

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 457 518**

(51) Int. Cl.:

C12N 15/63 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2010 E 10822611 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2014 EP 2486134**

(54) Título: **Uso de receptores semejantes a Toll y agonista para tratar cáncer**

(30) Prioridad:

06.10.2009 US 249253 P
07.10.2009 US 249596 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPÍ de la traducción de la patente:
28.04.2014

(73) Titular/es:

PANACELA LABS, INC. (50.0%)
73 High Street
Buffalo, NY 14203, US y
ROSWELL PARK CANCER INSTITUTE (50.0%)

(72) Inventor/es:

GUDKOV, ANDREI V.

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 457 518 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

Uso de receptores semejantes a Toll y agonista para tratar cáncer

Campo de la invención

Esta invención se refiere a métodos para tratar cáncer y enfermedades infecciosas.

5 **Antecedentes de la invención**

Los receptores semejantes a Toll son responsables del reconocimiento de los patrones más comunes de patógenos bacterianos y virales. Su activación resulta en el reclutamiento de la respuesta inmune innata y posteriormente adaptativa. Las células receptoras del sistema inmune en el sitio de la presencia de antígenos es una etapa clave en una respuesta inmune eficaz. Ésta es la razón por la que la inmunización implica el uso de diferentes tipos de adyuvantes. Aunque la mayoría de los tumores expresan antígenos específicos de tumor, usan varios mecanismos que les permiten escapar del reconocimiento inmune. Se ha demostrado recientemente en modelos de ratón que la activación de TLR5 por su ligando y agonista, flagelina bacteriana, resulta en la inducción de un efecto antitumoral frente a aquellos tumores que expresan TLR5 funcional. Esto abre una oportunidad general para considerar a los agonistas de TLR5 en la inmunoterapia del cáncer. Existen dos obstáculos principales en el camino de llevar esta idea a la práctica. En primer lugar, está la rara incidencia de tumores que expresan TLR5 funcional que limita la aplicabilidad de esta estrategia sólo a un subconjunto pequeño de tumores. En segundo lugar, la administración sistémica de agonista de TLR5 da lugar a la activación de la señalización de TLR5 es todas las células que tienen receptor funcional haciendo que la respuesta no esté centrada y no sea específica de tumor. De acuerdo con esto, existe una necesidad en la técnica de un mecanismo o método para la activación autocrina de la señalización del receptor TLR en células infectadas o tumorales con un efecto sistémico mínimo permitiendo así atraer la respuesta inmune innata específicamente a la célula infectada o tumoral.

Resumen de la invención

La presente invención puede estar dirigida a un vector que comprende un primer y segundo ácido nucleico, en el que el primer ácido nucleico codifica un receptor semejante a toll y el segundo ácido nucleico codifica un agonista de receptor semejante a toll. El primer ácido nucleico puede codificar una forma secretada de un receptor semejante a toll. El segundo ácido nucleico puede ser una forma secretada de flagelina. El agonista de receptor semejante a toll puede ser flagelina. El vector puede ser un vector de expresión de mamíferos. El vector puede expresarse a partir de un adenovirus, un lentivirus o un liposoma. La forma secretada de flagelina puede ser CBLB502S. El receptor semejante a toll puede ser TLR-5.

30 La presente invención puede usarse para tratar cáncer en un mamífero que comprende administrar a un mamífero que lo necesite un agente que comprende el vector que comprende un primer y segundo ácido nucleico, en el que el primer ácido nucleico codifica un receptor semejante a toll y el segundo ácido nucleico codifica un agonista de receptor semejante a toll. El cáncer puede ser un tumor. El tumor puede derivar del grupo que consiste en próstata, mama, colon, esófago, estómago, pulmón, pancreático, renal, tiroides, ovarios, garganta o el cuello uterino. El tumor puede derivar del grupo que consiste en sarcomas, meleñomas, leucemias y linfomas. El agente puede administrarse en trans o fuera del tumor del mamífero. El agente puede administrarse directamente en un tumor del mamífero. El agente puede administrarse en combinación con un inmunoestimulador. El inmunoestimulador puede seleccionarse del grupo que consiste en hormona del crecimiento, prolactina y vitamina D. La hormona de crecimiento puede ser somatotrofina. El agente puede administrarse en combinación con una citoquina. La citoquina puede ser un factor de células madre.

35 La presente invención también puede usarse para tratar una infección en un mamífero que comprende administrar a un mamífero que lo necesite el agente del agente que comprende el vector que comprende un primer y segundo ácido nucleico, en el que el primer ácido nucleico codifica un receptor semejante a toll y el segundo ácido nucleico codifica un agonista de receptor semejante a toll. El cáncer puede ser un tumor. La infección puede derivar del grupo que consiste en virus, bacterias, parásitos protozoarios y hongos.

Descripción breve de los dibujos

La Figura 1A-1C representa mapas esquemáticos de vectores adenovirales que expresan TLR5, CBLB502S y su combinación (TLR5 + CBLB502S).

40 La Figura 2 representa los resultados de la proporción del volumen tumoral en ratones durante un número de días en células tumorales (A549) transducidas con un vector control (sin TLR5) o vector que expresa TLR5 en el que los ratones se tratan tres días bien con CBLB502S o PBS.

45 La Figura 3 representa la supresión del crecimiento tumoral por inyección de adenovirus que comprenden vector que coexpresa CBLB502S y receptor semejante a Toll en el que el adenovirus se inyecta en tumor de carcinoma de colon CT26 de ratones singénicos y se estudian los efectos en cis y en trans de las construcciones de vectores adenovirales.

La Figura 4 muestra la estructura de dominio de flagelina bacteriana. La traza del núcleo Ca, distribución del núcleo hidrofóbico e información estructural de F41. Cuatro núcleos hidrofóbicos distintos que definen los dominios D1, D2a, D2b y D3. Todos los átomos de cadena lateral hidrofóbicos se representan con el núcleo Ca. Los átomos de la cadena lateral están codificados por color: Ala, amarillo; Leu, Ile o Val, naranja; Phe y Tyr, morado (átomos de carbono) y rojo (átomos de oxígeno). c, Posición y región de varias características estructurales en la secuencia de aminoácidos de la flagelina. Se muestran, de arriba a abajo: el fragmento F41 en azul; tres plegamientos en hoja b en marrón; la distribución de la estructura secundaria con una hélice a en amarillo, estructura b en verde y giro b en morado; la marca tic en cada 50 residuo en azul; los dominios D0, D1, D2 y D3; la región de contacto de la subunidad axial en el proto-elemento en magenta; la secuencia de aminoácidos bien conservada en rojo y la región variable en violeta; las mutaciones puntuales en F41 que producen los elementos de diferentes superenrollamientos. Las letras en la parte inferior indican la morfología de elementos mutantes: L (D107E, R124A, R124S, G426A), lineal tipo L; R (A449V), lineal tipo R; C (D313Y, A414V, A427V, N433D), curly33.

La Figura 5 muestra un esquema de los dominios de flagelina de *Salmonella*, sus fragmentos y su interacción con TLR5. Las barras oscuras indican regiones del gen de flagelina usadas para construir fragmentos que comprenden A, B, C, A' y B'.

La Figura 6 representa derivados de flagelina. La estructura de dominio y límites aproximados (coordenadas de aminoácidos) de derivados de flagelina seleccionados (listados a la derecha). La flagelina FliC de *Salmonella dublin* está codificada en 505 aminoácidos (aa).

La Figura 7 muestra la secuencia de nucleótidos y aminoácidos para las variantes de flagelina siguientes: AA' (SEQ ID NO: 7-8), AB' (SEQ ID NO: 9-10), BA' (SEQ ID NO: 11-12), BB' (SEQ ID NO: 13-14), CA' (SEQ ID NO: 15-16), CB' (SEQ ID NO: 17-18), A (SEQ ID NO: 19-20), B (SEQ ID NO: 21-22), C (SEQ ID NO: 23-24), GST-A' (SEQ ID NO: 25-26), GST-B' (SEQ ID NO: 27-28), AA'n1-170 (SEQ ID NO: 29-30), AA'n1-163 (SEQ ID NO: 33-34), AA'n54-170 (SEQ ID NO: 31-32), AA'n54-163 (SEQ ID NO: 335-36), AB'n1-170 (SEQ ID NO: 37-38), AB'n1-163 (SEQ ID NO: 39-40), AA'n1-129 (SEQ ID NO: 41-42), AA'n54-129 (SEQ ID NO: 43-44), AB'n1-129 (SEQ ID NO: 45-46), AB'n54-129 (SEQ ID NO: 47-48), AA'n1-100 (SEQ ID NO: 49-50), AB'n1-100 (SEQ ID NO: 51-52), AA'n1-70 (SEQ ID NO: 53-54) y AB'n1-70 (SEQ ID NO: 55-56). La secuencia líder pRSETb se muestra en *italica* (el líder incluye Met, que también es el aminoácido 1 de FliC). El dominio constante N terminal está subrayado. La secuencia conectora de aminoácidos está en negrita. El dominio constante C terminal está subrayado. GST, si está presente, está resaltado.

La Figura 8 muestra una comparación de secuencias de aminoácidos del extremo conservado amino (Fig. 8A) y carboxi (Fig. 8B) de 21 especies de bacterias. Los 13 aminoácidos conservados importantes para la actividad TLR5 se muestran con sombreado. Las secuencias de aminoácidos se identifican por sus números de registro de TrEMBL (primera letra= Q) o Swiss-Prot (primera letra= P).

La Figura 9 muestra la secuencia de ácido nucleico y aminoácidos para la proteína receptora semejante a Toll 5 humana.

35 Descripción detallada

Los inventores han hecho el descubrimiento sorprendente de que la provisión de un receptor semejante a toll, tal como el receptor semejante a toll 5 (TLR-5), en combinación con un agonista del receptor semejante a toll, tal como flagelina, resulta en un efecto cis y trans que recluta células implicadas en la respuesta inmune tanto innata (efecto cis) como adaptativa (efecto trans) para matar específicamente células cancerosas y células infectadas con un patógeno a través de la ruta de apoptosis de NF- κ B. Aunque no se pretende la vinculación a ninguna teoría, la idea implementada en esta invención fue (i) superar la dependencia de las estrategias de inmunización mediadas por TLR en la expresión de TLR preexistente en un tumor mediante la transducción del tumor con una construcción que dirige la expresión de TLR; y (ii) dirigir la respuesta inmune al tumor mediante la creación de un conjunto local de agonista de TLR. Por ejemplo, las formulaciones de fármaco que comprenden TLR simultáneamente inducen la expresión y activan TLR, exponiendo de esta manera a las células tumorales al sistema inmune del huésped imitando la situación de penetración bacteriana masiva a través de la pared intestinal.

Mediante la provisión de un TLR tal como TLR5 y un agonista de TLR tal como flagelina, para interaccionar y activar el sistema inmune tanto innato como adaptativo, el método puede usarse para tratar tumores derivados del cáncer de próstata, mama, colon, esófago, estómago, pulmón, pancreático, renal, tiroides, ovarios, garganta o el cuello uterino así como para tratar sarcomas, melenomas, leucemias y linfomas. Las aplicaciones de este método no están limitadas a tratamientos de cáncer, ya que este método también puede usarse para tratar infecciones derivadas de virus, bacterias, parásitos protozoarios y hongos.

Las variaciones en la provisión del TLR y agonista de TLR pueden incluir vectores, que co-expresan el receptor TLR y una forma secretable de flagelina que activa la actividad TLR en la misma célula de mamífero comprometida. El método de la presente invención también puede incluir construcciones de vector que expresan el receptor TLR en una célula de mamífero y el agonista de TLR que se está administrando en trans a la célula. Por ejemplo, un vector adenoviral puede requerir la modificación de flagelina para conseguir su síntesis y secreción eficaz por las células de mamífero.

1. Definiciones.

La terminología usada en la presente memoria es sólo para el propósito de describir realizaciones particulares y no se pretende que sea limitante. Tal y como se usa en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen los referentes plurales a no ser que el contexto dicte claramente otra cosa.

5 Para el recitado de intervalos numéricos en la presente memoria, se contempla explícitamente cada número que interviene en el citado intervalo con el mismo grado de precisión. Por ejemplo, para el intervalo de 6-9, se contemplan los números 7 y 8 además de 6 y 9, y para el intervalo 6,0-7,0, se contemplan explícitamente los números 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 y 7,0.

"Administrar" puede significar una única dosis o múltiples dosis de un agente o agente.

10 "Análogo" puede significar, en el contexto de un péptido o polipéptido, un péptido o polipéptido que comprende uno o más aminoácidos no estándar u otras variaciones estructurales del conjunto convencional de aminoácidos.

"Anticuerpo" puede significar un anticuerpo de las clases IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, o fragmentos, o derivados de éstos, incluyendo Fab, F(ab')2, Fd y anticuerpos de cadena única, fragmentos divalentes, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos bifuncionales y derivados de éstos. El anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal, anticuerpo polyclonal, anticuerpo purificado por afinidad o mezclas de éstos que presenta una especificidad de unión suficiente para un epítopo deseado o una secuencia derivada de éste. El anticuerpo también puede ser un anticuerpo químérico. El anticuerpo puede derivatizarse por la unión de uno o más restos químicos, peptídicos o polipeptídicos conocidos en la técnica. El anticuerpo puede conjugarse con un resto químico.

20 Un "derivado" puede significar un péptido o polipéptido diferente en algo distinto de la estructura primaria (aminoácidos y análogos de aminoácidos). Los derivados pueden diferenciarse por estar glicosilados, una forma de modificación posterior a la traducción. Por ejemplo, los péptidos o polipéptidos pueden presentar patrones de glicosilación debidos a la expresión en sistemas heterólogos. Si se retiene al menos una actividad biológica, estos péptidos o polipéptidos son derivados según la invención. Otros derivados pueden incluir péptidos de fusión o polipéptidos de fusión que tienen un extremo N o C modificado covalentemente, péptidos o polipéptidos PEGilados, péptidos o polipéptidos asociados con restos lipídicos, péptidos o polipéptidos alquilados, péptidos o polipéptidos unidos mediante un grupo funcional de la cadena lateral de un aminoácido a otros péptidos, polipéptidos o químicos y modificaciones adicionales como se entenderá en la técnica.

25 Un "fragmento" puede significar una parte de un péptido o polipéptido de referencia.

30 Un "homólogo" puede significar un péptido o polipéptido que comparte un ancestro evolutivo común.

35 Una "secuencia líder" puede ser un ácido nucleico que codifica cualquier secuencia peptídica que está unida y se traduce con un péptido o polipéptido de interés para permitir que el péptido o polipéptido de interés se dirija apropiadamente a través del retículo endoplásmico y complejos de Golgi de una célula eucariota para el propósito de la secreción extracelular desde la membrana celular. La secuencia peptídica líder puede derivar de fosfatasa alcalina. La secuencia líder puede tener una secuencia de ADN que comprende atgcgtctgtctgtctgtctggcctgaggctacagctct ccctgggc.

40 Un "liposoma" puede significar una burbuja muy pequeña (vesícula) compuesta por el mismo material que la membrana celular. Un liposoma puede llenarse con fármacos y usarse para administrar fármacos para cáncer y otras enfermedades. Un liposoma puede llenarse con un vector. Una membrana liposomal puede estar compuesta de fosfolípidos, que son moléculas que tienen un grupo de cabeza y un grupo de cola. La cabeza del liposoma puede estar atraída por el agua y la cola, que está compuesta por una cadena hidrocarbonada larga, es repelida por el agua. Las colas pueden estar repelidas por el agua y alinearse para formar una superficie alejada del agua. Los lípidos en la membrana plasmática pueden ser principalmente fosfolípidos como fosfatidiletanamina y fosfatidilcolina. Los liposomas pueden estar compuestos por fosfolípidos derivados de naturales con cadenas lipídicas mixtas (como la fosfatidiletanamina de huevo) o de componentes tensioactivos puros como DOPE (dioleoifosfatidiletanamina).

45 Un "péptido" o "polipéptido" puede significar una secuencia de aminoácidos unida y puede ser natural, sintético o una modificación o combinación de natural y sintético.

50 "Sustancialmente idéntico" puede significar que una primera y segunda secuencias de aminoácidos son al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% sobre una región de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.100 aminoácidos.

55 "Tratar", "tratamiento" o "para tratar" puede significar cada uno para aliviar, suprimir, reprimir, eliminar, prevenir o ralentizar la aparición de síntomas, signos clínicos o patología subyacente de una afección o trastorno de una manera temporal o permanente. Prevenir una afección o trastorno implica administrar un agente de la presente invención a un sujeto antes del inicio de la enfermedad. Suprimir una afección o trastorno implica administrar un agente de la presente invención a un sujeto después de la inducción de la afección o trastorno pero antes de su

aparición clínica. Reprimir la afección o trastorno implica administrar un agente de la presente invención a un sujeto después de la aparición clínica de la enfermedad.

Una "variante" puede significar un péptido o polipéptido que se diferencia en la secuencia de aminoácidos por la inserción, delección o sustitución conservativa de aminoácidos, pero que retiene al menos una actividad biológica.

5 Los ejemplos representativos de "actividad biológica" incluyen la capacidad de unirse a un receptor semejante a toll y ser unidos por un anticuerpo específico. Variante también puede significar una proteína con una secuencia de aminoácidos que es sustancialmente idéntica a una proteína de referencia con una secuencia de aminoácidos que retiene al menos una actividad biológica. Una sustitución conservativa de un aminoácido, es decir, reemplazar un aminoácido con un aminoácido diferente de propiedades similares (por ejemplo, hidrofilicidad, grado y distribución de 10 regiones cargadas) se reconoce en la técnica como que implica típicamente un cambio menor. Estos cambios menores pueden identificarse, en parte, considerando el índice hidropático de los aminoácidos, como se entiende en la técnica. Kyte et al., J. Mol. Biol. 157: 105-132

(1982). El índice hidropático de un aminoácido se basa en una consideración de su hidrofobicidad y carga. Se sabe en la técnica que los aminoácidos con índices hidropáticos similares pueden sustituirse y aún así retener la función 15 de la proteína. En un aspecto, se sustituyen los aminoácidos que tienen índices hidropáticos de ± 2 . La hidrofilicidad de los aminoácidos también puede usarse para revelar sustituciones que resultarían en proteínas que retienen la función biológica. Una consideración de la hidrofilicidad de los aminoácidos en el contexto de un péptido permite el cálculo de la hidrofilicidad media local más alta de ese péptido, una medida útil que se ha indicado que se correlaciona bien con la antigenicidad e inmunogenicidad. Patente U.S. No. 4.554.101, incorporada en su totalidad 20 en la presente memoria por referencia. La sustitución de aminoácidos que tienen valores similares de hidrofilicidad puede resultar en péptidos que retienen la actividad biológica, por ejemplo inmunogenicidad, como se entiende en la técnica. Las sustituciones pueden realizarse con aminoácidos que tienen valores de hidrofilicidad dentro de ± 2 entre sí. Tanto el índice de hidrofobicidad como el valor de hidrofilicidad de aminoácidos están influenciados por la cadena 25 lateral particular de ese aminoácido. Consistente con esta observación, se entiende que las sustituciones de aminoácidos que son compatibles con la función biológica dependen de la similitud relativa de los aminoácidos y, particularmente, las cadenas laterales de esos aminoácidos, como se revela por la hidrofobicidad, hidrofilicidad, carga, tamaño y otras propiedades.

Un "vector" puede significar una secuencia de ácido nucleico que contiene un origen de replicación. Un vector puede ser un plásmido, una levadura o un cromosoma artificial de mamífero. Un vector puede ser un vector de ARN o ADN. 30 Un vector puede ser un vector extracromosómico auto-replicativo o un vector que se integra en el genoma de un huésped.

2. Receptor semejante a Toll

En la presente memoria se proporciona un receptor semejante a toll (TLR) que puede ser un tipo de receptor de 35 reconocimiento de patrón (PRR). El TLR puede reconocer moléculas que son productos moleculares conservados derivados de patógenos que incluyen bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, hongos y virus, pero que se pueden distinguir de las moléculas del huésped, referidas colectivamente como patrones moleculares asociados con patógeno (PAMP).

El TLR también puede reconocer moléculas endógenas liberadas de células dañadas o moribundas, referidas colectivamente como patrón molecular asociado a daño (DAMP). Un PAMP o DAMP puede ser un agonista de TLR como se describe adicionalmente más adelante. El TLR puede ser un fragmento, variante, 40 análogo, homólogo o derivado que recluta moléculas adaptadoras en el citoplasma de células con el fin de propagar una señal. El TLR puede ser de un ser humano u otra especie de mamífero tal como mono rhesus, ratón o rata. El TLR puede ser al menos 30-99% idéntico a un TLR que recluta moléculas adaptadoras en el citoplasma de células con el fin de propagar una señal.

45 El TLR puede ser uno de entre diez y quince tipos de TLR que se estima que existen en la mayor parte de especies de mamíferos. El TLR puede ser uno de los 13 TLR (denominados simplemente TLR1 a TLR13) que se han identificado en seres humanos y ratones conjuntamente, o puede ser una forma equivalente que se ha encontrado en otras especies de mamíferos. El TLR puede ser uno de los 11 miembros (TLR1-TLR11) que se han identificado en los seres humanos.

50 El TLR puede expresarse por diferentes tipos de células inmunes y puede estar localizado en la superficie celular o en el citoplasma celular. El TLR puede expresarse en células cancerosas. El TLR puede ser expresado por células epiteliales normales en el sistema digestivo, queratinocitos normales en la piel, células epiteliales alveolares y bronquiales y células epiteliales del tracto reproductor femenino. Estas células que recubren un órgano pueden ser la primera línea de defensa frente a la invasión de microorganismos y los TLR expresados en las células epiteliales pueden tener un papel crucial en la regulación de la proliferación y apoptosis.

55 La célula cancerosa que expresa TLR puede seleccionarse de la tabla siguiente:

Tabla 1. Expresión de TLR en células cancerosas humanas

<u>TIPO DE CÁNCER</u>	<u>TLR</u>
Cáncer gástrico	TLR2, TLR4, TLR5, TLR9
Cáncer colorrectal	TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR9
Cáncer de ovario	TLR2, TLR3, TLR4, TLR5
Cáncer cervical	TLR3, TLR4, TLR5, TLR9
Cáncer de pulmón	TLR2, TLR3, TLR4, TLR9
Cáncer de próstata	TLR4, TLR9
Melanoma	TLR2, TLR3, TLR4
Cáncer de cerebro	TLR2, TLR4
Cáncer de mama	TLR2, TLR3, TLR4, TLR9
Carcinoma hepatocelular	TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR9
Cáncer laringeo	TLR2, TLR3, TLR4

El TLR expresado en células cancerosas puede regular al alza la cascada de NF-κB y producir proteínas anti-apoptóticas que contribuyen a la carcinogénesis y proliferación de células cancerosas.

5 Se sabe que cuatro moléculas adaptadoras de TLR están implicadas en la señalización. Estas proteínas se conocen como factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88), Tirap (también denominado Mal), Trif y Tram. Los adaptadores activan otras moléculas en la célula, incluyendo determinadas proteínas quinasas (IRAK1, IRAK4, TBK1 e IKK1) que amplifican la señal y finalmente dan lugar a la inducción o supresión de genes que orquestan la respuesta inflamatoria. Las rutas de señalización de TLR durante el reconocimiento del patógeno pueden inducir reacciones 10 inmunes mediante rutas extracelulares e intracelulares mediadas por MyD88, factor nuclear potenciador de la cadena ligera kappa de células B activadas (NF-κB) y proteína quinasa asociada a mitógeno (MAPK). En total, miles de genes se activan por la señalización de TLR y, colectivamente, el TLR constituye una de las vías de entrada más pleyotrópicas, pero firmemente reguladas para la modulación génica.

15 Los TLR junto con los receptores de interleuquina-1 forman una superfamilia de receptores, conocida como la "superfamilia de receptor de interleuquina-1/receptor semejante a Toll". Todos los miembros de esta familia tienen en común un dominio denominado TIR (receptor Toll-IL-1). Pueden existir tres subgrupos de dominios TIR. Las proteínas con dominios TIR del subgrupo I son receptores para interleuquinas que son producidos por macrófagos, monocitos y células dendríticas y todos tienen dominios de inmunoglobulina (Ig) extracelulares. Las proteínas con dominios TIR del subgrupo II son TLR clásicos y se unen directamente o indirectamente a moléculas de origen 20 microbiano. Un tercer subgrupo de proteínas que contienen dominios TIR (III) consiste en proteínas adaptadoras que son exclusivamente citosólicas y median la señalización de proteínas de los subgrupos 1 y 2. El TLR puede ser un fragmento, variante, análogo, homólogo o derivado que retiene bien un dominio TIR del subgrupo I, dominio TIR del subgrupo II o dominio TIR del subgrupo III.

25 El TLR puede funcionar como un dímero. Por ejemplo, aunque la mayor parte de los TLR parecen funcionar como homodímeros, TLR2 forma heterodímeros con TLR1 o TLR6, teniendo cada dímero una especificidad de ligando diferente. El TLR también puede depender de otros co-receptores para una sensibilidad completa para el ligando, tal como en el caso del reconocimiento por TLR4 de LPS, que requiere MD-2. Se sabe que CD14 y la proteína de unión a LPS (LBP) facilitan la presentación de LPS a MD-2.

a. TLR1

30 El TLR puede ser TLR-1, que reconoce PAMP con una especificidad para bacterias gram-positivas. TLR1 también se ha designado como CD281.

b. TLR5

35 El TLR puede ser el receptor semejante a Toll 5. La proteína codificada por el TLR-5 puede jugar un papel fundamental en el reconocimiento de patógenos y la activación de la inmunidad innata. TLR-5 puede reconocer PAMP que se expresan en agentes infecciosos, y median la producción de citoquinas necesarias para el desarrollo de la inmunidad eficaz. TLR-5 puede reconocer flagelina bacteriana, un componente principal de los flagelos bacterianos y un factor de virulencia. La activación del TLR puede movilizar el factor nuclear NF-κB y estimular la producción del factor de necrosis tumoral alfa.

3. Agonista del receptor semejante a Toll

En la presente memoria también se proporciona un agonista de TLR. El agonista de TLR puede ser un PAMP, que puede ser un producto molecular conservado derivado de un patógeno. El patógeno puede ser una bacteria Gram-positiva, bacteria Gram-negativa, hongo o virus. El agonista de TLR puede ser un ligando de patrón molecular asociado a daño (DAMP), que puede ser una molécula endógena liberada de células dañadas o moribundas. Un DAMP o PAMP puede iniciar una respuesta inmune a través de señales de TLR y reclutar moléculas adaptadoras en el citoplasma de células con el fin de propagar una señal. El agonista de TLR puede ser un agonista para el TLR, que puede ser un ligando de la Tabla 2 siguiente:

Tabla 2. TLR y ligandos

TLR	Ligando DAMP	Ligando PAMP
TLR1		Lipoproteínas triacilo
TLR2	Proteínas de choque térmico	Péptidoglicano
	HMGB1 (alta movilidad del grupo de caja 1-anfoterina)	Lipoproteína
		Ácido lipoteicoico
		Zimosán
TLR3	ARNds propio	ARNds viral
TLR4	Proteínas de choque térmico	Proteínas de choque térmico
	Fibrinógeno	Lipopolisacáridos
	Heparán sulfato	Proteína de fusión RSV
	Fibronectina	Proteínas de la cubierta de MMTV (virus de tumor mamario de ratón)
	Ácido hialurónico	Paclitaxel
	HMGB1	
TLR5		flagelina
TLR6		Ácido lipoteicoico
		Lipoproteínas triacilo
		zimosán
TLR	Ligando DAMP	Ligando PAMP
TLR7/TLR8	ARNss propio	ARNss viral
TLR9	ADN propio	ADN bacteriano y viral
TLR10		
TLR11		Profilina

El agonista de TLR puede ser un fragmento, variante, análogo, homólogo o derivado de un PAMP o DAMP que se une a un TLR e induce la actividad mediada por TLR, tal como activación de actividad NF- κ B. El fragmento, variante, análogo, homólogo o derivado agonista de TLR puede ser al menos 30-99% idéntico a los aminoácidos de un agonista de TLR e inducir actividad mediada por TLR.

El agonista de TLR puede estar dirigido a un TLR tal como TLR-5. El agonista de TLR puede ser un agonista de TLR-5 y estimular la actividad de TLR-5. El agonista de TLR puede ser un anticuerpo anti-TLR5 u otra molécula pequeña. El agonista de TLR puede ser flagelina.

La flagelina también puede ser una flagelina o polipéptido relacionado con flagelina. La flagelina puede ser de cualquier fuente, incluyendo una variedad de especies bacterianas Gram-positivas y Gram-negativas. La flagelina puede ser un polipéptido de flagelina de cualquier especie bacteriana Gram-positiva o Gram-negativa incluyendo, pero no limitado a, un polipéptido de flagelina descrito en la Pub. de Pat. U.S. No. 2003/000044429. Por ejemplo, la flagelina puede tener una secuencia de aminoácidos de una especie bacteriana representada en la Figura 7 de la Publicación de Patente U.S. No. 2003/0044429. Las secuencias de nucleótidos que codifican los polipéptidos de flagelina listadas en la Figura 7 de U.S. 2003/0044429 están disponibles públicamente en fuentes incluyendo la base de datos Genbank de NCBI. La flagelina también puede ser un péptido de flagelina correspondiente a un número de registro listado en los resultados BLAST mostrados en la Fig. 25 de la Pub. de Patente U.S. 2003/000044429, o una variante de éste. La flagelina también puede ser un polipéptido de flagelina como se describe en la Publicación de

Solic. de Patente U.S. No. 2009/0011982. La flagelina puede ser uno cualquiera de un polipéptido de flagelina como se describe en las Figuras 6 y 7 de la presente memoria.

5 La flagelina puede ser un fragmento, variante, análogo, homólogo o derivado de una flagelina que se une a TLR5 e induce actividad mediada por TLR5, tal como activación de actividad NF- κ B. Un fragmento, variante, análogo, homólogo o derivado de flagelina puede ser al menos 30-99% idéntico a los aminoácidos de una flagelina que se une a TLR5 e induce actividad mediada por TLR5.

10 La flagelina puede ser de una especie de *Salmonella*, un ejemplo representativo de la cual es *S. dublin* (codificada por Número de Registro GenBank M84972). El polipéptido relacionado con flagelina puede ser un fragmento, variante, análogo, homólogo o derivado de M84972, o combinación de éstos, que se une a TLR5 e induce actividad mediada por TLR5, tal como activación de actividad NF- κ B. Un fragmento, variante, análogo, homólogo o derivado de flagelina puede obtenerse por un diseño con base racional basado en la estructura de dominio de Flagelina y la estructura conservada reconocida por TLR5.

15 La flagelina puede comprender al menos 10, 11, 12 ó 13 de los 13 aminoácidos conservados mostrados en la Fig. 5 (posiciones 89, 90, 91, 95, 98, 101, 115, 422, 423, 426, 431, 436 y 452). La flagelina puede ser al menos 30-99% idéntica a los aminoácidos 1 174 y 418 505 de M84972. La Fig. 26 de la Publicación de Solic. de Patente U.S. No. 2009/0011982 lista el porcentaje de identidad del extremo amino y carboxi de la flagelina con actividad estimuladora de TLR-5 conocida, comparado con M84972.

20 La flagelina puede ser el componente principal del flagelo bacteriano. La flagelina puede estar compuesta por tres dominios (Fig. 4). El dominio 1 (D1) y el dominio 2 (D2) pueden ser discontinuos y pueden formarse cuando los residuos en el extremo amino y extremo carboxi se yuxtaponen por la formación de una estructura en horquilla. El extremo amino y carboxi que comprenden los dominios D1 y D2 pueden estar muy conservados, mientras el dominio variable medio (D3) puede ser altamente variable. Los estudios con una proteína recombinante que contiene el amino D1 y D2 y el carboxilo D1 y D2 separados por una bisagra de *Escherichia coli* (ND1-2/ECH/CD2) indican que D1 y D2 pueden ser bioactivos cuando se acoplan a un elemento ECH. Esta quimera, pero no la bisagra sola, puede inducir la degradación de IkBa, activación de NF- κ B y producción de NO e IL-8 en dos líneas celulares de epitelio intestinal. El dominio no conservado D3 puede estar en la superficie del filamento flagelar y puede contener los epítopos antigenicos principales. La actividad proinflamatoria potente de la flagelina puede residir en las regiones D1 y D2 N y C altamente conservadas (Véase la Figura 4).

30 La flagelina puede inducir la actividad de NF- κ B mediante la unión al receptor semejante a Toll 5 (TLR5). El TLR puede reconocer una estructura conservada que es particular de la flagelina. La estructura conservada puede estar compuesta por un gran grupo de residuos que de alguna manera son permisivos a variación en el contenido de aminoácidos. Smith et al., Nat. Immunol. 4: 1247-53 (2003), cuyos contenidos se incorporan en la presente memoria por referencia, han identificado 13 aminoácidos conservados en la flagelina que son parte de la estructura conservada reconocida por TLR5. Los 13 aminoácidos conservados de la flagelina que pueden ser importantes para la actividad de TLR5 se muestran en la Fig. 5.

35 Se han preparado numerosos mutantes delecionales de flagelina que retienen al menos parte de la actividad estimuladora de TLR5. La flagelina puede ser uno de dichos mutantes delecionales y puede ser un mutante deletérial descrito en los Ejemplos de la presente memoria. La flagelina puede comprender una secuencia traducida del número de registro GenBank D13689 que carece de los aminoácidos 185-306 ó 444-492 o del número de registro GenBank M84973 que carece de los aminoácidos 179-415 o una variante de éstos.

40 La flagelina puede comprender inserciones de transposones y cambios en el dominio variable D3. El dominio D3 puede sustituirse en parte, o completamente, con una bisagra o polipéptido conector que permite que los dominios D1 y D2 se plieguen apropiadamente de manera que la variante estimula la actividad de TLR5. Los elementos bisagra de la variante pueden encontrarse en la proteína MukB de *E. coli* y pueden tener una secuencia como se muestra en SEQ ID NOS: 3 y 4, o una variante de éstas.

45 La flagelina como se ha descrito anteriormente puede comprender además una secuencia líder. La flagelina que comprende además una secuencia líder puede ser CBLB502S.

4. Agente

50 Esta invención también se refiere a un agente que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un TLR y agonista de TLR. El agente puede administrar el TLR separadamente del agonista de TLR. El agente puede ser un vector. El vector puede comprender un primer ácido nucleico que codifica el TLR y un segundo ácido nucleico que comprende el agonista de TLR. El vector puede ser capaz de transducir células de mamífero. El vector puede ser capaz de la expresión bi-cistrónica del TLR y/o agonista de TLR usando promotores fuertes. El vector puede comprender sólo un gen que codifica el TLR, que puede estar controlado por un promotor fuerte. El vector puede administrarse a una célula de mamífero por un sistema de vector relacionado con virus o liposoma. El sistema de vector de virus puede ser un adenovirus o un citomegalovirus.

El agente puede ser un liposoma que alberga el vector. El liposoma puede ser capaz de transducir células de mamífero y administrar el vector para la expresión.

El agente puede ser una formulación de fármaco que induce simultáneamente la expresión y activa el TLR, exponiendo de esta manera las células tumorales o infectadas al sistema inmune del huésped imitando la situación de una penetración masiva a través de la pared intestinal. El agente puede ser una formulación de fármaco que expresa el TLR en combinación con el agonista de TLR y puede administrarse sistemáticamente en disolución para administración tal como intramuscularmente. El agente puede ser una formulación de fármaco que expresa el TLR en combinación con el agonista de TLR, que puede expresarse a partir del mismo vector, tal como un sistema de vector adenoviral o de citomegalovirus. El agente puede ser una formulación de fármaco que expresa el TLR en combinación con el agonista de TLR expresado en la forma de una nano-partícula, que puede portar un agonista funcional a la superficie celular de una célula de mamífero.

El agente puede ser un agente farmacéutico que comprende la formulación de fármaco descrita anteriormente, que puede producirse usando métodos muy conocidos en la técnica. El agente también puede comprender un coagente.

El vector puede comprender un primer ácido nucleico que codifica TLR5 y un segundo ácido nucleico que comprende flagelina. El vector puede ser capaz de expresar TLR5 y/o flagelina usando un promotor fuerte. El vector de expresión puede comprender además una secuencia líder clonada antes del extremo 5' del gen que codifica el TLR o TLR5 y/o flagelina. El vector de expresión puede ser un sistema de vector basado en pCD515. El vector de expresión puede ser pCD515-CMV-hTLRS-EF1-502 como se describe en la Figura 1A. El vector de expresión puede ser pCD515-CMV-hTLR5 como se describe en la Figura 1B. El vector de expresión puede ser pCD515-CMV-Sseap-502 como se describe en la Figura 1C.

El agente puede ser una formulación de fármaco que induce simultáneamente la expresión y activa el TLR, exponiendo de esta manera las células tumorales o infectadas al sistema inmune del huésped imitando la situación de una penetración masiva a través de la pared intestinal. La formulación de fármaco puede estar en la forma de un sistema de expresión viral que alberga el vector. La formulación de fármaco puede ser un adenovirus que expresa TLR5 humano funcional en combinación con:

el agonista de TLR, administrado sistemáticamente en disolución para administración, tal como intramuscularmente;

el agonista de TLR, expresado a partir del mismo vector adenoviral que el TLR; o

el agonista de TLR, expresado en la forma de nano-partículas que portan el agonista de TLR funcional, tal como flagelina, que puede derivar de CBLB502, en su superficie. La nano-partícula puede estar basada en un bacteriófago T7, o formarse completamente para retener su actividad biológica. La nano-formulación puede proporcionar una activación de informador en respuesta a NF- κ B dependiente de la dosis y puede resultar en la internalización celular por endocitosis para la estrategia de inmunización eficaz (Mobian AP-A).

a. Administración

La administración de los agentes usando el método descrito en la presente memoria puede ser oralmente, parenteralmente, sublingualmente, transdérmicamente, rectalmente, transmucosalmente, tópicamente, mediante inhalación, mediante administración bucal, o combinaciones de éstas. La administración parenteral incluye, pero no está limitada a, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intratecal, e intraarticular. Para uso veterinario, el agente puede administrarse como una formulación conveniente aceptable según la práctica veterinaria normal. El veterinario puede determinar fácilmente el régimen de dosificación y la ruta de administración que es la más apropiada para un animal particular. Los agentes pueden administrarse a un paciente humano, gato, perro, animal grande o un ave.

El agente puede administrarse simultáneamente o metronómicamente con otros tratamientos. El término "simultáneo" o "simultáneamente" tal y como se usa en la presente memoria, significa que el agente y otro tratamiento se administran en 48 horas, preferiblemente 24 horas, más preferiblemente 12 horas, aún más preferiblemente 6 horas y lo más preferiblemente 3 horas o menos, uno respecto al otro. El término "metronómicamente" tal y como se usa en la presente memoria significa la administración del agente en momentos diferentes del otro tratamiento y a una determinada frecuencia respecto a la administración repetida.

El agente puede administrarse en cualquier punto antes de otro tratamiento incluyendo aproximadamente 120 hr, 118 hr, 116 hr, 114 hr, 112 hr, 110 hr, 108 hr, 106 hr, 104 hr, 102 hr, 100 hr, 98 hr, 96 hr, 94 hr, 92 hr, 90 hr, 88 hr, 86 hr, 84 hr, 82 hr, 80 hr, 78 hr, 76 hr, 74 hr, 72 hr, 70 hr, 68 hr, 66 hr, 64 hr, 62 hr, 60 hr, 58 hr, 56 hr, 54 hr, 52 hr, 50 hr, 48 hr, 46 hr, 44 hr, 42 hr, 40 hr, 38 hr, 36 hr, 34 hr, 32 hr, 30 hr, 28 hr, 26 hr, 24 hr, 22 hr, 20 hr, 18 hr, 16 hr, 14 hr, 12 hr, 10 hr, 8 hr, 6 hr, 4 hr, 3 hr, 2 hr, 1 hr, 55 mins., 50 mins., 45 mins., 40 mins., 35 mins., 30 mins., 25 mins., 20 mins., 15 mins., 10 mins., 9 mins., 8 mins., 7 mins., 6 mins., 5 mins., 4 mins., 3 mins., 2 mins. y 1 min. El agente puede administrarse en cualquier punto antes de un segundo tratamiento del agente incluyendo aproximadamente 120 hr, 118 hr, 116 hr, 114 hr, 112 hr, 110 hr, 108 hr, 106 hr, 104 hr, 102 hr, 100 hr, 98 hr, 96 hr, 94 hr, 92 hr, 90 hr, 88 hr, 86 hr, 84 hr, 82 hr, 80 hr, 78 hr, 76 hr, 74 hr, 72 hr, 70 hr, 68 hr, 66 hr, 64 hr, 62 hr, 60 hr, 58 hr, 56 hr, 54 hr, 52 hr, 50 hr, 48 hr, 46 hr, 44 hr, 42 hr, 40 hr, 38 hr, 36 hr, 34 hr, 32 hr, 30 hr, 28 hr, 26 hr, 24 hr, 22 hr, 20 hr, 18 hr, 16 hr, 14 hr, 12 hr, 10 hr, 8 hr, 6 hr, 4 hr, 3 hr, 2 hr, 1 hr, 55 mins., 50 mins., 45 mins., 40 mins., 35 mins., 30 mins., 25 mins., 20 mins., 15 mins., 10 mins., 9 mins., 8 mins., 7 mins., 6 mins., 5 mins., 4 mins., 3 mins., 2 mins. y 1 min.

22 hr, 20 hr, 18 hr, 16 hr, 14 hr, 12 hr, 10 hr, 8 hr, 6 hr, 4 hr, 3 hr, 2 hr, 1 hr, 55 mins., 50 mins., 45 mins., 40 mins., 35 mins., 30 mins., 25 mins., 20 mins., 15 mins., 10 mins., 9 mins., 8 mins., 7 mins., 6 mins., 5 mins., 4 mins., 3 mins., 2 mins. y 1 min.

5 El agente puede administrarse en cualquier punto después de otro tratamiento incluyendo aproximadamente 1 min, 2 mins., 3 mins., 4 mins., 5 mins., 6 mins., 7 mins., 8 mins., 9 mins., 10 mins., 15 mins., 20 mins., 25 mins., 30 mins., 35 mins., 40 mins., 45 mins., 50 mins., 55 mins., 1 hr, 2 hr, 3 hr, 4 hr, 6 hr, 8 hr, 10 hr, 12 hr, 14 hr, 16 hr, 18 hr, 20 hr, 22 hr, 24 hr, 26 hr, 28 hr, 30 hr, 32 hr, 34 hr, 36 hr, 38 hr, 40 hr, 42 hr, 44 hr, 46 hr, 48 hr, 50 hr, 52 hr, 54 hr, 56 hr, 58 hr, 60 hr, 62 hr, 64 hr, 66 hr, 68 hr, 70 hr, 72 hr, 74 hr, 76 hr, 78 hr, 80 hr, 82 hr, 84 hr, 86 hr, 88 hr, 90 hr, 92 hr, 94 hr, 96 hr, 98 hr, 100 hr, 102 hr, 104 hr, 106 hr, 108 hr, 110 hr, 112 hr, 114 hr, 116 hr, 118 hr y 120 hr. El agente puede administrarse en cualquier punto después de un segundo tratamiento del agente incluyendo aproximadamente 120 hr, 118 hr, 116 hr, 114 hr, 112 hr, 110 hr, 108 hr, 106 hr, 104 hr, 102 hr, 100 hr, 98 hr, 96 hr, 94 hr, 92 hr, 90 hr, 88 hr, 86 hr, 84 hr, 82 hr, 80 hr, 78 hr, 76 hr, 74 hr, 72 hr, 70 hr, 68 hr, 66 hr, 64 hr, 62 hr, 60 hr, 58 hr, 56 hr, 54 hr, 52 hr, 50 hr, 48 hr, 46 hr, 44 hr, 42 hr, 40 hr, 38 hr, 36 hr, 34 hr, 32 hr, 30 hr, 28 hr, 26 hr, 24 hr, 22 hr, 20 hr, 18 hr, 16 hr, 14 hr, 12 hr, 10 hr, 8 hr, 6 hr, 4 hr, 3 hr, 2 hr, 1 hr, 55 mins., 50 mins., 45 mins., 40 mins., 35 mins., 30 mins., 25 mins., 20 mins., 15 mins., 10 mins., 9 mins., 8 mins., 7 mins., 6 mins., 5 mins., 4 mins., 3 mins., 2 mins. y 1 min.

b. Formulación

20 El método puede comprender administrar el agente. Los agentes proporcionados en la presente memoria pueden estar en la forma de comprimidos o pastillas formuladas de una manera convencional. Por ejemplo, los comprimidos y cápsulas para administración oral pueden contener excipientes convencionales que pueden ser agentes de aglutinamiento, relleno, lubricantes, disgregantes y agentes humectantes. Los agentes aglutinantes incluyen, pero no están limitados a, jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, tragacanto, mucílago de almidón y polivinilpirrolidona. Los materiales de relleno pueden ser lactosa, azúcar, celulosa microcristalina, almidón de maíz, fosfato de calcio y sorbitol. Los lubricantes incluyen, pero no están limitados a, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, polietilen 25 glicol y sílice. Los disgregantes pueden ser almidón de patata y glicolato sódico de almidón. Los agentes humectantes pueden ser lauril sulfato de sodio. Los comprimidos pueden recubrirse según métodos muy conocidos en la técnica.

30 Los agentes proporcionados en la presente memoria también pueden ser formulaciones líquidas tales como suspensiones acuosas o grasas, disoluciones, emulsiones jarabes y elixires. Los agentes también pueden formularse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, 35 vehículos no acuosos y conservantes. El agente de suspensión puede ser jarabe de sorbitol, metil celulosa, jarabe de glucosa/azúcar, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetil celulosa, gel de estearato de aluminio y grasas comestibles hidrogenadas. Los agentes emulsionantes pueden ser lecitina, monooleato de sorbitán y goma arábiga. Los vehículos no acuosos pueden ser aceites comestibles, aceite de almendra, aceite de coco fraccionado, ésteres 45 grasos, propilen glicol y alcohol étílico. Los conservantes pueden ser p-hidroxibenzoato de metilo o propilo y ácido sórbico.

40 Los agentes proporcionados en la presente memoria también pueden formularse como supositorios, que pueden contener bases de suppositorio tales como manteca de caco o glicéridos. Los agentes proporcionados en la presente memoria también pueden formularse para inhalación, que puede ser en una forma tal como una disolución, suspensión o emulsión que puede administrarse como un polvo seco o en la forma de un aerosol usado un propelente, tal como diclorodifluorometano o triclorofluorometano. Los agentes proporcionados en la presente memoria también pueden formularse como formulaciones transdérmicas que comprenden vehículos acuosos o no acuosos tales como cremas, pomadas, lociones, pastas, escayola medicada, parche o membrana.

45 Los agentes proporcionados en la presente memoria también pueden formularse para administración parenteral tal como por inyección, inyección intratumoral o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden estar en la forma de suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos grasos o acuosos y pueden contener agentes de formulación incluyendo, pero no limitado a, agentes de suspensión, estabilizantes y dispersantes. El agente también puede proporcionarse en una forma de polvo para reconstitución con un vehículo adecuado incluyendo, pero no imitado a, agua estéril sin pirógenos.

50 Los agentes proporcionados en la presente memoria también pueden formularse como una preparación de liberación sostenida, que puede administrarse por implante o por inyección intramuscular. Los agentes pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobicos adecuados (como una emulsión en un aceite aceptable, por ejemplo), resinas de intercambio iónico o como derivados poco solubles (como una sal poco soluble, por ejemplo).

c. Dosificación

55 El método puede comprender administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del agente a un paciente que lo necesita. La cantidad terapéuticamente eficaz requerida para uso en terapia varía con la naturaleza de la afección que se está tratando, la cantidad de tiempo deseada para activar la actividad de TLR y la edad/condición del paciente. En general, sin embargo, las dosis empleadas para el tratamiento de seres humanos adultos están

típicamente en el intervalo de 0,001 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg por día. La dosis puede ser aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg por día. La dosis deseada puede administrarse convenientemente en una única dosis o como dosis múltiples administradas a intervalos apropiados, por ejemplo como dos, tres, cuatro o más sub-dosis por día. Las dosis múltiples pueden desearse o requerirse.

5 La dosificación puede ser a cualquier dosificación tal como aproximadamente 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,7 mg/kg, 0,8 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg, 200 mg/kg, 225 mg/kg, 250 mg/kg, 275 mg/kg, 300 mg/kg, 325 mg/kg, 350 mg/kg, 375 mg/kg, 400 mg/kg, 425 mg/kg, 450 mg/kg, 475 mg/kg, 500 mg/kg, 525 mg/kg, 550 mg/kg, 575 mg/kg, 600 mg/kg, 625 mg/kg, 650 mg/kg, 675 mg/kg, 700 mg/kg, 725 mg/kg, 750 mg/kg, 775 mg/kg, 800 mg/kg, 825 mg/kg, 850 mg/kg, 875 mg/kg, 900 mg/kg, 925 mg/kg, 950 mg/kg, 975 mg/kg ó 1 mg/kg.

5. Método para tratar cáncer

En la presente memoria se proporciona un vector y agente para uso en el tratamiento del cáncer mediante la administración del agente a un mamífero que lo necesita. También pueden usarse para immunoterapia frente al cáncer mediante la conversión de las células tumorales a un estado en el que responden al agonista de TLR con la estimulación intratumoral dirigida de TLR, centrando de esta manera una respuesta inmune en el tumor. Los tumores primarios pueden tratarse antes de la eliminación quirúrgica con el fin de reducir el riesgo del desarrollo de metástasis, así como para tratar otros nódulos tumorales. El método puede comprender la inyección intratumoral. El agente puede inyectarse en un tumor primario antes de la eliminación quirúrgica con el fin de reducir el riesgo del desarrollo de metástasis, así como para tratar otros nódulos tumorales. Puede tratarse cualquier tumor que es accesible para una inyección intratumoral de adenovirus.

Puede tratarse una variedad de cánceres según esta invención, incluyendo carcinoma, vejiga (incluyendo cáncer de vejiga acelerado y metastásico), mama, colon (incluyendo cáncer colorrectal), riñón, hígado, pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas y no pequeñas y adenocarcinoma de pulmón), ovario, próstata, testículos, tracto genitourinario, sistema linfático, recto, laringe, páncreas (incluyendo carcinoma pancreático exocrino), esófago, estómago, vesícula biliar, cuello uterino, tiroides y piel (incluyendo carcinoma de células escamosas); tumores hematopoyéticos del linaje linfoide incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkins, linfoma no de Hodgkins, linfoma de células pilosas, linfoma histiocítico y linfoma de Burkitts; tumores hematopoyéticos del linaje mieloide incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico, leucemia mieloide y leucemia promielocítica; tumores del sistema nervioso central y periférico incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; tumores de origen mesenquimático incluyendo fibrosarcoma, rhabdiosarcoma y osteosarcoma; y otros tumores incluyendo melanoma, xenoderma pigmentoso, queratoactantoma, seminoma, cáncer de tiroides folicular, teratocarcinoma y cánceres del tracto gastrointestinal o la cavidad abdominopélvica.

El método puede combinarse con otros métodos para tratar cáncer, incluyendo el uso de un inmunoestimulador, citoquina o quimioterapéutico. El inmunoestimulador puede ser una hormona de crecimiento, prolactina o vitamina D.

6. Tratamiento de células infectadas

En la presente memoria se proporciona un vector y agente para uso en el tratamiento de una enfermedad infecciosa mediante la administración simultánea de células transducidas por el agente. Pueden usarse para tratar una infección viral, bacteriana, de parásitos protozoarios o fúngica. Puede tratarse con éste cualquier enfermedad infecciosa mediante el uso de una inyección intracelular que resulta en la activación autocrina de la señalización de TLR de las células infectadas con un efecto sistémico mínimo y permitiendo de esta manera atraer una respuesta inmune innata específica a las células infectadas. El tratamiento puede combinarse con otras terapias para tratar infecciones virales, bacterianas, de parásitos protozoarios o fúngicas.

El tratamiento puede comprender administrar el agente. El tratamiento puede comprender la administración de una vacuna que comprende el agente y puede usarse en combinación con cualquier otra vacunación, que puede comprender una construcción que expresa un antígeno elegido.

Ejemplo 1

Síntesis de vector TLR5/flagelina de expresión bi-cistrónica y tratamiento de células tumorales

Se crearon construcciones de vector para expresar el receptor semejante a Toll 5 (TLR-5) y flagelina CBLB502. El vector pCD515 se usó como un núcleo para estas construcciones. La secuencia de ADNc de TLR-5 humano y el ADN que codifica el agonista del receptor semejante a toll CBLB502 se fusionaron individualmente con un péptido líder derivado de fosfatasa alcalina lo que permite el direccionamiento de la proteína expresada a través del retículo endoplásmico (ER) y Golgi hacia la secreción extracelular.

La construcción de vector pCD515-CMV-hTLR5-EF1-502s expresó la forma secretada de flagelina CBLB502 (CBLB502S) y el receptor semejante a toll 5 (TLR5) en la superficie celular. Este vector adenoviral requirió la modificación de CBLB502 para conseguir su síntesis y secreción eficaz por las células de mamíferos. La

5 construcción de adenovirus comprende la secuencia de ácido nucleico líder (Atgctgctgctgctgctgctggcctgaggctacagctccctggc) derivada de la fosfatasa alcalina y se clonó antes del extremo 5' del gen de la flagelina de *Salmonella* truncado (fliC) (véase Burdelya et al., *Science* 320: 226-230 (2008) para codificar una forma secretable de flagelina (es decir, CBLB502S). Se clonó un promotor EF1 (factor de elongación 1a) antes del extremo 5' de este casete que codifica CBLB502S. El gen TLR5 se derivó de seres humanos y tiene la secuencia de aminoácidos como se muestra en la Figura 9. Se clonó un promotor de CMV antes del extremo 5' del gen TLR5. Esta construcción co-expresa TLR5 y CBLB502S. Esta construcción se muestra en la Figura 1A.

10 El vector de expresión pCD515-CMV-hTLR5 se construyó para expresar la forma de TLR-5 humano (véase la Figura 9). La construcción de adenovirus comprende un promotor de CMV fuerte clonado antes del extremo 5' del casete de hTLR5. Esta construcción se muestra en la Figura 1B.

15 El vector de expresión pCD515-CMV-Sseap-502 se construyó para expresar la flagelina secretada CBLB502 y el semejante a toll. La construcción de adenovirus comprende un promotor de CMV fuerte clonado antes del extremo 5' de la secuencia líder SEAP 502 gen de flagelina (fliC). Esta construcción se muestra en la Figura 1C. [Se necesita información de clonación]

Ejemplo 2

Síntesis de vector TLR5/flagelina de expresión bi-cistrónica y tratamiento de células tumorales

20 Se transdujeron dos líneas celulares informadoras de mamíferos, ambas expresando GFP que responde a NF- κ B y que se diferencian en su estado de TLR5, con las construcciones de vector pCD515, pCD515-CMV-hTLR5-EF1-502s, pCD515-CMV-hTLR5-502, pCD515-CMV-hTLR5 y pCD515-CMV-Sseap-502 (véase la Tabla 3 a continuación).

Tabla 3. Actividad de las construcciones adenovirales como activadores de la señalización de TLR5

Tratamiento	Línea informadora 293-sin actividad	Línea informadora 293-TLR
CBLB502	-	+
Ad5 (control) (pCD515)	-	-
Ad5 (TLR5) (pCD515-CMV-hTLRS)	-	-
Ad5 (TLR5) + CBLB502 (pCD515-CMV-hTLR5-EF1-502)	+	+
Ad5 (CBLB502S) (pCD515-CMV-Sseap-502)	-	+
Ad5 (TLR5) (pCD515-CMV-hTLR5) + Ad5 (CBLB502S) (pCD515-CMV-hTLR5-EF1-502s)	+	+
Ad5 (CBLB502S + TLR5) (pCD515-CMV-hTLR5-EF1-502s)	+	+

25 El vector que co-expresa TLR5 y el agonista de TLR5 CBLB502S fue suficiente para inducir la expresión del informador NF- κ B en células 293-sin actividad que no expresan ninguno de los TLR conocidos y que no pueden activarse por el agonista de TLR5 solo. Este experimento demuestra que TLR5 y la flagelina CBLB502S pueden funcionar en trans o en cis para activar la señalización de TLR5.

Ejemplo 3

30 Para ensayar los efectos antitumorales de adenovirus bi-cistrónicos que tienen (pCD515-CMV-hTLR5-EF1-502s), se inyectaron 10 ml de la suspensión adenoviral (1.102-1.011 UI/ml) en uno de dos tumores singénicos que crecen s.c. en ratones Balb/c que se originan de células de carcinoma de colon de ratón CT26 cuando los tumores alcanzaron un diámetro de 3-5 mm y el tamaño tumoral se monitorizó hasta que los tumores control no inyectados alcanzaron el límite de tamaño que requiere la terminación del experimento. Se inyectó a los ratones control (de nuevo, un tumor de dos por ratón) vector adenoviral que expresa la proteína roja fluorescente (RFP). Los resultados de un experimento representativo se muestran en la Figura 4. La ausencia casi completa de crecimiento de los tumores a los que se inyectó (pCD515-CMV-hTLR5-EF1-502s) estuvo acompañada de un crecimiento reducido del tumor no inyectado en el mismo animal comparado con los tumores en los animales control a los que se inyectó adenovirus que expresa RFP. Este resultado indica (i) efecto potente en cis y (ii) visible en trans de pCD515-CMV-hTLR5-EF1-

502s indicativo de reclutamiento de respuesta inmune tanto innata (efecto cis) como adaptativa (efecto trans). Ninguno de los demás virus control listados en la Tabla 1 (es decir, AD5 (control) y Ad5 (TLR5)) inyectado solo tuvo efectos supresores del crecimiento en los tumores.

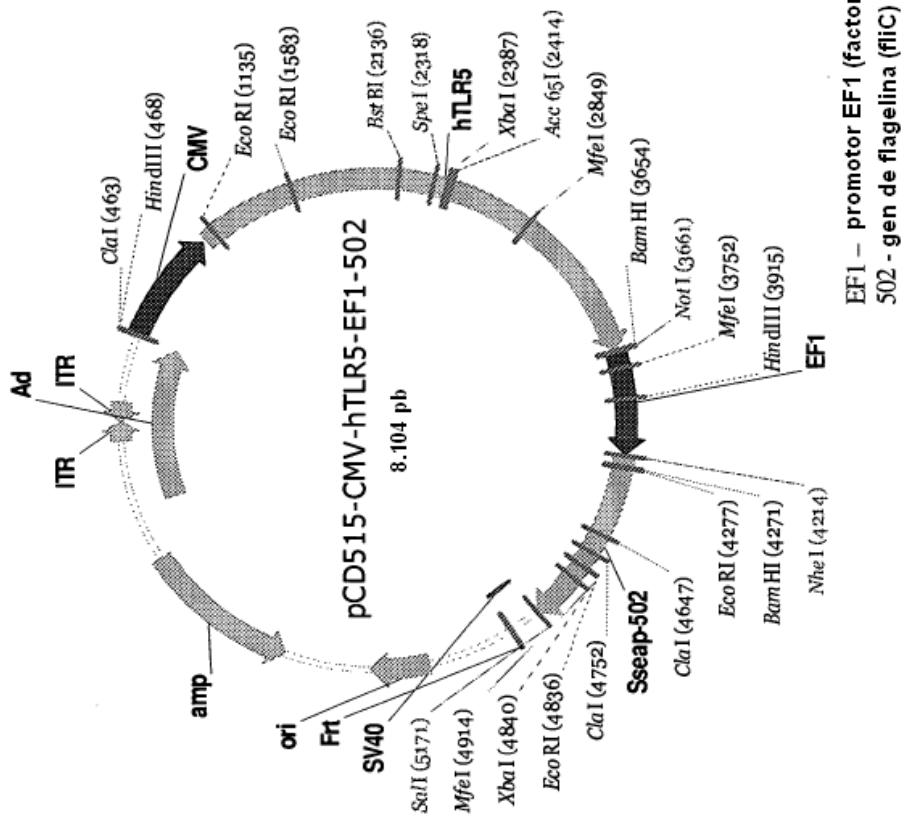
- 5 Así, la expresión ectópica forzosa de TLR5 hace que tipos de células tumorales, que originariamente eran deficientes en TLR5, respondan altamente a la estimulación con TLR5 lo que resulta en la ruptura de la inmunotolerancia tumoral, atracción potente de la respuesta inmune innata que estimula el desarrollo eficaz de la respuesta inmune adaptativa con un efecto antitumoral general posterior.

REIVINDICACIONES

1. Un vector que comprende un primer y segundo ácido nucleico, en el que el primer ácido nucleico codifica un receptor semejante a toll y el segundo ácido nucleico codifica un agonista del receptor semejante a toll seleccionado del grupo que consiste en proteínas de choque térmico, alta movilidad del grupo de caja 1, fibrinógeno, fibronectina, proteína de fusión RSV, proteínas de la cubierta del virus de tumor mamario de ratón, flagelina y profilina.
5
2. El vector de la reivindicación 1, en el que el agonista del receptor semejante a toll es flagelina.
3. El vector de la reivindicación 1, en el que el vector es un vector de expresión.
4. El vector de la reivindicación 3, en el que el vector es un vector de expresión de mamíferos.
5. El vector de la reivindicación 3, en el que el vector se expresa a partir de un adenovirus, un lentivirus o un
10 liposoma.
6. El vector de la reivindicación 1, en el que el primer ácido nucleico es una forma secretada de un receptor semejante a toll.
7. El vector de la reivindicación 2, en el que la flagelina es una forma secretada de flagelina.
8. El vector de la reivindicación 1, en el que el receptor semejante a toll es TLR-5.
- 15 9. El vector de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para uso como un medicamento.
10. Un agente para uso en el tratamiento del cáncer en un mamífero que lo necesita, en el que el agente comprende el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8.
11. El agente para uso de la reivindicación 10, en el que el cáncer es un tumor.
- 20 12. El agente para uso de la reivindicación 11, en el que el tumor deriva del grupo que consiste en próstata, mama, colon, esófago, estómago, pulmón, pancreático, renal, tiroides, ovarios, garganta, cuello uterino, sarcomas, melenomas, leucemias y linfomas.
13. Un agente para uso en el tratamiento de una infección en un mamífero que lo necesita, en el que el agente comprende el vector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8.
- 25 14. El agente para uso de la reivindicación 13, en el que la infección es por un organismo seleccionado del grupo que consiste en un virus, una bacteria, un parásito protozoario y un hongo.

FIGURA 1A

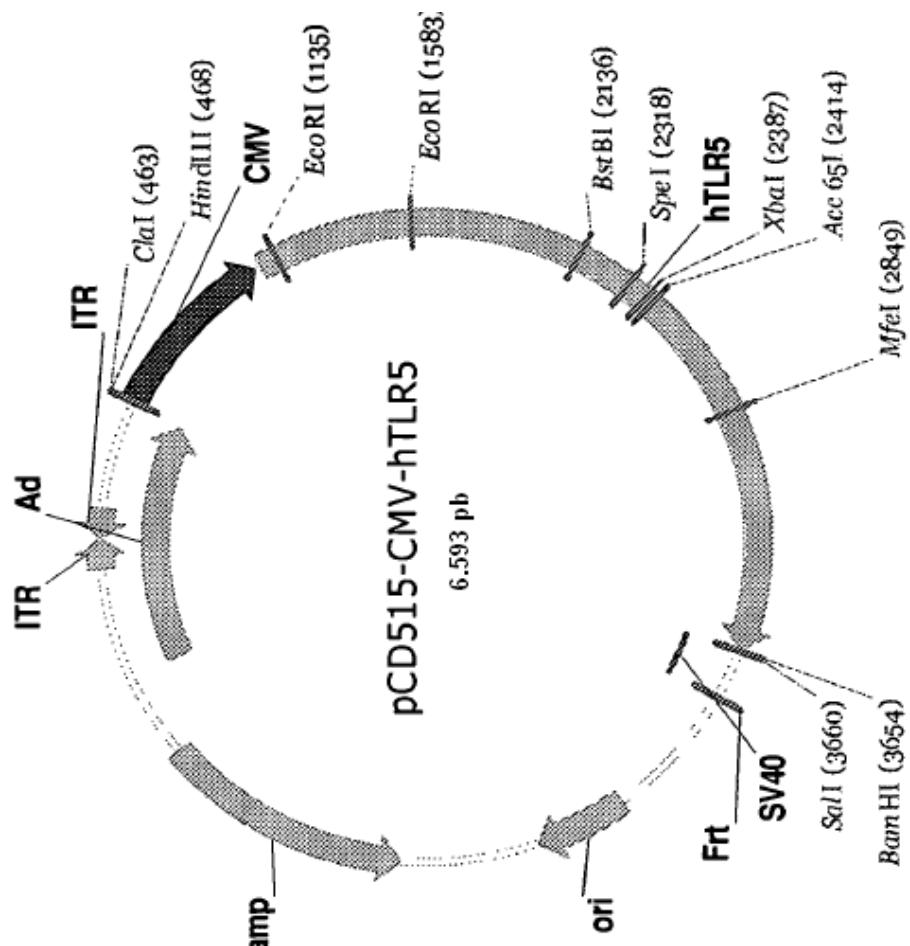
Mobilan = AD(TLR5+CBLB502S)



EF1 – promotor EF1 (factor de elongación 1α).
502 - gen de flagelina (fliC)

AD(TLR5)

FIGURA 1B



AD(CBLB502S)

FIGURA 1C

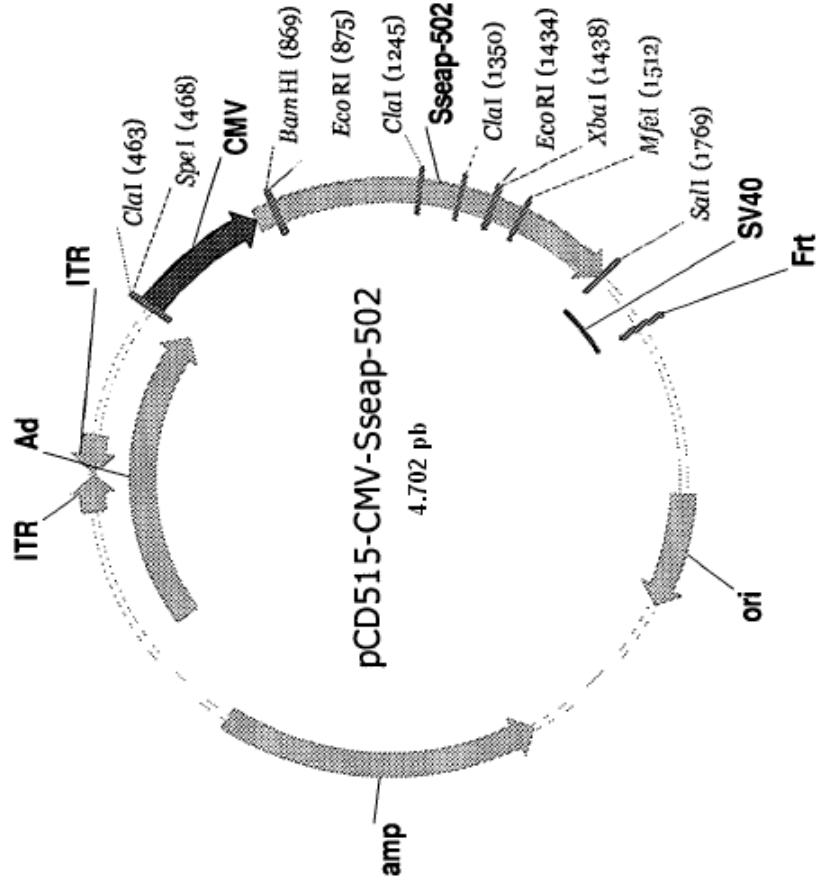


FIGURA 2

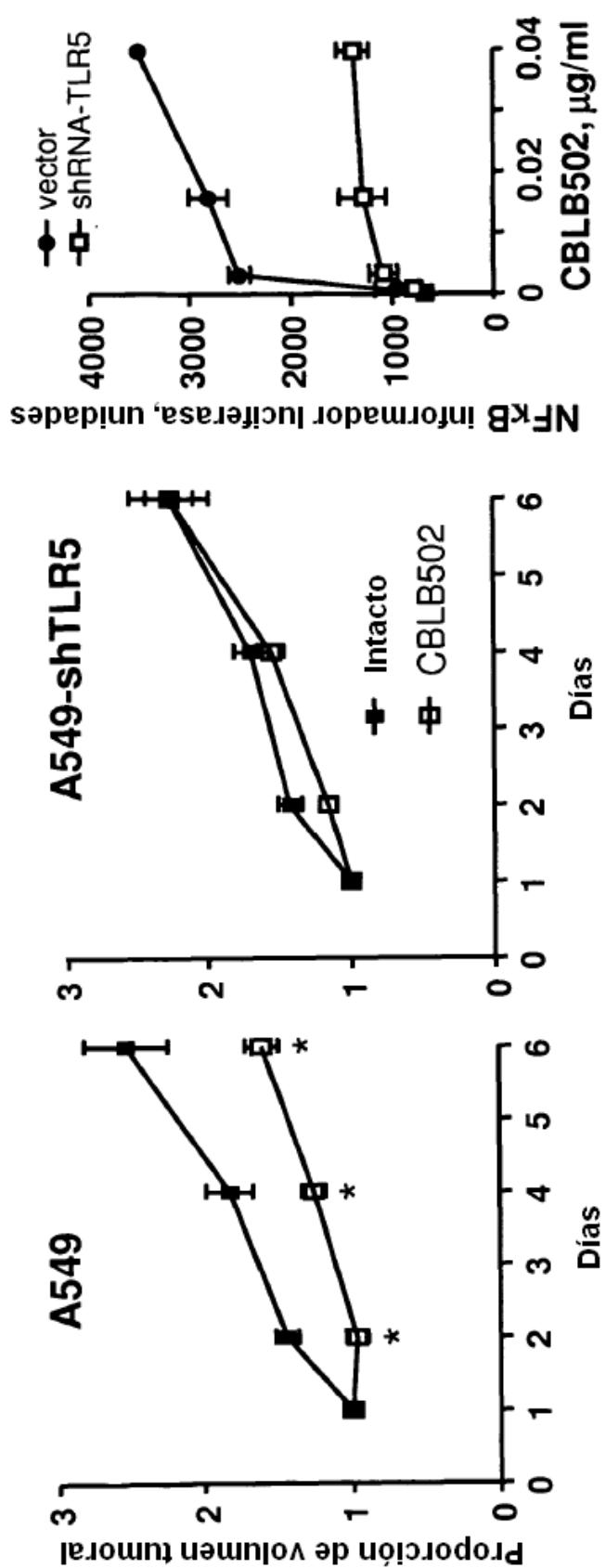


FIGURA 3

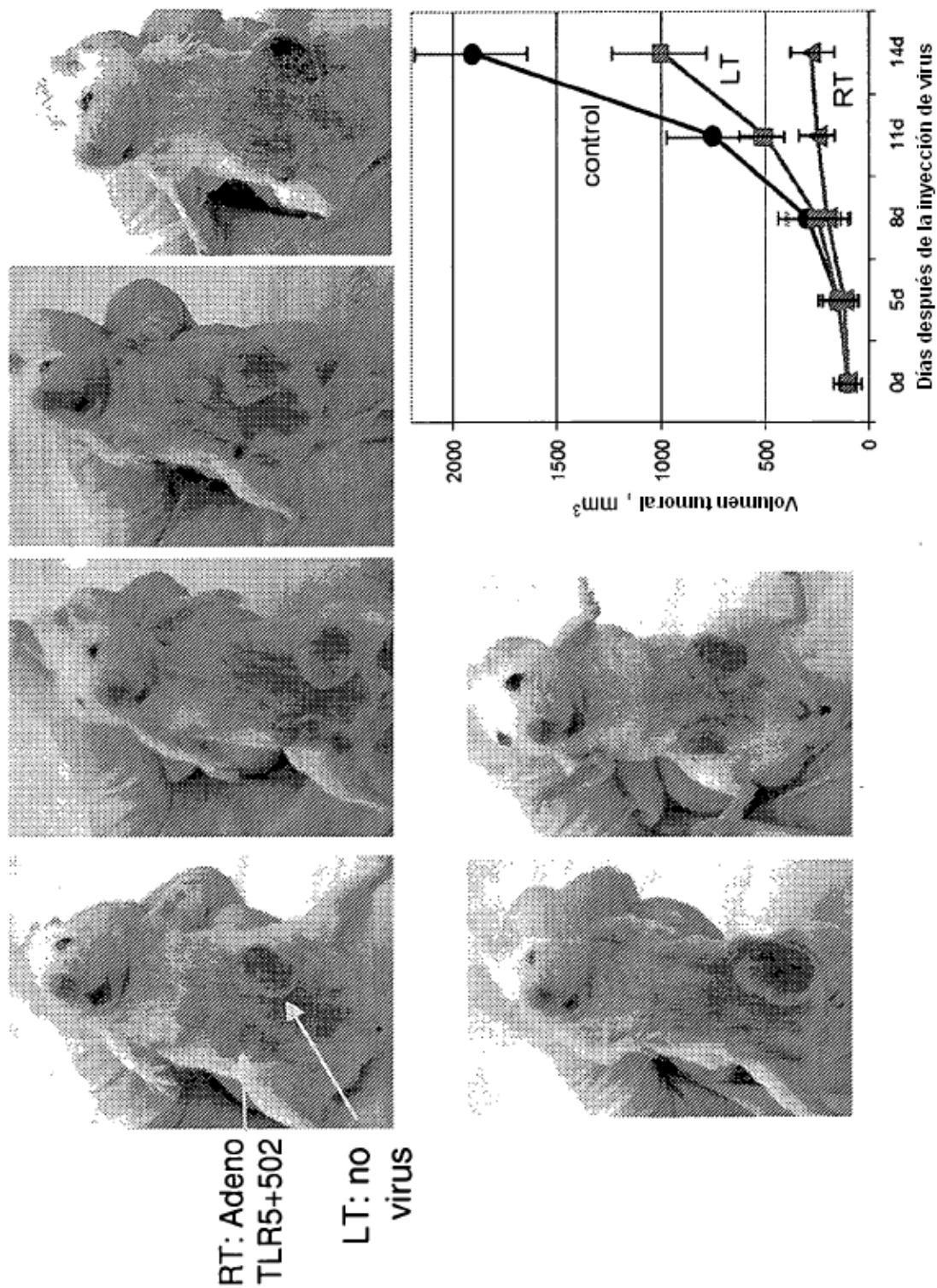


FIGURA 4

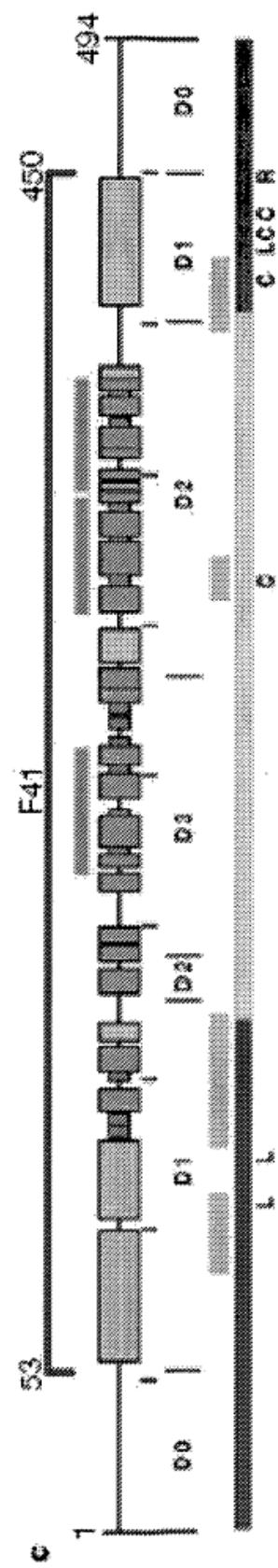


FIGURA 5

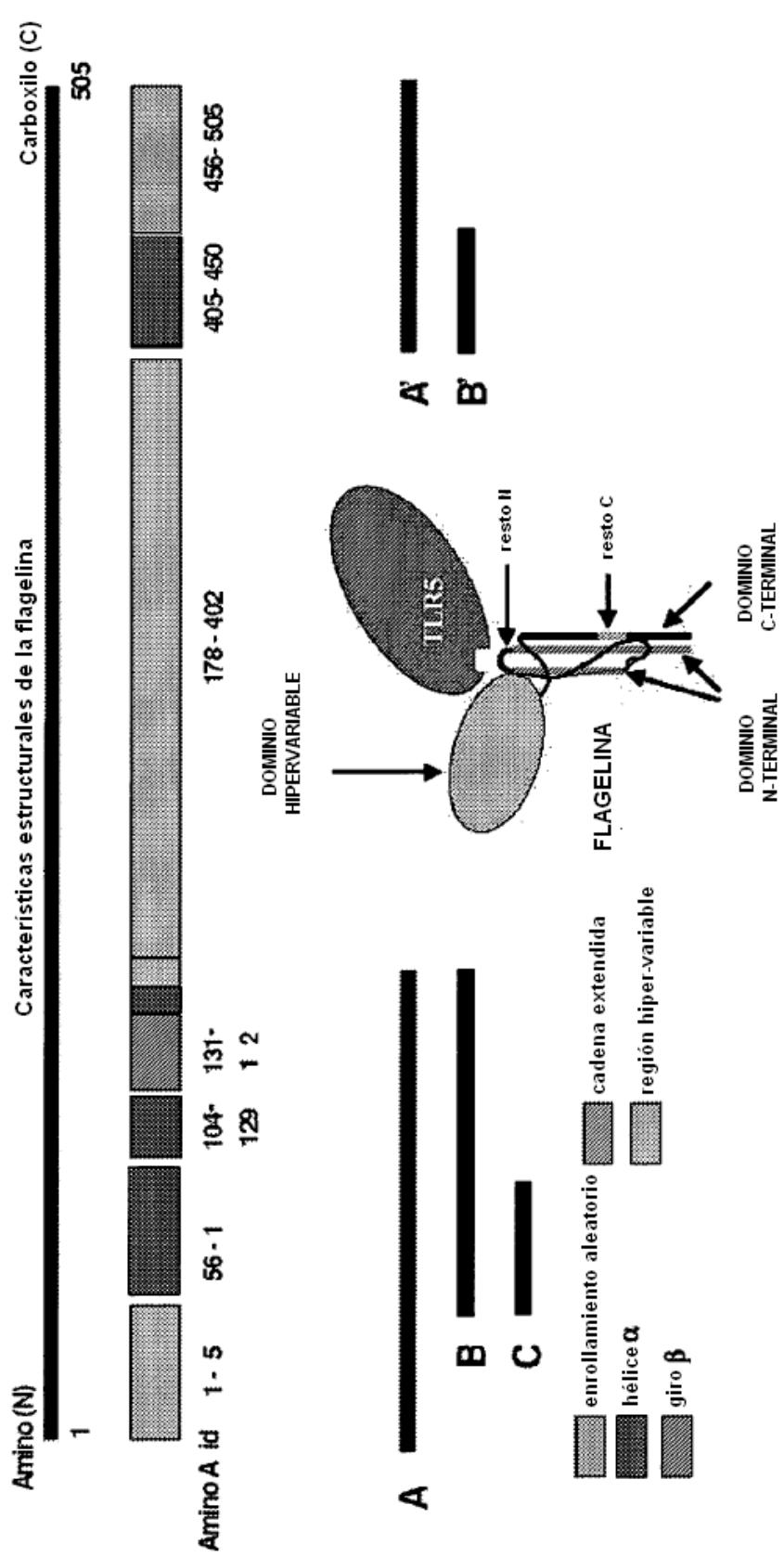


FIGURA 6

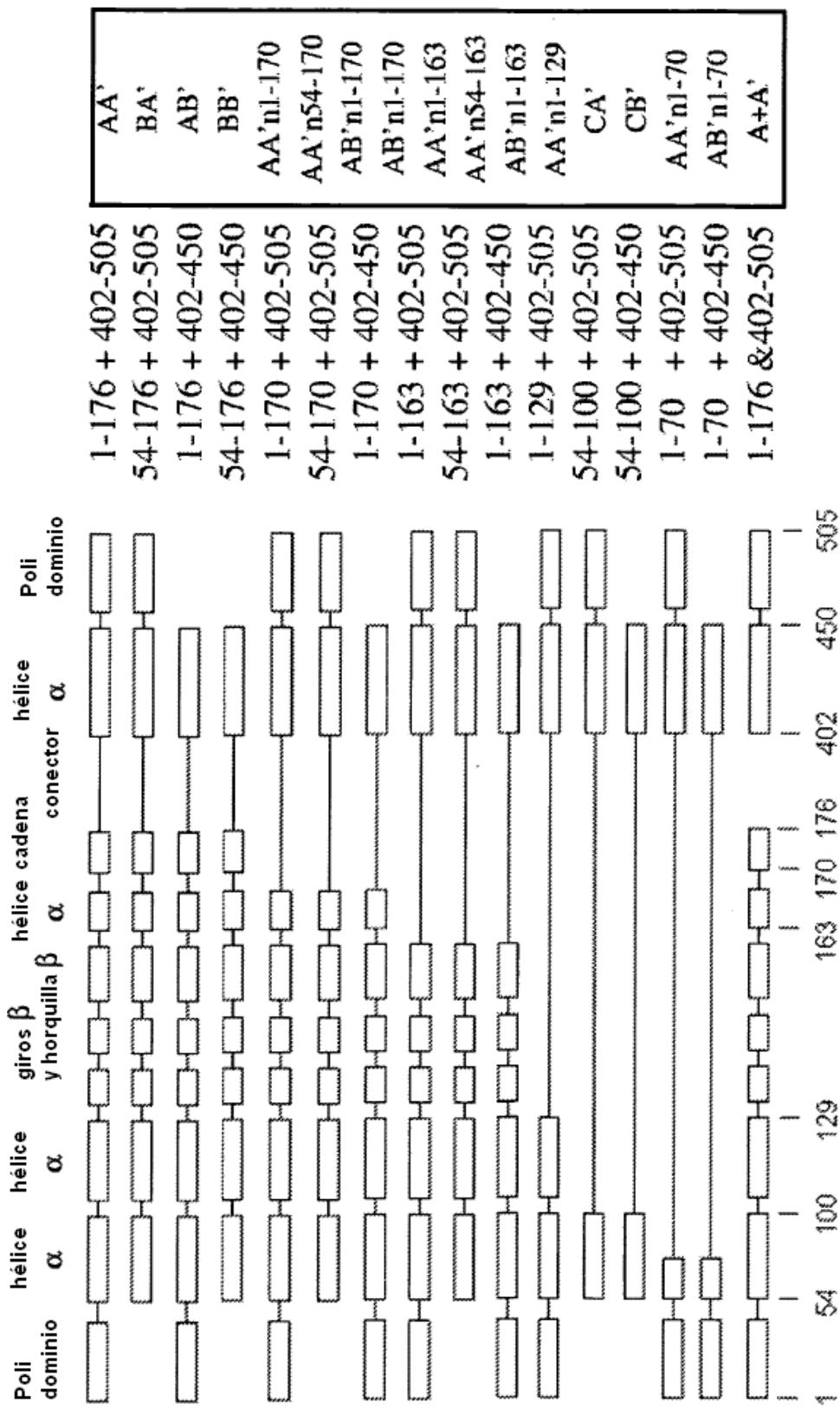


FIGURA 7

$$AA'$$

Secuencia de nucleótidos (990 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGCACAAGTCATTAATACA
AACAGCCTGTCGCTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACIGAGTCC
GCTATTGAGCGTCGTGCTCTGGTCTGCTATCAACAGCGGAAAGACGATGCGGCAGGC
CAGCGATTGCTAACCGCTTCACTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC
GCTAACGACGGCATTCATGCGCAGACCCTGAAGGTGGCTGAATGAAATCAACAAAC
AACCTGCGACGGTGTGGTGTAGTTCTGTTAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTC
GATCTGAAAATCTAICCAGGAATGAAATTCAAGCACTGAGGAAATCGATCGCTTCTC
AAATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCCTCTCAGGACAACCGAGATGAAAATCCAG
GTGGTGTCTAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGC
CTTGGCCTGATGGGTCAATGTTATTCCCCGGGAAATTCCGGTGGTGGTGGTGGAAATT
CTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAGAAAAGTACCGCT
AACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGATCTGCAAAAGTGGACGCACTTCGTTCTCTG
GGGGCAATTCAAAACCGTTTGATTCCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGTTAACCAAT
CTGAACCTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAAGTTCTAATATG
CTAAAGCCAGATTCTGAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCAAGGTT
CCGCAAAACCGTCTCTTTACTGCGTTAG

Secuencia de proteína (329 AA):

MRGSHHHHHHGMASTMGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLN
KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEI
DRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDFNV
NSPGI SGGGGGILDSMGTLINE**AAA**KSTANPLASIDSALKVDAVRSSL
GAIQNRFDSAINTLGNNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTS
VLAQANQVQPNVLSSLR

$$AB'$$

Secuencia de nucleótidos (825 pb):

ATGCGGGGGTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTGGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCGATGGCACAAGTCATTAATACA
AACAGCCCTGCGCTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC
GCTATTGAGCGTCTGTCCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGGAAAGACGATGCGGCAGGGC
CAGCGATTGCTAACCGCTTCACTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCCTAAC
GCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGGCTGAATGAAATCAACAAAC
AACCTGCAGCGTGTGCGTGAAGTTCTGTTAGGCCACTAACGGGACTAACCTGATTC
GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCACGCTTGGAAAGAAAATCGATCGCTTCT
AATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCCTCTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAG
GTTGGTGTAAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTTGATGTGAAAAGC
CTTGGCTTGTGATGGGTTCAATGTTATTCCCCGGGAATTCCGGTGGTGGTGGATT
CTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCT
AACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGATTGTCAAAAGTGGACGCAGTTCGTTCTCTG
GGGCAATTCAAAACCGTTTGATTGAGGCCATTACCAACCTTCTG

Secuencia de proteína (274 AA):

MRGSHHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLY DDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLN
KSQSSLSSAIE RLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNE INNNLQRVREL SVQATNGTNSDSLKSIQDEIQQRLEI
DRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKI QVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDFNV
NSPGISGGGGGILDSMGT LINEDAAA KKSTANPLASIDSALKVDAVRSSL
GAIQNRFDSAITNL

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

BA'

Secuencia de nucleótidos (831 pb):

ATGGGGGGTCTCATCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAAATATCAAAGGC
 CTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
 GCGCTGAATGAAATCAACAACACCTGACGCGTGTGCGTAGTTGCTGTTCAGGCCACT
 AACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAACGCTGCTG
 GAAGAAATCGATCGCTTCTAAATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCTCTCAG
 GACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGTACGATGGTGAACCACTTACCATCGATCTG
 CAAAAAATTGATGTGAAAGCTTGGCTTGTGGTTCAATGTTAATTCCCCGGGAAATT
 TCCGGTGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGGATACATTAATCAATGAAGACCGCTGCC
 GCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCATTGICAAAAGTG
 GACGCACTCGTCTCTCTGGGGGCAATTCAAAACGTTTGATTCAACGCTTACCAAC
 CTTGCAATACGGTAACCAACTCTGAACCTCCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTAT
 GCAACGGAAGTTCTAAATATGCTAAAGCCAGATTCTGAGCAGGGTGGTACTTCGGT
 CTGGCGCAGGCTAACCAACAGGTTCCGCAAAACGCTCTCTTACTGCGTTAG

Secuencia de proteína (276 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
 SIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEID
 RVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKI QVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDFNVN
 SPGISGGGGGILDMSGTLINE DAAA AKSTANPLASIDSALKVDAVRSSLG
 AIQNRFDSA ITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSV
 LAQANQVPQNVLSLLR

BB'

Secuencia de nucleótidos (666 pb):

ATGGGGGGTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAAATATCAAAGGC
 CTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
 GCGCTGAATGAAATCAACAACACCTGACGCGTGTGCGTAGTTGCTGTTCAGGCCACT
 AACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAACGCTGCTG
 GAAGAAATCGATCGCTTCTAAATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCTCTCAG
 GACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGTACGATGGTGAACCACTTACCATCGATCTG
 CAAAAAATTGATGTGAAAGCTTGGCTTGTGGTTCAATGTTAATTCCCCGGGAAATT
 TCCGGTGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGGATACATTAATCAATGAAGACCGCTGCC
 GCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCATTGICAAAAGTG
 GACGCACTCGTCTCTCTGGGGGCAATTCAAAACGTTTGATTCAACGCTTACCAAC
 CTTAG

Secuencia de proteína (221 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
 SIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEID
 RVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKI QVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDFNVN
 SPGISGGGGGILDMSGTLINE DAAA AKSTANPLASIDSALKVDAVRSSLG
 AIQNRFDSA ITNL

CA'

Secuencia de nucleótidos (603 pb):

ATGGGGGGTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAAATATCAAAGGC
 CTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
 GCGCTGAATGAAATCAACAACACCTGACGCGTGTGCGTAGTTGCTGTTCAGGCCACT
 TCCCCGGGAAATTCCGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGGATACATTAATCAAT
 GAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCA
 TTGTCAAAAGTGGACGCACTGGCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACGTTTGATTCA

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

GCCATTACCAACCTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCGTAGCCGTATCGAA
 GATGCTGACTATGCAACCGAAGTTCTAAATGCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCT
 GGTACTTCCGTTGGCGCAGGCTAACCAAGGTTCCGAAAACGTCTCTTTACTGCGT
 TAG

Secuencia de proteína (200 AA):

MRGSHHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLY YDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
 SIAQTTEGALNEINNLQRVRELSVQAT **SPG** ISGGGGIILD **SMG** TLINE DAA
 AAKKSTANPLASIDSALS KVD A VRSS LGAI QNRF DSAITNL GNTV TNLNSAR
 SRIEDAD YATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQV P QNVL SLLR

CB'

Secuencia de nucleótidos (438 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGA TCCGTTCACTTCTAAATCAAAAGGC
 CTGACTCAGGCTTCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
 GCGCTGAATGAAATCAACAAACCTGCAGCGTGTGCGTAGTTGTCAGGCCACT
 TCCCCGGGAATTCCGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGTACATTAAATCAAT
 GAAGACGCTGCCGCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTGCA
 TTGTCAAAAGTGGACGCACTGCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACGGTTTGATTCA
 GCCATTACCAACCTTAG

Secuencia de proteína (145 AA):

MRGSHHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLY YDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
 SIAQTTEGALNEINNLQRVRELSVQAT **SPG** ISGGGGIILD **SMG** TLINE DAA
 AAKKSTANPLASIDSALS KVD A VRSS LGAI QNRF DSAITNL

A

Secuencia de nucleótidos (639 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGA TCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
 AACAGCTGTCGCTGTGACCCAGAAATACCTGAACAAATCTCAGTCCTACTGAGTTCC
 GCTATTGAGCGCTGTCTCTGGCTCGTGTACACAGCGCAGAACGACGATGCGGCAGGC
 CAGCGCATTGCTAACCGCTTCACTTCTAAATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCGTAAC
 GCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAAAC
 AACCTGCAGCGTGTGCTGAGTTGTCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCC
 GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCTTCT
 AATCAGACTCAATTAAACGGTTAACAGTCTGCTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAG
 GTTGGTCTAACGATGGTAAACCATTACCATCGATCTGAAAAATTGATGTGAAAAGC
 CTTGGCTTGTGATGGGTTCAATGTTAATTCCCGGGATGA

Secuencia de proteína (212 AA), los últimos tres aminoácidos
derivan de cebador y policonector pRSETb:

MRGSHHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLY YDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLN
 KSQSSLSSA IERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
 ISIAQTTEGALNEINNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRL EI
 DRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKI QVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDG FNV
NSPG

B

Secuencia de nucleótidos (480 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGA TCCGTTCACTTCTAAATCAAAAGGC
 CTGACTCAGGCTTCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
 GCGCTGAATGAAATCAACAAACCTGCAGCGTGTGCGTAGTTGTCAGGCCACT

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

AACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTICAGCAACGTCTG
GAAGAAATCGATCGCTTCTAACTACAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCTGTCAG
GACAACCAGATGAAAATCCAGGTGGCTAACGATGGTGAACCATACCACATGATCTG
CAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCTTGTGGGTTAATGTTAATTCCCCGGGATG

Secuencia de proteína (159 AA), los últimos tres aminoácidos derivan de cebador y policonector pRSETb:

MRGSHHHHHGMA SMTGGQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
SIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEID
RVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDFNVN
SPG

C

Secuencia de nucléotidos (252 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGCTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTTCACTTCTAAATATCAAAGGT
CTGACTCAGGC TTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
GCGCTGAATGAAAATCAACAAACCTGCAGCGTGTGCGTGAAGTTGCTGTTCAGGCCACT
CCCCGGGATG

Secuencia de proteína (83 AA), los últimos tres aminoácidos derivan de cebador y policonector pRSETb:

MRGSHHHHHGMA SMTGGQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
SIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQAT**SPG**

GST-A'

Secuencia de nucleótidos (1.038 pb), GST resaltado:

ATGICCCCTATACCTAGGTATIGGAAAATTAGGGCCTIGIGCAACCCACTCGACTCTCTT
TTGGATATCTTGAAGAAAAATATGAAGAGCCATTGTATGAGCGCGAAGGGTATAAA
TGGCGAACAAAAGTTGAATTGGGTTGGAGTTTCCAACTTCTTATTATATGAT
GGTGAATGTTAAATTAACACAGCTATGCCATCATACGTTATAGCTGACAAGCACAAAC
ATGTTGGTGGTTGCTAAAACACCCCTGGAGAGATTCATGCTTGAAGGAGCCGTTTG
GATATTAGATACGGTGTTCGAGAATTCATATAGTAAAGACTTTGAAACTCTCAAAAGTT
GATTTCTTAGCAAGCTACCTGAAATGCTGAAATGTTGAAGATGTTATGTCATAAA
ACAAATTTAAATGGTGAATGTAACCCATCTGACTTCATGTTGATGACGCCCTGAT
GTGTTTTATACATGGACCCATGTGCCCTGGATGCGTTCCTAAATAGTTGTTTAA
AAACGATATGAAGCTATCCCACAAATTGATAAGTACTTGAATTCAGCAAGTATHTGCA
TGGCTTGGAGGGCTGGCAGCCAGCTTGGTGGGGCAGCATCTCCTCAAAATGGAT
CTGGTCCCGCTGGATCCCCGGGAATTCCGGTGGTGGGGTGAATTCTAGACTCCATG
GGTACATTAAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAGAAAGTACCGTAACCCACTGGCT
TCAATTGATTCTGATTGTCAAAAGTGGACCGAGTCGTTCTCTCTGGGGCAATTCAA
AACCGTTTGATCAGCCATTACCACTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCG
CGTAGCCGTATGAAGATGCTACTATGCAACGGAAAGTTCTAAATATGCTAAAGCGCAG
ATTCTGCAGCAGGCTGGTACTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGAAACGTC
CTCTCTTACTCGCTTAG

Secuencia de proteína (345 AA):

MSPILGWIKGLVQPTRLLELEYLEEKYEEHYERDEGDKWRNKKFELGLEF
PNLPIYYIDGDVKLTDQSMALIIRYIADKHNMLGGCPKERAEIFSMLEGAVLDI
YGVSRIAYSKDFETLKVDFLSKLPEMPLKMFEDRLCHKTYLNGDHVTHPDFMLY
DALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIPOIDKYLKSSKYIAWPLQGWA
TFGGGDHPPKSDLVPRG**SPG**ISGGGGGILD**SMGT**LINEADA
AAKKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAINTLGNVTNLNSARSRIEDADYATE
VSNMSKAQILQOAGTSVLAQANQVPQNVLSSLR

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

GST-B'

Secuencia de nucleótidos (873 pb). GST resaltado:

ATGICUCCTATACAGGTTATGGAAAATTAGGGCTTGGCAACCGACTCGACTCTT
 TTGGAATATCTTGAAGAAAAATATGAAGAGCATTGATGAGLGGCGATGAAGGTGATAAA
 TGGCGAAACAAAGTTGMAATGGGTTTGGAGTTCCAAATCTCCTTATTATATGAT
 GGTGATGTTAAATTAACAGTCATGCCATCATCGTATATAGCTGACAAGGCACAAAC
 ATGTTGGTGGTTGCTAAAGAGCTGGCAGAGATTTCAATGCTTGAAGGAGGGTTTG
 GATATTAGATACTGGTGTTCGAGATTGCAATAGTAAAGACITTGAAACTCTCAAAGTT
 GATTTCTTACGCAAGCTACCTGAAATGCTGAAAAATGTCGAAGATCGTTATGTCATAAA
 ACATATTTAAATGGTGAICAATGTAACCCATCTGACITCAIGITGATGACGCTCTGAT
 GTTGTTTATACATGGACCGAATGTGCCCTGGATGGCTCCAAATTAGTTGTTTAA
 AACGTATTGAAGCTATCCCACATTGATAAGTACTTGAATTCAGCAAGTATATAGCA
 TGGCTTGCAGGGCTGGCAAGCCACGTTGGTGGCGACCATCCTCCAAAATGGAT
 CTGGTTCGGCTGGATCCCCGGGATTCCGGTGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATG
 GGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAGAAAATACCGCTAACCCACTGGCT
 TCAATTGATTGCTATTGCAAAAGTGGACGCAGTCGTTCTCTGTTCTGGGGCAATTCAA
 AACCGTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTAG

Secuencia de proteína (290 AA):

MSPILGYWKIKGLVQPTRLLEEKYEEHLYERDEGDWKWRNKKFELGLEF
 PNLPYYIDGDVKLTQSMIAIRYIADKHNMLGGCPKERAESMLEGAVLDIY
 GVSRIAYSKDFETLKVDFLSKLPEMPLKMPEDRLCHKTYLNGDHVTHPDFMLY
 DALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCPKKRIEAIPOQIDKYLKSSKYIAWPGWQA
TEGGGDHPPKSDLVPRGSPGI SGGGGILDSMGTLINEDAAAAKSTANPLA
SIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNL

AA'n1-170

Secuencia de nucleótidos (972 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATGATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGCGGATCTGACGCGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
 AACAGCGCTGCGCTTGAACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC
 GCTATTGAGCGCTGCTCTGCTGCTGCTGCTAACAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGC
 CAGCGCGATTGCTAACCGCTTCATATCAAAGGCCACTGACTCAGGCTTCCCGTAAC
 GCTAACCGACGGCATTCTATTGCGCAGGCAACTGAAGGTGGCTGAATGAAATCAACAAAC
 AACCTGCGCTGCGCTGAGTTGCTGTTCAAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCC
 GATCTGAAATCTATCCAGGTGAAATTCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCT
 AATCAGACTCAATTAAACGGTTAAAGTCTCTCAGGCAACCCAGATGAAAATCCAG
 GTTGGTGTCAACGATGGTAAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAATTGATGTGAAAAGC
 CTTGGCCTTATCCCCGGGATTCCGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGGTACA
 TTAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCATT
 GATTCTGCAATTGCAAAAGTGGACGCAGTCGTTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCGT
 TTTGATTCAGCCATTACCAACCTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCTAGC
 CGTATCGAAGAIGCTGACTATGCAACCGAAGTTCTAATAGTCTAAAGCGCAGATCTG
 CAGCAGGCTGGTACTCCGTTGGCGAGGCTAACCGAGTCCGCAAAACGTCTCT
 TTACTGCGTAG

Secuencia de proteína (323 AA):

MRGSHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLLLTQNNLN
 KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
 ISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQQRLEEI
 DRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGL**IPGIS**
GGGGI**LD**SMGTLINEDAAAAKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQN
 RFDSAITTNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVNSMSKAQILQQAGTSVLAQAN
QVPQNVLSLLR

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

AA'n1-163

Secuencia de nucleótidos (951 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCACTCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
 AACAGCCTGCGTGTGACCCAGAAATACTGAACAAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC
 GCTATTGAGCGTCTGTCTCTGCGTGTACACAGCGCAGAACGAGATGCGGCAGGC
 CAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTCTAAATATCAAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC
 GCTAACGACGGCATTTATGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAAAC
 AACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCC
 GATCTGAAATCTATCCAGGA TGAAAATTCAAGCAGACGCTGCGAAGAAAATCGATCGCTTCT
 AATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCTCTCTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAG
 GTTGGTGTCAACGATGGTAAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTATCCCGGGAAATT
TCCGGTGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGGTACATTAAATCAATGAAGACGCTGCC
GCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCATTGCAAAAGTG
GACGCAGTCGTTCTCTCTGGGGCAATTCAAACCGTTTGATTCAGCCATTACCAAC
CTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGGCGTAGCGTATCGAAGATGCTGACTAT
GCAACGGAAGTTCTAATATGCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCGTT
CTGGCCAGGCTAACCAAGGTTCCGAAACGTCCTCTTTACTGCGTTAG

Secuencia de proteína (316 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLN
KSQSSLSSAIELRSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNE INNNLQRVRELSPQATNGTNSSDLKSIQDEIQQRLEEI
DRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKI QVGANDGETITIDLQKIPGISGGGGIL
DSMGTLINEDAAAAKSTANPLASIDSALS KVD A VRSSLGAIQNRFDSA ITN
LGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVL
SLLR

AA'n54-170

Secuencia de nucleótidos (813 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCACTCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGTCACTCTAAATATCAAAGGC
CTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
GCGCTGAATGAAATCAACAAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCAGGCCACT
AACGGGACTAACTCTGATTCCGACTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAAGCAGCTG
GAAGAAATCGATCGCGTTCTAATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCTCTCAG
GACAACCGAGATGAAATCCAGGTTGGTCTAACGATGGTAAACCAATTACCATCGATCTG
CAAAAAATTGATGTAAGGCTTGGCTTATCCCGGGATTTCGGTGGTGGTGGTGG
ATTCTAGACTCCATGGTACATTAAATCAATGAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAATACC
GCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCCAGTCGTTCTCT
CTGGGGCAATTCAAACCGTTGATTCAGCCATTACCAACCTGGCAATACGGTAACC
AATCTGAACTCCGGCGTAGCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTCTAAT
ATGCTAAAGCGCAGATCTGCAGCAGGCTGGTACTTCGTTCTGGCCAGGCTAACCA
GTCCGCAAAACGTCCTCTCTTACTGCGTTAG

Secuencia de proteína (270 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNE INNNLQRVRELSPQATNGTNSSDLKSIQDEIQQRLEEI
DRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKI QVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLIPGISG
GGGGILDSMGTLINEDAAAAKSTANPLASIDSALS KVD A VRSSLGAIQNRF
DSA ITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQ
VPQNVLSLLR

AA'n54-163

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

Secuencia de nucleótidos (792 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTCTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
 CTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGT
 GCGCTGAATGAAATCAACAACACCTGCAGCGTGTGCGTGAAGTGTCTGTTCAAGGCAC
 AACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAACGACGTCTG
 GAAGAAATCGATCGGTTCTTAATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCCTCTCAG
 GACAACCAGATGAAAATCCAGGTGGTGTCAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTG
 CAAAAAATTATCCCCGGAAATTCCGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGGTACA
 TTAATCAATGAAGACCGCTGCCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCAACTGGCTCAATT
 GATTCTGATTGTCAAAAGTGGACGCGAGTCGTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGT
 TTTGATTCCAGCATTACCAACCTGGCAATACCGTAACCAATCTGAACCTCCGCGTAGC
 CGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACCGAAGTTCTAATATGCTAAAGCGCAGATTCTG
 CAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGAGGCTAACCAAGGTTCCGAAACGTCTCTCT
 TTACTGCGTTAG

Secuencia de proteína (263 AA):

MRGSHHHHHGMASMTGGQQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
 SIAQTTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEI
 RVSNQTFNGVKVLSDNQMKIQVGANDGETITIDLQKII**IPGISGGGGILD**
SMGTLINEDAAAACKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFD
FD
AAITNL
LLR

AB'n1-170 (o AA'n1-170c402-450)

Secuencia de nucleótidos (807 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTCTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
AACAGCTGTCGCTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC
GCTATTGAGCGTCTGCTCTGGCTCGTGTATCAACAGCGGAAAGACGATGCGGCAGGC
CAGGCAGTTGCTAACCGCTTCACTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCGTAAC
GCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTCGCTGAATGAAATCAACAAAC
AAACCTGCGCTGTCGIGAGTTGCTGTTCAAGGCCACTAACGGACTAACTCTGATTCC
GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAACGCTCTGGAAAGAAATCGATGCGTTCT
AATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCCTCTCAGGACAACCAAGATGAAAATCCAG
GTTGGTGTCAACGATGGTAAACCAATTACCATCGATCTGCAAAATTTGATGTGAAAAGC
CTTGGCCTTATCCCCGGAAATTCCGGTGGTGGTGGAAATTCTAGACTCCATGGGTACA
TTAATCAATGAAGACCGCTGCCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCAACTGGCTTCAATT
GATTCTGATTGTCAAAAGTGGACGCGAGTCGTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGT
TTTGATTCCAGCATTACCAACCTTAG

Secuencia de proteína (268 AA):

MRGSHHHHHGMASMTGGQQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSSLTQNNLN
 KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEI
DRVSNQTFNGVKVLSDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGL**IPGIS**
GGGGGILD**SMGTLINEDAAAACKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNR**
FDSAITNL

AB'n1-163 (o AA'n1-163c402-450)

Secuencia de nucleótidos (786 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
 ATGGGTCTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
AACAGCTGTCGCTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC
GCTATTGAGCGTCTGCTCTGGCTCGTGTATCAACAGCGGAAAGACGATGCGGCAGGC
CAGGCAGTTGCTAACCGCTTCACTCTAATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCGTAAC

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

GCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAAAC
AACTCTGCACGTGTGCGTGAGTGTGTCAGGCCACTAACGGACTA**CTGATTC**
GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCA**CGCAACGCTG**GAAGAAA**TCGATCGCGTTCT**
AATCAGACTCAATTAAACGGTGTAAAGTCCTCTCAGGACAACCGATGAAAATCAG
GTGGTGTCAACGATGGTGAAAACCATTACCATCGAT**TGCAAAAAATTATCCC**GGGAATT
TCCGGTGTGGTGGTGGAATTCTAGACTCCATGGTACATTAATCA**ATGAAGACGCTGCC**
GCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCATTGATTCTGCAT**TGTCAAAAGTG**
GACGAGTTCGTCTCTGGGGGCAATTCAAACCGTTTGATTCA**GCCATTACCAAC**
CTTTAG

Secuencia de proteína (261 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMA**QVINTNSLSLLTQNNLN**
KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSSDLKSIQDEI**QQRLEEI**
DRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKI**QVGANDGETITIDLQKI**IPG**ISGGGGIL**
DSMGTLINE**DAAAAKKSTANPLASIDSALS**KVDAVRSSLGAIQNRFDSA**ITNL**

AA'n1-129

Secuencia de nucleótidos (849 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCA**TCA**TCATCATGGTATGGCTAGCAT**GACTGGTGGACAGCAA**
ATGGGTGCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGAT**CCGATGGCACAAGTC**ATTAATACA
AAACAGCTGCGCTGTTGACCCAGAATAACCTGAACAA**ATCTCAGTCC**ACTGAGTTCC
GCTATTGAGCGTCTGTCCTCTGGTCTCGTATCAACAGCG**CGAAAGACGATGCGG**CAGGC
CAGGCATTGCTAACCGCTTCACTCTAATATAAAAGGCC**TGACTCAGGCT**CCCCGTAAC
GCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCG**CTGAATGAAATCAACAAAC**
AACTCTGCACGTGTGCGTGAGTTGCTGTT**CAACGGACTA**ACT**CTGATTC**
GATCTGAAATCTATCCAGGAATTCAGCA**ACGCTG**GAAGAAA**TCGATCGCGTTCT**
AAATCAGATCCCGGGAATT**TCGGTGTGGATTCTAGACTCCATGGT**ACATTA
ATCAATGAAGACGCTGCCCAGCCA**AGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCT**CAATTGAT
CTGCTATTGCTAACAAAGTGGACGCATT**CGTTCTCTGGGGCAATTCAAAACGTTT**
GATTCAGGCATTACCAAC**CTGGCAATACGGTAACCA**ATCTGA**ACTCCGCGTAGCCG**
ATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGT**TTCTAATATGCTAAAGCGGAGATTCTGCAG**
CAGGCTGGTACTTCCTTCTGGCG**CAGGCTAACCA**GGTTCCG**AAACGTCCTCTTTA**
CTGCGTTAG

Secuencia de proteína (282 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMA**QVINTNSLSLLTQNNLN**
KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSSDLKSIQDEI**QQRLEEI**
DRVSNQI**PGISGGGGI**LD**SMGT**LINE**DAAAAKKSTANPLASIDSALS**KVDA
VRSSLGAIQNRFDSAITNL**GNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILO**
QAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR

AA'n54-129

Secuencia de nucleótidos (690 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTGCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGAT**CCGTTCACTCTA**ATATAAAAGGC
CTGACTCAGGCTTCCGTACGCTAACGACGG**CTTCTATTGCGCAGACC**ACTGAAGGT
CGCTGAATGAAATCAACAAACACTG**CAGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTCAGGCC**ACT
AAACGGACTAACT**CTGATTCCGATCTGA**ATTCAGGA**ATTCTCAACGCTG**CT
GAAGAAATCGATCGCGTTCTAAT**TCAGATCCC**GGGAATT**TCGGTGTGGTGGATT**
CTAGACTCCATGGGTACATTAAT**CAATGAAGACGCTGCCGAGCCA**AGAAAAGTACCGCT
AAACCACTGGCTTCAAATTGAT**TCGATGTC**AAAGTGGACGC**AGTTGCTTCTCTG**
GGGGCAATTCAAAACCGTTTGATTCA**GCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCA**AT
CTGAACT**CCGCGCGTAGCC**TAT**CGAAGATGCTGACTATGCAACGGAA**GT**TTCTAATATG**

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

TCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCGTTCTGGCGAGGCTAACCGAGTT
CCGCAAAACGTCCCTCTCTTACTGCGTTAG

Secuencia de proteína (229 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
SIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEID
RVSNQIPGISGGGGGILDMSGTLINEDAAAACKSTANPLASIDSALKVDAV
RSSLGAIQNRFDSAITNLNGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQ
AGTSVLAQANQVPQNVLSLLR

AB'n1-129

Secuencia de nucleótidos (684 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
AACAGCCTGTCGCTGTTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCACTGAGTTCC
GCTATTGAGCGTCTGCTCTGGCTCGGTATCAACAGCGGAAAGACGATGCGGCAGGC
CAGGGCATTGCTAACCGCTTCACTCTAATATCAAAGGCGTACTCAGGCTTCCCCTAAC
GCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAAAC
AACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTCAAGGCCACTAACGGACTAATCTGATTCC
GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAAGCAACGTC TGGAAAGAAATCGATCGCGTTCT
AATCAGATCCCCGGGAATTCCGGTGGTGGTGGATTCTAGACTCCATGGGTACATTA
ATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAGAAAATACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGAT
TCTGCATGTCAAAAGTGGACGCGAGTCGTTCTCTGGGGCAATTCAAACCGTTT
GATTCAAGCATTACCAACCTTATAG

Secuencia de proteína (227 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSSLTQNNLN
KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEID
DRVSNQIPGISGGGGGILDMSGTLINEDAAAACKSTANPLASIDSALKVDA
VRSSLGAIQNRFDSAITNL

AB'n54-129

Secuencia de nucleótidos (525 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGGATCCGTCACCTCTAATATCAAAGGC
CTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACGTGAAGGT
GCGCTGAATGAAATCAACAAACACTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTCAAGGCCACT
AACGGGACTAACTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAAGCAACGCTG
GAAGAAATCGATCGCTTCTAACAGATCCCCGGGAATTCCGGTGGTGGTGGTGGATT
CTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAGAAAATACCGCT
AACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGATTGTCAAAGTGGACGCGAGTCGTTCTCTG
GGGGCAATTCAAACCGTTTGATTCAAGCATTACCAACCTTATAG

Secuencia de proteína (174 AA):

MRGSHHHHHGMA SMTGGQQMGRDLYDDDDKDPFTSNIKGLTQASRNANDGI
SIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDLKSIQDEIQQRLEEID
RVSNQIPGISGGGGGILDMSGTLINEDAAAACKSTANPLASIDSALKVDAV
RSSLGAIQNRFDSAITNL

AA'n1-100

Secuencia de nucleótidos (762 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAA
ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
AACAGCCTGTCGCTGTTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCACTGAGTTCC

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

GCTATTGAGCGCTGTCTCTGGCTCGGTATCACACAGCGGAAAGACGATGGGGCAGGC
 CAGCGGATTCGTAACCGCTTCACTTCTAATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCGTAAC
 GCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAAC
 AACCTGAGCGTGTGAGTTGCTGTCAGGCCACTATCCCGGGAAATTCCGGTGGT
GGTGGTGGATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAG
 AAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCAGTT
 CGTTCTCTCTGGGGGCAATTCAAACCGTTTGTGATTGCCATTACCAACCTGGCAAT
 ACGGTAACCAATCIGAACCTCCGGCGTAGCCGTATCGAAAGATGCTGACTATGCAACGGAA
 GTTCTAATATGCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTCCGTTCTGGCGCAG
GCTAACAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTACTGCGTAG

Secuencia de proteína (253 AA):

MRGSHHHHHHGMA SMTGGQQMGRDL YDDDKDPMA QVINTNSL SLLQNNLN
 KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNE INNNLQRVRELSVQATIPGISMGGGILDMSGTLINEDA
AAAKKSTANPLASIDSALKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNLGNTVTNLNSA
RSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR

AB'n1-100

Secuencia de nucleótidos (597 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATCATCATGATGGCTAGCATGACTGGGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
 AACAGCCTGCGTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC
 GCTATTGAGCGTGTGCTCTGGCTCGGTATCACACAGCGGAAAGACGATGGGGCAGGC
 CAGCGGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCGTAAC
 GCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAAC
 AACCTGAGCGTGTGAGTTGCTGTCAGGCCACTATCCCGGGAAATTCCGGTGGT
GGTGGTGGATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAG
 AAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCAGTT
 CGTTCTCTCTGGGGGCAATTCAAACCGTTTGTGATTGCCATTACCAACCTTAG

Secuencia de proteína (198 AA):

MRGSHHHHHHGMA SMTGGQQMGRDL YDDDKDPMA QVINTNSL SLLQNNLN
 KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDG
ISIAQTTEGALNE INNNLQRVRELSVQATIPGISMGGGILDMSGTLINEDA
AAAKKSTANPLASIDSALKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNL

AA'n1-70

Secuencia de nucleótidos (672 pb):

ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATCATGATGGCTAGCATGACTGGGGACAGCAA
 ATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACA
 AACAGCCTGCGTGTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCACTGAGTTCC
 GCTATTGAGCGTGTGCTCTGGCTCGGTATCACACAGCGGAAAGACGATGGGGCAGGC
 CAGCGGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCGTAAC
 GCTAACGACATCCGGGAATTCCGGTGGTGGGAATTCTAGACTCCATGGGTACA
 TTAATCAATGAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATT
 GATTCTGATTGTCAAAAGTGGACGCGATTGCTTCTCTGGGGCAATTCAAACCGT
 TTGATTCCAGCAATTACCAACCTTGGCAATACCGTAACCAATCTGAACCTCCGCGTAGC
 CGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACCGAAGTTCTAATATGCTAAAGCGCAGATTCTG
 CAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCAGGTTCCGAAACAGTCCTCT
TTACTGCGTTAG

Secuencia de proteína (223 AA):

MRGSHHHHHHGMA SMTGGQQMGRDL YDDDKDPMA QVINTNSL SLLQNNLN
 KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDI
PGISMGGGILDMSGTLINEDAAA**AAKKSTANPLASIDSALKVDAVRSSLGA**

FIGURA 7, CONTINUACIÓN

IQNRFDSAITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVL
AQANQVPQNVLSLLR

AB'n1-70

Secuencia de nucleótidos (507 pb):

ATGCGGGGTCTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGGGACAGCAA
ATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAAGTCATTAATACA
AACAGCCTGCGCTGTTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCC
GCTATTGAGCGCTGTCCTCTGGCTCGTATCAACAGCGCAAAGACGATGCGGCAGGC
CAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTCTAATACTAAAGGCCTGACTCAGGCTTCCCGTAAC
GCTAACGACATCCCGGAAATTCCGGTGGTGGTGGATTCTAGACTCCATGGGTACA
TTAATCAATGAAGACGCTGCCAGCCAAGAAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCATT
GATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCAGTCGTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGT
TTTGATTCAGCCATTACCAACCTTAG

Secuencia de proteína (168 AA):

MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLN
KSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDI
PGISGGGGGILDSMGTLINEDAAAAKKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGA
IQNRFDSAITNL

FIGURA 8A

Q53970	1	MAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNAND
P72151	1	MALTVNTNIASLNTQRNLNASSNDLNTSLQRLTGYRINSAKDDAAGLQISNRLSNQISGLNVATRNAND
Q5X5M6	1	MAQVINTNVASLTAQRNLGVSGNMMQTSIQLSSGLRINSAKDDAAGLAIISQRMIAQIRGMNQAVRNAND
Q6VMV6	1	MAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTANIKGLTQASRNAND
P13713	1	MAQVINTNSLSLMAQNNLNKSQSSLGTAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIISNRFTANIKGLTQASRNAND
Q93RK8	1	--MRINHNIAALNTSRQLNAGSNSAAKNMEKLSSGLRINRAGDDAAGLAISEKMRSQIRGLDMASKNAQD
Q02551	1	--MKVNTNIISLKTQEYLRKNNEGMTQAQERLASGKRINSSLDDAAGLAVVTRMNVKSTGLDAASKNSSM
Q09012	1	MAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTANIKGLTQASRNAND
Q8GNT8	1	MAQVINTNSLSLMAQNNLNKSQSLGTAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIISNRFTANINGLTQASRNAND
Q9FAE7	1	MASTINTNVSSLTAQRNLSLSQSSLNTSIQLSSGLRINSAKDDAAGLAISERFTSQIRGLNQAVRNAND
Q8ZF76	1	MA-VINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLGTAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQAAARNAND
Q7N5J4	1	MAQVINTNSLSLLTQNNLNRSQGTLGSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTANVRGLTQAAARNAND
O33578	1	-MTTINTNIGIAAAQANMTKVNDQFTAMTRLSTGLRINAACKDDAAGMAIGEKMTAQVMGLNQAIRNAQD
Q56826	1	MASVINTNDSALLAQNNLTKSGILGSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTANVKGLTQAAARNAND
P42273	1	MAQVINTNYLSLVQNNLNRSQSLGNAIERLSSGMRINSAKDDAAGQAIANRFTSNINGLTQASRNAND
O31059	1	--MVVQHNMQAAANASRMLGITDQSKSTEKLSSGFKINRAADDAAGLISIEKMRKQIRGLDQASTNASD
Q7VZC2	1	MAAVINTNYLSLVQNNLNKSQSLGSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTANVKGLTQAAARNAND
Q9F4A4	1	--MIINHNMNALNAHNRNMMGNIATACKSMEKLSSGLRINRAGDDAAGLAISEKMRQIRGLDQASRNAQD
Q8P9C4	1	MAQVINTNVMSLNAQRNLNTNSSMALSIQQLSSGGRITSASVDAAGLAISERFITQIRGLDVASRNAND
Q82UA3	1	MPQVINTNIASLNAQRNLNVSQNSLSTALQRLSSGLRINSAKDDAAGLAISERMITSQIRGMNQAAARNAND
Q84IC5	1	-GFRINTNGASLNAQVNAGLNSRNLDSSLARLSSGLRINSAAADDASGLIADSLKTQANSLGQAINNAND
	: * : :	: *: * :*. : * *: * : : : . * *..
Q53970	71	GISIAQTTEGALNEINNNLQRVREL SVQATIIGTNSDSLKS IQDEIQQRLEEDRVSNQTQFNGVKVLSQ
P72151	71	GISLAQTAEGALQQSTNILQRIRDALQSAIIGNSNDADRALQKEVAQQAELETRISDITTFGGRKLLDG
Q5X5M6	71	GISLAQVAEGAMQETTNILQRMREL SVQAAIISTNNSSDRASIQSEISQLKSELERIAQNTEFNGQRILDG
Q6VMV6	71	GISVAQTTEGALNEINNNLQRVREL TVQATIIGTNSDSLSS IQAEITQRLEEDRVSSEQTQFNGVKVLAE
P13713	71	GISLAQTEGALNEVNDNLQHIRRITVQAOQHGSNSTSDLKS IQDEITQRLSEINRISEQTDFNGVKVLS
Q93RK8	69	GISLIQTSSEGALNETHSILQRMSELATQAAIDTNTDSLSELQKEMDQLASEVTRISTDTEFTKLLDG
Q02551	71	GIDLLQTADSSMSSILQRMQQLAVQSSIIHGSFSDEDRKQYTAEEFGSLIKELDHVADTTNNNNIKLLDG
Q09012	69	GISVAQTTEGALSEINNNLQRIREL SVQATIIGTNSDSLNS IQDEITQRLSEIDRVSNQTQFNGVKVLS
Q8GNT8	71	GISLAQTEGALNEVNDNLQHIRRITVQAOQHGSNSSSDLQS IQDEITQRLSEIDRISQQTDFNGVKVLSK
Q9FAE7	71	GISLAQTAEGALKSTGDIILQRVRELAVQSAIATNSSGDRKAIQAEVGQLLSEMDRIAGNTEFNGQKLLDG
Q8ZF76	70	GISIAQTTEGSLNEINNNLQRVREL TVQAOQHGSNSSSDLDS IQDEEISLRLAEIDRVSQDQTQFNGKKVLAE
Q7N5J4	71	GISIAQTTEGALNEINTNLQFIREL TVQSOQIIGNSSESDIKS IQEEVTQRLKEIDRISEQTQFNGVRVRLRE
O33578	70	GKMLVDITTEGAHVVEVSSMLQRLRELAVQSSIDINTAADRGLS LAAEGKQLIAEINRAESTTIFNGMKVLDG
Q56826	71	GISIAQTTEGALNEINNNLQRIREL TVQSEIIGNSNSKSDLDS IQKEVTQRLDEIDRISTQTQFNGIKVNLNG
P42273	71	GISVSQTTEGALNEINNNLQRIREL TVQAKIIGTNSNSDINS IQNEVNQRLDEINRVSEQTQFNGVKVLSG
O31059	69	GISAVQTAEGALTEVHSMQRMNELLAVQAAHGTNSESDRSS IQDEINQLTTEIDRVAETTKFNETYLLKG
Q7VZC2	71	GISIAQTTEGALNEINNNLQRIREL TVQASIIIGTNSASDIDS IQQEVNQRLLEEINRIAETQDFNGIKVLSK
Q9F4A4	69	GISLIQTAEGALAETHSILQRMREL SVQSAIATNSATDREALNSEVKQLTSEIDRVANQTSFNGTKLLNG
Q8P9C4	71	GISLAQTAEGAMVEIGNNLQFIREL SVQSAIATNSEDDREALQKEVTQQLIDEIQRVGEQTSFNGTKLLDG
Q82UA3	71	GISLAQTAEGALVEIGNNLQFIRELAVQSAIATNSEDDREALQKEVTQQLIDEIQRVGEQTSFNGTKLLDG
Q84IC5	70	ANSMLQIADKAMDEQLKILETIKVKAQOQDGQTAKTRAMIQGEINKLMEELDNIAINTTYNGKQLLSG

FIGURA 8A, CONTINUACIÓN

Q53970	141	DNQ-MK--IQVGANDG-----	ETITIDLQ-----	KID-VKSLG---LDGFN	
P72151	141	SFGTTS--FQVGSNAY-----	ETIDISLQNASSAIGSYQVG-SNGAGTVASVAGTA		
Q5X5M6	141	SFSGAS--FQVGANSN-----	QTINFSIG-----	SIK-ASSIGGIATATGTE	
Q6VMV6	141	NNE-MK--IQVGANDG-----	ETITINLA-----	KID-AKTLG---LDGFN	
P13713	141	DQK-LT--IQVGANDG-----	ETTDIDLK-----	KID-AKQLG---MDTF-	
Q93RK8	139	TAQNLT--FQIGGANEG-----	QTMSLSIN-----	KMD-SE-----SLK	
Q02551	139	TATGAATQVSIQASDKAN-----	DLINIDLFAKGLSAGTITLGSGSTVAGYSALSVAD		
Q09012	141	DQT-MK--IQVGANDG-----	ETIEIALD-----	KID-AKTLG---LDNFS	
Q8GNT8	141	DQK-LT--IQVGANDG-----	ETIDIDLK-----	NIN-AQSLG---LDKFN	
Q9FAE7	141	SFGSAT--FQVGANAN-----	QTITATTGNFRNYY-GAQLT-ASASG--AATSGAS		
Q8ZF76	140	NTT-MS--IQVGANDG-----	ETIDINLQ-----	KID-SKSLG---LGSYS	
Q7N5J4	141	DSK-MT--IQVGANDN-----	EVIDIDLK-----	KID-KEALN---LGKFT	
Q33578	140	SFTGKQ--LQIGADSG-----	QTMMAINVDSAATDIGAHKISSASTVVADAALTDIT		
Q56826	141	DVTEMK--IQVGANDN-----	ETIGIKLG-----	KIN-SEKLN---LKEFS	
P42273	141	EKSMT--IQVGTNDN-----	EVIEFNLD-----	KID-NDTLG---VASDK	
Q31059	139	GNGDRT--VRVYAHAGLVGSLSQNTKATFQMRKLEIGDSYTIIGGTYKIG-AETVK--EAMTALK			
Q7VZC2	141	NATDMTLSIQVGAKDN-----	ETIDIKID-----	RNS-NWNLY---DAVGT	
Q9F4A4	139	GFKG-E--FQIGANSN-----	QTVKLDIG-----	NMS-AA-----SLG	
Q8P9C4	141	DFSGAL--FQVGADAG-----	QTIGINS-----	IVDAN-VDSLGS-KANFAAS	
Q82UA3	141	SFASQI--FQVGANE-----	ETIDFTD-----		
Q84IC5	140	SFSNAQ--FQIGDKAN-----	QTVNATIG-----	STN-SAKVGQTRFETGAV	
. : : .					

FIGURA 8B

TLR5 de Homo Sapiens

FIGURA 9

1 mgdh1dd11g vv1magpvg ipscsfdgri afyrfcnltq vpqvlntter l11sfnyirt
 61 vtassfpfle q1q1lelgsq ytpltidkea frnlpnlri1 d1gsskiyfl hpdafqg1fh
 121 lfeflryfcg lsdav1kdgy frnlkaltr1 d1sknq1rs1 y1hpsfgkln slksidfssn
 181 qiflvcehel ep1qgk1lsf fs1a1nsly1 rvsd1wgkcm nprnmv1ei ldvsgngwtv
 241 ditgnfsnai sksqafsl1 ah1m1gagf9 f1n1kdpd1q1 tfraglarssv rh1d1shgfv
 301 fs1nsrvfet lkd1kv1n1a ynkink1ade afy1g1dn1lqv ln1syn1lge lyssnfyg1p
 361 kvay1d1lqkn h1ai1qd1qtf kf1ek1lq1ld1 lrdn1alt1h f1ps1p1d1 sgnk1lvt1pk
 421 inltan1ih1 senr1en1di lyf1lrrvph1 q1l1l1nq1nr1 sscsgd1q1tps enps1eq1fl1
 481 genmlqlaw1 telc1wd1v1feg lsh1lq1v1ln hny1lns1ppg vfsh1t1alrg 1s1nsnrltv
 541 1shndlpan1 e1d1srn1q1 lapn1pd1v1f1s1v1l1h1k f1ce1cel1st1f inw1nht1n1t
 601 iagppadiyc vypdsfsgv1 1f1s1ste1g1cd e1e1v1k1s1k1f s1f1v1ct1vt1 t1f1l1mt1ltv
 661 tkfr1gf1fc1 ykt1aqr1lvfk dhpq1g1tep1dm yky1day1lc1s skd1ft1w1q1na 1lk1h1dt1q1ys
 721 dqnrf1n1c1fe erdf1vp1gen1 iani1q1dai1wn srk1v1cl1v1sr hfl1rd1gw1c1e afsyaqgr1
 781 sd1ns1al1m1 vvg1s1sq1y1q1 mkhq1s1r1g1fv qkq1q1y1r1w1pe dfq1d1v1g1w1f1h k1s1qq1l1k1e
 841 kekk1dn1n1p 1q1t1v1at1s