóxido oscila entre un 10 y un 50 % (v / v), por ejemplo en el que el DMSO tiene un 30 % v / v o;
- viii) además comprende la etapa de aislamiento del compuesto de la fórmula estructural (I), del compuesto de la fórmula estructural (1) o del compuesto de la fórmula estructural (1a) de la reacción.

13. El proceso de la reivindicación de las reivindicaciones 10 u 11 que comprenden además la etapa de convertir el compuesto de fórmula estructural (1) o el compuesto de fórmula estructural (1a) en una sal farmacéuticamente aceptable poniendo en contacto dicho compuesto con un ácido farmacéuticamente aceptable en un disolvente de reacción apropiado, opcionalmente:

- i) en el que el ácido farmacéuticamente aceptable es ácido fosfórico y la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de fosfato dihidrógeno;
- ii) en el que el compuesto tiene la fórmula estructural (1a), el ácido aceptable farmacéuticamente es un ácido fosfórico y la sal aceptable farmacéuticamente es una sal de fosfato monohidratado o;
- iii) comprende la etapa de cristalización de la sal farmacéuticamente aceptable a partir del disolvente de reacción.

14. Una composición que comprende el polipéptido de transaminasa según cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6 y:



(a) Un compuesto de fórmula estructural (I):
que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *; con un exceso enantiomérico de, al menos, el 70 % respecto al enantiómero opuesto, en el que

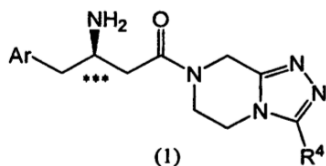
Z es OR^2 o NR^2R^3 ;

R^1 es C_{1-8} alquilo, arilo, heteroarilo, arilo – C_{1-2} alquilo o heteroarilo – C_{1-2} alquilo;

R^2 y R^3 son hidrógenos independientes, C_{1-8} alquilo, arilo o arilo – C_{1-2} alquilo; o

R^2 y R^3 junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4– a 7– que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC_{1-4} alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxí, halógeno, C_{1-4} alcoxi y C_{1-4} alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC_{0-4} alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxí, amino, flúor, C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi y trifluorometil;

(b) Un compuesto de fórmula estructural (1):

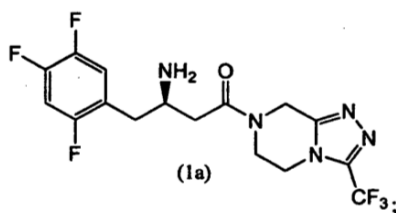


que tiene la configuración – (R) en el centro estereogénico marcado con ***, en el que:

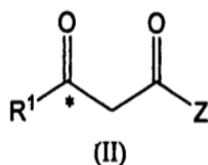
Ar es un fenilo sustituido, o no, por uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; y

R^4 es hidrógeno o C_{1-4} alquilo sustituido, o no por uno a cinco átomos de flúor;

(c) El compuesto de fórmula estructural (1a):



(d) Un compuesto de fórmula estructural (II)



que tiene la configuración estereoquímica indicada en el centro estereogénico marcado con un *, en el que:

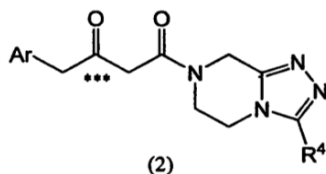
Z es OR^2 o NR^2R^3 ;

R^1 es C_{1-8} alquilo, arilo, heteroarilo, arilo – C_{1-2} alquilo o heteroarilo – C_{1-2} alquilo;

R^2 y R^3 son hidrógenos independientes, C_{1-8} alquilo, arilo o arilo – C_{1-2} alquilo; o

R^2 y R^3 junto al átomo de nitrógeno al que se unen forman un anillo heterocíclico membrado de 4– a 7– que contiene un heteroátomo adicional seleccionado entre O, S, NH y NC_{1-4} alquilo, sustituyendo, o no, el anillo heterocíclico por uno de los tres sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, hidroxí, halógeno, C_{1-4} alcoxi y C_{1-4} alquilo, en el que alquilo y alcoxi son sustituidos, o no, por uno a cinco átomos de flúor; y fusionando el sistema del anillo heterocíclico a un sistema de anillos carbocíclicos aromáticos o saturados de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros o a un sistema de anillos heterocíclicos saturados o aromáticos de 5 a 6 miembros que contiene de uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, S y NC_{0-4} alquilo, sustituyendo, o no, el sistema de anillos fusionados por uno o dos sustituyentes seleccionados entre hidroxí, amino, flúor, C_{1-4} alquilo, C_{1-4} alcoxi y trifluorometil;

(e) Un compuesto de fórmula estructural (2):

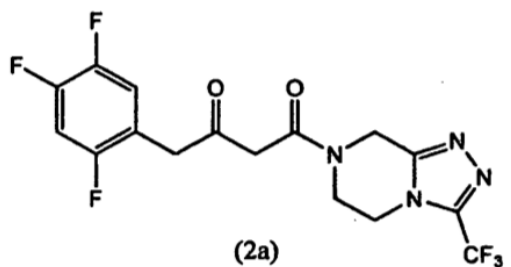


en el que:

Ar es un fenilo sustituido, o no, por uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados del grupo formado por flúor, trifluorometil y trifluorometoxi; y

R⁴ es hidrógeno o C₁₋₄ alquilo sustituido, o no, por uno a cinco átomos de flúor; o

(f) El compuesto de fórmula estructural (2a)



15. La composición de la reivindicación 14, comprende además un dador del grupo amino y en la que opcionalmente el dador del grupo amino comprende isopropilamina, alanina, ácido 3 - aminobutírico o metilbencilamina.