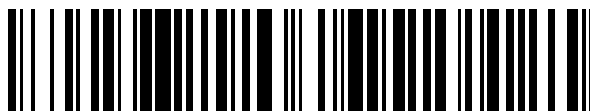


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 462 740**

51 Int. Cl.:

C07K 14/16 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2002** **E 08006236 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2014** **EP 2014674**

54 Título: **Interacciones proteína-proteína en virus de inmunodeficiencia humana**

30 Prioridad:

26.11.2001 US 333346 P

31.05.2002 US 385132 P

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

26.05.2014

73 Titular/es:

LABORATOIRE BIODIM (25.0%)

84, rue de Grenelle

75007 Paris, FR;

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA

RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (25.0%);

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE (CNRS) (25.0%) y

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES (25.0%)

72 Inventor/es:

LEGRAIN, PIERRE;

RAIN, JEAN-CHRISTOPHE;

BENAROUS, RICHARD;

EMILIANI, STÉPHANE;

BERLIOZ-TORRENT, CLARISSA y

BLOT, GUILLAUME

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 462 740 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

Interacciones proteína-proteína en virus de inmunodeficiencia humana

5 CAMPO DE LA INVENCION

10 **[0001]** La presente invención se refiere a proteínas que interaccionan con proteínas del Virus de Inmunodeficiencia Humano (VIH). Más específicamente, la presente invención se refiere a complejos de polipéptidos o polinucleótidos que codifica los polipéptidos, fragmentos de polipéptidos, anticuerpos para los complejos, Dominios de interacción seleccionados (SID®) que se identifican debido a las interacciones proteína-proteína, métodos para cribar fármacos para agentes que modulan la interacción de proteínas y composiciones farmacéuticas que son capaces de modular las interacciones proteína-proteína.

15 ANTECEDENTES Y ESTADO DE LA TÉCNICA

20 **[0002]** La mayoría de procesos biológicos implican interacciones proteína-proteína. Las interacciones proteína-proteína permiten la asociación de dos o más proteínas. Se forman un gran número de enlaces no covalentes entre las proteínas cuando se emparejan de manera precisa dos superficies de proteína. Estos enlaces justifican la especificidad de reconocimiento. De este modo, las interacciones proteína-proteína están implicadas, por ejemplo, en el ensamblaje de subunidades de enzimas, en el reconocimiento de anticuerpo-antígeno, en la formación de complejos bioquímicos, en el plegamiento correcto de proteínas, en el metabolismo de proteínas, en el transporte de proteínas, en la localización de proteínas, en el recambio de proteínas, en las modificaciones de la primera traducción, en las estructuras centrales de virus y en la transducción de señales.

25 **[0003]** Se han desarrollado metodologías generales para identificar proteínas de interacción o para estudiar estas interacciones. Entre estos métodos están el sistema de dos híbridos desarrollado originalmente por Filds y colaboradores y se describen, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos Nos. 5.283.173, 5.468.614 y 5.667.973.

30 **[0004]** El sistema de dos híbridos más temprano y más simple, que actuaba como base para el desarrollo de otras versiones, es un ensayo in vivo entre dos proteínas construidas específicamente. La primera proteína, conocida en la técnica como la "proteína cebo" es una proteína quimérica que se une a un sitio en dirección 5' de ADN de un gen informador mediante un dominio de unión a ADN o BD. Habitualmente, el dominio de unión es el dominio de unión a ADN de Gal4 o LexA de E. coli nativo y los sitios situados en dirección 5' del informador son sitios de unión a Gal4 u operadores de LexA, respectivamente.

35 **[0005]** La segunda proteína también es una proteína quimérica conocida como "presa" ("prey") en la técnica. Esta segunda proteína quimérica porta un dominio de activación o AD. Este dominio de activación deriva habitualmente de Gal4, de VP16 o de B42.

40 **[0006]** Además de los sistemas de dos híbridos, se han desarrollado otros sistemas mejorados para detectar interacciones proteína-proteína. Por ejemplo, se desarrolló un sistema de dos híbridos más uno que permite la utilización de dos proteínas como cebo para cribar bibliotecas de ADNc disponibles para detectar un tercer miembro. Este método permite la detección entre proteínas que son parte de un complejo mayor de proteínas, tal como el holoenzima de ARN polimerasa II y los complejos TFIID y TFIIF. Por lo tanto, este método, en general, permite la detección de la formación de complejos ternarios, así como inhibidores que previenen la interacción entre las dos proteínas fusionadas definidas previamente.

45 **[0007]** Otra ventaja del sistema de dos híbridos más uno se que permite o previene la formación del activador transcripcional, dado que el tercer miembro se puede expresar a partir de un promotor condicional, tal como el promotor Mt25 reprimido en metionina que se regula positivamente en un medio que carece de metionina. La presencia del promotor regulado en metionina proporciona un control excelente para valorar las propiedades de activación o inhibición del tercer miembro debido a su intercambio "on" y "off" para la formación del activador transcripcional. Se describe el método de tres híbridos, por ejemplo, en Tirode et al., The Journal of Biological Chemistry, 272, No. 37 pp. 22995-22999 (1997).

50 **[0008]** Además de los sistemas de dos híbridos y dos híbridos más uno, otra variante es la que se describe en Vidal et al, Proc. Natl. Sci. 93 págs. 10315-10320 denominada los sistemas de dos y un híbrido invertidos en los que se puede cribar un grupo de moléculas que inhiben interacciones específicas proteína-proteína o proteína-ADN, respectivamente.

55 **[0009]** Un resumen de las metodologías disponibles para detectar interacciones proteína-proteína se describe en Vidal y Legrain, Nucleic Acids Research Vol. 27, No. 4 pgs. 919-929 (1999) y Legrain y Selig, FEBS Letters 480 pgs. 32-38 (2000).

60 **[0010]** Sin embargo, las estrategias utilizadas habitualmente anteriores y especialmente los métodos de dos híbridos

utilizados habitualmente presentan sus desventajas. Por ejemplo, se sabe en la técnica que, más a menudo que no, existen falsos positivos y falsos negativos en el método de cribado. De hecho, se ha desarrollado una doctrina en este campo para interpretar los resultados y en la práctica habitual se lleva a cabo en general una técnica adicional, tal como la coimmunoprecipitación o sedimentación por gradiente de los supuestos agentes interactuantes de la célula o tipo de tejido apropiado. Los métodos utilizados para interpretar los resultados se describen por Brent y Finley, Jr. in Ann. Rev. Genet, 31 pgs. 663-704 (1997). De este modo, la interpretación de los datos es muy cuestionable utilizando los sistemas convencionales.

[0011] Un método para superar las dificultades halladas con los métodos en la técnica anterior se describe en WO99/42612. Este método es similar al sistema de dos híbridos descrito en la técnica anterior en que utiliza también polipéptidos "cebo" y "presa". Sin embargo, la diferencia con este método es que se realiza una etapa de apareamiento de por lo menos una primera célula de levadura recombinante haploide que contiene el polipéptido presa a analizar con una segunda célula de levadura recombinante haploide que contiene el polipéptido cebo. Naturalmente, el experto en la materia entenderá que la primera células de levadura recombinante o la segunda célula de levadura recombinante contiene por lo menos un gen informador detectable que es activado por un polipéptido que incluye un dominio de activación transcripcional.

[0012] El método descrito en WO99/42612 permite el cribado de más polinucleótidos presa con un polinucleótido cebo determinado en una única etapa que en los sistemas de la técnica anterior debido a la estrategia de apareamiento de célula a célula entre células de levadura haploides. Además, este método es más meticuloso y reproducible, así como sensible. De este modo, la presencia de falsos negativos y/o falsos positivos es extremadamente mínimo en comparación con los métodos convencionales de la técnica anterior.

[0013] El agente etiológico del SIDA, en concreto el virus de inmunodeficiencia humano (VIH), se descubrió en 1984 y actualmente existen pruebas fiables para el anticuerpo de VIH, así como del propio virus. El SIDA está causado por VIH, un retrovirus humano del grupo de lentivirus. Los cuatro retrovirus reconocidos pertenecen a dos grupos distintos; el retrovirus linfotrófico T humano (o leucemia), tal como HTLV-I y HTLV-II o los virus de inmunodeficiencia humana, tales como VIH-1 y VIH-2. HTLV-I y HTLV-II son virus transformantes, mientras que VIH-1 y VIH-2 son virus citopáticos. La causa más común de SIDA en el mundo es el VIH-1. El VIH-2 está más estrechamente relacionado a algunos miembros de virus de inmunodeficiencia en simios y tiene aproximadamente el 40% de identidad de secuencia con VIH-1. El VIH-2 se ha identificado predominantemente en el oeste de África y se cree que es menos patógeno que el VIH-1.

[0014] VIH-1 tiene los genes retrovirales habituales, tales como *env*, *gal* y *pol*. El gen *gag* codifica las proteínas de núcleo del virión precursor para la proteína de matriz (MA), la proteína de la cápside (CA), la proteína de la nucleocápside (NC) y P6. El gen *pol* codifica el precursor para varias enzimas del virión, tales como proteasa (PR), transcriptasa inversa (RT), ARNasa H e integrasa (IN). El gen *env* codifica los precursores para la glicoproteína de la envoltura (Env gp), tal como la glicoproteína de superficie (gp 120/SU) y la proteína transmembrana (gp 41/TM).

[0015] Los genes de transactivador transcripcional (*tat*) y regulador de la expresión viral (*rev*) son codificados cada uno por dos exones solapantes y producen proteínas pequeñas que no son viriones que son esenciales para la replicación viral. También, varios genes no esenciales que no están implicados en la expresión viral son codificados por VIH-1, tales como *vif*, *vpr*, *vpu* y *nef*.

[0016] El SIDA es una epidemia global con casos prácticamente en todos los países del mundo. Sólo en los Estados Unidos, a mitad de los años 90, se han descrito aproximadamente 120.000 casos entre adultos y adolescentes, y aproximadamente 2.000 casos entre niños menores de 13 años.

[0017] El contacto sexual es el modo principal de transmisión del VIH a nivel mundial. El virus también se puede transmitir a través de la sangre o productos sanguíneos y las madres infectadas pueden transmitir el VIH a sus hijos perinatalmente y ya en el primer y segundo trimestre de embarazo. El virus también se puede transmitir desde la madre al hijo a través del amamantamiento. La prevalencia de la infección por VIH entre los usuarios de drogas intravenosas es excepcionalmente elevada.

[0018] Las manifestaciones clínicas de la infección por VIH varían desde un estado asintomático a un estado severo. La mayoría de los individuos no experimentan síntomas reconocibles tras la infección inicial, pero algunos pacientes padecen de una enfermedad aguda aproximadamente de tres a seis semanas después de la infección primaria. Esta enfermedad aguda se caracteriza por fiebre, rigidez, artralgias, mialgias, sarpullido maculopapular, urticaria, calambres abdominales, diarrea y meningitis aséptica. La seroconversión tiene lugar en general entre 8 a 12 semanas después de la infección. La enfermedad neurológica es habitual en individuos infectados con VIH, siendo los más habitual la encefalopatía o complejo de demencia relacionado con el SIDA.

[0019] Actualmente, los pacientes infectados con SIDA son tratados con anti-proteasas de VIH en un tratamiento con un cóctel de tres. Sin embargo, esta medicación es muy costosa y a pesar de que prolonga la vida del individuo infectado con SIDA, no cura la infección por VIH.

[0020] Aunque el desarrollo de potentes fármacos anti-VIH que reconocen dos enzimas virales, tales como la transcriptasa inversa (RT) y la proteasa (PR) ha permitido que las personas infectadas con VIH vivan más y se beneficien de una mayor calidad de vida, está claro que estos fármacos no curan la infección por VIH. Además, su uso prolongado da lugar a una toxicidad significativa y en la aparición de virus resistentes a los fármacos. De manera destacada, la capacidad del VIH de establecer reservorios latentes tempranos en el transcurso de la infección asegura la persistencia del virus incluso al afrontar una terapia intensa de fármacos y una respuesta inmunitaria antiviral vigorosa. De este modo, existe la urgente necesidad para el desarrollo de nuevas terapias anti-VIH para superar los problemas de resistencia a los presentes fármacos y mejorar la eficacia del tratamiento (Greene y Peterlin 2002).

[0021] Además de los inhibidores de RT y de PR, los inhibidores del tercer enzima viral, Integrasa (IN), acaban de entrar en pruebas clínicas en humanos (Nair 2002). Todos estos inhibidores reconocen la actividad viral de estos enzimas virales. Sin embargo, no hay inhibidores dirigidos contra las interacciones entre las proteínas virales y los miembros celulares potencialmente importantes que aseguren una replicación viral óptima en células infectadas. El VIH que ha desarrollado una capacidad eficaz extraordinaria para explotar la maquinaria molecular de las células en la evolución de la infección, entender la interacción dinámica de la célula huésped y el virus es esencial para el esfuerzo para controlar la infección por VIH.

[0022] Esto demuestra que aún es necesario explorar todos los mecanismos de partículas de VIH e identificar dianas de fármacos para el SIDA.

DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LA INVENCIÓN

[0023] Los diferentes objetivos de la presente invención son tal como se describen en el grupo de reivindicaciones adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0024]

La figura 1 es una representación esquemática del plásmido pB1.

La figura 2 es una representación esquemática del plásmido pB5.

La figura 3 es una representación esquemática del plásmido pB6.

La figura 4 es una representación esquemática del plásmido pB13.

La figura 5 es una representación esquemática del plásmido pB14.

La figura 6 es una representación esquemática del plásmido pB20.

La figura 7 es una representación esquemática del plásmido pP1.

La figura 8 es una representación esquemática del plásmido pP2.

La figura 9 es una representación esquemática del plásmido pP3.

La figura 10 es una representación esquemática del plásmido pP6.

La figura 11 es una representación esquemática del plásmido pP7.

La figura 12 es una representación de vectores que expresan el fragmento T25.

La figura 13 es una representación de vectores que expresan el fragmento T18.

La figura 14 es una representación esquemática de varios vectores de pCmAHL1, pT25 y pT18.

La figura 16 es una representación esquemática que identifica los SID de proteínas de la presente invención. En esta figura, la "proteína presa de longitud completa" es el marco de lectura abierta (ORF) o secuencia codificante (CDS) en la que se incluye los polipéptidos presa identificados. El dominio de interacción seleccionado (SID®) está determinado por el dominio de polipéptidos habitualmente compartido de cada fragmento presa seleccionado.

La figura 16 es un mapa de proteínas (PIM®).

La figura 17 es una representación esquemática del plásmido pB27.

La figura 18 es la secuencia de nucleótidos de un aislado YU2 de VIH-1 (SEQ ID N°133)

La figura 19 es un gráfico que muestra los efectos de siARN contra las nuevas proteínas celulares que interaccionan con la Integrasa de VIH-1 en la infección por VIH-1 en células HeLa que expresan de manera transitoria CD4 y CCR5.

La figura 20 es un gráfico que muestra los efectos de siARN contra las nuevas proteínas celulares que interaccionan con proteínas de VIH-1 RT, Proteasa, Pr55 Gag, en la infección por VIH-1 en células HeLa que expresan de manera transitoria CD4 y CCR5.

La figura 21 es un gráfico que muestra los efectos de la inhibición dirigida por siARN de la infección por VIH-1 por el aislado de X4 VIH-2 HXB2 en células HeLa P4-2.

La figura 22 es un gráfico que muestra un análisis FACS de un ciclo celular que muestra que el ciclo celular y la viabilidad celular no se vieron afectados por la transfección de siARN contra los nuevos miembros celulares de las proteínas VIH-1 descritas en la presente invención.

La figura 23 es un análisis de transferencia Western de los efectos de siARN contra SREBP1, SREBP2, ATF6 alfa, el gen celular Tip47, y Luciferasa, sobre la expresión de los productos SREBP1, ATF6 alfa, HIV-1 env, y VIH-1 Gag en células infectadas con HXB2 de VIH-1.

La figura 24 es un análisis de transferencia Western de los efectos de siARN contra MCM7 y Luciferasa, sobre la expresión de MCM7 en células HeLa.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

[0025] Tal como se utiliza en el presente documento, los términos "polinucleótidos", "ácidos nucleicos" y "oligonucleótidos" se usan indistintamente e incluyen, pero sin limitación, secuencias de ARN, ADN, ARN/ADN de más de un nucleótido, ya sea en forma de una sola cadena o doble cadena. Las secuencias de polinucleótido de la presente invención pueden prepararse a partir de cualquier método conocido incluyendo, pero sin limitación, cualquier método sintético, cualquier método recombinante, cualquier método de generación ex vivo y similares, así como combinaciones de los mismos.

[0026] El término "polipéptido" significa en el presente documento un polímero de aminoácidos que no tiene una longitud específica. Por lo tanto, péptidos, oligopéptidos y proteínas se incluyen en la definición de "polipéptido" y estos términos se utilizan indistintamente en toda la memoria, así como en las reivindicaciones. El término "polipéptido" no excluye modificaciones post-traduccionales, tales como polipéptidos que tienen la unión covalente de grupos glicosilo, grupos acetilo, grupos fosfato, grupos lipídicos y similares. También se abarcan mediante esta definición de "polipéptido" los homólogos de los mismos

[0027] Por el término "homólogos" se entiende los genes estructuralmente similares contenidos dentro de una especie determinada, los ortólogos son genes funcionalmente equivalentes de una especie o cepa determinada, tal como se determina, por ejemplo, en un ensayo de complementación estándar. Por lo tanto, un polipéptido de interés puede ser utilizado no sólo como un modelo para la identificación de genes semejantes en las cepas determinadas, sino también para identificar homólogos y ortólogos del polipéptido de interés en otras especies. Los ortólogos, por ejemplo, también se pueden identificar en un ensayo de complementación convencional. Además o alternativamente, se puede esperar que dichos ortólogos existan en bacterias (u otro tipo de células) en la misma rama del árbol filogenético, tal como se establece, por ejemplo, en <ftp://ftp.cme.msu.edu/pub/RDP/SSU-rRNA/SSU/Prok.phylo>.

[0028] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "polinucleótido presa" significa un polinucleótido quimérico que codifica un polipéptido que comprende (i) un dominio específico; y (ii) un polipéptido que se va a ensayar para la interacción con un polipéptido cebo. El dominio específico es preferiblemente un dominio de activación de la transcripción.

[0029] Tal como se utiliza en el presente documento, un "polinucleótido cebo" es un polinucleótido quimérico que codifica un polipéptido quimérico que comprende (i) un dominio complementario; y (ii) un polipéptido que se va a ensayar para la interacción con por lo menos un polipéptido presa. El dominio complementario es preferiblemente un dominio de unión a ADN que reconoce un sitio de unión que adicionalmente se detecta y está contenido en el organismo huésped.

[0030] Tal como se usa en el presente documento, por "dominio complementario" se entiende una constitución funcional de la actividad cuando el cebo y la presa están interactuando; por ejemplo, la actividad enzimática.

[0031] Tal como se utiliza en el presente documento, "dominio específico" significa un dominio de activación de la interacción funcional que puede trabajar a través de diferentes mecanismos mediante la interacción directa o indirecta a través de proteínas intermediarias con la ARN polimerasa II o proteínas asociadas III en la proximidad del sitio de inicio de la transcripción.

[0032] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "complementario" significa que, por ejemplo, cada base de un primer polinucleótido se empareja con la base complementaria de un segundo polinucleótido cuya orientación está invertida. Las bases complementarias son A y T (o A y U), o C y G

[0033] El término "identidad de secuencia" se refiere a la identidad entre dos péptidos o entre dos ácidos nucleicos. La identidad entre secuencias se puede determinar mediante la comparación de una posición en cada una de las secuencias que se pueden alinear para fines de comparación. Cuando una posición en las secuencias comparadas está ocupada por la misma base o aminoácido, entonces las secuencias son idénticas en esa posición. Un grado de identidad de secuencia entre secuencias de ácido nucleico es una función del número de nucleótidos idénticos en las posiciones compartidas por estas secuencias. Un grado de identidad entre secuencias de aminoácidos es una función del número de secuencias de aminoácidos idénticos que son compartidos entre estas secuencias. Dado que dos polipéptidos pueden cada uno (i) comprender una secuencia (es decir, una parte de una secuencia de polinucleótido completa) que es similar entre dos polinucleótidos, y (ii) puede comprender además una secuencia que es divergente entre dos polinucleótidos, las comparaciones de la identidad de secuencia entre dos o más polinucleótidos sobre una "ventana de comparación" se refiere al segmento conceptual de por lo menos 20 posiciones de nucleótidos contiguos en la que una secuencia de polinucleótido puede ser comparada con una secuencia de nucleótidos de referencia de por lo menos 20 nucleótidos contiguos y en la que la parte de la secuencia de polinucleótido en la ventana de comparación puede comprender adiciones o deleciones (es decir, huecos) del 20 por ciento o menos en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o deleciones) para un alineamiento óptimo de las dos secuencias.

[0034] Para determinar el porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos o dos secuencias de ácidos nucleicos, se alinean las secuencias para una comparación óptima. Por ejemplo, pueden introducirse huecos en la secuencia de una primera secuencia de aminoácidos o una primera secuencia de ácido nucleico para la alineación óptima con la segunda secuencia de aminoácidos o segunda secuencia de ácido nucleico. A continuación, se comparan los residuos de aminoácidos o nucleótidos en las correspondientes posiciones de aminoácido o posiciones de nucleótido. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la posición correspondiente en la segunda secuencia, las moléculas son idénticas en esa posición.

[0035] El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias. Por lo tanto, % de identidad = número de posiciones idénticas/número total de posiciones superpuestas x 100.

[0036] En esta comparación, las secuencias pueden ser de la misma longitud o de longitud diferente. La alineación óptima de las secuencias para determinar una ventana de comparación se puede realizar mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (J. Theor. Biol., 91 (2) pgs. 370-380 (1981), mediante el algoritmo de alineación por homología de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol., 48(3) pgs. 443-453 (1972), mediante la búsqueda de similitudes a través del método de Pearson y Lipman, PNAS, USA, 85(5) pgs. 2444-2448 (1988), mediante implementaciones computerizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0, Genetic Computer Group, 575, Science Drive, Madison, Wisconsin) o mediante inspección.

[0037] Se selecciona la mejor alineación (es decir, que da lugar al mayor porcentaje de identidad sobre la ventana de comparación) generada por los diversos métodos.

[0038] El término "identidad de secuencia" significa que dos secuencias de polinucleótidos son idénticas (es decir, en una base de nucleótido por nucleótido) sobre la ventana de comparación. El término "porcentaje de identidad de secuencia" se calcula comparando dos secuencias óptimamente alineadas sobre la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las que la base de ácido nucleico idéntica (por ejemplo, A, T, C, G, U o I) aparece en ambas secuencias para producir el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la ventana) y multiplicando el resultado por 100 para producir el porcentaje de identidad de secuencia. El mismo proceso puede ser aplicado a secuencias de polipéptidos.

[0039] El porcentaje de identidad de secuencia de una secuencia de ácido nucleico o una secuencia de aminoácidos también puede calcularse usando el software BLAST (Versión 2.06 de septiembre de 1998) con el parámetro por defecto o definido por el usuario.

[0040] El término "similitud de secuencia" significa que los aminoácidos pueden modificarse a la vez que conserva la misma función. Se sabe que los aminoácidos se clasifican de acuerdo a la naturaleza de sus grupos laterales y algunos aminoácidos, tales como los aminoácidos básicos, se pueden intercambiar uno por el otro, mientras se mantiene su función básica.

[0041] El término "aislado", tal como se utiliza en el presente documento, significa que un material biológico, tal como un ácido nucleico o proteína, se ha eliminado de su medio original en la que está presente de forma natural. Por ejemplo, un polinucleótido presente en una planta, mamífero o animal está presente en su estado natural y no se considera que está aislado. El mismo polinucleótido separado de las secuencias de ácido nucleico adyacentes en la que se inserta de forma natural en el genoma de la planta o animal se considera como "aislado"

[0042] El término "aislado" no pretende excluir mezclas artificiales o sintéticas con otros compuestos, o la presencia de impurezas que no interfieren con la actividad biológica y que pueden estar presentes, por ejemplo, debido a una purificación incompleta, la adición de estabilizadores o mezclas con excipientes farmacéuticamente aceptables y similares.

[0043] "Polipéptido aislado" o "proteína aislada", tal como se utiliza en el presente documento, significa un polipéptido o proteína que está sustancialmente libre de aquellos compuestos que normalmente están asociados con el polipéptido o proteína en un estado natural, tales como otras proteínas o polipéptidos, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, lípidos y similares.

[0044] El término "purificado", tal como se utiliza en el presente documento, significa que se consigue por lo menos un orden de magnitud de la purificación, preferiblemente dos o tres órdenes de magnitud, más preferiblemente cuatro o cinco órdenes de magnitud de la purificación del material de partida o del material natural. Por lo tanto, el término "purificado", tal como se utiliza en el presente documento, no significa que el material es 100% purificado y por lo tanto excluye cualquier otro material.

[0045] El término "variantes" cuando se refiere a, por ejemplo, los polinucleótidos que codifican una variante de polipéptido de un polipéptido de referencia determinado son polinucleótidos que difieren del polipéptido de referencia, pero generalmente mantienen sus características funcionales del polipéptido de referencia. Una variante de un polinucleótido puede ser una variante alélica de origen natural o puede ser una variante que se conoce que no se produce de forma natural. Dichas variantes de origen no natural del polinucleótido de referencia se pueden producir, por ejemplo, mediante técnicas de mutagénesis, incluyendo las técnicas de mutagénesis que se aplican a polinucleótidos, células u organismos.

[0046] En general, las diferencias son limitadas, de manera que las secuencias de nucleótidos de la referencia y variante son estrechamente similares en conjunto y, en muchas regiones, son idénticas.

[0047] Las variantes de polinucleótidos según la presente invención incluyen, pero sin limitación, secuencias de nucleótidos que son por lo menos un 95% idénticas después de la alineación con el polinucleótido de referencia que codifica el polipéptido de referencia. Estas variantes también pueden tener un 96%, 97%, 98% y 99,999% de identidad de secuencia con el polinucleótido de referencia.

[0048] Los cambios de nucleótidos presentes en un polinucleótidos variante pueden ser silenciosos, lo cual significa que estos cambios no alteran las secuencias de aminoácidos codificados por el polinucleótido de referencia.

[0049] Las sustituciones, adiciones y/o deleciones pueden implicar uno o más ácidos nucleicos. Las alteraciones pueden producir sustituciones, deleciones y/o adiciones de aminoácidos conservativos o no conservativos.

[0050] Las variantes de un polipéptido presa o SID® codificado por un polinucleótido variante puede poseer una mayor afinidad de unión y/o una mayor especificidad de unión a su proteína o polipéptido homólogo, contra el que se ha seleccionado inicialmente. En otro contexto, las variantes también pueden perder su capacidad de unirse a su proteína o polipéptido homólogo.

[0051] Por "fragmento de un polinucleótido" o "fragmento de un polinucleótido SID®" se entiende que los fragmentos de estas secuencias tienen por lo menos 12 nucleótidos consecutivos, o entre 12 y 5.000 nucleótidos consecutivos, o entre 12 y 10.000 nucleótidos consecutivos, o entre 12 y 20.000 nucleótidos consecutivos.

[0052] Por "fragmentos de un polipéptido" o "fragmento de un polipéptido SID®" se entiende que los fragmentos de estas secuencias tienen por lo menos 4 aminoácidos consecutivos, o entre 4 y 1.700 aminoácidos consecutivos, o entre 4 y 3.300 aminoácidos consecutivos o entre 4 y 6.600 aminoácidos consecutivos.

[0053] Por "mecanismo anabólico" se entiende una reacción o serie de reacciones en un mecanismo metabólico que sintetizan moléculas complejas a partir de más simples, que requieren normalmente la entrada de energía. Un mecanismo anabólico es lo opuesto a un mecanismo catabólico.

[0054] Tal como se utiliza en el presente documento, un "mecanismo catabólico" es una serie de reacciones en un mecanismo metabólico que rompen compuestos complejos en más simples, que normalmente liberan energía en el proceso. Un mecanismo catabólico es lo opuesto a un mecanismo anabólico.

[0055] Tal como se utiliza en el presente documento, "metabolismo del fármaco" significa el estudio de cómo los fármacos se procesan y se rompen por el organismo. El metabolismo de fármaco puede implicar el estudio de enzimas que rompen fármacos, el estudio de cómo diferentes fármacos interactúan en el organismo y cómo la dieta y otros compuestos ingeridos afectan el modo en que el organismo procesa los fármacos.

[0056] Tal como se utiliza en el presente documento, "metabolismo" significa la suma de todas las reacciones catalizadas por enzimas en células vivas que transforman moléculas orgánicas.

[0057] Por "metabolismo secundario" se entiende los mecanismos que producen productos metabólicos específicos que no se hallan en todas las células.

[0058] Tal como se utiliza en el presente documento, "SID®" significa Dominio de interacción seleccionado y se identifica de la siguiente manera: para cada polipéptido cebo cribado, se comparan polipéptidos presa seleccionados. Los fragmentos solapantes en el mismo ORF o CDS definen el dominio de interacción seleccionado.

[0059] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "PIM®" significa un mapa de interacción proteína-proteína. Este mapa se obtiene a partir de los datos adquiridos de un número de cribados separados utilizando polipéptidos cebo diferentes y se diseña para mapear todas las interacciones entre los péptidos.

[0060] El término "afinidad de unión", tal como se utiliza en el presente documento, se puede definir como la constante de afinidad K_a cuando un polipéptido SID® determinado de la presente invención se une a un polipéptido y es la siguiente relación matemática:

$$K_a = \frac{[\text{complejo SID®/polipéptido}]}{[\text{SID® libre}] [\text{polipéptido libre}]}$$

en la que [SID® libre], [polipéptido libre] y [complejo SID®/polipéptido] consisten en las concentraciones en equilibrio respectivamente del polipéptido SID® libre, del polipéptido libre en el que se une el polipéptido SID® y del complejo formado entre el polipéptido SID® y el polipéptido en el que dicho polipéptido SID® se une específicamente.

[0061] Se puede evaluar la afinidad de un polipéptido SID® de la presente invención o una variante del mismo para su homólogo de polipéptido, por ejemplo, en un aparato Biacore™ comercializado por Amersham Pharmacia Biotech Company, tal como se describe por Szabo et al. (Curr Opin Struct Biol 5 pgs. 699-705 (1995)) y por Edwards y Leartherbarrow (Anal. Biochem 246 pgs. 1-6 (1997)).

[0062] Tal como se utiliza en el presente documento, la frase "por lo menos la misma afinidad" con respecto a la afinidad de unión entre un polipéptido SID® de la presente invención y otro polipéptido significa que la K_a es idéntica o puede ser por lo menos dos veces, por lo menos tres veces o por lo menos cinco veces superior al valor de K_a de referencia.

[0063] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "compuesto modulante" significa un compuesto que inhibe o estimula o puede actuar sobre otra proteína que puede inhibir o estimular la interacción proteína-proteína de un complejo de dos polipéptidos o la interacción proteína-proteína de dos polipéptidos.

[0064] Más específicamente, la presente invención comprende dentro de los límites de las reivindicaciones complejos de polipéptidos o polinucleótidos que codifican los polipéptidos compuestos de un polipéptido cebo, o polinucleótido cebo que codifica un polipéptido cebo y un polipéptido presa o un polinucleótido presa que codifica un polipéptido presa. El polipéptido presa o el polinucleótido presa que codifica el polipéptido presa es capaz de interactuar con un polipéptido cebo de interés en varios sistemas híbridos.

[0065] Tal como se describe en los antecedentes de la presente invención, existen varios métodos conocidos en la técnica para identificar polipéptidos presa que interactúan con polímeros cebo de interés. Estos métodos incluyen, pero sin limitación, sistemas de dos híbridos genéricos, tal como se describe por Fields et al. (Nature, 340:245-246 (1989)) y más específicamente en las patentes de Estados Unidos Nos. 5.283.173, 5.466.614 y 5.667.973, el sistema de dos híbridos inverso descrito por Vidal et al. (supra); el método híbrido de dos más uno descrito, por ejemplo, en Tirode et al. (supra); los sistemas de "n" híbridos directos e inversos de levadura descritos en Vidal y Legrain (supra); el método descrito en WO 99/42612; los métodos descritos en Legrain et al. (FEBS Letters 480 pgs. 32-36 (2000)) y similares.

[0066] Se puede utilizar cualquier método conocido en la técnica para detectar la interacción proteína-proteína y variantes del mismo. Sin embargo, es mejor utilizar el método descrito en WO99/42612 o WO00/66722, debido a la sensibilidad, reproducibilidad y fiabilidad de los métodos.

[0067] Las interacciones proteína-proteína también se pueden detectar utilizando ensayos complementarios, tales como los descritos por Pelletier et al. en <http://www.abrf.org/JBT/Articles/JBT0012/jbt0012.html>. WO 00/07038 and WO98/34120.

[0068] Aunque los métodos anteriores se describen para aplicaciones en el sistema de levaduras, el método no se limita a la detección de las interacciones de proteína-proteína utilizando levadura, sino que también incluye métodos similares que se pueden utilizar en la detección de interacciones proteína-proteína en, por ejemplo, sistemas de mamífero descritos, por ejemplo, en Takacs et al. (Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90 (21):10375-79 (1993)) y Vasavada et al (Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 88 (23):10686-90 (1991)), así como un sistema de dos híbridos bacterianos descritos en Karimova et al. (1998). WO99/28746, WO00/66722 y Legrain et al. (FEBS Letters, 480 pgs. 32-36 (2000)).

[0069] Las interacciones proteína-proteína también se pueden detectar utilizando técnicas de transferencia de energía por fluorescencia (Fluorescence resonance energy transfer analysis of protein-protein interactions in single living cells by multifocal multiphoton microscopy. Majoul I, Straub M, Duden R, Hell SW, Soling HD J Biotechnol 2002 Jan;82(3)257-77).

[0070] Los métodos descritos anteriormente se limitan a la utilización de levadura, células de mamífero y células de *Escherichia coli*, la presente invención no se limita de este modo. Consecuentemente, las células de mamífero, y habitualmente células humanas, así como células de bacterias, levaduras, hongos, insectos, nemátodos y plantas, se pueden transfectar por el ácido nucleico o vector recombinante tal como se define en este documento.

[0071] Ejemplos de células adecuadas incluyen, pero sin limitación, células VERO, células HELA, tales como ATCC No. CCL2, líneas celulares CHO, tales como ATCC No. CCL61, células COS, tales como células COS-7 y células ATCC No. CRL 1650, W138, BHK, HepG2, 3T3, tal como células ATCC No. CRL6361, A549, PC12, K562, células

293, células Sf9, tales como ATCC No. CRL1711 y células Cv1, tales como ATCC No. CCL70.

[0072] Entre otras células adecuadas que se pueden utilizar en el presente documento se incluyen, pero sin limitación, cepas de células huésped procariotas, tales como *Escherichia coli* (por ejemplo, cepa DH5- α), *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, o cepas del género de *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Staphylococcus*.

[0073] Células adecuadas adicionales que se pueden utilizar en el presente documento incluyen células de levadura, tales como de *Saccharomyces*, tal como *Saccharomyces cerevisiae*.

[0074] El polinucleótido cebo, así como el polinucleótido presa, se pueden preparar según los métodos conocidos en la técnica, tales como los descritos anteriormente en las publicaciones y patentes que mencionan el método conocido por se.

[0075] El polinucleótido cebo de la presente invención se obtiene a partir del ADNc de partículas de VIH, o variantes del fragmento de ADNc de una biblioteca de partículas de VIH, y fragmentos del genoma o transcriptoma del ADNc de partículas de VIH que varían de aproximadamente 12 a aproximadamente 5.000, o de aproximadamente 12 a aproximadamente 10.000 o de aproximadamente 12 a aproximadamente 20.000. El microorganismo utilizado para producir la biblioteca de VIH es YU2 descrito por LI et al (J. Virol. 8 : 3973-3985 (1991)). La secuencia de nucleótidos de YU2 se muestra en la figura 18 o se puede obtener del Acceso del Banco de Genes No. M93258.

[0076] Una biblioteca de presas deriva de una biblioteca de ADNc de ARN poliA+ de células CMC7 y se construye en el vector presa diseñado especialmente pP6 tal como se muestra en la figura 10 después de la unión de enlazadores adecuados, de manera que cada inserto de ADNc se fusiona a una secuencia de nucleótidos en el vector que codifica el dominio de activación de la transcripción de un gen informador. En la presente invención, se puede utilizar cualquier dominio de activación de la transcripción. Entre los ejemplos se incluyen, pero sin limitación, Gal4, VP16, B42, His y similares. Los genes informadores tóxicos, tales como CAT^R, CYH2, CYH1, URA3, toxinas bacterianas y fúngicas, y similares, se pueden utilizar en sistemas de dos híbridos inversos.

[0077] Los polipéptidos codificados por los insertos de nucleótidos de la biblioteca de presas CEMC7 humanas preparadas de este modo se denominan "polipéptidos presa" en el contexto del método de selección de los polinucleótidos presa descritos en este documento.

[0078] Los polinucleótidos cebo se pueden insertar en el plásmido cebo pB6 o pB27 tal como se ilustra en la figura 3 y la figura 17, respectivamente. El inserto de polinucleótido cebo se fusiona a un polinucleótido que codifica el dominio de unión de, por ejemplo, el dominio de unión a ADN Gal4 y se utiliza el vector de expresión lanzadera para transformar células.

[0079] Los polinucleótidos cebo utilizados en los ejemplos se describen en la tabla 1.

[0080] Tal como se ha indicado anteriormente, se puede utilizar cualquier célula en la transformación de los polinucleótidos cebo y presa de la presente invención, incluyendo células de mamífero, células bacterianas, células de levadura, células de insectos y similares.

[0081] Se pueden identificar interacciones proteína-proteína en levadura. En la utilización de métodos conocidos se identifica un clon positivo de presa que contiene un vector que comprende un inserto de ácido nucleico que codifica un polipéptido presa que se une a un polipéptido cebo de interés. El método en el que se identifican interacciones proteína-proteína comprende las siguientes etapas:

i) aparear por lo menos un primer clon de célula de levadura recombinante haploide de una biblioteca de clones de células de levadura recombinantes que se ha transformado con un plásmido que contiene el polinucleótido presa a analizar con un segundo clon de célula de levadura recombinante haploide transformado con un plásmido que contiene un polinucleótido cebo que codifica el polipéptido cebo;

ii) cultivar clones de células diploides obtenidas en la etapa i) en un medio selectivo; y

iii) seleccionar clones de células recombinantes que crecen en el medio selectivo.

Este método puede comprender además la etapa de:

iv) caracterizar el polinucleótido presa contenido en cada clon de células recombinantes que se selecciona en la etapa iii).

[0082] En lugar de levadura, se utiliza *Escherichia coli* en un sistema bacteriano de dos híbridos, que comprende un principio similar al descrito anteriormente para levadura, pero no implica el apareamiento para caracterizar el polinucleótido presa.

[0083] Se pueden utilizar células de mamífero y un método similar al descrito anteriormente para levadura para caracterizar el polinucleótido presa.

[0084] Al realizar el sistema de dos híbridos de levadura, bacteriano o mamífero, es posible identificar para un cebo particular un polipéptido presa que interacciona. El polinucleótido presa que se ha seleccionado mediante el análisis

de la biblioteca de presas en un cribado utilizando los métodos de dos híbridos, dos más un híbrido, y similares, codifica el polipéptido que interacciona con la proteína de interés.

[0085] La presente invención también se refiere, en un aspecto general, a un complejo de polipéptidos, polinucleótidos que codifican los polipéptidos compuestos de un polipéptido cebo o un polinucleótido cebo que codifica el polipéptido cebo y un polinucleótido presa o polinucleótido presa que codifica el polinucleótido presa capaz de interactuar con el polipéptido cebo de interés según las reivindicaciones. Estos complejos se identifican en la tabla 2.

[0086] En otro aspecto, la presente invención se refiere a un complejo de polinucleótidos, según las reivindicaciones, que consiste en un primer polinucleótido, o un fragmento del mismo, que codifica un polinucleótido presa que interacciona con un polipéptido cebo y un segundo polinucleótido o un fragmento del mismo. Este fragmento tiene por lo menos 12 nucleótidos consecutivos, pero puede tener entre 12 y 5.000 nucleótidos consecutivos, o entre 12 y 10.000 nucleótidos consecutivos o entre 12 y 20.000 nucleótidos consecutivos.

[0087] En aún otra realización, la presente invención se refiere a un complejo aislado, según las reivindicaciones, de por lo menos dos polipéptidos codificados por dos polinucleótidos en el que dichos dos polipéptidos están asociados en el complejo mediante unión por afinidad.

[0088] En aún otra realización, la presente invención se refiere a un complejo aislado que comprende por lo menos un polipéptido tal como se describe en la columna 1, línea 3, de la tabla 2, y un polipéptido tal como se describe en la columna 4, línea 3 de la tabla 2, según las reivindicaciones. La presente invención no se limita a estos complejos de polipéptidos solos, sino que también incluye el complejo aislado de los dos polipéptidos en que los fragmentos y/o polipéptidos homólogos muestran por lo menos un 95% de identidad de secuencia, así como desde un 96% de identidad de secuencia hasta el 99,999% de identidad de secuencia.

[0089] También se comprende en otra realización de la presente invención un complejo aislado en el que el SID® del polipéptido presa codificado por la SEQ ID N° 17 en la Tabla 3 forma el complejo aislado.

[0090] Además de los complejos aislados descritos anteriormente, los ácidos nucleicos para un polipéptido Dominio de Interacción Seleccionado (SID®) o una variante del mismo o cualquiera de los ácidos nucleicos establecidos en la tabla 3, se pueden insertar en un vector de expresión que contiene los elementos necesarios para la transcripción y la traducción de la secuencia codificante de proteína insertada. Dichos elementos de transcripción incluyen una región reguladora y un promotor. De este modo, el ácido nucleico que puede codificar un compuesto marcador de la presente invención está unido operativamente a un promotor en el vector de expresión. El vector de expresión también puede incluir un origen de replicación.

[0091] Se utiliza una amplia variedad de combinaciones de huésped/vector de expresión en la expresión de los ácidos nucleicos de la presente invención. Los vectores de expresión útiles que se pueden utilizar incluyen, por ejemplo, segmentos de secuencias de ADN cromosómico, no cromosómico y sintético. Los vectores adecuados incluyen, pero sin limitación, derivados de SV40 y pcDNA y plásmidos bacterianos conocidos, tales como col EI, pCR1, pBR322, pMal-C2, pET, pGEX, tal como se describe por Smith et al (1988), pMB9 y derivados del mismo, plásmidos, tales como RP4, ADN de fago, tales como, los numerosos derivados de fago I, tales como NM989, así como otros ADN de fago, tales como M13 y ADN de fago de cadena sencilla filamentosos; plásmidos de levadura, tales como el plásmido 2 micras o derivados del plásmido 2m, así como vectores lanzadera de levadura centoméricos e integrativos; vectores útiles en células eucariotas, tales como vectores útiles en células de insecto o mamífero; vectores derivados de combinaciones de plásmidos y ADN de fago, tales como plásmidos que se han modificado para utilizar ADN de fago o las secuencias de control de la expresión; y similares.

[0092] Por ejemplo, en un sistema de expresión en baculovirus, se pueden utilizar los vectores de transferencia no fusión, tales como, pero sin limitación, pVL941 (sitio de clonación *Bam*HI, Summers), pVL1393 (sitios de clonación *Bam*HI, *Sma*I, *Xba*I, *Eco*RI, *Not*I, *Xma*III, *Bgl*II y *Pst*I; Invitrogen), pVL1392 (sitios de clonación *Bgl*II, *Pst*I, *Not*I, *Xma*III, *Eco*RI, *Xba*I, *Sma*I y *Bam*HI; Summers y Invitrogen) y pBlueBacIII (sitio de clonación *Bam*HI, *Bgl*II, *Pst*I, *Nco*I y *Hind*III, con cribado recombinante azul/blanco, Invitrogen), y vectores de transferencia de fusión, tales como, pero sin limitación, pAc700 (sitios de clonación *Bam*HI y *Kpn*I, en los que el sitio de reconocimiento *Bam*HI empieza con el codón de inicio; Summers), pAc701 y pAc70-2 (igual que pAc700, con diferentes marcos de lectura), pAc360 (sitio de clonación *Bam*HI 36 pares de bases en dirección 3' de un codón de inicio de la polihedrina; Invitrogen (1995)) y pBlueBacHisA, B, C (tres marcos de lectura diferentes con los sitios de clonación *Bam*HI, *Bgl*II, *Pst*I, *Nco*I y *Hind*III, un péptido N-terminal para la purificación de ProBond y cribado recombinante azul/blanco de placas; Invitrogen (220)).

[0093] Los vectores de expresión en mamíferos contemplados para utilizar en la invención incluyen vectores con promotores inducibles, tales como los promotores de dihidrofolato reductasa, cualquier vector de expresión con un cassette de expresión de DHFR o un vector de coamplificación de DHFR/metotrexato, tales como pED (sitios de clonación *Pst*I, *Sal*I, *Sba*I, *Sma*I y *Eco*RI, expresando el vector el gen clonado y DHFR; Kaufman, 1991). Alternativamente, se puede utilizar un vector de coamplificación de glutamina sintetasa/metionina sulfoximina, tal

como pEE14 (sitios de clonación *HindIII*, *XbaI*, *SmaI*, *SbaI*, *EcoRI* y *BclI* en los que el vector expresa la glutamina sintetasa y el gen clonado; Celltech). Se puede utilizar un vector que dirige la expresión episomal bajo el control del Virus de Epstein Barr (EBV) o antígeno nuclear de Epstein Barr (EBNA), tal como pREP4 (sitios de clonación *BamHI*, *SfiI*, *XhoI*, *NotI*, *NheI*, *HindIII*, *NheI*, *PvuII* y *KpnI*, promotor constitutivo RSV-LTR, marcador seleccionable de higromicina; Invitrogen), pCEP4 (sitios de clonación *BamHI*, *SfiI*, *XhoI*, *NotI*, *NheI*, *HindIII*, *NheI*, *PvuII* y *KpnI*, promotor constitutivo del gen temprano inmediato de hCMV, marcador seleccionable de higromicina; Invitrogen), pMEP4 (sitios de clonación *KpnI*, *PvuI*, *NheI*, *HindIII*, *NotI*, *XhoI*, *SfiI*, *BamHI*, promotor inducible del gen de metalotioneína IIa, marcador seleccionable de higromicina, Invitrogen), pREP8 (sitios de clonación *BamHI*, *XhoI*, *NotI*, *HindIII*, *NheI* y *KpnI*, promotor de RSV-LTR, marcador seleccionable de histidinol; Invitrogen), pREP9 (sitios de clonación *KpnI*, *NheI*, *HindIII*, *NotI*, *XhoI*, *SfiI*, *BamHI*, promotor RSV-LTR, marcador seleccionable G418; Invitrogen), y pEBVHis (promotor de RSV-LTR, marcador seleccionable de higromicina, péptido N-terminal purificable a través de resina ProBond y escindido por enteroquinasa; Invitrogen).

[0094] Los vectores de expresión en mamífero seleccionables para utilizar en la invención incluyen, pero sin limitación, pRc/CMV (sitios de clonación *HindIII*, *BstXI*, *NotI*, *SbaI* y *Apal*, selección G418, Invitrogen), pRc/RSV (sitios de clonación *HindIII*, *SpeI*, *BstXI*, *NotI*, *XbaI*, selección G418, Invitrogen) y similares. Los vectores de expresión en mamífero de virus vaccinia (véase, por ejemplo, Kaufman 1991) que se pueden utilizar en la presente invención incluyen, pero sin limitación, pSC11 (sitio de clonación *SmaI*, selección TK y β -gal), pMJ601 (sitios de clonación *Sall*, *SmaI*, *AflI*, *NarI*, *BspMII*, *BamHI*, *Apal*, *NheI*, *SacII*, *KpnI* y *HindIII*; selección TK- y β -gal), pTKgptF1S (sitios de clonación *EcoRI*, *PstI*, *SallI*, *AccI*, *HindII*, *SbaI*, *BamHI* y *HpaI*, selección TK o XPRT) y similares.

[0095] Los sistemas de expresión en levadura que también se pueden utilizar en la presente incluyen, pero sin limitación, el vector pYES2 no de fusión (sitios de clonación *XbaI*, *SphI*, *ShoI*, *NotI*, *GstXI*, *EcoRI*, *BstXI*, *BamHI*, *SacI*, *KpnI* y *HindIII*, Invitrogen), pYESHisA, B, C de fusión (sitios de clonación *XbaI*, *SphI*, *ShoI*, *NotI*, *BstXI*, *EcoRI*, *BamHI*, *SacI*, *KpnI* y *HindIII*, péptido N-terminal purificado con resina ProBond y escindido con enteroquinasa; Invitrogen), vectores pRS y similares.

[0096] Consecuentemente, se utilizan en la presente invención células de mamífero y habitualmente humano, así como células bacterianas, de levadura, hongos, insectos, nemátodos y vegetales y se pueden transfectar por el ácido nucleico o el vector recombinante tal como se definen en el presente documento.

[0097] Ejemplos de células adecuadas incluyen, pero sin limitación, células VERO, células HELA, tales como ATCC No. CCL2, líneas celulares de CHO, tales como ATCC No. CCL61, células COS, tales como células COS-7 y células ATCC No. CRL 1650, W138, BHK, HepG2, 3T3, tales como células ATCC No. CRL6361, A549, PC12, K562, células 293, células Sf9, tales como ATCC No. CRL1711 y células Cv1, tales como ATCC No. CCL70.

[0098] Otras células adecuadas que se pueden utilizar en la presente invención incluyen, pero sin limitación, cepas de células huésped procariontes, tales como *Escherichia coli*, (por ejemplo, cepa DH5- α), *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, o cepas de los géneros de *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Staphylococcus*.

[0099] Más células adecuadas que se pueden utilizar en la presente invención incluyen células de levadura, tales como las de *Saccharomyces*, tales como *Saccharomyces cerevisiae*.

[0100] Además de los complejos aislados específicos, tal como se ha descrito anteriormente, la presente invención se refiere y también comprende polinucleótidos SID® según las reivindicaciones. Tal como se explica anteriormente, para cada polipéptido cebo, se pueden identificar varios polipéptidos presa mediante la comparación y la selección de la intersección de cada fragmento aislado que se incluye en el mismo polipéptido. De este modo, los polinucleótidos de SID® de la presente invención se representan por las secuencias de ácidos nucleicos compartidas de SEQ ID N° 17 que codifican los polipéptidos SID® de SEQ ID N° 40 en las columnas 5 y 7 de la tabla 3 (prey 007766 Human TRNSR), respectivamente.

[0101] La presente invención no se limita a las secuencias de SID® tal como se describen en el párrafo anterior, sino que también incluye variantes de las secuencias de SID® con una identidad de secuencia entre el 95% y el 99,999% con su homólogo de proteína o polipéptido.

[0102] Según la presente invención, se pueden crear variantes de polinucleótido o polipéptidos mediante técnicas de mutagénesis conocidas ya sea in vitro o in vivo. Dicha variante se puede crear, de manera que tenga las características de unión alteradas con respecto a la proteína diana y, más específicamente, que la variante se una a la secuencia diana con mayor o menor afinidad.

[0103] Los polinucleótidos que son complementarios a las secuencias anteriores que incluyen los polinucleótidos de las variantes de SID® y los que tienen una identidad de secuencia específica también se incluyen en la presente invención.

[0104] El polinucleótido que codifica el polipéptido SID®, o una variante del mismo, también se puede insertar en vectores recombinantes que se describen con detalle a continuación.

[0105] La presente invención también se refiere a una composición que comprende los vectores recombinantes mencionados anteriormente que contienen los polinucleótidos de SID® tal como se reivindican, o variantes de los mismos, así como células huésped recombinantes transformadas por los vectores.

[0106] Las composiciones que comprenden los vectores recombinantes que contienen portadores fisiológicamente aceptables, tales como diluyentes, adyuvantes, excipientes y cualquier vehículo en el que esta composición se puede liberar terapéuticamente y pueden incluir, pero sin limitación, líquidos estériles, tales como agua y aceites.

[0107] La presente invención también describe un método de selección de compuestos modulantes, así como las propias moléculas o compuestos modulantes que se pueden utilizar en una composición farmacéutica. Estos compuestos modulantes pueden actuar como cofactor, como inhibidor, como anticuerpos, como etiquetas, como inhibidor competitivo, como activador o alternatively tienen actividad agonista o antagonista en las interacciones de proteína-proteína.

[0108] La actividad del compuesto modulante no necesariamente, por ejemplo, tiene que ser del 100% de activación o inhibición. De hecho, se puede conseguir incluso la activación o inhibición parcial que sea de interés farmacéutico.

[0109] El compuesto modulante se puede seleccionar según un método que comprende:

(a) cultivar una célula huésped recombinante con un compuesto modulante en un medio selectivo y un gen informador, la expresión del cual es tóxica para dicha célula huésped recombinante, en el que dicha célula huésped recombinante se transforma con dos vectores:

(i) en los que dicho primer vector comprende un polinucleótido que codifica un primer polipéptido híbrido que tiene un dominio de unión a ADN;

(ii) en los que dicho segundo vector comprende un polinucleótido que codifica un segundo polipéptido híbrido que tiene un dominio activador de la transcripción que activa dicho gen informador tóxico cuando el primer y el segundo polipéptidos híbridos interactúan;

(b) seleccionar dicho compuesto modulante que inhibe o permite el crecimiento de dicha célula huésped recombinante.

[0110] De este modo, la presente invención se refiere a un compuesto modulante que inhibe las interacciones de proteína-proteína de un complejo de dos polipéptidos de las columnas 1 y 4, línea 3 de la tabla 2. La presente invención también se refiere a un compuesto modulante que activa las interacciones proteína-proteína de un complejo de dos polipéptidos de las columnas 1 y 4, líneas 3 de la tabla 2.

[0111] En otra realización, la presente invención se refiere a un método de selección de un compuesto modulante, cuyo compuesto modulante inhibe las interacciones de dos polipéptidos de columnas 1 y 4, línea 3 de la tabla 2. Este método comprende:

(a) cultivar una célula huésped recombinante con un compuesto modulante en un medio selectivo y un gen informador, la expresión del cual es tóxica para dicha célula huésped recombinante, en el que dicha célula huésped recombinante se transforma con dos vectores:

(i) en los que dicho primer vector comprende un polinucleótido que codifica un primer polipéptido híbrido que tiene un primer dominio de una enzima;

(ii) en los que dicho segundo vector comprende un polinucleótido que codifica un segundo polipéptido híbrido que tiene un dominio activador de la transcripción enzimática que activa dicho gen informador tóxico cuando el primer y el segundo polipéptidos híbridos interactúan;

(b) seleccionar dicho compuesto modulante que inhibe o permite el crecimiento de dicha célula huésped recombinante.

[0112] En los dos métodos descritos anteriormente, se puede utilizar cualquier gen informador tóxico, incluyendo aquellos genes informadores que se pueden utilizar para la selección negativa, incluyendo, el gen URA3, el gen CYH1, el gen CYH2 y similares.

[0113] También se describe un kit para cribar un compuesto modulante. Este kit comprende una célula huésped recombinante que comprende un gen informador, la expresión del cual es tóxica para la célula huésped recombinante. La célula huésped se transforma con dos vectores. El primer vector comprende un polinucleótido que codifica un primer polipéptido híbrido que tiene un dominio de unión a ADN; y el segundo vector comprende un polinucleótido que codifica un segundo polipéptido híbrido que tiene un dominio activador transcripcional que activa dicho gen informador tóxico cuando interactúan el primer y segundo polipéptido híbrido.

[0114] Se proporciona un kit para cribar un compuesto modulante mediante la disposición de una célula huésped recombinante, tal como se describe en el párrafo anterior, pero en lugar de un dominio de unión de ADN, el primer vector codifica un primer polipéptido híbrido que contiene un primer dominio de una proteína. El segundo vector codifica un segundo polipéptido que contiene una segunda parte de un dominio complementario de una proteína que activa el gen informador tóxico cuando interactúan el primer y segundo polipéptido híbrido.

[0115] En los métodos de selección descritos anteriormente, el dominio activante puede ser 842 Gal 4, VP16 (HSV) y el dominio de unión a ADN puede derivar de Gal4 o Lex A. La proteína o enzima puede ser adenilato ciclasa, guanilato ciclasa, DHFR y similares.

5 **[0116]** Ejemplos de compuestos moduladores se indican en la Tabla 3.

[0117] En otra realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende los compuestos modulantes según las reivindicaciones para prevenir o tratar el SIDA en un humano o animal, lo más preferiblemente en un mamífero, o inhibir la replicación de VIH en células indicadoras sensibles a la infección por VIH.

10 **[0118]** Esta composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente aceptable del compuesto modulante. La cantidad farmacéuticamente aceptable se puede estimar a partir de los ensayos de cultivo celular. Por ejemplo, se puede formular una dosis en modelos de animales para conseguir un intervalo de concentraciones circulantes que incluye o comprende un punto o intervalo de concentraciones que tiene el efecto deseado en un sistema in vitro. Esta información se puede utilizar por tanto para determinar de manera precisa las dosis en otros mamíferos, incluyendo humanos y animales.

15 **[0119]** La dosis terapéutica eficaz se refiere a la cantidad del compuesto que da lugar a la mejora de los síntomas en un paciente. La toxicidad y eficacia terapéutica de dichos compuestos se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o en animales experimentales. Por ejemplo, la LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población), así como la ED₅₀ (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población) se pueden determinar utilizando métodos conocidos en la técnica. La proporción de la dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico que se puede expresar como la proporción entre compuestos de LD₅₀ y ED₅₀ que muestran índices terapéuticos elevados.

20 **[0120]** Los datos obtenidos del cultivo celular y los estudios con animales se pueden utilizar en la formulación de un intervalo de dosificación de dichos compuestos que se encuentran preferiblemente en el intervalo de concentraciones circulantes que incluyen el ED₅₀ con poca o nula toxicidad.

30 **[0121]** La composición farmacéutica se puede administrar a través de cualquier ruta, tal como por vía local, oral, sistémica, intravenosa, intramuscular, mucosa, utilizando un parche y se puede encapsular en liposomas, micropartículas, microcápsulas, y similares. La composición farmacéutica se puede insertar en liposomas o incluso encapsular.

35 **[0122]** Se puede utilizar cualquier portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable en la composición farmacéutica. El compuesto modulador estará preferiblemente en una forma soluble combinada con un portador farmacéuticamente aceptable. Las técnicas para formular y administrar estos compuestos se pueden encontrar en "Remington's Pharmaceutical Sciences". Mack Publication Co., Easton, PA, última edición.

40 **[0123]** El modo de administración, las dosis óptimas y las formas galénicas se pueden determinar según el criterio conocido en la técnica teniendo en cuenta la gravedad de la condición general del mamífero, la tolerancia del tratamiento y los efectos secundarios.

45 **[0124]** La presente invención también da a conocer un método de tratamiento o prevención del SIDA en un humano o mamífero con necesidad de dicho tratamiento. Este método comprende administrar a un mamífero con necesidad de dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto modular que se une a una proteína celular del oído interno de mamífero o humano reconocida. En una realización preferida, el compuesto modulador es un polinucleótido que se puede colocar bajo el control de una secuencia reguladora que es funcional en el mamífero o humano.

50 **[0125]** En otra realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un polipéptido SID®, o variante del mismo, según las reivindicaciones. El polipéptido SID®, o variante del mismo, se puede utilizar en una composición farmacéutica, siempre que esté dotado con propiedades de unión altamente específicas para un polipéptido cebo de interés.

55 **[0126]** Las propiedades originales del polipéptido SID® o las variantes del mismo interfieren con la interacción natural entre una primera proteína y una segunda proteína en las células del organismo. De este modo, el polipéptido SID® se une específicamente al primer polipéptido o al segundo polipéptido.

60 **[0127]** Por lo tanto, los polipéptidos SID® de la presente invención o las variantes de los mismos interfieren con las interacciones proteína-proteína entre la proteína de VIH.

65 **[0128]** De este modo, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente aceptable de un polipéptido SID® o una variante del mismo, siempre que la variante tenga las dos características mencionadas anteriormente; es decir, que esté dotada con propiedades de unión altamente

específicas para un polipéptido cebo de interés y desprovisto de actividad biológica de la proteína natural.

[0129] En otra realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, según las reivindicaciones, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un polinucleótido que codifica un polipéptido SID® en una variante del mismo en la que el polinucleótido se coloca bajo el control de una secuencia reguladora apropiada. Las secuencias reguladoras apropiadas que se utilizan son secuencias de polinucleótidos derivadas de elementos promotores y similares.

[0130] Los polinucleótidos que se pueden utilizar en la composición farmacéutica de la presente invención incluyen la secuencia de nucleótidos de SEQ ID N°17.

[0131] Además de los polipéptidos SID® y polinucleótidos, la composición farmacéutica de la presente invención también puede incluir un vector de expresión recombinante que comprende el polinucleótido que codifica el polipéptido SID®, según las reivindicaciones, o variante del mismo.

[0132] Las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente se pueden administrar mediante cualquier ruta, tal como por vía oral, sistémica, intravenosa, intramuscular, intradérmica, mucosa, encapsuladas, utilizando un parche y similar. Se puede utilizar cualquier portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable en esta composición farmacéutica.

[0133] Los polipéptidos SID® como principios activos estarán preferiblemente en una forma soluble combinada con un portador farmacéuticamente aceptable. Las técnicas para formular y administrar estos compuestos se pueden hallar en "Remington's Pharmaceutical Sciences" supra.

[0134] La cantidad de polipéptidos SID® farmacéuticamente aceptables se puede determinar tal como se describe anteriormente para la modulación de compuestos utilizando cultivos celulares y modelos de animales.

[0135] Los modelos de primate del SIDA proporcionan el conocimiento de la patogénesis, transmisión y respuestas inmunes a la infección y son útiles en el análisis de vacunas y fármacos. Los modelos de VIH-1/chimpancé, VIS(mac)macaco y VIHS/macaco son los utilizados más ampliamente (Primate models of AIDS., Joag SV., Microbes Infect 2000 Feb;2(2):223-9; A new approach to AIDS research and prevention: the use of gene-mutated HIV-1/SIV chimeric viruses for anti-HIV-1 live attenuated vaccines. Haga T, Kuwata T, UI M, Igarashi T. Miyazaki Y, Hayami M. Microbiol Immunol 1998;42(4):245-51).

[0136] Además, se ha desarrollado recientemente un modelo de rata transgénico CD4/CCR5 para la infección mediante el virus de inmunodeficiencia humano de tipo 1. (J Exp Med 2002 Mar 18;195(6): 719-36. Progress toward a human CD4/CCR5 transgenic rat model for de novo infection by human immunodeficiency virus type 1. Kepllar OT, Walte FJ, Ngo TA, Chin PS, Patton KS. Tsou CL. Abbey NW, Sharkey ME, Grant RM, You Y, Scarborough JD, Ellmeyer W, Littman DR. Stevenson M, Charo IF, Hemdier BG, Speck RF, Goldsmith MA.)

[0137] Dichos compuestos se pueden utilizar en una composición farmacéutica para tratar o prevenir el SIDA.

[0138] De este modo, también se describe un método de prevención o tratamiento del SIDA en un mamífero, comprendiendo dicho método las etapas de administrar a un mamífero con necesidad de dicho tratamiento una cantidad farmacéuticamente aceptable de:

- (1) un polipéptido SID® de SEQ ID N° 38 a 60 o una variante del mismo que se une a una proteína de VIH reconocida; o
- (2) un polinucleótido de SID® que codifica un polipéptido SiD® de SEQ ID N°15 a 37 o una variante o un fragmento del mismo, en el que dicho polinucleótido se coloca bajo el control de una secuencia reguladora que es funcional en dicho mamífero; o
- (3) un vector de expresión recombinante que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido SID® que se une a una proteína de VIH.

[0139] Los ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de SEQ ID N° 15 a 37 que codifica la proteína de la secuencia SEQ ID N°38 a 60 y/o derivados funcionales se administran para modular la función compleja (de la tabla 2) mediante terapia génica. Se puede utilizar cualquiera de las metodologías que se refieren a terapia génica disponibles en la técnica, tales como las descritas por Goldspiel et al Clin. Pharm. 12 pgs. 488-505 (1993).

[0140] La liberación del ácido nucleico terapéutico en un paciente puede ser terapia génica in vivo directo (es decir, el paciente se expone directamente al ácido nucleico o al vector que contiene el ácido nucleico) o terapia génica ex vivo indirecta (es decir, se transforman primero las células con el ácido nucleico in vitro y a continuación se transplantan en un paciente).

[0141] Por ejemplo, para terapia génica in vivo, se administra un vector de expresión que contiene el ácido nucleico en una manera que vuelve intracelular, es decir, mediante la infección utilizando un vector retroviral defectuoso o atenuado u otros vectores virales tal como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos o en Robbins

et al, Pharmacol. Ther., 80 No. 1 pgs. 35-47 (1998).

[0142] Los diversos vectores retrovirales que son conocidos en la técnica son tales como los descritos en Miller et al. (Meth. Enzymol. 217 pgs. 581-599 (1993)) que se han modificado para eliminar aquellas secuencias retrovirales que no son necesarias para el empaquetamiento del genoma viral y la posterior integración en el ADN de la célula huésped. También se pueden utilizar vectores adenovirales que son ventajosos debido a su capacidad de infectar células no divisibles y dichos vectores adenovirales de capacidad elevada se describen en Kochanek (Human Gene Therapy, 10, pgs. 2451-2459 (1999)). Los vectores virales quiméricos que se pueden utilizar son los descritos por Reynolds et al. (Molecular Medicine Today, pgs. 25 -31 (1999)). También se pueden utilizar vectores híbridos y se describen por Jacoby et al. (Gene Therapy, 4, pgs. 1282-1283 (1997)).

[0143] La inyección directa de ADN desnudo o a través del uso del bombardeo de micropartículas (por ejemplo, Gene Gun®; Blistric, Dupont) o mediante su recubrimiento con lípidos también se pueden utilizar en terapia génica. También se pueden utilizar receptores de la superficie celular/agentes de transfección o a través de encapsulación en liposomas, micropartículas o microcápsulas o mediante la administración del ácido nucleico en unión a un péptido que se sabe que entra en el núcleo o mediante su administración en unión a un ligando predispuesto a la endocitosis mediada por receptor (véase Wu & Wu, J. Biol. Chem., 262 pgs. 4429-4432 (1987)) para reconocer tipos de células que expresan específicamente los receptores de interés.

[0144] Se puede producir un compuesto de ligando de ácido nucleico en que el ligando comprende un péptido viral fusogénico diseñado para alterar endosomas, permitiendo así que el ácido nucleico evite la posterior degradación lisosomal. El ácido nucleico se puede reconocer in vivo para la endocitosis específica de célula y la expresión mediante el reconocimiento de un receptor específico, tal como el descrito en WO92/06180, WO93/14188 y WO 93/20221. Alternativamente, el ácido nucleico se puede introducir intracelularmente e incorporarse en el genoma de la célula huésped para la expresión mediante recombinación homóloga (véase Zijstra et al, Nature, 342, pgs. 435-428(1989)).

[0145] En la terapia génica ex vivo, se transfiere un gen en células in vitro utilizando cultivo de tejido y las células se liberan al paciente mediante varios métodos, tales como la inyección subcutánea, la aplicación de las células en un injerto de piel y la inyección intravenosa de células sanguíneas recombinantes, tales como células madre o progenitoras hematopoyéticas.

[0146] Las células en las que se puede introducir un ácido nucleico para los objetivos de terapia génica incluyen, por ejemplo, células epiteliales, células endoteliales, queratinocitos, fibroblastos, células musculares, hepatocitos y células sanguíneas. Las células sanguíneas que se pueden utilizar incluyen, por ejemplo, linfocitos T, linfocitos B, monocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, megacariocitos, granulocitos, células hematopoyéticas o células progenitoras y similares.

[0147] Se describen chips de proteínas o micromatrices de proteínas. Se sabe en la técnica que las micromatrices pueden contener más de 10.000 puntos de muestra de una proteína que se pueden depositar de manera robótica en una superficie de un portaobjetos de vidrio o filtro de nylon. Las proteínas se unen covalentemente a la superficie del portaobjetos, aunque mantienen su capacidad de interaccionar con otras proteínas o moléculas pequeñas en solución. En algunos casos, las muestras de proteínas se pueden producir para adherirse a portaobjetos de vidrio mediante el recubrimiento de los portaobjetos con un reactivo que contiene aldehído que se une a aminas primarias. Por ejemplo, MacBeath y Schreiber (Science, Volumen 289, Número 5485, pgs. 1760-1763 (2000)) o (Service, Science, Vol, 289, Número 5485 pg. 1673 (2000)) describen un proceso para crear micromatrices. Por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 6.112.605 se describe un aparato para controlar, dispensar y medir pequeñas cantidades de fluido.

[0148] También se da a conocer un registro de interacciones de proteína-proteína, PIM® y cualquier dato comprendido en las siguientes tablas. Se entenderá que este registro se puede proporcionar en formato papel, electrónico o digital.

[0149] Tal como se observa a continuación en los ejemplos, se describe el desarrollo de futuras terapias anti-VIH centradas en interrumpir interacciones claves entre proteínas virales y huésped durante varias etapas del ciclo de vida del virus. Para identificar estos factores celulares clave esenciales para la replicación de VIH-1, se realizaron cribados de dos híbridos de manera sistemática, exhaustiva y a gran escala con todas las proteínas del aislado de VIH-1 R5 YU2 indicadas en la tabla 1 utilizando bibliotecas de ADNc aleatorias muy complejas y ADNc cebados con oligo dT de células CEM. Los resultados de estos cribados se indican a continuación en detalle y se enumeran en la tabla 2. A efectos de demostrar que estas interacciones son necesarias para la replicación viral y la expansión viral, se realizaron experimentos de silenciamiento de genes según Elbashir, Harborth et al. 2001, utilizando la transfección de ARNs silenciadores de doble cadena (siARN) dirigidos específicamente contra ARNm que codifican los miembros celulares seleccionados de proteínas virales. Los protocolos utilizados en estos experimentos se describen en detalle en los ejemplos. Brevemente, las células utilizadas como dianas para la infección con viriones de VIH-1 se transfectaron dos veces (día 1 y día 2) con un siARN particular que reconoce un miembro específico de una proteína viral determinada antes de la infección con viriones de VIH-1. Después de la infección, se comprobó la producción

de virus mediante un ensayo de p24 en el medio. Los diferentes siARN utilizados, sus respectivos genes celulares diana y sus secuencias se indican en la tabla 21. Los efectos de estos siARN en la replicación viral en células indicadoras se apreciaron mediante ensayos de p24 (véanse las figuras 19 a 21) y se compararon con los del siARN contra luciferasa utilizados como control negativo, y con los efectos provocados por siARN contra Tsg101, que se utilizó como control positivo, ya que el siARN contra Tsg101 se describió previamente en la literatura como responsable de más de la disminución de más del 80% en la producción de virus (Garrus, von Schwedler et al. 2001). La selectividad de los efectos de siARN en su ARNm homólogo, pero no en un ARNm de control (ARNm de GAPDH), se comprobó mediante un ensayo de Q-RT PCR de cada diana de ARNm celular. También se comprobó que la viabilidad y el ciclo celular de las células indicadoras utilizadas para la infección viral no se veían afectadas por el tratamiento con los siARN (figura 22), indicando que el efecto de inhibición de la producción de virus resultante del tratamiento con algunos siARN no era debido a un efecto tóxico de estos siARN en las células indicadoras para la infección por VIH.

[0150] Además, se construyó una biblioteca muy compleja de doscientos mil fragmentos pequeños aleatorios de ADN de VIH de la mitad 5' del ADN de YU2 de VIH-1 obtenido después de romper al azar esta media parte 5' del ADN de YU2 de VIH-1, utilizando un procedimiento de nebulización de ADN. En algunos casos, se utilizó esta biblioteca en cribados secundarios con algunas de las presas celulares identificadas en los cribados primarios. El número muy elevado de fragmentos de proteínas virales a menudo seleccionadas en estos cribados secundarios debido a la muy elevada complejidad de la biblioteca utilizada, permitió definir de manera muy precisa el Dominio de Interacción Seleccionado (SID) en estas proteínas virales.

[0151] También se describe la utilización de un SID® o una interacción o una presa para cribar moléculas que inhiben el virus de inmunodeficiencia humana, así como moléculas que inhiben el virus de inmunodeficiencia humana obtenido mediante este método de cribado. El cribado puede tener lugar en células de mamífero o levadura. Además, la inhibición se puede detectar mediante polarización de fluorescencia, FRET, BRET, ensayos de unión al filtro o técnicas radioactivas.

[0152] A efectos de ilustrar completamente la presente invención y las ventajas de la misma, se proporcionan los siguientes ejemplos específicos, entendiendo que los mismos solo pretenden ilustrar y en ningún caso limitar.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Preparación de una colección de fragmentos de ADNc cebados aleatoriamente

1.A. Preparación de la colección y transformación en *Escherichia coli*

1.A.1. Preparación de fragmentos de ADNc cebados aleatoriamente

[0153] Para una muestra de ARNm de células CEMC7, se preparó 2 ADNc cebado aleatoriamente a partir de 5 µg de ARNm poliA+ utilizando un kit de Síntesis de ADNc TimeSaver (Amersham Pharmacia Biotech) y con 5 µg de unidades N9 aleatorias o 1 µg de 18 unidades oligo dT, respectivamente, según las instrucciones del fabricante. Después de la extracción fenólica, se precipitó el ADNc y se resuspendió en agua. El ADNc resuspendido se fosforiló mediante incubación en presencia de T4 ADN Quinasa (Biolabs) y ATP durante 30 minutos a 37°C. A continuación, el ADNc fosforilado resultante se purificó sobre una columna de separación (Chromaspin TE 400, Clontech), según el protocolo del fabricante.

1.A.2. Preparación de ADN genómico

[0154] Las primeras 5080 pb de ADN Genómico del clon U2 se amplificó mediante PCR utilizando: oli3285 geno_YU2_5p1 TCCCCCGGGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTG (SEQ ID No. 61) oli3286 geno_YU2_3p1 TCCCCCGGGGCTCTAGGTTAGGATCTACTGGCTCCAT (SEQ ID No. 62)

[0155] La amplificación se digirió mediante *SmaI* y, a continuación, se clonó en el vector SK (Stratagene) digerido por *SmaI*. El inserto que contenía las primeras 5080 pb se ha validado mediante secuenciación completa. Se denomina clon U2-F1.

1.A.3. Fragmentación del preparado de ADN genómico

[0156] Se extrajo el ADN del clon U2-F1 mediante maxiprep (Qiagen). Se digirieron 100 µg de ADN plasmídico mediante *SmaI* y se purificó en gel 2 veces (KIT gelextact Bio101). Se recuperaron 75 µg de ADN y se unieron en 50 µl con T4 ADN ligasa. Esta concatenación del fragmento F1 reduce la tendencia a la unión debido a la sobrerrepresentación de la extremidad natural.

[0157] Esta concatenación de las primeras 5080 pb del ADN Genómico del clon U2 se fragmentó en un nebulizador (GATC) durante 1 minuto, se precipitó y se resuspendió en agua.

[0158] El ADN genómico nebulizado obtenido se trató de manera satisfactoria con nucleasa de judía mungo (Biolabs) durante 30 minutos a 30°C, con T4 ADN polimerasa (Biolabs) durante 10 minutos a 37°C, y enzima Klenow (Pharmacia) durante 10 minutos a temperatura ambiente y durante 1 hora a 16°C.

[0159] A continuación, se extrajo el ADN, se precipitó y se resuspendió en agua.

1.A.4. Unión de enlazadores al ADN genómico de extremos romos

[0160] Se utilizaron el oligonucleótido HGX931 (fosforilado en el extremo 5') 1 µg/µl y HGX932 1µg/µl.

Secuencia del oligo HGX931: 5'-GGGCCACGAA-3' (SEQ ID No.63)

Secuencia del oligo HGX932: 5'-TTCGTGGCCCCCTG-3' (SEQ ID No.64)

[0161] Se preincubaron los enlazadores (5 minutos a 95°C, 10 minutos a 68°C, 15 minutos a 42°C), a continuación se enfriaron a temperatura ambiente y se unieron con fragmentos de ADNc a 16°C durante la noche.

[0162] Se extrajeron los enlazadores en una columna de separación (Chromaspin TE 400, Clontech), según el protocolo del fabricante.

1.A.5. Unión de enlazadores al ADN genómico de extremos romos

[0163] Se utilizaron el oligonucleótido PL160 (fosforilado en el extremo 5') 1 µg/µl y PL159 2 µg/µl.

Secuencia del oligo PL160: 5'-ATCCCGGACGAAGGCC-3' (SEQ ID No. 65)

Secuencia del oligo PL159: 5'-GGCCTTCGTCCGG-3' (SEQ ID No. 66)

[0164] Se preincubaron los enlazadores (5 minutos a 95°C, 10 minutos a 68°C, 15 minutos a 42°C), a continuación se enfriaron a temperatura ambiente y se unieron con insertos de ADN genómico a 4°C durante la noche.

[0165] Se extrajeron los enlazadores en una columna de separación (Chromaspin TE 400, Clontech), según el protocolo del fabricante.

1.A.6. Preparación de vector

[0166] Se preparó el plásmido pP6 (véase la figura 10) mediante la sustitución del fragmento *SpeI-XhoI* de pGAD3S2X con el oligonucleótido de doble cadena:

5'-

**TAGCCATGGCCGCAGGGGCCGCGGCCGCACTAGTGGGGATCCTTAATTAAGGGCCACTG
GGGCCCCC-3' (SEQ ID No. 67)**

5'-

**TGAGGGGGCCCCAGTGGCCCTTAATTAAGGATCCCCACTAGTGCGGCCGCGGCCCC
TGCGGCCATGG-3' (SEQ ID No. 68)**

[0167] El vector pP6 se digirió de manera satisfactoria con las enzimas de restricción *SfiI* y *BamHI* (Biolabs) durante 1 hora a 37°C, se extrajo, precipitó y se resuspendió en agua. Los esqueletos de del vector plasmídico digerido se purificaron en una columna de separación (Chromaspin TE 400, Clontech), según el protocolo del fabricante.

1.A.7. Preparación del vector

[0168] Se preparó el plásmido pP6 (véase la figura 10) mediante la sustitución del fragmento *SpeII-XhoI* de pGAD3S2X con el oligonucleótido de doble cadena:

**5'CTAGCCATGGCCGCAGGGGCCGCGGCCGCGCACTAGTGGGGATCCTTAATTAAGGGCC.
ACTGGGGCCCC 3'(SEQ ID No.69)**

**5'TCGAGGGGGCCCCAGTGGCCCTTAATTAAGGATCCCCACTAGTGCGGCCGCGGCC
CTGCGGCCATGGC 3'(SEQ ID No.70)**

[0169] El vector pP6 se digirió de manera satisfactoria con las enzimas de restricción *SfiI* y *BamHI* (Biolabs) durante 1 hora a 37°C, se extrajo, precipitó y se resuspendió en agua. Los esqueletos de del vector plasmídico digerido se purificaron en una columna de separación (Chromaspin TE 400, Clontech), según el protocolo del fabricante.

1.A.8. Unión entre vector e inserto de ADNc

[0170] El vector preparado se unió durante la noche a 15°C con el ADNc de extremos romos descrito en la sección 2 utilizando T4 ADN ligasa (Biolabs). A continuación, se precipitó el ADN y se resuspendió en agua.

1.A.9. Unión entre el vector e inserto de ADN genómico

[0171] El vector preparado se unió durante la noche a 15°C con el ADNc genómico de extremos romos descrito en la sección 2 utilizando T4 ADN ligasa (Biolabs). A continuación, se precipitó el ADN y se resuspendió en agua.

1.A.10. Transformación de la biblioteca en *Escherichia coli*

[0172] El ADN de la sección 1.A.4 se transformó en células electrocompetentes DH10B Electromax (Gibco BRL) con un aparato Cell Porator (Gibco BRL). Se añadió 1 ml de medio SOC y las células transformadas se incubaron a 37°C durante 1 hora. Se añadieron 9 ml de medio SOC por tubo y las células se emplacaron en medio LB+ampicilina. Se rascaron las colonias con medio LB líquido, se tomaron alícuotas y se congelaron a -80°C.

1.B. Transformación de la colección en *Saccharomyces cerevisiae*

[0173] La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (YHG13 (MAT α Gal4 Δ Gal80 Δ ade2-101::KAN^R, his3, leu2-3, -112, trp1-901, ura3-52 URA3::UASGAL1-LacZ, Met)) se transformó con la biblioteca de ADNc.

[0174] El ADN plasmídico contenido en *E. Coli* se extrajo (Qiagen) de las células congeladas de *E. Coli* en alícuotas (1.A.5.). Se desarrollaron levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* YHG13 en YPGlu.

[0175] La transformación de la levadura se realizó según el protocolo estándar (Giest et al. Yeast, 11, 355-360, 1995) utilizando ADN portador de levadura (Clontech). Este experimento conduce a 10⁴ a 5 x 10⁴ células/ μ g ADN. Se extendieron 2 x 10⁴ células en el medio DO-Leu por placa. Las células se pusieron en alícuotas en viales que contenían 1 ml de células y se congelaron a -80°C.

1.B.1 Transformación de la colección en *Saccharomyces cerevisiae*

[0176] La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (Y187 (MAT α Gal4 Δ Gal80 Δ ade2-101, his3, leu2-3, -112, trp1-901, ura3-52 URA3::UASGAL1-LacZ Met)) se transformó con la biblioteca de ADN genómico de *Staphylococcus aureus*.

[0177] El ADN plasmídico contenido en *E. Coli* se extrajo (Qiagen) de las células congeladas de *E. Coli* en alícuotas (1.A.5.). Se desarrollaron levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* Y187 en YPGlu.

[0178] La transformación de la levadura se realizó según el protocolo estándar (Giest et al. Yeast, 11, 355-360, 1995) utilizando ADN portador de levadura (Clontech). Este experimento conduce a 10⁴ a 5 x 10⁴ células/ μ g ADN. Se extendieron 2 x 10⁴ células en el medio DO-Leu por placa. Las células se pusieron en alícuotas en viales que contenían 1 ml de células y se congelaron a -80°C.

1.C. Construcción de plásmidos cebo

[0179] Para las fusiones de la proteína cebo al dominio de unión a ADN de la proteína GAL4 de *S. cerevisiae*, se clonaron fragmentos cebo en el plásmido pB6 o el plásmido pB27.

[0180] El plásmido pB6 (véase la figura 3) se preparó mediante la sustitución del fragmento polienlazador *NcoI*/*SalI* de pAS $\Delta\Delta$ con el fragmento de ADN de doble cadena:

5'-

CTAGCCATGGCCGCAGGGGCCGCGGCCGCACTAGTGGGGATCCTTAATTAAGGGCCA
CTGGGGCCCCC-3'(SEQ ID No. 71)

5'-

TCGAGGGGGCCCCAGTGGCCCTTAATTAAGGATCCCCACTAGTGC GGCCGCGGGCCCC
TGCGGCCATGG-3' (SEQ ID No. 72)

[0181] El plásmido pB27 (véase la figura 17) se preparó mediante la sustitución de la resistencia a ampicilina de pB20 por la resistencia a tetraciclina.

[0182] Secuencia MCS EcoRI/PstI:

5'

AATTCGGGGCCCGGACGGGGCCGCGGCCGCACTAGTGGGGATCCTTAATTAAGGGCCAC
TGGGGCCCCCTCGACCTGCA 3'(SEQ ID No 73)

5'

GGTCGAGGGGGCCCCAGTGGCCCTTAATTAAGGATCCCCACTAGTGC GGCCGCGGGCCCC
GTCCGGCCCCCG 3' (SEQ ID No. 74)

[0183] La amplificación del ORF del cebo se obtuvo mediante PCR utilizando la *Taq* polimerasa de la lectura de prueba de Pfu (Stratagene), 10 pmol de cada cebador de amplificación específico y 200 ng de ADN plasmídico como plantilla.

[0184] El programa de PCR se estableció de la siguiente manera:

94°	45"	}	x 30 ciclos
94°	45"		
48°	45"		
72°	6'		
72°	10'		
15°	∞		

[0185] La amplificación se comprobó mediante electroforesis en gel de agarosa.

[0186] Los fragmentos de PCR se purificaron con la columna Qiaquick (Qiagen) según el protocolo del fabricante.

[0187] Los fragmentos de PCR purificados se digirieron con enzimas de restricción adecuadas.

[0188] Los fragmentos de PCR se purificaron con una columna Qiaquick (Qiagen) según el protocolo del fabricante.

[0189] Los fragmentos de PCR digeridos se unieron en un vector cebo digerido y desfosforilado adecuadamente (pB6 o pB27) según el protocolo estándar (Sambrook et al.) y se transformaron en células bacterianas competentes. Las células se desarrollaron, el ADN se extrajo y se secuenció el plásmido.

Ejemplo 2: Cribado de la colección con el sistema de dos híbridos en levadura

2.A. El protocolo de apareamiento

[0190] Se utilizó el sistema de dos híbridos de apareamiento en levadura (tal como se describe por Legrain et al.,

Nature Genetics, vol. 16, 277-282 (1997), Toward a functional analysis of the yeast genome through exhaustive two-hybrid screens) por sus ventajas, pero también se podía utilizar el cribado de la colección de ADNc en el sistema de dos híbridos clásico, tal como se describe en Fields et al. o en un sistema de dos híbridos inverso de levadura.

- 5 **[0191]** El procedimiento de apareamiento permite una selección directa en placas selectivas porque las dos proteínas de fusión ya se producen en las células parentales. No se requieren emplacados de réplica.

[0192] Este protocolo se escribió para utilizar la biblioteca transformada en la cepa YHGX13.

- 10 **[0193]** Para las proteínas cebo fusionadas al dominio de unión a ADN de GAL4, se transformaron primero los plásmidos que codificaban cebo en *S. cerevisiae* (cepa CG1945 (MATa Gal4-542 Gal180-538 ade2-101 his3Δ200, leu2-3,112, trp1-901, ura3-52, lys2-801, URA3::GAL4 17 unidades (X3)-CyC1TATA-LacZ, LYS2::GAL1UAS-GAL1TATA-HIS3 CYHR)) según la etapa 1.B. y se extendieron en medio DO-Trp.

- 15 **[0194]** Para proteínas cebo fusionadas al dominio de unión a ADN de LexA, los plásmidos que codificaban cebo se transformaron primero en *S. cerevisiae* (cepa L40Δgal4n (MATa ade2, trp1-901, leu2 3,112, lys2-801, his3Δ200, LYS2::lexAop₄-HIS3, ura3-52::URA3 (lexAop)₆-LacZ, GAL4::Kan^R)) según la etapa 1.B. y se extendieron en medio DO-Trp.

20 **Día 1, mañana: precultivo**

[0195] Las células que portaban el plásmido cebo obtenido en la etapa 1.C se precultivaron en 20 ml de medio DO-Trp y se desarrollaron a 30°C con agitación vigorosa.

25 **Día 1, tarde-noche: cultivo**

[0196] Se midió la DO_{600nm} del precultivo en DO-Trp de células que portan el plásmido cebo. La DO_{600nm} debe encontrarse entre 0,1 y 0,5 a efectos de corresponde con una medición lineal.

- 30 Se inocularon 50 ml de DO-Trp a DO_{600nm} 0,006/ml y se desarrollaron durante la noche a 30°C con agitación vigorosa.

Día 2: apareamiento

medio y placas

- 35 **[0197]**

2 placas de 15 cm YPGlu
tubo de 50 ml con 13 ml de DO-Leu-Trp-His
40 matraz de 100 ml con 5 ml de YPGlu
8 placas DO-Leu-Trp-His
2 placas DO-Leu-Trp

- 45 **[0198]** Se midió la DO_{600 nm} del cultivo DO-Trp. Debía ser alrededor de 1.

[0199] Para el apareamiento, se utilizaron dos veces las células cebo que las células de biblioteca. Para obtener una buena eficacia de apareamiento, se deben recoger las células a 10⁸ células por cm².

- 50 **[0200]** Se estimó la cantidad de cultivo de cebo (en ml) que forman 50 unidades de DO_{600 nm} para el apareamiento con la biblioteca de presas.

[0201] Se descongeló lentamente en hielo un vial que contenía la biblioteca de la etapa 1B. Se añadieron 1,0 ml del vial a 20 ml de YPGlu. Las células se recuperaron a 30°C, bajo agitación suave durante 10 minutos.

55 Apareamiento

[0202] Las 50 unidades de DO_{600 nm} de cultivo de cebo se colocaron en un tubo falcon de 50 ml.

- 60 **[0203]** La biblioteca del cultivo de la etapa 1B se añadió al cultivo de cebo, a continuación se centrifugó, se descartó el sobrenadante y se resuspendió en 1,6 ml de medio YPGlu.

[0204] Las células se distribuyeron sobre dos placas de 15 cm de YPGlu con partículas de vidrio. Las células se esparcieron mediante agitación de las placas. Las células de las placas se incubaron a 30°C durante 4h 30min.

65 Recogida de células apareadas

[0205] Las placas se lavaron y enjuagaron con 6 ml y 7 ml respectivamente de DO-Leu-Trp-His. Se realizaron dos diluciones de diez veces en serie en paralelo en 500 µl de DO-Leu-Trp-His hasta 1/10.000. Se extendieron 50 µl de cada dilución 1/1,000 sobre placas con DO-Leu-Trp. Se extendieron 22,4ml de células recogidas en 400 ml de alícuotas sobre placas con DO-Leu-Trp-His+Tet.

Día 4

[0206] A continuación, se seleccionaron clones que eran capaces de desarrollarse en DO-Leu-Trp-His+Tetraciclina. Este medio permite aislar clones diploides que presentan una interacción.

[0207] Se contaron las colonias His+ en placas de control.

[0208] El número de clones de células His+ definirá qué protocolo debe procesarse:

Sobre $60 \cdot 10^6$ colonias Trp+Leu+:

- si el número de clones de células His+ <285: entonces se utiliza el protocolo del proceso de recubrimiento con impresión en todas las colonias

- si el número de clones de células His+ >285 y <5000: entonces protocolos de proceso a través de recubrimiento y a continuación de recubrimiento por impresión en colonias azules (2.B y 2.C).

- si el número de clones de células His+ >5000: repetir el cribado utilizando placas con DO-Leu-Trp-His+Tetraciclina que contienen 3-aminotriazol.

2.B. El ensayo de recubrimiento de X-Gal

[0209] El ensayo de recubrimiento de X-Gal se realizó directamente sobre placas con medio selectivo después de evaluar el número de colonias His+.

Materiales

[0210] Se estableció un baño de agua. La temperatura del agua debe ser de 50°C.

- Na₂HPO₄ 0,5 M pH 7,5.

- 1,2% Bacto-agar.

- X-Gal al 2% en DMF.

- Mezcla de recubrimiento: Na₂HPO₄ 0,25 M pH 7,5, 0,5% agar, 0,1% SDS, 7% DMF (LABOSI), 0,04% X-Gal (ICN). Para cada placa se necesitan 10 ml de mezcla de recubrimiento.

- Placas DO-Leu-Trp-His.

- Palillos estériles.

Experimento

[0211] La temperatura de la mezcla de recubrimiento debe ser entre 45°C y 50°C. La mezcla de recubrimiento se vertió sobre las placas en partes de 10 ml. Cuando se estableció la capa superior, se recogieron. Las placas se incubaron con el recubrimiento por encima a 30°C y se anotó el tiempo. Se comprobó la regularidad de las colonias azules. Si no aparecían colonias azules, se realizó la incubación durante la noche. Se marcó el número de positivos con un bolígrafo. Las colonias positivas se llevaron a placas frescas de DO-Leu-Trp-His con un palillo estéril.

2.C. El ensayo de recubrimiento con impresión ("stamp")

[0212] Se desarrollaron colonias His+ durante la noche a 30°C en placas de microtitulación que contenían medio DO-Leu-Trp-His+Tetraciclina con agitación. El día después del cultivo durante la noche, se imprimieron las 96 colonias en una placa de 15 cm de DO-Leu-Trp-His. Se colocaron 4 colonias de levadura de control en la misma placa. Después de 2 días de crecimiento a 30°C, se realizó un ensayo de recubrimiento en esta placa con 80 ml de mezcla de recubrimiento (véase la etapa 2B). después de 2 horas de incubación, la placa se fotografió con una cámara CCD. La intensidad azul se cuantificó mediante software Genetools® (SYNGENE) y se normalizó a los puntos de control.

Ejemplo 3 : Identificación de clones positivos

3.A. PCR en colonias de levadura

Introducción

[0213] La amplificación por PCR de fragmentos de ADN plasmídico directamente sobre colonias de levadura es un procedimiento rápido y eficiente para identificar secuencias clonadas en este plásmido. Deriva directamente de un protocolo publicado (Wang H. et al., Analytical Biochemistry, 237, 145-146, (1996)). Sin embargo, no es un protocolo estandarizado y varía de cepa en cepa y depende de las condiciones experimentales (número de células, origen de la Taq polimerasa, etc.). Este protocolo debe optimizarse para condiciones locales específicas.

Materiales

[0214]

- 5 - Para1 pocillo, la composición de la mezcla de PCR fue:
 32,5 µl de agua,
 5 µl 10X tampón PCR (Pharmacia),
 1 µl dNTP 10 mM,
 0,5 µl *Taq* polimerasa (5u/µl) (Pharmacia),
 10 0,5 µl oligonucleótido ABS1 10 pmol/µl: 5'-GCGTTTGGGAATCACTACAGG-3' (SEQ ID No.75)
 0,5 µl oligonucleótido ABS2 10 pmol/µl: 5'-CACGATGCACGTTGAAGTG-3' (SEQ ID No.76)
 - NaOH 1N.

Experimento

- 15 [0215] Las colonias positivas se desarrollaron durante la noche a 30°C en un clúster de cultivos celulares de 96 pocillos (Costar), que contenían 150 µl de DO-Leu-Trp-His+Tetraciclina con agitación. El cultivo se resuspendió y se transfirieron 100 ml inmediatamente en un Thermowell 96 (Costar) y se centrifugaron durante 5 minutos a 4.000 rpm a temperatura ambiente. Se extrajo el sobrenadante. Se añadieron 5 µl de NaOH a cada pocillo y se agitaron durante 1 minuto.

[0216] Se colocó el Thermowell en el termociclador (GeneAmp 9700, Perkin Elmer) durante 5 minutos a 99,9°C y a continuación 10 minutos a 4°C. En cada pocillo, se añadió la mezcla de PCR y se agitó bien.

- 25 [0217] El programa de PCR se fijó de la siguiente manera:

94°C	3 minutos	} x 35 ciclos
94°C	30 segundos	
53°C	1 minuto 30 segundos	
72°C	3 minutos	
72°C	5 minutos	
15°C	∞	

- 35 [0218] La calidad, la cantidad y la longitud del fragmento de PCR se comprobó en un gel de agarosa. La longitud del fragmento clonado era la longitud estimada del fragmento de PCR menos 300 pares de bases que correspondían a las secuencias del plásmido flanqueantes amplificadas.

3.B. Rescate de plásmidos de la levadura mediante electroporación

Introducción

- 45 [0219] El protocolo previo de PCR en células de levadura puede no ser satisfactorio, en cuyo caso, se pueden rescatar plásmidos de levadura mediante electroporación. Este experimento permite la recuperación de los plásmidos de presa de células de levadura mediante transformación de *E. Coli* con un extracto celular de levadura. A continuación, el plásmido de presa se puede amplificar y se puede secuenciar el fragmento clonado.

Materiales

Rescate de plásmidos

[0220]

- 55 Partículas de vidrio 425-600 µm (Sigma)
 Fenol/cloroformo (1/1) premezclado con isoamil alcohol (Amresco)
 Tampón de extracción: 2% Triton X100, 1% SDS, NaCl 100 mM NaCl, TrisHCl 10 mM pH 8,0, EDTA 1 mM pH 8,0.
 Mezcla etanol/NH₄Ac : 6 volúmenes de etanol con acetato de NH₄ 7,5 M, etanol al 70% y células de levadura en parches sobre placas.

Electroporación

[0221]

- 65 Medio SOC

Medio M9
Placas selectivas : M9-Leu+Ampicilina
Cubetas de electroporación de 2 mm (Eurogentech)

5 Experimento

Rescate de plásmidos

10 **[0222]** Se preparó el parche de células en DO-Leu-Trp-His con el cultivo celular de la sección 2.C. La célula de cada parche se rascó en un tubo Eppendorf, se añadieron 300 µl de partículas de vidrio en cada tubo, a continuación, se añadieron 200 µl de tampón de extracción y 200 µl de fenol:cloroformo:isoamil alcohol (25:24:1).

15 **[0223]** Los tubos se centrifugaron durante 10 minutos a 15.000 rpm. Se transfirieron 180 µl de sobrenadante a un tubo Eppendorf estéril y se añadieron 500 µl de cada uno de etanol/NH₄Ac y se centrifugaron los tubos. Los tubos se centrifugaron durante 15 minutos a 15.000 rpm a 4°C. Se lavó el pélet con 200 µl de etanol al 70% y se extrajo el etanol y se secó el pélet. El pélet se resuspendió en 10 µl de agua. Los extractos se almacenaron a -20°C.

Electroporación

20 **[0224]** Materiales: Células MC1066 electrocompetentes preparadas según los protocolos estándar (Sambrook et al. supra).

25 **[0225]** Se añadió 1 µl de extracto de ADN plasmídico de levadura a un tubo Eppendorf preenfriado y se mantuvo en hielo.

30 **[0226]** Se mezcló 1 µl de muestra de extracto de ADN plasmídico de levadura y se añadieron 20 µl de células electrocompetentes y se transfirieron en una cubeta de electroporación fría. El electroporador se fijó a 200 ohms de resistencia, 25 µF de capacidad; 2,5 kV. La cubeta se colocó en el soporte para cubeta y se realizó la electroporación.

35 **[0227]** Se añadió 1 ml de SOC en la cubeta y la mezcla celular se transfirió en un tubo Eppendorf estéril. Las células se recuperaron durante 30 minutos a 37°C, a continuación se centrifugaron durante 1 minuto a 4.000 x g y se separó el sobrenadante vertiéndolo. Se mantuvieron aproximadamente 100 µl de medio y se utilizaron para resuspender las células y expandirlas en placas selectivas (por ejemplo, placas M9-Leu). A continuación, las placas se incuban durante 36 horas a 37°C.

[0228] Se desarrolló una colonia y se extrajeron los plásmidos. Se comprobaron la presencia y el tamaño del inserto a través de la digestión enzimática y electroforesis con gel de agarosa. A continuación se secuenció el inserto.

40 Ejemplo 4 : Interacción proteína-proteína

45 **[0229]** Para cada cebo, el protocolo anterior conduce a la identificación de secuencias de polinucleótidos de presa. Utilizando un programa de software adecuado (por ejemplo, Blastwun, disponible en el sitio de Internet de la University of Washington: <http://bioweb.pasteur.fr/seganal/interfaces/blastwu.html>), se puede identificar el transcrito de ARNm que es codificado por el fragmento de presa y se puede determinar si la proteína de fusión codificada está o no en el mismo marco de lectura abierta de la traducción que la proteína prevista.

50 **[0230]** Alternativamente, se pueden comparar entre sí las secuencias de nucleótidos de presa y se pueden agrupar aquellas que comparten identidad sobre una región significativa (60 nucleótidos) para formar una secuencia contigua (Contig) cuya identidad se puede determinar de la misma manera que para fragmentos de presa individuales descritos anteriormente.

Ejemplo 5: Identificación de SID®

55 **[0231]** Mediante la comparación y selección de la intersección de todos los fragmentos aislados que se incluyen en el mismo polipéptido, se puede definir el Dominio de Interacción Seleccionado (SID®) tal como se ilustra en la figura 15. El SID® se muestra en la tabla 3.

Ejemplo 6: Producción de anticuerpo policlonales y monoclonales

60 **[0232]** El complejo proteína-proteína de las columnas 1 y 4 de la tabla 2 se inyecta en ratones y se producen anticuerpos policlonales y monoclonales siguiendo el procedimiento establecido en Sambrook et al supra.

65 **[0233]** Más específicamente, los ratones se inmunizan con inmunógeno que comprende los complejos mencionados anteriormente conjugados a hemocianina de lapa californiana utilizando glutaraldehído o EDC tal como se conoce en

la técnica. Los complejos también se pueden estabilizar mediante la reticulación tal como se describe en el documento WO 00/37483. A continuación, se mezcla el inmunógeno con un adyuvante. Cada ratón recibe cuatro inyecciones de 10 µg a 100 µg de inmunógeno, y después de la cuarta inyección, se toman muestras de sangre de los ratones para determinar si el suero contiene anticuerpos para el inmunógeno. El título de suero se determina mediante ELISA o RIA. Se seleccionan los ratones con suero que indican la presencia de anticuerpo para el inmunógeno para la producción de hibridomas.

[0234] Se extraen los bazo de los ratones inmunes y se prepara la suspensión de células individuales (Harlow et al 1988). Se realizan fusiones celulares esencialmente tal como se describe por Kohler et al. Brevemente, se fusionan células de mieloma P365.3 (ATTC Rockville, Md) o células de mieloma NS-1 con células de bazo utilizando polietilenglicol tal como se describe por Harlow et al (1989). Las células se emplazan a una densidad de 2×10^5 células/pocillo en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos. Se examinan los pocillos individuales para el crecimiento y se analizan los sobrenadantes de los pocillos con crecimiento para la presencia de anticuerpos específicos de complejo mediante ELISA o RIA utilizando el complejo proteína-proteína de las columnas 1 y 4 de la tabla 2 como proteína diana. Se expanden las células en pocillos positivos y se subclonan para establecer y confirmar la monoclonalidad.

[0235] Se expanden y desarrollan clones con especificidades deseadas como ascitos en ratones o en un sistema de fibras huecas para producir suficientes cantidades de anticuerpos para la caracterización y el desarrollo de ensayos. Los anticuerpos se analizan por la unión al polipéptido cebo de la columna 1 de la tabla 2 sola o al polipéptido presa de la columna 4 de la tabla 2 sola, para determinar cuáles son específicos para el complejo proteína-proteína de las columnas 1 y 4 de la tabla 2 en lugar de los que se unen a las proteínas individuales.

[0236] Los anticuerpos monoclonales contra cada uno de los complejos establecidos en las columnas 1 y 4 de la tabla 2 se preparan de una manera similar mezclando íntimamente proteínas específicas, inmunizando un animal, fusionando células de bazo con células de mieloma y aislando clones que producen anticuerpos específicos para el complejo de proteínas, pero no para proteínas individuales.

Ejemplo 7: Identificación de compuestos modulantes

[0237] Se puede utilizar cada complejo proteína-proteína específico de las columnas 1 y 4 de la tabla 2 para cribar compuestos modulantes.

[0238] Una construcción apropiada para este cribado de compuestos modulantes puede ser:

- polinucleótido cebo insertado en pB6 o pB27;
- polinucleótido presa insertado en pP6;
- transformación de estos dos vectores en una célula de levadura permeable;
- crecimiento de la célula de levadura transformada en un medio que contiene el compuesto a analizar,
- y observación del crecimiento de las células de levadura.

Ejemplo 8: Lista de siRNA utilizados para obtener los resultados establecidos y descritos adicionalmente con más detalle a continuación (S significa cadena codificante y AS significa cadena no codificante). Los siguientes siRNA se obtuvieron de GENSET:

[0239]

EIF3S3 S GGAGUGCUUUUGGGUCUGGTT (SEQ ID NO. 77)
 EIF3S3 AS CCAGACCCAAAAGCACUCCTT (SEQ ID NO. 78)
 HBO1 S GUGAUGGCACAUCCCGACGTT (SEQ ID NO. 79)
 HBO1 AS CGUCGGGAUGUGCCAUCACCTT (SEQ ID NO. 80)
 LEDGF S GUUCCUGAUGGAGCUGUAATT (SEQ ID NO. 81)
 LEDGF AS UUACAGCUCCAUCAGGAAGCTT (SEQ ID NO. 82)
 MCM7 S GAAGCAGUUAAGUAUGGGTT (SEQ ID NO. 83)
 MCM7 AS CCCAUACUUGAACUGCUUCTT (SEQ ID NO. 84)
 SNUPTIN S CCAUGCCAGAAGACUGGCUTT (SEQ ID NO. 85)
 SNUPTIN AS AGCCAGUCUUCUGGCAUGGTT (SEQ ID NO. 86)
 TRANSPORTIN S GGAGCGCGCCUCUUUUUGGTT (SEQ ID NO. 87)
 TRANSPORTIN AS CCAAAAAGAGGCGCGCUCCTT (SEQ ID NO. 88)
 TSG101 S CCUCCAGUCUUCUCUGUUCTT (SEQ ID NO. 89)
 TSG101 AS GACGAGAGAAGACUGGAGGTT (SEQ ID NO. 90)
 VBP1 S CAGCCUGGGAAUGAGACUGTT (SEQ ID NO. 91)
 VBP1 AS CAGUCUCAUCCCGAGGUGGTT (SEQ ID NO. 92)
o de Eurogentech:
 AIMS GAAAGUGAAAUCUCCGCGGTT 200 (SEQ ID NO. 93)
 AIMS CCGCGGAGAUUUCACUUCCTT 200 (SEQ ID NO. 94)
 AKAP1 S GGAACCUCCCGUGGAATT 200 (SEQ ID NO. 95)
 AKAP1AS UUCCACGGGGAGAGGUUCCTT 200 (SEQ ID NO. 96)

ATF6S UGAGACGUAUGAAAACAAUTT 200 (SEQ ID NO. 97)
 ATF6AS AUUGUUUUAUACGUCUCATT 200 (SEQ ID NO. 98)
 BAP1S GUGGAGGAGAUCUACGACCTT 200 (SEQ ID NO. 99)
 BAP1AS GGUCGUAGAUCUCCUCCACTT 200 (SEQ ID NO. 100)
 5 CK2S GAACUGGAAGACAACCCCAT 200 (SEQ ID NO. 101)
 CK2AS UGGGUUGUCUCCAGUUCTT 200 (SEQ ID NO. 102)
 ELAVS GCCUGUUCAGCAGCAUUGGTT (SEQ ID NO. 103)
 ELAVAS CCAAUGCUGCUGAACAGGCTT (SEQ ID NO. 104)
 HIV5' S CUAGAGAUCCUCAGACCCTT' (SEQ ID NO. 105)
 10 HIV5' AS GGGUCUGAGGGAUCUCUAGTT (SEQ ID NO. 106)
 LUC S CGUACGCGAAUACUUCGATT (SEQ ID NO. 107)
 LUC AS UCGAAGUAUCCGCGUACGTT (SEQ ID NO. 108)
 NEF S CAAUGACUUACAAGGCAGCTT (SEQ ID NO. 109)
 NEF AS GCUGCCUUGUAAGUCAUUGTT (SEQ ID NO. 110)
 15 PIASYS GAGUGGACUGAAGCACGAGTT (SEQ ID NO. 111)
 PIASYS CUCGUGCUUCAGUCCACUUCTT (SEQ ID NO. 112)
 RCBP1 S GGAAGUAGGAAGCAUCAUUTT (SEQ ID NO. 113)
 RCBP1AS AAUGAUGCUUCCUACUUCCTT (SEQ ID NO. 114)
 SNF5S GAGAUACCCUCACUCUGGTT (SEQ ID NO. 115)
 20 SNF5AS CCAGAGUGAGGGGUAUCUUCTT (SEQ ID NO. 116)
 SREBP1S GACAUGCUUCAGCUUAUCATT (SEQ ID NO. 117)
 SREBP1AS UGAUAAGCUGAAGCAUGUUCTT (SEQ ID NO. 118)
 SREBP2S UCAAGUGGGAGAGUUCUUCTT (SEQ ID NO. 119)
 SREBP2AS AGGGAACUCUCCACUUGATT (SEQ ID NO. 120)
 25 UBE1S CCAACGGAAUGGCCAAGAATT (SEQ ID NO. 121)
 UBE1AS UUCUUGGCCAUUCCGUUGGTT (SEQ ID NO. 122)
 TIP47S GACUGUCUGCGACGCAGCATT (SEQ ID NO. 123)
 TIP47AS UGCUGCGUCGCAGACAGUUCTT (SEQ ID NO. 124)

30 **[0240]** Se resuspendió en agua a 100 mM cada cadena sencilla S y AS liofilizada de una pareja de siARN. Para la hibridación, se incubaron 20 mM de cadenas sencillas en tampón de hibridación (acetato potásico 100 mM, HEPES-KOH 30 mM a pH 7,4, acetato de magnesio 2 mM) durante 1 min a 90°C y se enfriaron hasta 37°C durante un periodo de 4 horas. La formación de dobles cadenas se verificó en geles de acrilamida al 15% 1X TBE.

35 **Ejemplo 9 – Efecto de siRNA contra las nuevas proteínas celulares que interaccionan con la Integrasa de VIH-1 en la infección por VIH-1 en células HeLa que expresan de manera transitoria CD4 y CCR5**

[0241] Se cotransfectaron 200.000 células Hela (ATCC#CCL-2) utilizando Lipofectamina Plus (Invitrogen) con 0,5 µg de cada plásmido de expresión que codifica CD4 y CCR5, junto con 30nM de siRNA según Elbashir et al (2001).
 40 Dos días después de la transfección, se lavaron las células tres veces con PBS y se infectaron con la cepa pNLAD8 de VIH-1 (Freed y Martin 1994) utilizando 25 ng de antígeno p24 por pocillo. Tres días después, se recogieron los sobrenadantes y se cuantificó la replicación viral midiendo el antígeno p24 en los sobrenadantes utilizando el kit de detección de antígeno p24 Beckman Coulter. Se midió cada efecto de siARN por duplicado. Las células no transfectadas con los vectores de expresión de CD4 o CCR5 no son tolerantes a la infección por NLAD8 de VIH-1 y
 45 son el control negativo de la infección. siRNA Luc dirigido contra el gen de Luciferasa exógeno no expresado ni en células HeLa ni en el genoma de VIH-1 es un control negativo para siARN. Por lo tanto, se tomó el nivel de infección por VIH-1 alcanzado en presencia de siARN Luc como la referencia correspondiente al punto de control del 100% de infección. El nivel de producción de p24 alcanzó 5 ng de p24/ml en este control. Todos los efectos de los otros siARN utilizados en este experimento se calcularon en referencia a siRNA Luc. siRNA HIV5' y siRNA Nef están dirigidos contra las secuencias de pNLAD8 en el gen Nef y en la región 5' de Gag y son controles positivos para los efectos de siARN que reconocen directamente secuencias virales. Previamente se describió siARN contra el gen celular que codifica Tsg101 como inhibidor de la infección por VIH (Garrus, von Schwedler et al. 2001), ya que Tsg101 es necesario para la aparición de VIH-1. Este siARN de Tsg101 es por tanto un control positivo para el efecto de siRNA dirigido contra un gen celular requerido para la infección por VIH-1. El tratamiento mediante siARN
 50 contra INI1/SNF5 tiene un efecto positivo en la infección por VIH-1. El tratamiento con siARN contra nuevas proteínas celulares que interacciona con la Integrasa de VIH-1, LEDGF, MCM7, HBO1, Snurportina, VBP1, Transportina-SR, EIF3S3, presentan un efecto inhibidor en la infección por VIH-1, mostrando que estas proteínas que interaccionan con la integrasa son necesarias para una replicación e infección óptima de VIH-1.

60 **[0242]** Los resultados se muestran en la figura 19.

Ejemplo 10: -Efecto de siRNA contra las nuevas proteínas celulares que interaccionan con las proteínas RT, Proteasa, Pr55 Gag de VIH-1 en la infección por VIH-1 en células HeLa que expresan de manera transitoria CD4 y CCR5:

65 **[0243]** Se realizó el experimento ilustrado en la figura 20 y los resultados se expresaron de manera idéntica a los

mostrados en la figura 19. También se utilizaron los mismos controles que los descritos en la leyenda de la figura 19 con resultados similares (no se muestran HIV5' y Nef de siARN de control que reconocen directamente la secuencia del virus). El nivel de producción de p24 alcanzando en el 100% de control en presencia de siARN Luc fue de 4 ng de p24/ml en este experimento. Se muestran respectivamente los efectos inhibidores en la infección por VIH-1 de tratamientos con siARN contra nuevas proteínas celulares que interaccionan con RT de VIH-1 (Akap1 y ELAV1), proteasa de VIH-1 (AIM1, CSNK2B), integrasa de VIH-1 (Piasy), precursor Gag de HIV-1 y NCp7 (Bap1), y Vpu de VIH-1 (polyRCBP1). Estos resultados indican que estos miembros celulares de las proteínas de VIH-1 indicadas anteriormente son necesarios para la replicación e infección óptima por VIH-1.

Ejemplo 11: -Efecto de siRNA contra las nuevas proteínas celulares que interaccionan con TMgp41 de VIH-1 en la infección por VIH-1 por el aislado HXB2 de X4 de VIH-1 en células HeLa P4-2:

[0244] Se transfectaron 200.000 células Hela P4-2 que expresan CD4 (programa NIH-AIDS) dos veces en un intervalo de 24h utilizando Oligofectamina con 30 nM de siRNA. Un día después de la segunda transfección, se lavaron las células tres veces con PBS y se infectaron con la cepa HXB2 de VIH-1 (Ratner, Haseltine et al. 1985) utilizando 25 ng de antígeno p24 por pocillo. Tres días después, se recogieron los sobrenadantes y se cuantificó la replicación viral midiendo el antígeno p24 en los sobrenadantes utilizando un kit de detección de antígeno p24 (Beckman Coulter). Como en las figuras 19 y 20, se tomaron los resultados obtenidos en presencia de siARN Luc como el punto de referencia del 100% de infección. En este experimento, dado que todas las células expresaban de manera constitutiva CD4 y el correceptor para virus X4 CXCR4, el nivel de infección alcanzado fue superior (45 ng de p24/ml en el punto de control del 100%). Se muestran los efectos en la infección por VIH-1 de los tratamientos con siARN contra nuevas proteínas celulares que interaccionan con el dominio citoplasmático Env TM GP41 de VIH-1 (SREBP1, SREBP2 y ATF6 alfa). Estos resultados, tal como se muestran en la figura 21, indican que SREBP1 y ATF6, pero no SREBP2, son los miembros celulares del dominio citoplasmático Env TM GP41 de VIH-1, que son necesarios para replicación e infección óptima por VIH-1.

Ejemplo 12- Ensayo de p24:

[0245] El kit de detección de antígeno p24 utiliza un anticuerpo monoclonal murino para el antígeno p24 de VIH-1 recubierto sobre pocillos en tiras de microtitulación. Se lisó el sobrenadante diluido de los cultivos celulares infectados y se añadieron a los pocillos recubiertos. Después de una etapa de lavado, se añadió IgG anti-VIH-1 humano biotinilado al pocillo. Después de otro lavado, se añadió estreptavidina-peroxidasa de rábano picante que se compleja con anticuerpos biotinilados. En una etapa final, se añadieron un reactivo sustrato que contenía tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno que reaccionan con peroxidasa complejada. Se mide la absorbancia espectrofotométricamente a 450/570 nm.

Ejemplo 13- Análisis FACS del ciclo celular que muestra que el ciclo celular y la viabilidad celular no se vieron afectados por la transfección de siARN contra los nuevos miembros celulares de proteínas de VIH-1 descritos en este documento.

[0246] Se transfectaron 200.000 Hela dos veces en un intervalo de 24 horas utilizando Oligofectamina con 30 nM de siARN. Un día después de la segunda transfección, se tripsinizaron las células, se resuspendieron en PBS y se fijaron en etanol frío durante 1 hora a 4°C. A continuación, las células se resuspendieron en PBS que contenía 100 mg/ml de ARNasa A y 10 mg/ml de yoduro de propidio. El ciclo celular se analizó por Clasificación Celular Activada por Fluorescencia (FACS) utilizando un instrumento coultroncís Epics Elite. Los picos correspondientes a las diferentes fases del ciclo celular, G0-G1, S, y G2, se cuantificaron según Sherwood et al., Exp. Cell. Res. 1994, 211 :275-281. Como ejemplo, la figura 22 muestra los resultados del tratamiento de células con 11 siARN. Se obtuvieron resultados idénticos con los otros siARN utilizados en los experimentos mostrados en las figuras 19 a 21 y no mostrados en la figura 22.

Ejemplo 14- Análisis de transferencia Western de los efectos de siARN contra SREBP1, SREBP2, ATF6 alfa, el gen celular Tip47, y Luciferasa, sobre la expresión de los productos SREBP1, ATF6 alfa, env de VIH-1 env, y Gag de VIH-1 en células infectadas con HXB2 de VIH-1:

[0247] Se transfectaron 200.000 células Hela dos veces en un intervalo de 24 horas utilizando Oligofectamina (invitrogen) con o sin 30 nM de siARN tal como se indica. Como control se utilizó siARN Luc que reconoce el ARNm de luciferasa descrito en Elbashir, Harborth et al. 2001. Un día después de la segunda transfección, las células se lavaron tres veces con PBS y se infectaron con la cepa HXB2 de VIH-1 utilizando 25 ng del antígeno p24 por pocillo. Tres días después, las células se lavaron en PBS y se lisaron en tampón (50mM Tris HCl pH 7.5, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl, glicerol al 10%, NP40 al 1%, cóctel de antiproteasas al 1% (Sigma). Los lisados celulares se sometieron a electroforesis de SDS-PAG. La expresión de las proteínas Gag (p160Gag-Pol, p41, p55Gag, CAp24) y proteínas Env (Pr160 Env t SU gp120) de HXB2 del virus VIH-1 en células P4-2 infectadas se verificó mediante análisis de transferencia western utilizando mAb anti-CA p24 (Hybridolabs) y anti-SU gp120 (110H) de ratón (Hybridolab). La expresión de SREBP-1 y ATF6 se verificó mediante análisis de transferencia western utilizando anticuerpos anti-ATF6 de conejo (Haze, Yoshida et al. 1999) y anti-SREBP-1 2A4 de ratón (Santa cruz). Carril 1: células transfectadas simuladas y células infectadas simuladas; carril 2: células infectadas por HXB2 sin siRNA; carriles 3 a

7: células infectadas por HXB2 con siRNA contra Luciferasa (luc), ATF6 alfa, Tip47, SREBP1, SREBP2 respectivamente. Tip 47 es una proteína celular que es un posible miembro de TM Gp41 utilizado aquí como control (Diaz y Pfeffer 1998).

5 [0248] Los resultados se muestran en la figura 23.

Ejemplo 15-Análisis de transferencia Western de los efectos de siRNA contra MCM7 y Luciferasa sobre la expresión de MCM7 en células Hela

10 [0249] El tratamiento con siRNA contra MCM7 dio lugar a una fuerte inhibición de la expresión de la proteína MCM7 detectada mediante transferencia western utilizando anticuerpos anti-MCM7. Cuando las células se trataron con 10 nM de siARN de MCM7, se obtuvo una disminución de más del 80% del nivel de expresión de MCM7. Los resultados se muestran en la figura 24. A 30 nM de siARN de MCM7, la expresión de MCM7 se volvió casi indetectable (panel izquierdo). Este efecto era específico para siARN de MCM7, puesto que siARN Luc que reconoce la Luciferasa no presentaba un efecto en el nivel de MCM7 (panel derecho).

Ejemplo 16- PCR cuantitativa

20 [0250] Para monitorizar el efecto de siARN en los genes diana, se llevó a cabo una PCR cuantitativa utilizando una máquina 7000 SDS de Applied Biosystems. Las células transfectadas se lisaron y se extrajo ARN utilizando el Minikit RNeasy y el Qia Shredder de Qiagen siguiendo las recomendaciones del fabricante. A continuación, se utilizó 1 mg de ARN para la reacción de transcripción inversa para generar el ADNc que sirvió como plantilla en la siguiente reacción de Q-PCR. La etapa de transcripción inversa se realizó en una placa de 96 pocillos con el kit de transcripción inversa TaqMan (Applied Biosystems) siguiendo las recomendaciones del fabricante. El ADNc del gen de interés se cuantificó a continuación en placas de 96 pocillos mediante la metodología del verde de SyBR utilizando el kit de mezcla madre de la PCR con verde de SyBR(Applied Biosystems) en una máquina ABI 7000 siguiendo las recomendaciones del fabricante. Para cada reacción, se utilizaron 8 ng de ADNc como plantilla y se añadieron 300 nM de oligonucleótidos directo e inverso que sondan de manera específica el gen para el que se cuantificó el ARNm. Los valores se normalizaron con el valor obtenido para el ARNm de los genes de hGAPDH o hGUS que sirven como controles experimentales internos.

25 [0251] Los oligonucleótidos directos e inversos que sondan el gen de interés se diseñaron utilizando el software Primer Express (Applied Biosystems). Estos oligonucleótidos se validaron mediante experimentos con Q-PCR mostrando que permiten una medición cuantitativa (cuantificación de ADNc diluido en cascada y determinación de la eficacia de la PCR).

35 [0252] La eficacia de todos los siARN se han validado mediante Q-PCR por duplicado. La transfección de siARN se ha realizado en la misma condición que el proceso de infección por VIH.

Ejemplo 17-Integrasa de VIH-1:

40 [0253] La integrasa de VIH-1 es una proteína de 289 residuos de aminoácidos con un PM del monómero de integrasa de 31 kD. Es esencial para la integración del ADN proviral en el genoma de células infectadas. La integrasa está compuesta de tres dominios que se han determinado individualmente mediante cristalografía de rayos X o RMN, pero la estructura de la proteína completa no se ha resuelto aún. El dominio central contiene el sitio catalítico. Una triada de residuos ácidos, el motivo D,D-35-E, juega un papel clave en la catálisis. El dominio se conserva bien no sólo entre retrovirus, sino también entre muchos transposones de ADN en procariotas y eucariotas. El dominio N-terminal incluye el motivo HHCC conservado que se une a zinc. Aunque este dominio de hecho se une a zinc, su estructura es totalmente diferente a la de los dedos de zinc. Presenta un pliegue SH3, aunque no existe una relación funcional conocida con los dominios SH3 de otras proteínas. La función del dominio N-terminal de la integrasa actualmente es desconocida. El dominio C-terminal está menos bien conservado. Aunque el dominio central de la integrasa es claramente responsable para la catálisis, los papeles funcionales de los otros dos dominios están menos claros. El dominio C-terminal se une a ADN de manera no específica. La integrasa es una proteína cariofílica, miembro del complejo de preintegración (PIC) con Vpr, la proteína de la nucleocápside (NC) y la proteína de matriz (MA). Los motivos y el mecanismo implicado en la importación de integrasa en el núcleo aún debe elucidarse.

50 [0254] Antes de la presente invención, Ini1, el homólogo humano del factor de remodelación de la cromatina SNF5 de levadura, era la única proteína celular que se ha observado que interacciona con IN de VIH-1 (Kalpana, Marmon et al. 1994). Sin embargo, la implicación funcional de INI1/SNF5 en las funciones de la integrasa de VIH-1 aún no se ha demostrado. Turelli et al. han demostrado que el componente de SWI/SNF INI1 desencadena la exportación del constituyente del cuerpo nuclear PML (Turelli, Doucas et al. 2001). El secuestro de PML en el núcleo, por ejemplo, mediante el tratamiento con arsénico, provoca un incremento destacado en la eficacia de la transducción de VIH-1. Por lo tanto, Turelli, Doucas et al. 2001, han desarrollado la hipótesis de que, mediante la inducción de la exportación de INI1 de PML media de hecho una respuesta antiviral contraria a la integración retroviral. Este efecto de INI1 podría explicar el porqué, utilizando la fase temprana del ciclo de vida retroviral, sólo una fracción de viriones

internalizados acaban integrando el ADN proviral en el genoma de células infectadas. De manera destacada, los efectos positivos de siARN contra SNF5/INI se detectaron repetitivamente en el presente documento, aunque a una magnitud que variaba ligeramente desde el 172% en el experimento mostrado en la figura 19 al 227% en el experimento mostrado en la figura 20), confirmando que INI1/SNF5 puede tener un papel inhibidor en la integración e infección por VIH-1. Estos resultados revelan una respuesta celular hasta ahora insospechada que interfiere con las etapas tempranas de la replicación del VIH.

Ejemplo 18-Nuevos miembros celulares de IN

1/ Snurportina1 (referencia)

[0255] Tal como se muestra en la tabla 2, los fragmentos de Snurportina1 seleccionados del cribado de IN con la biblioteca de ADNc cebados aleatoriamente indican que la Snurportina1 interacciona con la integrasa de VIH-1. El dominio de interacción selectivo (SID) en la Snurportina para la interacción con IN de VIH-1 se podría mapear entre los residuos de aminoácidos 33-269 en la secuencia de Snurportina (véase la tabla 2). El silenciamiento de la expresión génica de Snurportina 1 con siARN específico antes de la infección por VIH-1, muestra que la infección por VIH-1 y la producción de partículas de virus está fuertemente inhibida cuando se dificulta la expresión de Snurportina 1, hasta el grado del 69%, comparable con la obtenida con siRNA contra Tsg101 (Figura 19). Este experimento demuestra que la proteína Snurportina1 es necesaria para la infección y producción eficaz de partículas de viriones de VIH-1. De este modo, el reconocimiento de Snurportina1 o sus miembros celulares y la alteración de la interacción Snurportina1-IN debe permitir aislar nuevas moléculas anti-VIH.

[0256] La Snurportina 1 es un receptor de importación nuclear específico de m3G-cap con una nueva estructura de dominio. La Snurportina interacciona específicamente con m3G-cap, pero no con estructuras de m7G-cap. La Snurportina 1 aumenta la importación nuclear dependiente de m3G-cap de U snRNPs. La Snurportina funciona como un receptor de importación nuclear específico de snRNP (Huber, Cronshagen et al. 1998). Se ha observado que el reciclaje de la snurportina 1 al citoplasma es dependiente de CRM1 (Paraskeva, Izaurralde et al. 1999). De este modo, la Snurportina puede jugar un papel en el transporte nuclear de IN y del complejo de preintegración de VIH-1 (PIC) del que la integrasa es un componente importante.

2/ Transportina-SR:

[0257] Tal como se muestra en la tabla 2, los fragmentos de Transportina-SR seleccionados del cribado de IN con la biblioteca de ADNc cebados aleatoriamente indican que la Transportina-SR interacciona con la integrasa de VIH-1. Los múltiples fragmentos de polipéptido de transportina de la biblioteca de ADNc de CEM cebados aleatoriamente y cebados con oligo dT que interaccionan con IN de VIH-1, demuestran que esta interacción de Transportina-SR con IN es muy específica y permiten mapear el SID en la Transportina-SR para la interacción con IN de VIH-1 entre los residuos de aminoácidos de la Transportina SR 62-334 (véase la tabla 2). Un cribado secundario con la Transportina-SR (fragmento aa61-aa333) como cebo contra la biblioteca de los fragmentos aleatorios de ADN del genoma de VIH muestra que la Transportina-SR interacciona sólo con IN y no con cualquier otra proteína de VIH-1 representada en la biblioteca. El gran número de fragmentos positivos hallados en este cribado permite definir de manera precisa el SID de la Transportina-SR en la proteína IN de VIH-1 localizada entre los residuos 62 y 176:

**SEQ: ACTAGATTGTACACATTTAGAAGGAAAAGTTATCCTGGTAGCAGTTCATG
TAGCCAGTGGATATATAGAAGCAGAAGTTATTCCAGCAGAGACAGGGCAG
GAAACAGCATACTTTCTCTTAAAATTAGCAGGAAGATGGCCAGTAACAAC
AATACATAC (SEQ ID NO. 127)**

SEQ: LDCTHLEGKViLVAVHVASGYIEAEVIPAETGQETAYFLLKLAGRWPVTT IH (SEQ ID NO. 128)

[0258] De este modo, los SID en la Transportina-SR e IN se definen de manera precisa. El silenciamiento de la expresión génica de la transportina-SR con siARN específico antes de la infección por VIH-1, muestra que la infección por VIH-1 y la producción de partículas virales está fuertemente inhibida cuando se dificulta la expresión de transportina-SR hasta un grado idéntico al obtenido con siARN contra Snurportina, y comparable con la obtenido con siARN contra Tsg101 (Figura 19). Este experimento demuestra que la proteína Transportina-SR es necesaria para la infección eficaz y la producción de partículas de viriones de VIH-1. De este modo, el reconocimiento de la Transportina-SR o sus miembros celulares y la alteración de la interacción Transportina-SR-IN debe permitir aislar nuevas moléculas anti-VIH. Los experimentos de PCR cuantitativa muestran que siARN contra Transportina-SR reducen específicamente la cantidad de ARN de Transportina-SR en más del 95%.

[0259] Transportina-SR es un receptor nuclear para proteínas SR (Kataoka, Bachorik et al. 1999). De este modo, teniendo en cuenta su función conocida, la transportina-SR puede jugar, junto con Snurportina, un papel en el transporte nuclear de IN y del complejo de preintegración de VIH-1 (PIC) del que la integrasa es un componente importante.

Tabla 1: nombre y secuencia del cebo

1: nombre del cebo	2: Ácido nucleico ID No.	3: Secuencia de ácido nucleico	4: Posiciones ácidos nucleicos	5: Aminoácido ID No.	6: Secuencia de aminoácidos	7: Construcción de cebo
IN	1	ATGGAATAGATAAAGGCCCAAGAGAAGACATAGAAATATCACAGTAATTGAGAGCGAA TGGCTAGTGATTTAACTGCCACCTGTAGTAGCAAAAGAAATAGTAGCCAGCTGTG ATAAATGTCAGCTAAAGGAGAGCCATGTCATGGCAAGTAGACTGTAGTCCAGGAA TATGGCAACTAGATTGTACACATTTAGAGGAAAGTTATCTCTGTAGCAGTTCTATG TAGCCAGTGGATATATAGAGCAGAGATTATTCAGCAGAGACAGGCGAGGAAACAG CATACTTCTCTAAATAGCAGGAGATGGCCAGTACAGTAAAGCCGCTTGTGGGCGAGGATCA ATGGCAGCAATTTCCAGAGTGTACAGTTAAAGCCGCTTGTGGGCGAGGATCA AGCAGGAATTTGGCATTTCCCTACAAATCCCAAGTCAAGCAGTAGTAGAATCTATGA ATAAGAAATTAAGAAATTTAGAACAGGTAGAGATCAGGCTGAACATCTTAAAGA CAGCAGTACAAATGGCAGTATTCATCCCAATTTTAAAGAAAGGGGGGATTTGGGG GGTACAGTGCAGGGGAAAGATAGTAGACATNATAGCAACAGACATACAAACTAAG AACTACAGAAACAAATTAACAAATTTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGCGACGCA GAGATCCACTTTGGAAAGCAGCAGCAAGCTCTCTGGAAAGGTGAAGGGGCGAGTAG TAATACAGGATAATAGTGACATAAAGTAGTGCCAAAGAAAGCAAGATCATTTA GGGATTATGGAAACAGATGGCAGGTGATGATTCTGTGGCAGGTAGACACAGGATGAGG ATTAG	[1-867]	8	FLDDIDKAQEEHEKYHSNWRAMASDFN LPVWAKEIVASCDKQLKGEAMHQGV DCSPGIWQLDCTHLEQKVLVAVVHVAS GYIEAEVIPAETGQETAYFLKLKGRW PVTTIHTDNGSNFTSATVKAACWAGI KQEFQIPYNPQSQGVVESHKELKKII GQVRDQAEHLKTAQMAVFTHNFKRKG GIGGYSAGERIVDIATDIOTKELQKQ ITKIQNFRVYRDSRDLWKGPRLLM KGGCAVWIQDSDIKVPPRRXAKIIRD YGKQWAGDDDCVAGRQDED	pB27
RT_v1	2	CCCATAGTCTTATGNAACGTGTACCGGTAAATTTAAAGCCAGGAATGGAATGGCCCA AAAGTTAAACAATGGCCATTGACAGAGAAATAAAGCAATTAGTAGAATTTGT ACAGAAATGGAAGGAGGAAATTTCAAAATTTGGGCTGAAACCCATACAAAT ACTCCAGTATTTGCCATAGAGAAAGACAGTACTAATGGAGAAATTTAGTAGAT TTCAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAACACTTCTGGGAAGTTTCAATTAGGAATACCA CATCCCGAGGTTAAAGAAAGAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGTGATGCA TATTTTTCAGTTCCCTTACATGAGACTTCAGGAAGTATACGTACAAATGCTTCCACAGGGA AGTATAACCAATGAGACACCGAGGAGTAGATATCAGTACAAATGCTTCCACAGGGA TGGAAAGGTTACCCAGCAATATCCAAAGTAGATAGTACAAATCTTTAGAGCTTTT AGAAACAAATCCAGACCTAGTTATCTATCAGTACATGATGATTTGTAGCTAGGA TCTGACTTAGAAATAGGGCAGCATAGAACAAATAGAGCAACTGAGCAACATCTG TTGAGGTGGGATTTACCAACACAGACAAATAATAGAGCACTGAGCAACATCTG TGGATGGGTTATGAACTCCATCTGATTAATGACAGTACAGCTTAGTGTCTGCCA GAAAGAGTAGCTGGACTGTCAATGACATACAGAAAGTTAGTGGGAAATTTGAATTGG GCAAGTCAGATTTATGCGAGGATTAAGTAGAGGCAATTTATGTAAACTCTCTTAGGGGA	[1-1680]	9	PISPIETVPVKLKPQMDGPKVKQWPLT EBKIKALVEICTEMEKEGKISKIGPEN PYNTPVFAIKKSDSTKWRKLVDFRELN KRTQDFWEVQLGIHPAOLKXKKSIVT LDVGDAYFSVPLHEDFRKYTAFTIPS1 NNETPGTRYQYNVLPGQWKGSPAIQS SMTTILEPFRKQNPDLVIYQYMDLYV GSOLEIGQHRTKIEELRQHLLRWGFTT PDKKHQKEPPFLMWOYELHPPDKHTVQ IVLPKXDSHTVNDIQKLVGKLNWASQI YAGIKVRQLCKLLRGTKALTEVILTE EAELELAENREILKEPVHGVVYDPSKD LIAEIQKQCGQWTVQIYQEPFNKLT GKYARTGAGTNDVKQLTEAVQKIATE SIVTWGKTPKFKLP1OKETWETWTEY	pB6

(continuación)

1: nombre del cebo	2: Ácido nucleico ID No.	3: Secuencia de ácido nucleico	4: Posiciones ácidos nucleicos	5: Aminoácido ID No.	6: Secuencia de aminoácidos	7: Construcción de cebo
		ACCAAGCAGCTAACAGAGTAATACCACTAACAGAGAGCAGAACTAGAACTGGCA GAAACACAGGGAATCTTAAAGAACCCAGTACATGGAGTGTATTATGACCCCATCAAAA GACTTGATAGCAGAAATACAGAGCAGGGCCAGGCCAATGGACATATCAAAATTTAT CAAGAGCCATTTAAAAATCTGAAACACAGGAAATATGCAAGAACGAGGGTGCCAC ACTAATGNTGTAAACAAATTAACAGAGGCAGTACAAAAATAGCCACAGAAAGCATA GTAATATGGGGAAGAGACTCCTAAATTTAAACTACCCATACAAAAAGAAACATGGGA ACATGTGTGACAGAAATATTGGCAAGCCACTGGAATTCCTGAGTGGAGTTTGTCAAT ACCCCTCCCTTAGTGAAATTTATGGTACCAGTTAGAGAAAGAACCCCATATAGGAGCA GAAACTTTCTATGTAGATGGGCAGCTAACAGGGAGACTAAATTAGGAAAGCAGGA TATGTTACTAACAGGGAGAACAAAGGTGTCTCCCTAACTGACACAACTAAATCAG AAGACTGAGTTACAGCAATTTATCTAGCTTTGCGAGATTCGGGATTAGAGTAAC ATAGTAACAGACTCAATATGCAATTAGGAATCATTCAGCACCAACAGATAGAGT GAATCAGAGTTAGTCAGTCAATATAGAGCAGTTAATAAAGGAAAGGAGGCTAT CTGGCATGGGTACCAGCACCAAGGAAATTTGAGGAAATGAAACAGTAGNTAAATTA GTCAGTCTGGGATCAGGAAAGTACTA				
PR_v1	3	CCTCAGATCACTCTTTGGCAGCGACCCCTCGTCACAATAAAGATAGGGGGCACTA AAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCCAGATGATACAGTATTAGAGAAATGAAATTTG CCAGGAAGATGGAACCAAAATGATAGGGGAAATGGAGGTTTATCAAGTAAGA CAGTATGATCAGATACCCATAGAAATATGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTA GTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTTGGAAAGAAATCTGTGTGACTCAGATTTGTTGC ACTTTAAATTTT	[1 297]	10	PQITLWQRPLVTIKYGGQLKEALLDTG ADDTVLEENLPGRWKPKWIGGIGFI KVRQYDQIPIEICGHKAIGTVLVGTP VNIIGRNLLTQIGCTLNF	pB27

(continuación)

1: nombre del cebo	2: Ácido nucleico ID No.	3: Secuencia de ácido nucleico	4: Posiciones ácidos nucleicos [1 503]	5: Aminoácido ID No.	6: Secuencia de aminoácidos	7: Construcción de cebo
GAG_v1	4	ATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAAGTCGGGGGAAATAGATAGTGGGAAATAATTCGTTAAGGCCAGGGGAAAGAAACATATAGATTAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGAGCTAGAACGATTGCGAGTTGATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAGGCTGTAGACAAATCTGGGACAGCTACAACCGTCCCTTCAGACAGATCAGAAAGAGCTTAGATCATTATATAACAGTAGCCACCTCTATTGTGTACATCAAAGATAGAGGTAAAGAACACCAAGGAAGCTTTAGAGAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAGTAGAAGAAAGAACACAGCAGCAGCTGACACAGGAACAGCAGCCAGGTTCAGCCCAAAATTTACCCCTATAGTCAGAACCTACAGGGGCAATGTGTACATCAGGCCATATCACCTAGAACTTTAATGTCATGGGTAAAGTAGTGAAGAGAGAGCGTTCAGCCCAAGATTAACACCATGTTAAACACATTTTCAGCATTATCAGAGGAGCCACCCCAAGATTTAAACACCATGTTAAACACAGTGGGGGACACCAAGCAGCAGTCAATGTAATGTTAAAGAGACCATCAATGAGGAAGCTGCAGAAATGGGATAGATTGTCATCCAGTGCATGTCAGGGCTATTGACACAGGCCAGATGAGAGAACAGGGGAAATGACATAGCAGGAACCTACTAGTACCTTCAGGAACAAATAAGATGGATGACAAATAATCCACTATCCAGTAGGAGAAATCTATAAAGATGGATAATCTGGGATTAATAAATAGTAGAATGATAGTCTACAGCATCTGACACNTAAGACAAGGACCAAGGAACCTTTAGAGATTATGTAGACCGGTTCTATAAAGCTCTAAGAGCCGAGCAAGCTTCACAGAGGTAAAGAAATGGATGACAGAAACCTTGTTGGTCCAAAATGCGAACCAGATTGTAAGACTATTTTAAAGCAITGGGACCGACGACTACACTAGAAGAAATGATGACAGCATGTCAGGGAGTGGGGGACCCCGCCATTAAGCAAGA GTTTTGGCTGAAGCAATGAGCCAAATACAAATTCAGCTACCAATAATGATGCAGAGA GGCAATTTTAGGAACCAAGAAATACTGTTAAGTGTTCATATTTGGCAAGAGAGGGCACATAGCCAAATAATGCAAGGCTCTAGGAAGAGGGCTGTTGGAAATGTGGAAG GAAGACACCAATGAAAGATTGTACTGAGACAGAGGCTAATTTTGTAGGAAGATCT TGGCTTCCCAAGGGAGGCCAGGAAATTTCTTCAGAGCAGAGCCAGAGCCAAACA GCCCATCAGAGAGAGCGTCAGGTTTGGAGAGAGACAAACACTCCCTCTCAGAGAG CAGGAGCCGATAGACAAAGAACTGTATCTTTAGCTTCCCTCAGATCACTCTTTGGC JAGGACCCCTGTCACAAATA	[1 503]	11	MGARASVLSAGELDKWEKIRLRPGGKK QYRLKHIWASRELERFAVDPLLETS EGCQIILGQLQPSLQTCSEELRSLYNT VATLYCVHQKIEVKDTWEALEKIEEEQ NKSKKAAQAAADTGNSSQVSNYPYIV QNLQGMVHQAI SPRTLNHWKVVEEK AFSPEVPMFSALSEGATPQDLNTMLN TVGGHQAAMQMLKETINEEAAEWDR LH PVHAGPIAPGQOMREPRGSDIAGTTSTL QEIQGMNTNPPIPVGEIYKRWIILGL NKIVHYSPTSILDIRQPKPEPRDYV DRFYKTLRAEQASQEVKNWMTETLLVQ NANPDKTILKALGPAATLEEMWTACQ GVGGPGHKARVLAEAMSOVNSATIMM QRGNFRNQRKTVKCFNCKEGHIAKNC RAPRKKGCWKCKEGHQMDCETERQAN FLGKIWPSHKGRPGNFLQSRPEPTAPS EESVRFGEEITTPSQKEPIDKELYPL ASLSLFGSDPSSQ	pB6
NC_v1	5	ATGCAGAGAGGCAATTTTAGGAACCAAGAAACCTGTTAAGTGTTCATATTGTGGC AAAGAGGGGCACATAGCCAAATTCGAGGGCTCTAGGAAGAAAGGGCTGTTGGNAA TGTGGAAAGGAAGGACACCAAAATGAAGAATGTGTACTGAGAGACAGGCTAAT	[1 165]	12	MQRGNFRNQRKTVKCFNCKEGHIAKNC CRAPRKKGCWKCKEGHQMDCETERQAN N	pB6

(continuación)

1: nombre del cebo	2: Ácido nucleico ID No.	3: Secuencia de ácido nucleico	4: Posiciones ácidos nucleicos	5: Aminoácido ID No.	6: Secuencia de aminoácidos	7: Construcción de cebo
TM_v1	6	GTTGTACTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGGATACTCACATTATCGTTTCAG ACCCACCTCCAGCTCAGAGGGGACCCGACAGGCCCGACGGATCGAAGAAGAGGT GGAGAGAGACAGAGACAGATCCCGTCCATTAGTGGATGGCTTCTTAGCAATTATC TGGGTCCACCTACGAGCCGTGTCCTTTTCAGCTACCAACCGCTTGAGAGACTTACTC TTGATTGTAAACGAGGATTGTGGAATTTCTGGACCGCAGGGGGTGGGAGTCTCTCAA TATTGGTGGAACTCTCTCCAGTATTGGATTTCAGGAACCTAAGAAATAGTCTGTTAGC TTGCTCAACGCCACAGCTATAGCAGTATAGCAGTGTGAGGGGACAGATAGGGTTATAGAAATA TTACAAGAGCTTTTAGAGCTTTCTTTCACATACCTGTAAAGAAATAGACAGGGCTTG GAAAGAGCTTTGCTATTA	[565 1038]	13	VVLSIVNRVRQGYSPLSFQTHLPAQRG PDRPDGIEEGGERDRDRSGPLVDGFL AIIWDLRSICLFSYHRLRDLILLIVTR IVELLGRRGHWLVKYHNNLLQYWIQEL KNSAVSLLNATAIAVAEGTDRVIEILQ RAFRVVLHIPVIRIQGLERALL	pB6
VPU_v1	7	CTGCNATCTTTACAAGTATTAGCAATAGTAGCATTTAGTAGTAGCAACAATAATAGCA ATAGTTGTGTGGACCATAGTATTTCATAGAAATATAGGAAATATTAGACAAAGGAAA ATAGACAGGTTAATTAAATAGAAATACAGAAAGAGCAGAGACAGTGGCAATGAGAGC GACGGAGATCAGGAGAAATTATCAGCACTTGTGGAAGGGGGCCACCTTGCTCCTTGG GATGTGATGATCTGTAG	[1 246]	14	LQSLQVLAIVALVVTIIAIVVWTVF IEYRKILRQKIDRLINRITTERAEDSG NESDGOQEELSALVERGHLAPWDVDDL	pB27

Tabla 2: Interacciones cebo-presa

1: Nombre de cebo ("bait")	2: ácido nucleico SEQ ID NO: de cebo	3. Construcción de cebo	4: Nombre de presa ("prey")	5: Construcción de presa
IN	1	pB27	prey024555 - Human VBP1	dT
IN	1	pB27	prey024555 - Human VBP1	RP
IN	1	pB27	prey007766 - Human TRN-SR	RP
IN	1	pB27	prey024605 - Human RNUT1	RP
IN	1	pB27	prey001626 - Human HBOA	dT
IN	1	pB27	prey001626 - Human HBOA	RP
IN	1	pB27	prey007151 - Human MCM7	dT
IN	1	pB27	prey024567 - Human EIF3S3	dT
IN	1	pB27	prey024S67 - Human EIF3S3	RP
IN	1	pB27	prey000022 - Human PIASY	RP
RT_v1	2	pB27	prey026178 - Human AKAP1	RP
RT_v1	2	pB27	prey026784 - Human ELAVL1	RP
PR_v1	3	pB27	prey47239 (CSNK2B) hCSNK2B	CEMC7 humano cebado aleatoriamente
PR_v1	3	pB27	prey030612 - Human AIM1	dT
PR_v1	3	pB27	prey030612 - Human AIM1	RP
PR_v1	3	pB27	prey030679 - Human UBE1	dT
GAG_v1	4	pB6	prey17662 (BAP1 KIAA0272; prey17663; prey17658) hBAP1 hBAP1 hhucep 6	CEMC7 humano cebado aleatoriamente
NC_v1	5	pB6	prey145885 (BAP1 HUCEP 6 HUCEP 13 KIAA0272) hBAP1	CEMC7 humano cebado aleatoriamente
TM_v1	6	pB6	prey34104 (ATF6; prey34106) hATF6	CEMC7 humano cebado aleatoriamente
TM_v1	6	pB6	hgx33 hsterol regulatory element bindingprotein 2 hSREBF2	CEMC7 humano cebado aleatoriamente
TM_v1	6	pB6	prey15532 (SREBF1 SREBP1; prey15533) hSREBF1 hSREBP 1	CEMC7 humano cebado en dT
VPU_v1	7	pB27	prey6634 (PCBP1 HNRPE1 hnRNP E1 HNRPX hnRNP X; prey6635) hPCBP1 hhnRNP E1	CEMC7 humano cebado aleatoriamente
VPU_v1	7	pB27	prey6634 (PCBP1 HNRPE1 hnRNP E1 HNRPX hnRNP X; prey6635) hPCBP1 hhnRNP E1	CEMC7 humano cebado aleatoriamente
VPU_v1	7	pB27	prey7766 (TRN_SR TRN SR2 MTR10A; prey7769) hTRN_SR hMtr10a	CEMC7 humano cebado aleatoriamente

Tabla 3: SID®

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
IN	1	prey0245 55 Human VBP1	15	TTGTGGCAAGGAGAAATGGCCACAGGGAATGGGCGGGCTCCACCTGGGGA TTCTTGAGGCCGTGTTGTGGAAGATGTAGATTCTTCATGAAACAGCCTGGG AATGAGACTGCAGATACAGTATTAAAGAAAGCTGGATGAACAGTACCAGAGTA TAAGTTTATGGNACTCAACCTTGCTCAAAAGAAAGAAAGGCTAAAGGTCAGA TTCTGTAAATTAACAGACTTTGGAAATTTCTAAATATACATGCAGAAAGAAA GAGTCCACCACTCAATGGAGCCAGATTCTTGCTGGCAGATAACCTGTATTG CAAAGCTTCAGTCTCTACCGATAAAGTGTCTGTGTTGGGGGCTAATG TAATGCTTGAATATGATATTGATGAAGCTCAGGCATTGTTGGAAGAAGATTTA TCGACTGCCACAAAGAAATCTTGATTCTCGAGGAGAACCTTGACTTCTTCG AGATCAATTTACTACCAAGAAAGTCAATATGGCCAGGGTTTATTAATGGGATG TAAAGAGAAACAAGGATGACTCTACCAAGAAACAAGCATAA	38	CGKGEMATGNRRRLHLGIPEAV FVEDVDSFMKQPGNETADTVLK KLDEQYQKYKFMELNLAQKKRR LKGQIPEIKQTLEILKYMQKKK ESTNSMETRFLLAONLYCKASV PPTDKVCLWLGANVMLEYDIDE AQAALLEKNLSTATKNLDSLEED LDFLRDQFTTTEVNMARVYNWD VKRRNKDDSTKNKA*
IN	1	prey0245 55 Human VBP1	16	ATGGCGCGCTTAAGGACAGTTGTGGCAAGGAGAAATGGCCACAGGGAATGG GCGCGGCTCCACCTGGGGAATCTGTAGGCCGTGTTGTGGAAGATGTAGATT CCTTCATGAACACAGCCTGGGAAATGAGACTGCAGATACAGTATTAAAGAAAGT GATGAACAGTACCAGAAATATAAGTTTATGGAACTCAACCTTGCTCAAAAGAA AAGNAGGCTAAAGGTCAGATTCTCGAAATTAACAGACTTTGGAAATCTAA AATACATGCAGAAAGAAAGAGTCCACCAACTCAATGGAGAGCCAGATTCTTG CTGGCAGATAACCTGTATTGCAAGCTTCAGTTCTCTCTACCGATAAGTGTG TCTGTGTTGGGGCTAATGTAATGCTTGAATATGATATTGATGAAGCTCAGG CATTGTTGGAAAGAAATTTATCGACTGCCACAAAGAAATCTTGATTCTCTGGAG GAAGACCTTGACTTTCTTCGAGATCAATTTACTACCAAGAAAGTCAATATGGC CAGGGTTTATAATTGGGATGTAAAAAGAAAGAAACAGGATGACTCTACCAAGA ACAAAGCATAA	39	MAAVKDCSCGKGEMATGNRRRLH LGIPEAVFVEDVDSFMKQPGNE TADTVLKKLDEQYQKYKFMELN LAQKKRRLKGQIPEIKQTLEIL KYMOKKKESTNSMETRFLLAON LYCKASVPTDKVCLWLGANVM LEYDIDEAQAALLEKNLSTATKN LDSLEEDLDFLRDQFTTTEVNM ARVYNWDVKRRNKDDSTKNKA*
IN	1	prey0077 66 Human TRN SR	17	TTTTGTGCACAGACCATGAATGAAGATTGAGACTCAGACTCATTTTATGAGCTCC CCACAGACTCTCATGCTCTTTACGGGACTCATTTGCTAAACCCCATATCCAGAAC TTGAAAGACTTGTCACTGTTATTGTAAACGAGCTGGCTTTAGCAATAGCAGA TCTTGCCCTACAGATGCCCTCTCGAAGGGATGTGCAAAACACATGGTGGAAA AATACAGCAATGATGTGACTTCTTTGCCCTTTTGTGCTGGAGATCCTTACAGTG TTACCTGAGAAAGTACATAGTCGTTCTTACGAAATGGAGCTAATCGCGGCAC	40	FAAQTMKMKIQTSFYELPTDSH ASLRDSSLTHIQNLKDLSPVIV TQLALAIADLALQMPSHWKGCVQ TLVEKYSNDVTSLEFLLEILTIV LPEEVHSRSLRIGANRRTEIIE DLAFYSSTVVSLLMTCVEKAGT

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
IN	1	prey024605 Human RNUT1	18	AGAAATTATAGAAGATTGGCCCTTACTCTAGTACAGTAGTATCTCTATTGA TGACCTGTGTAGAAAAGCAGGACAGATGAGAAAATGCTTATGAGGTTTTT CGCTGTTGGGAAGTTGGTTTAACTTGGGAGTTTTGGACAGTAACCTTCATGGC TAACAATAAATTACTAGCACTCCCTTTTGAGGTTTTGCAACAGGATAAGACCT CGCTAACCTACATGAAGCTGCTTCGGACTGTGTATGCTCAGCTCTCTATGCC ATTGAGAAATGGGAGACTAACTTGGCATTAGCCATGCAACTTTTTCAGGGAGT GCTGACATTGGGAGACTGCCCTATCATATGGCCGTGGCAGCTGAAGATTAGACA AAGTTCTGAATTACTGCCCTATTTTCACTGAACATATGTGAACATTTTCTTGA AAAATTGTTGTACTCCAGGCCAAGGCTTGGGGACCTTCGNACTCTGGAGCT GCTGCTTATCTGTGCAAGCCAT		DEKMLMKVFRCLGSWFLNLGVLD SNFMANNKLLJALLFEVLQDKT SSNLHEAASDCVCSALYAIENV ETNLPLAMQLFQGVLTLETAYH MAVAREDLQKVLNYCRIFTELC ETFLEKIVCTPGQGLGDLRTLE LLLICAGH
IN	1	prey024605 Human RNUT1	18	GTCCAAAGTACAGTTCTTGGAGCAGAGTGAGCGGCCCGGAGGTTACTTGAAC TGCAGAAAATCCNAGCGCTGGATTATGTGAACCATGCCAGAGACTGGCTGAA GATGACTGGACAGGGATGGAGATGAGGAAGAAATAAGAAAGATGATGAAGA AATGGACATTGACACTGTCAAGAAAGTTACCAAAACACTATGCTAATCAATTGA TGCTTTCTGAGTGGTTAATTGACGTTCTTTCAGATTGGGGCAGGAATGGATT GTGGTCGTGTGCCCCGTGTGGAAAAGAGCCCCCTTATGTGGCCCTCCAGGGGTTT TACCAGTGCCCTACACCAAGAGTGGCTACTGTGTCAACAGACTACACCATTTAGAT TGCCAGGAGGCCAACAGGCCAAACTCAACAGCAAAAGACTACACCATTTCTAGAT TGCAATTACAAATGAGGTAAACCAAGACTACTACGTTCTGGATGTGATGTGCTG GCGGGGACACCCCTTTTATGATTGCCAGACTGATTTCCGATTCTACTGGATGC ATTCAAAATTACCAGAAAGAGGACTGGGAGAGAAACCAAGCTTAATCCT TTTAAATTGTGGGGCTAAAGAACTTCCCTTGCACTCCCGAAAGCCTGTGTGA TGTGCTATCTATGGATTTCCTCTTTTGAGGTAGATGGACTTCTCTCTACACACA AACAGACCCATTACAGCCC	41	SKYSSLEQSEERRRRRLLELQSK RLDYVNHARRRLAEDDWTGMESE EENKKDDEEMDIDTVKKLPKH ANQLMLSEWLIDVPSDLGQEWI VVCPVGKRALIVASRGSTAY TKSGYCVNRFSSLLPGGNRRNS TAKDYTILDCIYNEVNQTYVVL DVMCHRGHPFYDCQTDPRFYWM HSKLPEEEGLGEXTKLNPFKFV GLKGNFPCTPESLDCVLSMDFPF EVDGLLFYHKQTHYS

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
IN	1	prey0016 26 Human HBOA	19	GGGAAGCAACATGATTAAACAAATTGCTTTGGCCGCTATGAGCTTGATACCT GGTATCATTTCTCCATATCTGAAGNATATGCAACGGCTGGGACGTCTCTATATG TGTGAATTTCTGTTTAAATATATGAAGAGCCAAACGATATCTCCGCCGGCACAT GGCCAAATGTGTGTGGAACACCCACCTGCTGTGATGAGATATATCGCAAAGGTT CAATCTCTGTGTTTGAAGTGGATGGCAAGNAAACAGATCTACTGCCNAAAC CTGTGCTGTGTGGCCAACTTTTCTGGACCAAGACATTTATTTATGATGT GGAGCCCTTCTGTTCTATGTTATGACAGAGCGGACAACTGCTGTGCACC TGATTGGATATTTTCTAAGGAAAGAAATTCATTTCTCAACTACAACTGCTCC TGATTTCTTACTATGCTCTAGTACATGAGACAGGGCTATGGCTCCCGAGAAC TGATTTCTGATTATTTGCTTTCCAAAGTCGAAGAAAGTTGGCTCCCGAGAAC GTCCACTCTCAGATCTGGGGCTTATAAGCTATCGCAGTTACTGGAAAGAAAGTA CTTCTCCGGTACTGCTGATAATTTTCAAGGCAAGAGAGATTTCTATCAAGGAAAT CAGTCAGGAGACGGCTGTGAATCTCTGTGGACATTTGTGAGCACCTCTGCAAGCCC TTCAGATGCTCAATACTGGAAGGAAACACCTAGTTTAAAGAGACAGGAC CTGATTGATGATGGATAGCCAAAGAGGGCCAAAGGTTCCAACCTCCAAATAAAC CATGGATCCCAGCTGCTTAAATGGAACCCCTCCCAAGGGCACTTAA GATTAAACAAATTGCTTTTGGCCGCTATGAGCTTGATACCTGGTATCATCTC CATATCTGGAAGAAATATGACACGGCTGGGACGCTCTATATGTTGAAATTTCTGT TTAAATATATGAAGAGCCAAACGATACTCCGCCGGCACATGGCCAAATGTGT GTGAAACACCCACCTGGTGTGATGAGATATATCGCAAGGTTCAATCTCTGTGT TTGAAGTGGATGGCAAGAAACAAAGATCTACTGCCAAACCTGTGCTGTGTG GCCAAACTTTTCTGGACCAACAGACATATATATGATGTGGAGCCCTTCTCT GTTCTATGTTATGACAGAGCGGACAACTGGTGTACCTGATGATGATGATAT TTTCTAAGGAAAGAAATTCATTTCTCACTACAACTGCTCTGATATCTCTACT ATGCTCAGTACATGAGACAGGGCTATGGCAAGATGCTTATGATTTTCAAGTAA TTTGTCTTCCAAAGTCGAAGAAAGTTGCTCCCGCAAGAGCTCCACTCTCAG ATCTGGGGCTTATAAGCTATGCAAGTACTGGAAGAGAGTACTTCTCCGCTAC CTGCATAATTTTCAAGGCAAGAGATTTCTATCAAGAAATCAGTCAGGAGAC GGCTGTGAATCTGTGGACATTTGTGACGACTCTGCAAGCCCTTCAGATGCTCA AATACTGGAAGGGAACACCTAGTTTAAAGAGACAGGACCTGATTTGATGAG TGGATAGCCAAAGAGGCCAAAGGTTCCAACCTCCAATAAAACCATGGATCCCAG CTGCTTAAAT	42	IKTIAFGRYELDTWYHSPYEE YARLGRLYMCEFCCLKYMKSTI LRRHMAKCVWKHPGDEIYRKG SISVFEVDGKKNKIYQNLCLL AKLFLDHKTLYYDVEPFLFYVM TEADNTGCHLIGYFSKEKNSFL NYNVSCILTMPQYMRQYGMKL IDFSYLLSKVEEKVGSERPLS DLGLISYRSYWKVEVLLRYLHNF QGKEISIKEISQETA VNPVDIV STLQALQMLKYWKGHVLVKRQ DLIDEWIAKEAKRSNSNKTMDP SCLK
IN	1	prey0016 26 Human HBOA	20	GATTAAACAAATTGCTTTTGGCCGCTATGAGCTTGATACCTGGTATCATCTC CATATCTGGAAGAAATATGACACGGCTGGGACGCTCTATATGTTGAAATTTCTGT TTAAATATATGAAGAGCCAAACGATACTCCGCCGGCACATGGCCAAATGTGT GTGAAACACCCACCTGGTGTGATGAGATATATCGCAAGGTTCAATCTCTGTGT TTGAAGTGGATGGCAAGAAACAAAGATCTACTGCCAAACCTGTGCTGTGTG GCCAAACTTTTCTGGACCAACAGACATATATATGATGTGGAGCCCTTCTCT GTTCTATGTTATGACAGAGCGGACAACTGGTGTACCTGATGATGATGATAT TTTCTAAGGAAAGAAATTCATTTCTCACTACAACTGCTCTGATATCTCTACT ATGCTCAGTACATGAGACAGGGCTATGGCAAGATGCTTATGATTTTCAAGTAA TTTGTCTTCCAAAGTCGAAGAAAGTTGCTCCCGCAAGAGCTCCACTCTCAG ATCTGGGGCTTATAAGCTATGCAAGTACTGGAAGAGAGTACTTCTCCGCTAC CTGCATAATTTTCAAGGCAAGAGATTTCTATCAAGAAATCAGTCAGGAGAC GGCTGTGAATCTGTGGACATTTGTGACGACTCTGCAAGCCCTTCAGATGCTCA AATACTGGAAGGGAACACCTAGTTTAAAGAGACAGGACCTGATTTGATGAG TGGATAGCCAAAGAGGCCAAAGGTTCCAACCTCCAATAAAACCATGGATCCCAG CTGCTTAAAT	43	IKTIAFGRYELDTWYHSPYEE YARLGRLYMCEFCCLKYMKSTI LRRHMAKCVWKHPGDEIYRKG SISVFEVDGKKNKIYQNLCLL AKLFLDHKTLYYDVEPFLFYVM TEADNTGCHLIGYFSKEKNSFL NYNVSCILTMPQYMRQYGMKL IDFSYLLSKVEEKVGSERPLS DLGLISYRSYWKVEVLLRYLHNF QGKEISIKEISQETA VNPVDIV STLQALQMLKYWKGHVLVKRQ DLIDEWIAKEAKRSNSNKTMDP SCLK

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No.	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No.	7: Secuencia de aminoácidos de SID
IN	1	prey0071 51 Human MCM7	21	AGCATACGTGGAGTGTAGGGGAGAGGCTTGGGCTACTAAGGATGCCACCTATA CTTCTGCCCGACCCCTGCTGGCTATCTCGCCCTTTCCACTGCTCTGGCAGCT CTGAGAAATGGTGGATGTGGTGGAGAAAGAGATGTGAATGAGCCATCAGGCT AATGAGATGTCAAGGACTCTCTTCTAGGAGACAAAGGGCAGACAGCTAGGA CTCAGACACGAGAGATGTGATATTTGCCACCGTCCGTGAACTGGTCTCAGGG GGCCGAAGTGTCCGGTCTCTGAGGAGAGAGCAGCGCTGTGTATCTCTCGGCTT CACACCCGCCAGTTCCAGGCGCTCTGATGAAATATGAGGAGCTCAATGTCT GGCAGGTCAATGCTTCCGGGACACGGATCACCTTTTGTCTGA GGAGGTACCGGCTCTACTGCCACCTCTTCCAGCTCCACCGCCGGCGCAGCAG GGAAAGGCAAGGCAAGGCGGCTCGGAGATTCAGCCGTGAGCAAGTGCAG ATAGATGGCTTGTGGTATTAAAGATAATCAACATTTATCAAGAAAGAGGACA AGAACTGAAGTTGTTCAAGGAGTGTCTTTGGGCTGTGGTGTAGAAAGATCGGC TTGAAATTACCACTGCTTCTTCCCTTCCCTCAGCACACAGAGGATGATGTGTGAC TTTGATGAAGTCCAATATCAGATGGAAATGATGCGGAGCCTTCGCCATGTAA CATTGATCATCTTCACTGGGCTGGTATCAGTCCACATATATGGCTCATTCG TTACCCGGGCACTCCTGGACTCTCAGTTTAGTTACCCAGCATGCCATGGAAGAA TCTGTGTTCTCATTTATGATCCCATAAAACTGCCCAAGGATCTCTCTCACT AAAGGCATACAGACTGACTCTCTAACTGATGGAAGTTTGTAAAGAAAGGATT TTTCCCTGAAGCATTGAAAGCAATATCACCTTTGAGTACATGTTTGA GAAGTGCCGATTTGAATTAAGAAATTCACATCTGATCAATGTCTTAATGTGGGA ACTTGAAAGAAAGTCACTGTGTCAGATAAACATGAATGCTCAGCCTTGCCA GCAGCAATCATTTGGGGAAGAACTACAGTTGCTGATGGACAGATGGATGA ATGAGCCAAAGNTATAGTTAAATACAAACATACATGAGGAAATAGTAAACA ACAGCAGCAGAAACATCAGTATCAGCAGCGCTGCCAGCAGGAGAAATATGCAGC GCCAGAGCCGAGGAGAAACCCCGCTCCCTGAGGAGGACCTGTCCAAACTCTTC AAACCAACACAGCCGCTGCCAGGATGGACTCGCTCATTCAGAGGCCAGAT AAACACTTACTGCCAGAACATCAAGGAGTTCACTGCCCAAACTTAGGCAAGC TCTTCATGGGCCAGGCTCTTCAAGAAATACAACTAA	44	AYVEMRREAWASKDATYTSART LLAILRLSTALARLRMVDVVEK EDVNEAIRLMEMSKDSLQDKG QTARTQRPADVI FATVRELVS GRSVRFSEAEQRCVSRGFTPAQ FOAALDEYEELNVQVNASRTR ITFV*
IN	1	prey0245 67 Human EIF3S3	22	EGTGSTATSSSSTAGAGKGGK KGGSGDSAVKQVQIDGLVVLKI IKHYQEEGGQCTEVVQGVLLGLV VEDRLEITNCFPFQHTEDDAD FDEVQYQMEMMRSRHRVNIDHL HVGWYQSTYYGSGFVTRALLDSQ FSYQHAIEESVVLIDYPIKTAQ GSLSKAYRLTPKLMVCKEKD FSPEALKKANITFEYMFEEVPI VIKNSHLINVLMMLELEKSAVA DKHELLSLASSNHLGKQLQLM DRVDEMSQDI VKYNTYMRNTSK QQQKHQYQRRQENMQRSR GEPPLPEEDLSKLFKPPPPAR MDSLLIAGQINTYCNIKEFTA QNLGKLFMAQALQEYNN*	45	

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
IN	1	prey0245 67 Human BIF3S3	23	CAAGGAAGTACCGGCTCTACTGCCACCTCTTCCAGCTCCACCGCGCGCAG CAGGAAAGGCAAGGCAAGCGGCTCGGAGATTTCAGCGTGAAGCAAGTG CAGATAGATGGCTTGTGTATTAAAGATATCAACATTAATCAAGAGAAGG ACAAGGAACGAAGTTGTTCAAGGAGTCTTTGGGTCTGGTTGTAGAGATC GGCTTGAATTAACCAACTGCTTTCTCTTCCCTCAGCACACAGAGGATGATGCT GACTTTGATGAAGTCCAATATCAGATGGAATGATCGGAGCCTTCGCCATGT AAACATTGATCATCTTCACGTGGCTGGTATCAGTCCAGTCCACATATGCGTCAT TGCTTACCGGGCACTCTCGACTCTCAGTTTAGTTACCGCATGCCATTGAA GAATCTGCTGTTCTCATTTATGATCCATAAAACTGCCAAGGATCTCTCTC ACTAAAGGCATACAGACTGACTCTTAACATGATGAAGTTTGTAAAGAAAGG ATTTTCCCTGGAAGCATTTGAAGCAATATCACCTTTGAGTACATGTTT GAAGAGTGGCATTTGTAATTAATAAATTCACATCTGATCAATGCTTAATGTG GGAACTTGAAGAAGTCACTGTTGCAGATAAATGATGATGAGGAGATGAT CCAGCAGCAATCATTTGGGGAAGATCTACAGTTGCTGATGGACAGAGTGGAT GAAATGAGCCNAGATATAGTTAAATACACACATACATGAGGAATACATGTA ACAAACAGCAGCAGAAACATCAGTATCAGCAGCGTCCAGCAGGAGAAATGCG AGCGCCAGAGCCGAGGAGAAACCCCGCTCCCTGAGGAGGACCTGTGCCAACTC TTCAAAAC	46	KEGTGSTATSSSTAGAAGKGK 3KGGSDSAVKQVQIDGLVLK IIKHQEEOGQTEVVQGVLLGL VVEDRLEITNCFFPQHTEDDA DFDEVQYQMEMRSLRHVNIDH LHVWYQSTYYGCSFVTRALLDS QFSYQHAIEESVVLIVDPIKTA QGSLSLKAYRLTPKLMVECKEK DFSPEALKKANITFEYMFEEVP IVIKNSHLINVLMMWELEKKSAY ADKHLLSLASSNHLOKQLQLL MDRVDEMSSQDIYKYNTYHNTS KQQQKHQYQORRRQENMQRS RGEPLPEEDLSKLFK
IN	1	prey0000 22 Human PIASY	24	ATGGCGCGGAGCTGGTGGAGGCCAAACATGTTGATGAGTTTTCGAGTCTC CGACCTTCAGATGCTCTGGGTTTCGTGGCGCGGAGTAAAGTGGACTGAAGC ACGAGCTCGTCACAGGGCCCTCAGCTGGTGCAGTTTGACTGTAGCCCTGAG CTGTTCAAGAGATCAAGGAGCTGTACGAGACCCGCTACGCCAAGAGAATCTC GGAGCTGCCCCACACAGCGGACCGGCCCCCTGGACCCCTGACCATGCCTCCA CCTACGACCGGGCGGCGCTGTGCCCCAGGACTCCGCTGGCAGGCCCAATATT GACTACCCCGTCTCTACGAAAGTACTTTAAACGAGCTGGGACGGTTGCCCGC CAAGACCTCAAGCCAGAAAGTCCGCTGGTGAAGCTGCCGTTCTTTAATATGC TGGATGAGCTGCTGAAGCCCAACCGAATTAG	47	MAAELVEAKNMVMSFRVSDLQM LLGFVGRSKSGLKHLELVTRALQ LVQFDCSPBELFKIKELYETRY AKNSEPAPQPHRPLDPLTMHS TYDRAGAVPRTPLAGPNIDY PV LYGKYLNLGLRLPAKTLKPEVR LVKLPPFFNMLDELLKPTL

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
PR	3	prey0306 12 Human AIM1	28	AGAAATGTCACCGGCTTTACATTGATGCGAAGACCTTGACACAAAATCCAAAC TGAGACCCNAACGTGCATCTCTGGAACAGAGCGTCTCTTCAAGTCCCTGCAC ACCAACACTAATGGGAACAGTGAGCCTCTGTGTATGCCGGAATCAATGACAA AGAGAACAGGGACGTCACAAATGGTGCAATTAAGAGATCGAGACTAGAAAAA GTGCACCTTTCTCAAGCTTGTTATCTCTTTACCAACAGACAAAATCTTTCT CCTTCTGTGACATCAGTCAACACTATGACCCAGGCTTTCAGTACTTCTCAGAA CGGTTCCCTATCTCAGTCTTCAGTGTCAACGCCACGACTGAGGCTGCCCGC CCTGTGGTTTGAACAAAGAACAGTCAATCTTCTGCCCGACAACTCCTTAAAG GTCTTCAANTTCAACTCGTCAAGTACATCACACTCCAGTTTGAAAGTCCAAAG CCACATGGAAATAACCCGCAAAAGAGAAACCAAGAGAGATCTGGATTAC GAAGCAACCTACACTTCCAGAACTAATTTTCTGAATTTGCAAAATGAAAG AATGATGATATGGAAAGGCTAATCATATTGAAAGTGTATTAAATCAAACTT GCCAACTGTGCAAAACAGTGACACCGACTTCTATGGGTCTTTTCAAAATCAAGCC GGTATGACCCAGCATTTCTTTTCTGGAATGTCAATATCAGACACAAATGACA CTTAGAGGAAGTGTCAAAATAAACTCAATCCCGACCTGAAAGGTAGTGAT ATATAGTGAACCCGACGTCTCTGGAAGTGCATTGAAGTTTTCAGTGACATT AGGATTGCAGTTCTTGAGGCTCTCTCAGTGATATCTATAAAGTTGTTAGA GGATGTTGGATTTTGTATGAGCAACCAATTTTGAAGGCACTCCATCCCTT AGAGAGGAGAAATTTGGAACCTCTCTGGTCTCTGGGTATAGAGACATTTTGG AAAGGCACGAAGAGCAGAGTCTGATAGCCAGTGGTGAATGGTTCCATCAGA CATGTGTTTCAAGATTACAGAGTTAGTCACATTGACTTATTTTACTGAACACAGA	51	EMSPALHLMQNLDTKSKLRPKR ASAEQSVLFKSLHTNTNGNSEP LVNPEINDKENRDVNTGGIKRS RLEKSALFSSLLSLPQDKIFS PSVTSVNTWTTAFSTSQNGSL QSSVSQPTTEGAPPCGLNKEQS NLLPDNSLKVFNFNSSSTSHS LKSPSHMEKYPOKEKTKEDLDS RSNLHLPETKFSELSKLKNDMM BKAHHIESV I KSNLPNCANSDT -DFMGLFKSSRYDPSISFSGMSL SDTMTLRGSVQNKLNPRPKVW IYSEPDVSEKCI EVFSDIQDCS SWLSLSPVILI KVRGCHLYEQ PNFECHSIPLEEGELELSGLWG IEDILERHEEAESDKPVVIGSI RHVVQDYRVSHIDLFTPEGLG ILSSYPDDTEEMQGFVGNQKTC SMKVHGTWLIYEEPGFQGVFF ILEPGEYPDLSFWDTEEAYIGS MRPLKMGGRKVEFPTDPKVVVY

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
				AGGGTTAGGAATCTTAAGTTCCTACTTTGTGATGATACTGAAGAAATGCGGGAT TTGGTGTAATGCGAAGACTTGTTCATGAAGTACATTGGGGCACGTGGCTG ATTATGAAGAACTGGATTTCAGGGTGTCTTCATCTCGGAACCTGGTGA ATACCTTGACTTGTCTTCTGGGATACAGAGAAGCGTACATGGATCCATGC GGCCTTGAAATGCGGTGGCGTAAGTTGAATTCCTACAGATCCAAAGGTA GTTGTTATGAAGAGCCTTTCTTGAAGGAAATGTGTGGAAGTGAAGACAGG AATGTGTAGTTTGTCAAGGAGGTGAAGACAGAGAGCGGACCTGGAGACG ATCATTTGCCGTTTACGTGAGGGTCTATGAAGTTCTAAGAGGCAATTTGG GTTGCATATGAGAACTTGATTTACCGTCACTAGTATTTGCTAGAGAGAGG AGATACAGGACTGGAAGCCCTGGGAGGTTACAAATGGAGAGCTTCAGTCTT TACGACCTATATTAGGTGATTTTCAAAATGCTCACATGATATGATACAGTGA AAAACTTTGGATCCAAAGGTTCCAGTATTGATGATTTGGGAATGTTGCTAA TTTAAAGGAGACTGGATATGGAGTGAAGACACAGTCTATTAAATGACTGAGT GAGTATGGGTAGCCTATGAAGATCTGACTTCAAGAGAGACAGTATATACCTG GATAAAGGATTTTATACAGTCTTCTGTTTATAGATGTTGAATTTCTGAACCAAC CTCTCTGTTCAACCTATATGTTGGATCTTCTCACTGGCCCAAGGAGACGAA ATCAGATTCACCTGTTTTCAGAACCAAGTTTCAAGTTCACAGTCAAGTCTT GAAGAAACAACTCAAGTCAAGTATGATGATTCATTTCTACCAAGTCTTGCAGAT TTCAGAGGCGAGCTGGTGTATATGATGAGAGAAATTTCACTGATTAATCAAT ACGTGTTGGAAGAGGCCATTATCCTGCTCTGCTGCTCAATGGGATGCCGCT GGAGCAACTTTCAAGTCTTCTGTTTATAGATGTTGAATTTCTGAACCAAC AATTTCTCTTTGAAGAGAGACTTCAAGGAAAGAAAGATTOAACTTAATG CAGAACTGTCAATCTCGATCCCTGGGATTCACACACAAATACGCTCTGTT CAGGTTATGGTGGGATATGGGTTACTTATGAATATGGCAGTTACAGAGGCG ACAGTTCCTATTTGCTACCTGAGAGTACCTAATGGATGAAATTCAGTGGCT GTCGCCAAATAGGTTCTCAAGACCTTTGTTTCAGAAAGCAATTTATTTTCA CTTCGAAACAAAGCAAGGTTTATTCATGTCACCAATGGAAGTATGAGGA TCTGAGCTTCTGAGGATACAGGTGATGAGGATGTCGGGGCCGATGATCAGA TTTGGATCTATCAAGAGGATGATCAAAATGCAAGTATGAGGATGAGTCTGC CTGACGATTGTGGGAGCTGGTAACATCTGGCTCCAGCTAGGCTGGCCCT GGACCAAGATGCTGACAGCCAGTTCTGGAGCTTGAAGTCCGATGGCAGGATTT ACAGCAAGTTGAAGCCAAATTTAGTTTATGACATTAAGGGGGCACACAGTAT GATCAAAATCAATATCTCAACACTGTGAGCAAGAGAGGATTTACACAGT GTGGGAAGCCATGGTCTCTATATACCTGA		EKPFEGKCVLELETGMCSEVME CGETEATGDDHLPFTSVGSMK VLRIWVAYEKPOFTGHQYLLE EGEYRDWKAWGNGYNGELQSLRP ILGDFSNAHMIWYSEKNFGSKG SSIDLGVIVANLKETGYGVKTQ SINVLGVWVAYENPDFTGEQY ILDKGFTSFEDWGGKNCCKISS VQPICLDSFTGPRRRNQIHLFS EPQFQHSQSFEETTSQIDDSF STKSCRVSOGGSHVYVDGENFTG NQYVLEEGHYPCLSAMGCCPPGA TFKSLRFIDVFSEPTIILFER EDFKGKKIELNAETVNLRSLGF NTQIRSVQVIGGIWVTEYEGSY RGRQFLLSPAEVPNMYEFSGCR QIGSLRPFVQKRIYFRLRNKAT GLFMSITNGNLEDLKLRIQVME DVGADDQIWIYQEGCIKRIAE DCCLTIYVSLVTSKGLGLALD QNADSQFWSLKS DGR IYSLKLP. NLVLDIKGGTQYDQNHIIILNTV SKEKFTQVWEAMVLYT.

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
PR_v1	3	prey3061 2	29	CAAACTGAGACCCAAACGTGCTGCTGAACAGAGCGTCTCTTCAAGTCCC TGCACACCAACCTAATGGGAACAGTACCTCTGGTATGCGCGGAATCAAT GACAAAGAGAACAGGAGCGTACAAATGGTGGCATTAAAGATCGAGACTAGA AAAAGTGCACTTTCTCAAGCTTGTTATCTTCTTTACCAAGACAAAATCT TTCTCTCTTCTGTGACATCAGTCAACACTATGACCAACGGCTTTCAGTACTCT CAGAACGGTTCCCTTATCTCAGTCTTCAAGTGTACAGCCCAACGACTGAGGGTGC CCCGCCCTGTGGTTTGAACAAAGAACAGTCAATCTTCTGCCGACAACTCCT TAAAGGTCTTCAATTTCACTCGTCAAGTACATCACACTCCAGTTTGAAGAAGT CCAAAGCCACATGGAATAACCCGCAAAAGAGAAACCAAGAGAGACTGGA TTCAAGAGCAACCTACACTTCCAGAACTAAATTTCTGAAATTTGTCAAAAC TGAAGAAATGATGATATGGAAGAGGTAAATCATATGAAAGTGTATTAAATCA AACTTCCCAAACTGTGCAACAGTACACCGACTTCAAGGGTCTTTTCAATC AAGCCGGTATGACCCCAAGCATTTCTTTTCTGGAATGTCATTATCAG	52	KLRPKRASAEQSVLFKSLHTNT NGNSEPLVMPEINDKENRDVTN GGIKRSRLKESALFSSLLSLP QDKIFSPSVTSVNTMTAFSTS QNGLSQSSVSQPTTEGAPPCG LNKEQSNLLPDNSLKVFNFNSS STSHSLKSPSHMEKYPQKEKT KEDLDRSNLHLPETKFSLSK LKNDMEKANHIESVIXSNLPN CANSDDFMGLFKSSRYDPSIS FSGMSLS
PR	3	prey0306 79 Human UBE1	30	CTTGGCCCTGCCCTTCTTTGGTTTCTCTGAACCCCTTGGCGCACCGTCACC AGTACTATAACCAAGAGTGGACATTTGTGGATCGCTTTGAGGTACAAGGCTG CAGCCTAATGGTGAGGAGATGACCTCAAAACAGTTCCTCGACTATTTTAAGAC AGAGCAAAATTAGAGATCACATGCTGTCCAGGGCGGTGCCATGCTCTATT CCTTCTTCAATGCCAGCTGCCAAGCTCAAGNACGGTTGGATCAGCCGATGACA GAGATTGTGAGCGGTGTGTGGAAGCGAAAGCTGGGCCGCCACGTGCGGGCGCT GGTGTGTGAGCTGTGTGTGTAAACGACGAGAGCGCGGAGGATGTGAGGTTCCCT ATGTCCGATACACCATCCGCTCA	53	LALPFFGFSEPLAAPRHQYYNQ EWTLWDRFEVQCQLPNGEEMTL KQFLDYFKTEHKLEITMLSQGV SMLYSFFMPAAKLLKERLDQPM EIVSRVSKRKLGRHVRALVLEL CCNDESGEDVEVPYVRYTIR*
GAG-v1	4	prey1766 2	31	GCTGACAGAGGGTGGGAGGGTTCTCGCCCTCCATCAGACCAATCCAGGCA GCCAGGGGTCCAGCAGCCCACTGGAGAGAGGAGGTGCTGGAAGCCACGACAGC AGAGAGAGAGAGCGGGATGTTGAGGCGCTGGCGAGCCCTTGAAGTGGGAGAAATA CTCACCCAAAGAGCTGTGCGCACTGCTGAAGTGTGAGAGGCTGAGATTGCAA ACTATGAGGCGTCCCTCAAGGAGGAGGTAGAGAGAGAGAGATTCAAGATT GATGACACAGAGAGAGACCCCAACTACGATGAGTTTATCTGACACCTTATCTC CATGCTGGCTCAGGAAGGCATGCTGGCCCAACCTAGTGGAGCAGACATCTCCG TGCGGCGCGCAAGGGGTCAACATCGCCCGCTCCACAAAGCAGCGGAAGCCT GACCGCGGGAACCGCTCTCGCCCTTACAAGGCCAAGCGCCAGTGA	54	LTEGGKSSPSIRPIQGSQSS SPVEKEVVEATDSREKTMVRP GEPLSGEKYSPEKELLALLKQVE AEIANYEACLEKEVEKRRKFKI DDQRRTHNYDEFTCTFISMLAQ ECMLANLVEQNISSVRRRQGVSI GRLHKQRKPDRRKRSRPYKAKR Q

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No:	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No:	7: Secuencia de aminoácidos de SID
HC_v1	5	prey1458 85	32	GATTGATGACCAGAGAAGGACCCCAACTACGATGAGTTTCATCTGCACCTTTA TCTCCATGCTGGCTCAGGAAGGCTGCTGGCCACCTAGTGGAGCAGAACATC TCCGTGCGCGCGCCCAAGGGGTGAGCATCGGCCGGCTCCACAAGCAGCGGAA GCCTGACCGCGCGGAAACGCTCTCGGCCCTACAAAGGCCAAGCGCCAGTGA	55	IDQRRTHNYDEFICTFISMLA QEGMLANLVEQNI SVRRRQGV IGRLHKQRKPDRRKRSRPYKAK RQ
TM_v1	6	prey3410 4	33	GCTAGGGTTAGAGGCGGAGATTAAAGGCTGCCCTCTCAGAAACGAGCAACTGA AGAAAGAAAATGGAACACTGAAGCGGAGCTGGATGAAGTTGTTCAGAGAAC CAGAGGCTTAAAGTCCCTAGTCCAAAGCGAAGAGTTGCTGTGTGATGATAGT ATTGGCATTATATATCTGAACCTATGACCTATGAGCATGTTGGAACAGGATT CCAGGAGAAATGAACCTAGTGTGGACCTGCAAAATCAAAAGGAGGACCTTCTA GGATTTCTGCTAAAGAGGCACAGGACATCAGATGGTATTATCCAGAAAAA CAGCTACAGATATGATCATTTCTGTTTCAAAATGACAAAGCCCTGATGGTGTAA CTGAAGAACCATTTGCTT	56	LGLEARLKAALSENEQLKKENG TLKRQLDEVVSENRQLKVPSPK RRVVCVMIVLAFIILNYGPHSM LEQDSRRMNP SVGPANQRHLL GFSAKEAODTSDGI IQKNSVRY DHSVSNDAKALMVLTEEPLL
TM_v1	6	hgx33	34	AATGCTCTAATGATGGGCAAGAGAAAGTCCCATTAAGCAGGTACCTGGGG GAGTCAAGCAGCTTGAGCCCCCAAGAGAGGAGAAAGCGGACAAACCCATAAT ATCATTCAGAAACGATATCGCTCTCTCCNTCAATGACAAATCATCGAATTGAA AGACCTGGTCAATGGGACAGACGCCAAGATGCACAGTCTGGCGTTCTGAGGA AGGCCATTGATTACATCAATATCTGACGAGGTCAATCATAAACTGCGCCAG GAGAACATGGTGTGCTGAAGCTGGCAAAATCAAAAGAACAGCTTCTAAAGGGCAT CGACCTAGGCAGTCTGGTGGACAAATGAGGTGGACCTGAAGATCGAGGACTTTA ATCAGAAATGCTCTTCTGATGTGCCCCCAGCCCTCTGACTCAGGGTCCCAGGCT GGCTTCTCTCCCTACTCCATTGACTCTGAGCCAGGAGCCCTCTATTGGATGA TGCAAAAGGTCAAGATGAGCCAGACTCTCTCTCTGTGGCGCTGGGCATGGTAG ACCGCTCACGGATTCTCTGTGTGCTCACCCTTCTGCTGCTCTCTCTCTTAAAC	57	MPVMHQEKVPIKQVPGGVKQL EPPKEGERRTTHNIIEKRYRSS INDKIIEKDLVMGTDAKMHKS GVLRAKIDYIKYLQVNHKLRQ ENMVLKLANQKNKLLKGLDLS LVDNEVDLKI EDFNQNVLLMSP PASDSGSQAGFSFYSIDSEPGS PLDDAKVKDEPDSPPVALGMV DRSRILLCVLTFLCLSEN

(continuación)

1: Nombre del cebo	2: Ácido nucleico de cebo SEQ ID No.	3: Nombre de presa	4: Ácido nucleico de SID ID No.	5: Secuencia de ácidos nucleicos de SID	6: Aminoácido de SID ID No.	7: Secuencia de aminoácidos de SID
VPU_v1	7	prey6634	35	CCTGAGGCTGGTGGTGGCGGCCACCCAGTGGCTCCCTGATTGGAAAGGCG GGTGAAGATCAAGAGATCCGAGAGTACGGGGCGCAGGTCCAGTGGCG GGGATATGCTGCCCACTCCACCGAGCGGCCATCACCATCGTGGCGTGC GCAGTCTGTACCGAGTGTCAAGCAGATTTGCCGTGTCATGCTGAGACGC TCTCCAGTCTCCGCAAGGAGAGTCATGACCATTCGGTACCAGCCCATGCCG GCCAGTCCCGAGTCATCTCGCGGGCGCCAAAGATCGGTGCAGCGAGCTGT GGGCTACCCCATGCCACCATGACCTGGAGGGACCACTCTAGATGCTACT CGATTCAAGGACAAACACCATTTCTCCGCTCGATCTGGCCAGCTGAACCA GTGGCAAGACAAACAGTCTCACTTTGGCCATGATGCACGGCGGACCGGATTCGC CGGAATTGACTCCAGCTCTCCAGAGGTGAAGGCTATTGGGCAAGTTTGGATG CATCTACTCAAAACCAACCATGAATCACCATTCCAAATAACTTAATTGGCTGC ATAATCGGGCGCCAAAGGCGCAACATTAATGAGATCCGCCAGATGTCCGGGC CCAGATCAAAATTGCCAACCCAGTGGAGGCTCCTCTGCTAGGCAGGTTACTA TCACTGGCTCTGCTGCCAGTATTAGTCTGGCCCAAGTATCTAATCAATGCCAGG CTTTCTCTGAGAGGGCATGGGOTGCAGCTAG	58	LRLVVPATQCGSLIGKGGCKIK EIRESTGAQVQVAGDMLPNSTE RAITIAGVPQSVTECVKQICLV MLETQSQSPQGRVMTIPIQPM ASSPVICAGQDRCDVAUGYPH ATHDLEGPPLDAYSIOGHTIS PLDLAKLNQVARQQSHFAMMHG GTGFAGIDSSSEVKGYNASLD ASTQTHELTIPNNLIGCIYGR QGANINEIRQMSGAIKIANPV EGSSGRQVTITGSAASISLAQY LINARLSSEKGMGCS
VPU_v1	7	prey6634	36	GGGGGATATGCTGCCCAACTCCACCGAGCGGGCCATCACCATCGCTGGCGTG CGCAGTCTGTACCGAGTGTGTCAAGCAGATTTGGCTGGTCAATGCTGGAGAC CTCTCCCATCTCCGCAAGGAGAGTCAATGACCATTC	59	GDMLPNSTERAITTIAGVPQSVT ECVKQICLVMLETQSQSPGRV MTI
VPU_v1	7	prey7766	37	CGCCTTGGCTCGACACTGCCAGCTGGACCCAGACCATGAGGGGGTTCCTGAGG AGACTGATGACTTTGGGAGTTTCCCATGAGGATTCAGACCTGGTGAAGGAC TTGATTTTCTTGATAGGCTCTATGGAGTGTTTTGCTCAGTTATATTTCTACTCT GAAAGAGGCAACCCACCTGGGAGGTGACAGAGCGGTCTCTTTTATCATGG CTGCTATAGCAAGAGTGTGTGATCCGGAACCAATCCAACTTGTGGAAGTC CTAGAAGGAGTGTGTCGGCTCCCGGAGACCGTACATACGGC	60	ALARHCQLEPDHEGVPEETDDF GEFMRVSDLVKDLIFLIQSM CFAQLYSTLKEGNPPHEVTEAV LFIMAAIAKSVDPENNPTLVEV LEGVVRLPETVHT

Referencias:

[0260]

- Brennan, C. M. and J. A. Steitz (2001). "HuR and mRNA stability." *Cell Mol Life Sci* 58(2): 266-77.
- 5 Brown, M. S., J. Ye, et al. (2000). "Regulated intramembrane proteolysis: a control mechanism conserved from bacteria to humans." *Cell* 100(4): 391-8.
- Bukrinskaya, A., B. Brichacek, et al. (1998). "Establishment of a functional human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcription complex involves the cytoskeleton." *J Exp Med* 188(11): 2113-25.
- Caron, M., M. Auclair, et al. (2001). "The HIV protease inhibitor indinavir impairs sterol regulatory element-binding protein-1 intranuclear localization, inhibits preadipocyte differentiation, and induces insulin resistance." *Diabetes* 50(6): 1378-88.
- 10 Cherepanov, P., G. Maertens, et al. (2002). "HIV-1 integrase forms stable tetramers and associates with LEDGF/p75 protein in human cells." *J Biol Chem* 277(1): 28.
- Diaz, E. and S. R. Pfeffer (1998). "TIP47: a cargo selection device for mannose 6-phosphate receptor trafficking." *Cell* 93(3): 433-43.
- 15 Elbashir, S. M., J. Harborth, et al. (2001). "Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells." *Nature* 411 (6836): 494-8.
- Freed, E. O. and M. A. Martin (1994). "HIV-1 infection of non-dividing cells." *Nature* 369(6476): 107-8.
- Fujita, M., T. Kiyono, et al. (1996). "hCDC47, a human member of the MCM family. Dissociation of the nucleus-bound form during S phase." *J Biol Chem* 271(8): 4349-54.
- 20 Garrus, J. E., U. K. von Schwedler, et al. (2001). "Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding." *Cell* 107(1): 55-65.
- Ge, H., Y. Si, et al. (1998). "Isolation of cDNAs encoding novel transcription coactivators p52 and p75 reveals an alternate regulatory mechanism of transcriptional activation." *Embo J* 17(22): 6723-9.
- 25 Ge, H., Y. Si, et al. (1998). "A novel transcriptional coactivator, p52, functionally interacts with the essential splicing factor ASF/SF2." *Mol Cell* 2(6): 751-9.
- Gong, L. and E. T. Yeh (1999). "Identification of the activating and conjugating enzymes of the NEDD8 conjugation pathway." *J Biol Chem* 274(17): 12036-42.
- Graf, M., A. Bojak, et al. (2000). "Concerted action of multiple cis-acting sequences is required for Rev dependence of late human immunodeficiency virus type 1 gene expression." *J Virol* 74(22): 10822-6.
- 30 Greene, W. C. and B. M. Peterlin (2002). "Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy." *Nat Med* 8(7): 673-80.
- Haneda, E., T. Furuya, et al. (2000). "Biochemical characterization of casein kinase II as a protein kinase responsible for stimulation of HIV-1 protease in vitro." *Biochem Biophys Res Commun* 275(2): 434-9.
- 35 Hartl, F. U. and M. Hayer-Hartl (2002). "Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein." *Science* 295(5561): 1852-8.
- Haze, K., H. Yoshida, et al. (1999). "Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress." *Mol Biol Cell* 10(11):3787-99.
- Herberg, F. W., A. Maleszka, et al. (2000). "Analysis of A-kinase anchoring protein (AKAP) interaction with protein kinase A (PKA) regulatory subunits: PKA isoform specificity in AKAP binding." *J Mol Biol* 298(2): 329-39.
- 40 Hoppe, T., M. Rape, et al. (2001). "Membrane-bound transcription factors: regulated release by RIP or RUP." *Curr Opin Cell Biol* 13(3): 344-8.
- Horton, J. D., J. L. Goldstein, et al. (2002). "SREBPs: activator of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver." *J Clin Invest* 109(9):1125-31.
- 45 Huber, J., U. Cronshagen, et al. (1998). "Snurportin1, an m3G-cap-specific nuclear import receptor with a novel domain structure." *Embo J* 17(14):4114-26.
- Iizuka, M. and B. Stillman (1999). "Histone acetyltransferase HBO1 interacts with the ORC1 subunit of the human initiator protein." *J Biol Chem* 274(33): 23027-34.
- Jensen, D. E., M. Proctor, et al. (1998). "BAP1: a novel ubiquitin hydrolase which binds to the BRCA1 RING finger and enhances BRCA1-mediated cell growth suppression." *Oncogene* 16(9):1097-112.
- 50 Kalpana, G. V., S. Marmon, et al., (1994). "Binding and stimulation of HIV-1 integrase by a human homolog of yeast transcription factor SNF5." *Science* 266(5193):2002-6.
- Kataoka, N., J. L. Bachorik, et al. (1999). "Transportin-SR, a nuclear import receptor for SR proteins." *J Cell Biol* 145(6): 1145-52.
- 55 Leffers, H., K. Dejgaard, et al. (1995). "Characterisation of two major cellular poly(rC)-binding human proteins, each containing three K-homologous (KH) domains." *Eur J Biochem* 230(2): 447-53.
- Margottin, F., S. P. Bour, et al. (1998). "A novel human WD protein, h-beta TrCp, that interacts with HIV-1 Vpu connects CD4 to the ER degradation pathway through an F-box motif." *Mol Cell* 1(4): 565-74.
- Nair, V. (2002). "HIV integrase as a target for antiviral chemotherapy." *Rev Med Virol* 12(3):179-93.
- 60 Olsen, H. S., A. W. Cochrane, et al. (1992). "Interaction of cellular factors with intragenic cis-acting repressive sequences within the HIV genome." *Virology* 191(2):709-15.
- Paraskeva, E., E. Izaurralde, et al. (1999). "CRM1-mediated recycling of snurportin 1 to the cytoplasm." *J Cell Biol* 145(2):255-64.
- Ratner, L., W. Haseltine, et al. (1985). "Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV-III." *Nature* 313(6000):277-84.
- 65 Ray, M. E., G. Wistow, et al. (1997). "AIM1, a novel non-lens member of the betagamma-crystallin superfamily, is

associated with the control of tumorigenicity in human malignant melanoma." *Proc-Natl Acad Sci U S A* 94(7): 3229-34.

Sachdev, S., L Bruhn, et al. (2001). "PIASy, a nuclear matrix-associated SUMO E3 ligase, represses LEF1 activity by sequestration into nuclear bodies." *Genes Dev* 15(23): 3088-103.

5 Schwartz, S., B. K. Felber, et al. (1992). "Distinct RNA sequences in the gag region of human immunodeficiency virus type 1 decrease RNA stability and inhibit expression in the absence of Rev protein." *J Virol* 66(1): 150-9.

Singh, D. P., N. Fatma, et al. (2001). "LEDGF binds to heat shock and stress-related element to activate the expression of stress-related genes." *Biochem Biophys Res Commun* 283(4): 943-55.

10 Singh, D. P., A. Kimura, et al. (2000). "Lens epithelium-derived growth factor (LEDGF/p75) and p52 are derived from a single gene by alternative splicing." *Gene* 242(1-2): 265-73.

Trendelenburg, G., M. Hummel, et al. (1996). "Molecular characterization of AKAP149, a novel A kinase anchor protein with a KH domain." *Biochem Biophys Res Commun* 225(1):313-9.

Turelli, P., V. Doucas, et al. (2001). "Cytoplasmic recruitment of INI1 and PML on incoming HIV preintegration complexes: interference with early steps of viral replication." *Mol Cell* 7(6):1245-54.

15 Vainberg, I. E., S. A. Lewis, et al. (1998). "Prefoldin, a chaperone that delivers unfolded proteins to cytosolic chaperonin." *Cell* 93(5): 863-73.

Ye, J., R. B. Rawson, et al. (2000). "ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs." *Mol Cell* 6(6): 1355-64.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0261]

<110> Cellvir

<120> Interacciones proteína-proteína en Virus de Inmunodeficiencia Humano

<130> B5055ACA - JAZ/LV/KN

25 <140> EP N°08/

<141> 31-03-2008

<150> US 60/333,346

US 60/385,132

<151> 26-11-2001

30 31-05-2002

<160> 132

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 860

35 <212> ADN

<213> VIH

<400> 1

```

40 atggaataga taaggcccaa gaagaacatg agaaatatca cagtaattgg agagcaatgg      60
   ctagtgattt taacctgcca cctgtagtag caaaagaaat agtagccagc tgtgataaat    120
   gtcagctaaa aggagaagcc atgcatgggc aagtagactg tagtccagga atatggcaac    180
45 tagattgtac acatttagaa ggaaaagtta tcctggtagc agttcatgta gccagtggat    240
   atatagaagc agaagttatt ccagcagaga cagggcagga aacagcatac tttctcttaa    300
   aattagcagg aagatggcca gtaacaacaa tacatacaga caatggcagc aatttcacca    360
50 gtgctacagt taaagccgcc tgttggtggg cagggatcaa gcaggaattt ggcattccct    420
   acaatcccca aagtcaagga gtagtagaat ctatgaataa agaattaaag aaaattatag    480
55 gacaggtaag agatcaggct gaacatctta agacagcagt acaaatggca gtattcatcc    540
   acaattttta aagaaaaggg gggattgggg ggtacagtgc aggggaaaga atagtagaca    600
60 taatagcaac agacatacaa actaaagaac tacagaacaa aattacaaaa attcaaaatt    660
   ttcgggttta ttacagggac agcagagatc cactttggaa aggaccagca aagctcctct    720
   ggaaagggtga aggggcagta gtaatacaag ataatagtga cataaaagta gtgccaagaa    780
65 gaaaagcaaa gatcattagg gattatggaa aacagatggc aggtgatgat tgtgtggcag    840
   gtagacagga tgaggattag                                     860

```

<210> 2

ES 2 462 740 T3

<211> 1680						
<212> ADN						
<213> VIH						
<400> 2						
5	cccattagtc	ctattgaaac	tgtaccagta	aaattaaagc	caggaatgga	tggcccaaaa 60
	gttaaacaat	ggccattgac	agaagaaaaa	ataaaagcat	tagtagaaat	ttgtacagaa 120
	atggaaaagg	aagggaaaaat	ttcaaaaatt	gggcctgaaa	accatacaa	tactccagta 180
10	tttgccataa	agaaaaaaga	cagtactaaa	tggagaaaat	tagtagattt	cagagaactt 240
	aataagagaa	ctcaagactt	ctgggaagtt	caattaggaa	taccacatcc	cgcaggggta 300
15	aaaaagaaaa	aatcagtaac	agtactggat	gtgggtgatg	catatttttc	agttccctta 360
	catgaagact	tcaggaagta	tactgcattt	accataccta	gtataaaca	tgagacacca 420
	gggactagat	atcagtacaa	tgtgcttcca	cagggatgga	aagggtcacc	agcaatattc 480
20	caaagtagca	tgacaacaat	cttagagcct	tttagaaaac	aaaatccaga	cctagttatc 540
	tatcagtaca	tggatgattt	gtacgtagga	tctgacttag	aaatagggca	gcatagaaca 600
25	aaaatagagg	aactgagaca	acatctgttg	aggtggggat	ttaccacacc	agacaaaaaa 660
	catcagaaag	aacctccatt	cctttggatg	ggttatgaac	tccatcctga	taaatggaca 720
	gtacagccta	tagtgctgcc	agaaaaagat	agctggactg	tcaatgacat	acagaagtta 780
30	gtgggaaaat	tgaattgggc	aagtcagatt	tatgcagggg	ttaaagtaag	gcaattatgt 840
	aaactcctta	ggggaaccaa	agcactaaca	gaagtaatac	cactaacaga	agaagcagaa 900
35	ctagaactgg	cagaaaacag	ggaaattcta	aaagaaccag	tacatggagt	gtattatgac 960
	ccatcaaaag	acttgatagc	agaaatacag	aagcaggggc	aaggccaatg	gacatatcaa 1020
	atttatcaag	agccatttaa	aaatctgaaa	acaggaaaat	atgcaagaac	gaggggtgcc 1080
40	cactactaatg	atgtaaaaca	attaacagag	gcagtacaaa	aaatagccac	agaaagcata 1140
	gtaatatggg	gaaagactcc	taaattttaa	ctaccatac	aaaaagaaac	atgggaaaca 1200
45	tgggtggacag	aatattggca	agccacctgg	attcctgagt	gggagtttgt	caatacccct 1260
	cccttagtga	aattatggta	ccagttagag	aaagaaccca	taataggagc	agaaactttc 1320
	tatgtagatg	gggcagctaa	cagggagact	aaattaggaa	aagcaggata	tgttactaac 1380
50	aagggagac	aaaaggttgt	ctccctaact	gacacaaca	atcagaagac	tgagttacaa 1440
	gcaatttatc	tagctttgca	ggattcggga	ttagaagtaa	acatagtaac	agactcacia 1500
55	tatgcattag	gaatcattca	agcacaacca	gatagaagtg	aatcagagtt	agtcagtcaa 1560
	ataatagagc	agttaataaa	aaaggaaaag	gtctatctgg	catgggtacc	agcacacaaa 1620
	ggaattggag	gaaatgaaca	agtagataaa	ttagtcagtg	ctgggatcag	gaaagtacta 1680
60	<210> 3					
	<211> 297					
	<212> ADN					
	<213> VIH					
65	cctcagatca	ctctttggca	gcgacccttc	gtcacaataa	agataggggg	gcaactaaag 60
	gaagctctat	tagatacagg	agcagatgat	acagtattag	aagaaatgaa	tttgccagga 120
70	agatggaaac	caaaaatgat	agggggaatt	ggaggtttta	tcaaagtaag	acagtatgat 180
	cagataccca	tagaaatatg	tggacataaa	gctataggta	cagtattagt	aggacctaca 240
	cctgtcaaca	taattggaag	aaatctgttg	actcagattg	gttgcacttt	aaattttt 297

ES 2 462 740 T3

	<210> 4		
	<211> 1503		
	<212> ADN		
5	<213> VIH		
	<400> 4		
	atgggtgcga gagcgtcagt attaagtgcg ggggaattag ataagtggga aaaaattcgg	60	
10	ttaaggccag ggggaaagaa acaatataga ttaaaacata tagtatgggc aagcagggag	120	
	ctagaacgat tcgcagttga tcctggcctg ttagaaacat cagaaggctg tagacaaata	180	
	ctgggacagc tacaaccgtc ccttcagaca ggatcagaag agcttagatc attatataat	240	
15	acagtagcca ccctctattg tgtacatcaa aagatagagg taaaagacac caaggaagct	300	
	ttagagaaga tagaggaaga gcaaaacaaa agtaagaaaa aagcacagca agcagcagct	360	
20	gacacaggaa acagcagcca ggtcagccaa aattacccta tagtgagaa cctacagggg	420	
	caaatggtac atcaggccat atcacctaga actttaaatg catgggtaaa agtagtgga	480	
	gagaaggcgt tcagcccaga agtaataccc atgttttcag cattatcaga aggagccacc	540	
25	ccacaagatt taaacaccat gctaaacaca gtggggggac accaagcagc catgcaa	600	
	ttaaaagaga ccatcaatga ggaagctgca gaatgggata gattgcatcc agtgcatgca	660	
30	gggcttattg caccaggcca gatgagagaa ccaaggggaa gtgacatagc aggaactact	720	
	agtacccttc aggaacaaat aggatggatg acaaataatc cacctatccc agtaggagaa	780	
	atctataaaa gatggataat cctgggatta aataaaatag taagaatgta tagtcctacc	840	
35	agcattctgg acataagaca aggaccaaag gaacccttta gagattatgt agaccggttc	900	
	tataaaactc taagagccga gcaagcttca caggaggtaa aaaattggat gacagaaacc	960	
40	ttgttggtcc aaaatgcgaa cccagattgt aagactattt taaaagcatt gggaccagca	1020	
	gctacactag aagaaatgat gacagcatgt cagggagtgg ggggacccgg ccataaagca	1080	
	agagttttgg ctgaagcaat gagccaagta acaaattcag ctaccataat gatgcagaga	1140	
45	ggcaatttta ggaaccaaag aaaaactgtt aagtgtttca attgtggcaa agaagggcac	1200	
	atagccaaaa attgcagggc tcctaggaaa aagggtgtt ggaaatgtgg aaaggaagga	1260	
50	caccaaataa aagattgtac tgagagacag gctaattttt tagggaagat ctggccttcc	1320	
	cacaagggaa ggccaggaaa ttttcttcag agcagaccag agccaacagc cccatcagaa	1380	
	gagagcgtca ggttttgaga agagacaaca actccctctc agaagcagga gccgatagac	1440	
55	aaggaactgt atccttttagc ttccctcaga tcactctttg gcagcgaccc ctcgtcacia	1500	
	taa	1503	
60	<210> 5		
	<211> 165		
	<212> ADN		
	<213> VIH		
	<400> 5		
65	atgcagagag gcaatttttag gaaccaaaga aaaactgtta agtgtttcaa ttgtggcaaa	60	
	gaagggcaca tagccaaaaa ttgcagggct cctaggaaaa agggctgttg gaaatgtgga	120	
	aaggaaggac accaaatgaa agattgtact gagagacagg ctaat	165	
70	<210> 6		
	<211> 474		
	<212> ADN		
	<213> VIH		

ES 2 462 740 T3

	<400> 6	
	gttgtagcttt ctatagtga tagagttagg cagggatact caccattatc gtttcagacc	60
5	cacctcccag cttagagggg acccgacagg cccgacggaa tcgaagaaga aggtggagag	120
	agagacagag acagatccgg tccattagt gatggcttct tagcaattat ctgggtcgac	180
	ctacggagcc tgtgcctttt cagctaccac cgcttgagag acttactctt gattgtaacg	240
10	aggattgtgg aacttctggg acgcaggggg tggggagtcc tcaaattatt gtggaatctc	300
	ctccagtatt ggattcagga actaaagaat agtgctgtta gcttgctcaa cgccacagct	360
	atagcagtag ctgaggggaa agataggggt atagaaatat tacaagagc ttttagagct	420
15	gttcttcaca tacctgtaag aataagacag ggcttggaag gagctttgct ataa	474
	<210> 7	
	<211> 246	
20	<212> ADN	
	<213> VIH	
	<400> 7	
	ctgcaatctt tacaagtatt agcaatagta gcattagtag tagcaacaat aatagcaata	60
25	gttggtgtgga ccatagtatt catagaatat aggaaaatat taagacaaag gaaaatagac	120
	aggtaatta atagaataac agaaagagca gaagacagtg gcaatgagag cgacggagat	180
	caggaagaat taccagcact tgtggaaagg gggcaccttg ctccttgga tgttgatgat	240
30	ctgtag	246
	<210> 8	
	<211> 288	
35	<212> PRT	
	<213> VIH	
	<400> 8	
	Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr His	
40	1 5 10 15	
	Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro Val Val	
	20 25 30	
45	Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln Leu Lys Gly Glu	
	35 40 45	
	Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln Leu Asp	
	50 55 60	
50	Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val Ala Val His Val Ala	
	65 70 75 80	
	Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu	
	85 90 95	
55	Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val Thr Thr	
	100 105 110	
60	Ile His Thr Asp Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Thr Val Lys Ala	
	115 120 125	
	Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn	
	130 135 140	
65	Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Glu Ser Met Asn Lys Glu Leu Lys Lys	
	145 150 155 160	
70	Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val	
	165 170 175	
	Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly	
	180 185 190	

ES 2 462 740 T3

Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Thr Asp Ile
 195 200 205
 5 Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg
 210 215 220
 Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro Ala Lys
 225 230 235 240
 10 Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp
 245 250 255
 Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp Tyr Gly
 260 265 270
 15 Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Gly Arg Gln Asp Glu Asp
 275 280 285
 <210> 9
 20 <211> 560
 <212> PRT
 <213> VIH
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No2
 25 <400> 9
 Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met
 1 5 10 15
 30 Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys
 20 25 30
 Ala Leu Val Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser
 35 35 40 45
 Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys
 50 55 60
 40 Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu
 65 70 75 80
 Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His
 85 90 95
 45 Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly
 100 105 110
 Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu His Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr
 115 120 125
 50 Ala Phe Thr Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Thr Arg Tyr
 130 135 140
 55 Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe
 145 150 155 160
 Gln Ser Ser Met Thr Thr Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro
 165 170 175
 60 Asp Leu Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp
 180 185 190
 Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His
 195 200 205
 65 Leu Leu Arg Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu
 210 215 220
 Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr

ES 2 462 740 T3

	225		230		235		240									
	Val	Gln	Pro	Ile	Val	Leu	Pro	Glu	Lys	Asp	Ser	Trp	Thr	Val	Asn	Asp
				245						250					255	
5	Ile	Gln	Lys	Leu	Val	Gly	Lys	Leu	Asn	Trp	Ala	Ser	Gln	Ile	Tyr	Ala
				260					265					270		
10	Gly	Ile	Lys	Val	Arg	Gln	Leu	Cys	Lys	Leu	Leu	Arg	Gly	Thr	Lys	Ala
			275					280					285			
	Leu	Thr	Glu	Val	Ile	Pro	Leu	Thr	Glu	Glu	Ala	Glu	Leu	Glu	Leu	Ala
			290				295					300				
15	Glu	Asn	Arg	Glu	Ile	Leu	Lys	Glu	Pro	Val	His	Gly	Val	Tyr	Tyr	Asp
	305					310					315					320
	Pro	Ser	Lys	Asp	Leu	Ile	Ala	Glu	Ile	Gln	Lys	Gln	Gly	Gln	Gly	Gln
					325					330					335	
20	Trp	Thr	Tyr	Gln	Ile	Tyr	Gln	Glu	Pro	Phe	Lys	Asn	Leu	Lys	Thr	Gly
				340					345					350		
	Lys	Tyr	Ala	Arg	Thr	Arg	Gly	Ala	His	Thr	Asn	Asp	Val	Lys	Gln	Leu
25			355					360					365			
	Thr	Glu	Ala	Val	Gln	Lys	Ile	Ala	Thr	Glu	Ser	Ile	Val	Ile	Trp	Gly
		370					375					380				
30	Lys	Thr	Pro	Lys	Phe	Lys	Leu	Pro	Ile	Gln	Lys	Glu	Thr	Trp	Glu	Thr
	385					390					395					400
	Trp	Trp	Thr	Glu	Tyr	Trp	Gln	Ala	Thr	Trp	Ile	Pro	Glu	Trp	Glu	Phe
					405					410					415	
35	Val	Asn	Thr	Pro	Pro	Leu	Val	Lys	Leu	Trp	Tyr	Gln	Leu	Glu	Lys	Glu
				420					425					430		
	Pro	Ile	Ile	Gly	Ala	Glu	Thr	Phe	Tyr	Val	Asp	Gly	Ala	Ala	Asn	Arg
40				435				440					445			
	Glu	Thr	Lys	Leu	Gly	Lys	Ala	Gly	Tyr	Val	Thr	Asn	Lys	Gly	Arg	Gln
		450					455					460				
45	Lys	Val	Val	Ser	Leu	Thr	Asp	Thr	Thr	Asn	Gln	Lys	Thr	Glu	Leu	Gln
	465					470					475					480
	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ala	Leu	Gln	Asp	Ser	Gly	Leu	Glu	Val	Asn	Ile	Val
				485						490					495	
50	Thr	Asp	Ser	Gln	Tyr	Ala	Leu	Gly	Ile	Ile	Gln	Ala	Gln	Pro	Asp	Arg
				500					505					510		
	Ser	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Ser	Gln	Ile	Ile	Glu	Gln	Leu	Ile	Lys	Lys
55			515					520					525			
	Glu	Lys	Val	Tyr	Leu	Ala	Trp	Val	Pro	Ala	His	Lys	Gly	Ile	Gly	Gly
		530					535					540				
60	Asn	Glu	Gln	Val	Asp	Lys	Leu	Val	Ser	Ala	Gly	Ile	Arg	Lys	Val	Leu
	545					550					555					560
	<210>	10														
	<211>	99														
65	<212>	PRT														
	<213>	VIH														
	<220>															

ES 2 462 740 T3

<223> Traducción de SEQ ID No3

<400> 10

5 Pro Gln Ile Thr Leu Trp Gln Arg Pro Leu Val Thr Ile Lys Ile Gly
1 5 10 15
Gly Gln Leu Lys Glu Ala Leu Leu Asp Thr Gly Ala Asp Asp Thr Val
20 25 30
10 Leu Glu Glu Met Asn Leu Pro Gly Arg Trp Lys Pro Lys Met Ile Gly
35 40 45
Gly Ile Gly Gly Phe Ile Lys Val Arg Gln Tyr Asp Gln Ile Pro Ile
50 55 60
15 Glu Ile Cys Gly His Lys Ala Ile Gly Thr Val Leu Val Gly Pro Thr
65 70 75 80
20 Pro Val Asn Ile Ile Gly Arg Asn Leu Leu Thr Gln Ile Gly Cys Thr
85 90 95
Leu Asn Phe

<210> 11

25 <211> 500

<212> PRT

<213> VIH

<220>

<223> Traducción de SEQ ID No4

30 <400> 11

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

ES 2 462 740 T3

Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile
 245 250 255
 5 Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys
 260 265 270
 Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
 275 280 285
 10 Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 300
 15 Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320
 Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
 325 330 335
 20 Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
 340 345 350
 Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365
 25 Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
 370 375 380
 30 Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400
 Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415
 35 Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430
 Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445
 40 Leu Gln Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Ser Glu Glu Ser Val Arg
 450 455 460
 45 Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480
 Lys Glu Leu Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp
 485 490 495
 50 Pro Ser Ser Gln
 500
 <210> 12
 <211> 55
 55 <212> PRT
 <213> VIH
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No5
 <400> 12
 60 Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe
 1 5 10 15
 Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg
 20 25 30
 65 Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp
 35 40 45
 70 Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 50 55
 <210> 13
 <211> 157
 <212> PRT

ES 2 462 740 T3

<213> VIH
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No6
 <400> 13
 5 Val Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu
 1 5 10 15
 Ser Phe Gln Thr His Leu Pro Ala Gln Arg Gly Pro Asp Arg Pro Asp
 20 25 30
 10 Gly Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Arg Asp Arg Asp Arg Ser Gly Pro
 35 40 45
 15 Leu Val Asp Gly Phe Leu Ala Ile Ile Trp Val Asp Leu Arg Ser Leu
 50 55 60
 Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr
 65 70 75 80
 20 Arg Ile Val Glu Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp Gly Val Leu Lys Tyr
 85 90 95
 Trp Trp Asn Leu Leu Gln Tyr Trp Ile Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala
 100 105 110
 25 Val Ser Leu Leu Asn Ala Thr Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp
 115 120 125
 30 Arg Val Ile Glu Ile Leu Gln Arg Ala Phe Arg Ala Val Leu His Ile
 130 135 140
 Pro Val Arg Ile Arg Gln Gly Leu Glu Arg Ala Leu Leu
 145 150 155
 35 <210> 14
 <211> 81
 <212> PRT
 <213> VIH
 <220>
 40 <223> Traducción de SEQ ID No7
 <400> 14
 Leu Gln Ser Leu Gln Val Leu Ala Ile Val Ala Leu Val Val Ala Thr
 1 5 10 15
 45 Ile Ile Ala Ile Val Val Trp Thr Ile Val Phe Ile Glu Tyr Arg Lys
 20 25 30
 Ile Leu Arg Gln Arg Lys Ile Asp Arg Leu Ile Asn Arg Ile Thr Glu
 35 40 45
 50 Arg Ala Glu Asp Ser Gly Asn Glu Ser Asp Gly Asp Gln Glu Glu Leu
 50 55 60
 55 Ser Ala Leu Val Glu Arg Gly His Leu Ala Pro Trp Asp Val Asp Asp
 65 70 75 80
 Leu
 <210> 15
 60 <211> 574
 <212> ADN
 <213> Homosapiens
 <400> 15
 ttgtggcaaa ggagaaatgg ccacagggaa tgggcggcgg ctccacctgg ggattcctga 60
 65 ggccgtgttt gtggaagatg tagattcctt catgaaacag cctgggaatg agactgcaga 120
 tacagtatta aagaagctgg atgaacagta ccagaagtat aagtttatgg aactcaacct 180
 70 tgctcaaaag aaaagaaggc taaaaggta gattcctgaa attaaacaga ctttggaat 240
 tctaaaatac atgcagaaga aaaaagagtc caccaactca atggagacca gattcttgct 300

ES 2 462 740 T3

	ggcagataac ctgtattgca aagcttcagt tcctcctacc gataaagtgt gtctgtggtt	360
	gggggctaata gtaatgcttg aatatgatata tgatgaagct caggcattgt tggaaaagaa	420
5	tttatcgact gccacaaaga atcttgattc cctggaggaa gaccttgact ttcttcgaga	480
	tcaatttact accacagaag tcaatatggc caggggttat aattgggatg taaaaagaag	540
10	aaacaaggat gactctacca agaacaaagc ataa	574
	<210> 16	
	<211> 594	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
15	<400> 16	
	atggcggccg ttaaggacag ttgtggcaaa ggagaaatgg ccacagggaa tgggcggcgg	60
	ctccacctgg ggattcctga ggccgtgttt gtggaagatg tagattcctt catgaaacag	120
20	cctgggaatg agactgcaga tacagtatta aagaagctgg atgaacagta ccagaagtat	180
	aagtttatgg aactcaacct tgctcaaaag aaaagaaggc taaaagggtca gattcctgaa	240
25	attaaacaga ctttggaat tctaaaatac atgcagaaga aaaaagagtc caccaactca	300
	atggagacca gattcttgct ggcagataac ctgtattgca aagcttcagt tcctcctacc	360
	gataaagtgt gtctgtggtt gggggctaata gtaatgcttg aatatgatata tgatgaagct	420
30	caggcattgt tggaaaagaa ttatatcgact gccacaaaga atcttgattc cctggaggaa	480
	gaccttgact ttcttcgaga tcaatttact accacagaag tcaatatggc caggggttat	540
35	aattgggatg taaaaagaag aaacaaggat gactctacca agaacaaagc ataa	594
	<210> 17	
	<211> 817	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
40	<400> 17	
	ttttgctgca cagaccatga aatgaagat tcagacctca ttttatgagc tccccacaga	60
	ctctcatgcc tctttacggg actcattgct aaccatatac cagaacttga aagacttgct	120
45	acctgttatt gtaacgcagc tggctttagc aatagcagat cttgccctac agatgccttc	180
	ctggaagggg tgtgtgcaaa cactggtgga aaaatacagc aatgatgtga cttctttgcc	240
50	ttttttgctg gagatcctta cagtgttacc tgaagaagta catagtcgtt ctttacgaat	300
	tggagctaata cggcgcacag aaattataga agatttggcc ttctactcta gtacagtagt	360
	atctctattg atgacctgtg tagaaaaagc aggaacagat gagaaaatgc ttatgaaggt	420
55	ttttcgtgtt ttgggaagtt ggtttaactt gggagttttg gacagtaact tcatggctaa	480
	caataaatta ctagcactcc tttttgaggt tttgcaacag gataagacct cgtctaacct	540
60	acatgaagct gcttcggact gtgtatgctc agctctctat gccattgaga atgtggagac	600
	taacttgcca ttagccatgc aactttttca gggagtgtg acattggaga ctgcctatca	660
	tatggccgtg gcacgtgaag atttagacaa agttctgaat tactgccgta ttttactga	720
65	actatgtgaa acttttcttg aaaaaattgt ttgtactcca ggccaagggtc ttggggacct	780
	tcgaactctg gagctgctgc ttatctgtgc aggccat	817
70	<210> 18	
	<211> 708	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	

ES 2 462 740 T3

	<400> 18	
	gtccaagtac agttccttgg agcagagtga ggcgcgccgg aggttactgg aactgcagaa	60
5	atccaagcgg ctggattatg tgaaccatgc cagaagactg gctgaagatg actggacagg	120
	gatggagagt gaggaagaaa ataagaaaga tgatgaagaa atggacattg aactgtcaa	180
	gaagttacca aaacactatg ctaatcaatt gatgctttct gagtggttaa ttgacgttcc	240
10	ttcagatttg gggcaggaat ggattgtggt cgtgtgccct gttggaaaa gagcccttat	300
	cgtggcctcc aggggttcta ccagtgccta caccaagagt ggctactgtg tcaacagggt	360
15	ttcttcactt ctgccaggag gcaacaggcg aaactcaaca gcaaaagact acaccattct	420
	agattgcatt tacaatgagg taaaccagac ctactacgtt ctggatgtga tgtgctggcg	480
	gggacaccct ttttatgatt gccagactga tttccgattc tactggatgc attcaaagtt	540
20	accagaagaa gaaggactgg gagagaaaac caagcttaat ccttttaaatt ttgtggggct	600
	aaagaacttc ccttgcactc ccgaaagcct gtgtgatgtg ctatctatgg atttcccttt	660
25	tgaggtagat ggacttctct tctaccacaa acagacccat tacagccc	708
	<210> 19	
	<211> 841	
	<212> ADN	
30	<213> Homosapiens	
	<400> 19	
	gggaagcaac atgattaaaa caattgcttt tggccgctat gagcttgata cctggtatca	60
35	ttctccatat cctgaagaat atgcacggct gggacgtctc tatatgtgtg aattctgttt	120
	aaaatatatg aagagccaaa cgatactccg ccggcacatg gccaaatgtg tgtggaaaca	180
	cccacctggt gatgagatat atcgcaaagg ttcaatctct gtgtttgaag tggatggcaa	240
40	gaaaaacaag atctactgcc aaaacctgtg cctgttggcc aaactttttc tggaccacaa	300
	gacattatat tatgatgtgg agcccttctt gttctatgtt atgacagagg cggacaacac	360
45	tggctgtcac ctgattggat atttttctaa ggaaaagaat tcattcctca actacaacgt	420
	ctcctgtatc cttactatgc ctcatgacat gagacagggc tatggcaaga tgcttattga	480
	tttcagttat ttgctttcca aagtcgaaga aaaagtggc tccccagaac gtccactctc	540
50	agatctgggg cttataagct atcgcagtta ctggaaagaa gtacttctcc gctacctgca	600
	taattttcaa ggcaaagaga tttctatcaa agaaatcagt caggagacgg ctgtgaatcc	660
55	tgtggacatt gtcagcactc tgcaagccct tcagatgctc aaatactgga agggaaaaca	720
	cctagtttta aagagacagg acctgattga tgagtggata gccaaagagg ccaaaaggctc	780
	caactccaat aaaacatgg atcccagctg cttaaaatgg acccctccca agggcactta	840
60	a	841
	<210> 20	
	<211> 806	
	<212> ADN	
65	<213> Homosapiens	
	<400> 20	
	gattaaaaca attgcttttg gccgctatga gcttgatacc tggatcatt ctccatatcc	60
70	tgaagaatat gcacggctgg gacgtctcta tatgtgtgaa ttctgtttta aatatatgaa	120
	gagccaaacg atactccgcc ggcacatggc caaatgtgtg tggaaacacc cacctggatga	180
	tgagatatat cgcaaagggt caatctctgt gtttgaagtg gatggcaaga aaaacaagat	240

ES 2 462 740 T3

	ctactgccaa aacctgtgcc tgttggccaa actttttctg gaccacaaga cattatatta	300
	tgatgtggag cccttcctgt tctatgttat gacagaggcg gacaacactg gctgtcacct	360
5	gattggatat ttttctaagg aaaagaattc attcctcaac tacaacgtct cctgtatcct	420
	tactatgcct cagtacatga gacagggcta tggcaagatg cttattgatt tcagttattt	480
10	gctttccaaa gtcgaagaaa aagttggctc cccagaacgt ccactctcag atctggggct	540
	tataagctat cgagttact ggaaagaagt acttctccgc tacctgcata attttcaagg	600
	caaagagatt tctatcaaag aaatcagtca ggagacggct gtgaatcctg tggacattgt	660
15	cagcactctg caagcccttc agatgctcaa atactggaag ggaaaacacc tagttttaaa	720
	gagacaggac ctgattgatg agtggatagc caaagaggcc aaaaggtcca actccaataa	780
20	aaccatggat cccagctgct taaaat	806
	<210> 21	
	<211> 412	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
25	<400> 21	
	agcatacgtg gagatgaggc gagaggcttg ggctagtaag gatgccacct atacttctgc	60
	ccggaccctg ctggctatcc tgcgcctttc cactgctctg gcacgtctga gaatggtgga	120
30	tgtggtggag aaagaagatg tgaatgaagc catcaggcta atggagatgt caaaggactc	180
	tcttctagga gacaaggggc agacagctag gactcagaga ccagcagatg tgatatttgc	240
35	caccgtccgt gaactggtct cagggggccg aagtgtccgg ttctctgagg cagagcagcg	300
	ctgtgtatct cgtggcttca caccgcacca gttccaggcg gctctggatg aatatgagga	360
	gctcaatgtc tggcagggtca atgcttcccg gacacggatc acttttgtct ga	412
40	<210> 22	
	<211> 1045	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
45	<400> 22	
	ggaagggtacc ggctctactg ccacctcttc cagctccacc gccggcgag cagggaaggg	60
	caaaggcaaa ggcggctcgg gagattcagc cgtgaagcaa gtgcagatag atggccttgt	120
50	ggtattaaag ataatcaaac attatcaaga agaaggacaa ggaactgaag ttgttcaagg	180
	agtgtctttg ggtctggttg tagaagatcg gcttgaaatt accaactgct ttcctttccc	240
	tcagcacaca gaggatgatg ctgactttga tgaagtccaa tatcagatgg aaatgatgag	300
55	gagccttcgc catgtaaaca ttgatcatct tcacgtgggc tggatcagc ccacatacta	360
	tggctcattc gttaccggg cactcctgga ctctcagttt agttaccagc atgccattga	420
60	agaatctgtc gttctcattt atgatcccat aaaaactgcc caaggatctc tctcactaaa	480
	ggcatacaga ctgactccta aactgatgga agtttgtaaa gaaaaggatt tttcccctga	540
	agcattgaaa aaagcaaata tcacctttga gtacatgttt gaagaagtgc cgattgtaat	600
65	taaaaattca catctgatca atgtccta atgtgggaactt gaaaagaagt cagctgttgc	660
	agataaacat gaattgctca gccttgccag cagcaatcat ttggggaaga atctacagtt	720
70	gctgatggac agagtggatg aaatgagcca agatatagtt aaatacaaca catacatgag	780
	gaataactagt aaacaacagc agcagaaaca tcagtatcag cagcgtcgcc agcaggagaa	840
	tatgcagcgc cagagccgag gagaaccccc gctccctgag gaggacctgt ccaaactctt	900

ES 2 462 740 T3

	caaaccacca cagccgcctg ccaggatgga ctcgctgctc attgcaggcc agataaacac	960
	ttactgccag aacatcaagg agttcactgc ccaaaactta ggcaagctct tcatggccca	1020
5	ggctcttcaa gaatacaaca actaa	1045
	<210> 23	
	<211> 908	
10	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
	<400> 23	
15	caaggaagggt accggctcta ctgccacctc ttccagctcc accgccggcg cagcagggaa	60
	aggcaaaggc aaaggcggct cgggagattc agccgtgaag caagtgcaga tagatggcct	120
	tgtggtatta aagataatca aacattatca agaagaagga caaggaactg aagttgttca	180
20	aggagtgctt ttgggtctgg ttgtagaaga tcggcttgaa attaccaact gctttccttt	240
	ccctcagcac acagaggatg atgctgactt tgatgaagtc caatatcaga tggaaatgat	300
	gcggagcctt cgccatgtaa acattgatca tcttcacgtg ggctggtatc agtccacata	360
25	ctatggctca ttcgttacct gggcactcct ggactctcag tttagttacc agcatgccat	420
	tgaagaatct gtcgttctca tttatgatcc cataaaaaact gccaaggat ctctctcact	480
30	aaaggcatat agactgactc ctaaaactgat ggaagtttgt aaagaaaagg atttttcccc	540
	tgaagcattg aaaaaagcaa atatcacctt tgagtacatg tttgaagaag tgccgattgt	600
	aattaaaaat tcacatctga tcaatgtcct aatgtgggaa cttgaaaaga agtcagctgt	660
35	tgcagataaa catgaattgc tcagccttgc cagcagcaat ctttgggga agaacttaca	720
	gttgctgatg gacagagtgg atgaaatgag ccaagatata gttaaataca acacatacat	780
40	gaggaatact agtaaacaac agcagcagaa acatcagtat cagcagcgtc gccagcagga	840
	gaatatgcag cgccagagcc gaggagaacc cccgctccct gaggaggacc tgtccaaact	900
	cttcaaac	908
45	<210> 24	
	<211> 454	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
50	<400> 24	
	atggcggcggt agctggtgga ggccaaaaac atggtgatga gttttcgagt ctccgacctt	60
	cagatgctcc tgggtttcgt gggccggagt aagagtggac tgaagcacga gctcgtcacc	120
55	agggccctcc agctggtgca gtttgactgt agccctgagc tgttcaagaa gatcaaggag	180
	ctgtacgaga cccgctacgc caagaagaac tcggagcctg cccacagacc gcaccggccc	240
	ctggaccccc tgaccatgca ctccacctac gaccgggccc gcgctgtgcc caggactccg	300
60	ctggcaggcc ccaatattga ctacccctgt ctctacggaa agtacttaaa cggactggga	360
	cgggtgcccc ccaagacct caagccagaa gtccgcctgg tgaagctgcc gttctttaat	420
65	atgctggatg agctgctgaa gcccaccgaa ttag	454
	<210> 25	
	<211> 813	
	<212> ADN	
70	<213> Homosapiens	
	<400> 25	
	tgtgtgtcag gccagtcagc tccaagggca gaaggaagag agctgtgtcc cagttcacca	60

ES 2 462 740 T3

	gaaaactgtc ctgggcccag acactgcgga gcctgccaca gcagaggcag ctgttgcccc	120
	gccggatgct ggcctcccc tgcaggcctt accagcagag ggctcaccac caccaaagac	180
5	ctacgtgagc tgcctgaaga gccttctgtc cagccccacc aaggacagta agccaaatat	240
	ctctgcacac cacatctccc tggcctcctg cctggcactg accaccccc gtgaagagtt	300
10	gccggaccgg gcaggcatcc tgggtggaaga tgccacctgt gtcacctgca tgtcagacag	360
	cagccaaagt gtcccttttg tggcttctcc aggacactgc tcagattctt tcagcacttc	420
	agggcctgaa gactcttgca cagagaccag ctcgagcccc agggacaagg ccatcacccc	480
15	gccactgcca gaaagtactg tgcccttcag caatgggggtg ctgaaggggg agttgtcaga	540
	cttgggggct gaggatggat ggaccatgga tgcggaagca gatcattcag gaggttctga	600
20	caggaacagc atggattccg tggatagctg ttgcagtctc aagaagactg agagcttcca	660
	aaatgccag gcaggctcca accctaagaa ggtcgacctc atcatctggg agatcgaggt	720
	gccaaagcac ttagtcgggc ggctaattgg caagcagggg cgctatgtga gttttctgaa	780
25	gcaaacatct ggtgccaaga tctacatttc aac	813
	<210> 26	
	<211> 124	
30	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
	<400> 26	
	gtttggcttt gtgaccatga caaactatga agaagccgcg atggccatag ccagcctgaa	60
35	cggctaccgc ctgggggaca aaatcttaca ggtttccttc aaaaccaaca agtcccacaa	120
	ataa	124
	<210> 27	
40	<211> 181	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
	<400> 27	
45	atgagcagct cagaggagggt gtcctggatt tcctggttct gtgggctccg tggcaatgaa	60
	ttcttctgtg aagtggatga agactacatc caggacaaat ttaatcttac tggactcaat	120
	gagcagggtcc ctactatcg acaagctcta gacatgatct tggacctgga gcctgatgaa	180
50	g	181
	<210> 28	
	<211> 2890	
	<212> ADN	
55	<213> Homosapiens	
	<400> 28	
	agaaatgtca ccggctttac atttgatgca gaaccttgac acaaaatcca aactgagacc	60
60	caaacgtgca tctgctgaac agagcgtcct cttcaagtcc ctgcacacca aactaatgg	120
	gaacagtgag cctctggtga tgccggaaat caatgacaaa gagaacaggg acgtcacaaa	180
	tgggtggcatt aagagatcga gactagaaaa aagtgcactt ttctcaagct tgttatcttc	240
65	tttaccacaa gacaaaatct tttctccttc tgtgacatca gtcaaacacta tgaccacggc	300
	tttcagtact tctcagaacg gttccctatc tcagtcttca gtgtcacagc ccacgactga	360
70	gggtgccccg ccctgtggtt tgaacaaaga acagtcaaat cttctgcccc acaactcctt	420
	aaaggtcttc aatttcaact cgtcaagtac atcacactcc agtttgaaaa gtccaagcca	480
	catggaaaaa taccgcgaaa aagagaaaac caaagaagat ctggattcac gaagcaacct	540

ES 2 462 740 T3

	acacttgcca gaaactaaat tttctgaatt gtcaaaactg aagaatgatg atatggaaaa	600
5	ggctaatacat attgaaagtg ttattaaatc aaacttgcca aactgtgcaa acagtgcacac	660
	cgacttcacg ggtcttttca aatcaagccg gtatgaccca agcatttctt tttctggaat	720
	gtcattatca gacacaatga cacttagagg aagtgtccaa aataaactca atccccgacc	780
10	tggaagggta gtgatataata gtgaacccga cgtctctgag aagtgcattg aagttttcag	840
	tgacattcag gattgcagtt cttggagcct ctctccagtg atactcataa aagttgttag	900
15	aggatgttgg attttgtatg agcaaccaa ttttgaaggg cactccatcc ccttagaaga	960
	aggagaattg gaactctctg gtctctgggg tatagaagac attttggaaa ggcacgaaga	1020
	agcagagtct gataagccag tgggtattgg ttccatcaga catgtggttc aggattacag	1080
20	agttagtcac attgacttat ttactgaacc agaagggtta ggaatcctaa gttcctactt	1140
	tgatgatact gaagaaatgc agggatttgg tgtaatgcag aagacttggt ccatgaaagt	1200
25	acattggggc acgtggctga tttatgaaga acctggattt cagggtgttc ctttcatcct	1260
	ggaacctggt gaataccctg acttgtcctt ctgggataca gaagaagcgt acattggatc	1320
	catgcggcct ctgaaaatgg gtggccgtaa agttgaattc cctacagatc caaaggtagt	1380
30	tgtttatgaa aagcctttct ttgaaggaaa atgtgtggaa ctagaacag gaatgtgtag	1440
	ttttgtcatg gagggaggtg aaacagaaga ggcgactgga gacgatcatt tgccgtttac	1500
35	gtcagtgggg tctatgaaag ttctaagagg catttgggtt gcatatgaga aacctggatt	1560
	taccggtcat cagtatttgc tagaagaagg agaatacagg gactggaaag cctggggagg	1620
	ttacaatgga gagcttcagt ctttacgacc tatattaggt gatttttcaa atgctcacat	1680
40	gataatgtac agtgaaaaaa actttggatc caaaggttcc agtattgatg tattgggaat	1740
	tgttgctaata ttaaaggaga ctggatatgg agtgaagaca cagtctatta atgtactgag	1800
45	tggagtatgg gtagcctatg aaaatcctga cttcacagga gaacagtata tactggataa	1860
	aggattttat accagttttg aggactgggg aggcaaaaat tgtaagatct cttctgttca	1920
	acctatatgt ttggattcct tctactggccc aaggagacga aatcagattc acttgttttc	1980
50	agaaccacag tttcaagggtc acagtcaaag ttttgaagaa acaacaagtc aaattgatga	2040
	ttcattttct accaagtctt gcagagtctt aggaggcagc tgggttgat atgatggaga	2100
55	aaatttcact ggtaatacat acgtgttgga agaaggccat tatcctgtgc tgtctgcaat	2160
	gggatgccc cctggagcaa ctttcaagtc tcttcgtttt atagatgttg aattttctga	2220
	accaacaatt attctctttg aaagagaaga cttcaaagga aaaaagattg aacttaatgc	2280
60	agaaactgtc aatctccgat ccctgggatt caacacacaa atacgctctg ttcaggttat	2340
	tggtggcata tgggttactt atgaatatgg cagttacaga gggcgacagt tcctattgtc	2400
65	acctgcagaa gtacctaatt ggtatgaatt cagtggctgt cgccaaatag gttctctacg	2460
	accttttggt cagaagcgaa tttatttcag acttcgaaac aaagcaacag ggttattcat	2520
	gtcaaccaat ggaaacttag aggatctgaa gcttctgagg atacaggtca tggaggatgt	2580
70	cggggccgat gatcagattt ggatctatca agaaggatgt atcaaatgca ggatagcaga	2640
	agactgctgc ctgacgattg tgggcagcct ggtaacatct ggctccaagc taggcctggc	2700
75	cctggaccag aatgtgaca gccagttctg gagcttgaag tccgatggca ggatttacag	2760
	caagttgaag ccaaatttag ttttagacat taaagggggc acacagtatg atcaaaatca	2820

ES 2 462 740 T3

	cattatcctc aacactgtca gcaaagagaa gtttacacaa gtgtgggaag ccatgggtcct	2880
5	atatacctga	2890
	<210> 29 <211> 683 <212> ADN	
10	<213> Homosapiens <400> 29 caaaactgaga cccaaacgtg catctgctga acagagcgtc ctcttcaagt ccctgcacac	60
15	caacactaat gggaacagtg agcctctggt gatgccggaa atcaatgaca aagagaacag	120
	ggacgtcaca aatggtggca ttaagagatc gagactagaa aaaagtgac ttttctcaag	180
	cttggtatct tctttaccac aagacaaaat cttttctcct tctgtgacat cagtcaacac	240
20	tatgaccacg gctttcagta cttctcagaa cggttcccta tctcagtcct cagtgtcaca	300
	gcccacgact gaggggtgcc cgccctgtgg tttgaacaaa gaacagtcaa atcttctgcc	360
25	cgacaactcc ttaaagggtct tcaatttcaa ctcgtcaagt acatcacact ccagtttgaa	420
	aagtccaagc cacatggaaa aatacccgca aaaagagaaa accaaagaag atctggattc	480
	acgaagcaac ctacacttgc cagaaactaa attttctgaa ttgtcaaaac tgaagaatga	540
30	tgatatggaa aaggctaatc atattgaaag tgttattaaa tcaaacttgc caaactgtgc	600
	aaacagtgac accgacttca tgggtctttt caaatcaagc cggtatgacc caagcatttc	660
35	tttttctgga atgtcattat cag	683
	<210> 30 <211> 394 <212> ADN	
40	<213> Homosapiens <400> 30 cttgccctg cttttctttg gtttctctga accccttgcc gcaccacgtc accagtacta	60
45	taaccaagag tggacattgt gggatcgctt tgaggtacaa gggctgcagc ctaatggtga	120
	ggagatgacc ctcaaacagt tcctcgacta ttttaagaca gagcacaat tagagatcac	180
	catgtgtcc cagggcgtgt ccatgtctta ttccttcttc atgccagctg ccaagctcaa	240
50	ggaacggttg gatcagccga tgacagagat tgtgagccgt gtgtcgaagc gaaagctggg	300
	ccgccacgtg cgggcgtgg tgcttgagct gtgctgtaac gacgagagcg gcgaggatgt	360
55	cgaggttccc tatgtccgat acaccatccg ctga	394
	<210> 31 <211> 469 <212> ADN	
60	<213> Homosapiens <400> 31 gctgacagag ggtgggaagg gttcctcgcc ctccatcaga ccaatccaag gcagccaggg	60
65	gtccagcagc ccagtggaga aggaggtcgt ggaagccacg gacagcagag agaagacggg	120
	gatggtgagg cctggcgagc ccttgagtgg ggagaaatac tcaccaagg agctgctggc	180
	actgctgaag tgtgtggagg ctgagattgc aaactatgag gcgtgcctca aggaggagg	240
70	agagaagagg aagaagtcca agattgatga ccagagaagg acccacaact acgatgagtt	300
	catctgcacc tttatctcca tgctggctca ggaaggcatg ctggccaacc tagtggagca	360

ES 2 462 740 T3

	gaacatctcc gtgcggcggc gccaaaggggt cagcatcggc cggctccaca agcagcggaa	420
	gcctgaccgg cggaacgct ctcgccccta caaggccaag cgccagtga	469
5	<210> 32 <211> 208 <212> ADN <213> Homosapiens <400> 32	
10	gattgatgac cagagaagga cccacaacta cgatgagttc atctgcacct ttatctccat	60
	gctggctcag gaaggcatgc tggccaacct agtggagcag aacatctccg tgcggcggcg	120
	ccaaggggtc agcatcggcc ggctccacaa gcagcggaa cctgaccggc ggaaacgctc	180
15	tcgcccctac aaggccaagc gccagtga	208
	<210> 33 <211> 388 <212> ADN <213> Homosapiens <400> 33	
20	gctaggggta gaggcgagat taaaggctgc cctctcagaa aacgagcaac tgaagaaaga	60
25	aaatggaaca ctgaagcggc agctggatga agttgtgtca gagaaccaga ggcttaaagt	120
	ccctagtcca aagcgaagag ttgtctgtgt gatgatagta ttggcattta taatactgaa	180
30	ctatggacct atgagcatgt tggaacagga ttccaggaga atgaacccta gtgtgggacc	240
	tgcaaatcaa aggaggcacc ttctaggatt ttctgctaaa gaggcacagg acacatcaga	300
	tggtattatc cagaaaaaca gctacagata tgatcattct gtttcaaatg acaaagccct	360
35	gatggtgcta actgaagaac cattgctt	388
	<210> 34 <211> 583 <212> ADN <213> Homosapiens <400> 34	
40	aatgcctgta atgatggggc aagagaaagt gcccattaag caggtacctg ggggagtcaa	60
45	gcagcttgag ccccccaaag aaggagaaag gcggaacaacc cataatatca ttgagaaacg	120
	atatcgctcc tccatcaatg acaaaatcat cgaattgaaa gacctggtca tggggacaga	180
	cgccaagatg cacaagtctg gcgttctgag gaaggccatt gattacatca aatacttgca	240
50	gcagggtcaat cataaactgc gccaggagaa catggtgctg aagctggcaa atcaaaaaga	300
	caagcttcta aagggcacgc acctaggcag tctggtggac aatgaggtgg acctgaagat	360
55	cgaggacttt aatcagaatg tccttctgat gtcccccca gcctctgact caggggtccca	420
	ggctggcttc tctccctact ccattgactc tgagccagga agccctctat tggatgatgc	480
	aaaggtcaaa gatgagccag acttcctcc tgtggcgctg ggcattgtag accgctcacg	540
60	gattcttctg tgtgtcctca ccttcctgtg cctctccttt aac	583
	<210> 35 <211> 775 <212> ADN <213> Homosapiens <400> 35	
65	cctgaggctg gtggtgccgg ccaccagtg cggctccctg attgggaaag gcggtgtaa	60
70	gatcaaagag atccgcgaga gtacgggggc gcaggtccag gtggcggggg atatgctgcc	120

ES 2 462 740 T3

	caactccacc gagcgggcca tcaccatcgc tggcgtgccg cagtctgtca ccgagtgtgt	180
	caagcagatt tgcctggtca tgctggagac gctctcccag tctccgcaag ggagagtcatt	240
5	gaccattccg taccagccca tgccggccag ctccccagtc atctgcgcgg gcggccaaga	300
	tcggtgcagc gacgctgtgg gctaccccca tgccacccat gacctggagg gaccacctct	360
10	agatgcctac tcgattcaag gacaacacac cttttctccg ctcgatctgg ccaagctgaa	420
	ccaggtggca agacaacagt ctactttgc catgatgcac ggcgggaccg gattcgccgg	480
	aattgactcc agctctccag aggtgaaagg ctattgggca agtttggatg catctactca	540
15	aaccacccat gaactcacca ttccaaataa ctttaattggc tgcataatcg ggcgccaagg	600
	cgccaacatt aatgagatcc gccagatgtc cggggcccag atcaaaattg ccaaccagtc	660
20	ggaaggctcc tctggtaggc aggttactat cactggctct gctgccagta ttagtctggc	720
	ccagtatcta atcaatgccca ggctttcctc tgagaagggc atgggggtgca gctag	775
	<210> 36	
	<211> 144	
25	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
	<400> 36	
	gggggatatg ctgcccaact ccaccgagcg ggccatcacc atcgctggcg tgccgcagtc	60
30	tgtcaccgag tgtgtcaagc agatttgctt ggtcatgctg gagacgctct cccagtctcc	120
	gcaagggaga gtcattgacca ttcc	144
	<210> 37	
	<211> 306	
	<212> ADN	
	<213> Homosapiens	
	<400> 37	
40	cgccttggtc cgacactgcc agctggaacc agaccatgag ggggttcctg aggagactga	60
	tgactttggg gagtttcgca tgagggtatc agacctggta aaggacttga ttttcttgat	120
	agggtctatg gagtgttttg ctcaattata ttctactctg aaagaaggca acccaccctg	180
45	ggaggtgaca gaagcggttc tctttatcat ggctgctata gcaaagagtg ttgatccgga	240
	aaacaatcca acacttgtag aagtcctaga aggagttgtc cgcctcccgg agaccgtaca	300
50	tacggc	306
	<210> 38	
	<211> 190	
55	<212> PRT	
	<213> Homosapiens	
	<220>	
	<223> Traducción de SEQ ID No15	
	<400> 38	
60	Cys Gly Lys Gly Glu Met Ala Thr Gly Asn Gly Arg Arg Leu His Leu	
	1 5 10 15	
65	Gly Ile Pro Glu Ala Val Phe Val Glu Asp Val Asp Ser Phe Met Lys	
	20 25 30	
	Gln Pro Gly Asn Glu Thr Ala Asp Thr Val Leu Lys Lys Leu Asp Glu	
	35 40 45	
70	Gln Tyr Gln Lys Tyr Lys Phe Met Glu Leu Asn Leu Ala Gln Lys Lys	
	50 55 60	

ES 2 462 740 T3

Arg Arg Leu Lys Gly Gln Ile Pro Glu Ile Lys Gln Thr Leu Glu Ile
 65 70 75 80
 5 Leu Lys Tyr Met Gln Lys Lys Lys Glu Ser Thr Asn Ser Met Glu Thr
 85 90 95
 Arg Phe Leu Leu Ala Asp Asn Leu Tyr Cys Lys Ala Ser Val Pro Pro
 100 105 110
 10 Thr Asp Lys Val Cys Leu Trp Leu Gly Ala Asn Val Met Leu Glu Tyr
 115 120 125
 Asp Ile Asp Glu Ala Gln Ala Leu Leu Glu Lys Asn Leu Ser Thr Ala
 130 135 140
 15 Thr Lys Asn Leu Asp Ser Leu Glu Glu Asp Leu Asp Phe Leu Arg Asp
 145 150 155 160
 20 Gln Phe Thr Thr Thr Glu Val Asn Met Ala Arg Val Tyr Asn Trp Asp
 165 170 175
 Val Lys Arg Arg Asn Lys Asp Asp Ser Thr Lys Asn Lys Ala
 180 185 190
 25 <210> 39
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 30 <223> Traducción de SEQ ID No16
 <400> 39
 Met Ala Ala Val Lys Asp Ser Cys Gly Lys Gly Glu Met Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 35 Asn Gly Arg Arg Leu His Leu Gly Ile Pro Glu Ala Val Phe Val Glu
 20 25 30
 40 Asp Val Asp Ser Phe Met Lys Gln Pro Gly Asn Glu Thr Ala Asp Thr
 35 40 45
 Val Leu Lys Lys Leu Asp Glu Gln Tyr Gln Lys Tyr Lys Phe Met Glu
 50 55 60
 45 Leu Asn Leu Ala Gln Lys Lys Arg Arg Leu Lys Gly Gln Ile Pro Glu
 65 70 75 80
 Ile Lys Gln Thr Leu Glu Ile Leu Lys Tyr Met Gln Lys Lys Lys Glu
 85 90 95
 50 Ser Thr Asn Ser Met Glu Thr Arg Phe Leu Leu Ala Asp Asn Leu Tyr
 100 105 110
 55 Cys Lys Ala Ser Val Pro Pro Thr Asp Lys Val Cys Leu Trp Leu Gly
 115 120 125
 Ala Asn Val Met Leu Glu Tyr Asp Ile Asp Glu Ala Gln Ala Leu Leu
 130 135 140
 60 Glu Lys Asn Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asn Leu Asp Ser Leu Glu Glu
 145 150 155 160
 Asp Leu Asp Phe Leu Arg Asp Gln Phe Thr Thr Thr Glu Val Asn Met
 165 170 175
 65 Ala Arg Val Tyr Asn Trp Asp Val Lys Arg Arg Asn Lys Asp Asp Ser
 180 185 190
 70 Thr Lys Asn Lys Ala
 195

<210> 40

ES 2 462 740 T3

<211> 272
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 5 <223> Traducción de SEQ ID No17
 <400> 40

Phe Ala Ala Gln Thr Met Lys Met Lys Ile Gln Thr Ser Phe Tyr Glu
 1 5 10 15
 Leu Pro Thr Asp Ser His Ala Ser Leu Arg Asp Ser Leu Leu Thr His
 20 25 30
 Ile Gln Asn Leu Lys Asp Leu Ser Pro Val Ile Val Thr Gln Leu Ala
 35 40 45
 Leu Ala Ile Ala Asp Leu Ala Leu Gln Met Pro Ser Trp Lys Gly Cys
 50 55 60
 Val Gln Thr Leu Val Glu Lys Tyr Ser Asn Asp Val Thr Ser Leu Pro
 65 70 75 80
 Phe Leu Leu Glu Ile Leu Thr Val Leu Pro Glu Glu Val His Ser Arg
 85 90 95
 Ser Leu Arg Ile Gly Ala Asn Arg Arg Thr Glu Ile Ile Glu Asp Leu
 100 105 110
 Ala Phe Tyr Ser Ser Thr Val Val Ser Leu Leu Met Thr Cys Val Glu
 115 120 125
 Lys Ala Gly Thr Asp Glu Lys Met Leu Met Lys Val Phe Arg Cys Leu
 130 135 140
 Gly Ser Trp Phe Asn Leu Gly Val Leu Asp Ser Asn Phe Met Ala Asn
 145 150 155 160
 Asn Lys Leu Leu Ala Leu Leu Phe Glu Val Leu Gln Gln Asp Lys Thr
 165 170 175
 Ser Ser Asn Leu His Glu Ala Ala Ser Asp Cys Val Cys Ser Ala Leu
 180 185 190
 Tyr Ala Ile Glu Asn Val Glu Thr Asn Leu Pro Leu Ala Met Gln Leu
 195 200 205
 Phe Gln Gly Val Leu Thr Leu Glu Thr Ala Tyr His Met Ala Val Ala
 210 215 220
 Arg Glu Asp Leu Asp Lys Val Leu Asn Tyr Cys Arg Ile Phe Thr Glu
 225 230 235 240
 Leu Cys Glu Thr Phe Leu Glu Lys Ile Val Cys Thr Pro Gly Gln Gly
 245 250 255
 Leu Gly Asp Leu Arg Thr Leu Glu Leu Leu Ile Cys Ala Gly His
 260 265 270

<210> 41
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 60 <223> Traducción de SEQ ID No18
 <400> 41

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

ES 2 462 740 T3

	35	40	45
5	Lys Asp Asp Glu Glu Met Asp 50 55	Ile Asp Thr Val	Lys Lys Leu Pro Lys 60
10	His Tyr Ala Asn Gln Leu 65 70	Met Leu Ser Glu Trp 75	Leu Ile Asp Val Pro 80
15	Ser Asp Leu Gly Gln Glu Trp 85	Ile Val Val Val 90	Cys Pro Val Gly Lys 95
20	Arg Ala Leu Ile 100	Val Ala Ser Arg Gly 105	Thr Ser Ala Tyr Thr Lys 110
25	Ser Gly Tyr Cys Val Asn Arg 115	Phe Ser Ser Leu Leu 120 125	Pro Gly Gly Asn
30	Arg Arg Asn Ser Thr Ala 130	Lys Asp Tyr Thr Ile 135 140	Leu Asp Cys Ile Tyr
35	Asn Glu Val Asn Gln Thr 145 150	Tyr Tyr Val Leu Asp 155	Val Met Cys Trp Arg 160
40	Gly His Pro Phe Tyr 165	Asp Cys Gln Thr Asp 170	Phe Arg Phe Tyr Trp Met 175
45	His Ser Lys Leu 180	Pro Glu Glu Glu Gly 185	Leu Gly Glu Lys Thr Lys Leu 190
50	Asn Pro Phe Lys Phe Val 195	Gly Leu Lys Asn Phe Pro 200 205	Cys Thr Pro Glu
55	Ser Leu Cys Asp Val Leu 210	Ser Met Asp Phe Pro 215 220	Phe Glu Val Asp Gly
60	Leu Leu Phe Tyr His 225 230	Lys Gln Thr His Tyr 235	
65	<210> 42 <211> 279 <212> PRT <213> Homosapiens <220>		
70	<223> Traducción de SEQ ID No19 <400> 42		
75	Gly Ser Asn Met Ile 1 5	Lys Thr Ile Ala Phe 10	Gly Arg Tyr Glu Leu Asp 15
80	Thr Trp Tyr His 20	Ser Pro Tyr Pro Glu 25	Glu Tyr Ala Arg Leu Gly Arg 30
85	Leu Tyr Met Cys Glu Phe Cys 35	Leu Lys Tyr Met Lys 40 45	Ser Gln Thr Ile
90	Leu Arg Arg His Met Ala 50	Lys Cys Val Trp Lys 55 60	His Pro Pro Gly Asp
95	Glu Ile Tyr Arg Lys 65	Gly Ser Ile Ser Val 70 75	Phe Glu Val Asp Gly Lys 80
100	Lys Asn Lys Ile 85	Cys Gln Asn Leu Cys 90	Leu Leu Ala Lys Leu Phe 95
105	Leu Asp His Lys 100	Thr Leu Tyr Tyr Asp 105	Val Glu Pro Phe Leu Phe Tyr 110
110	Val Met Thr Glu Ala Asp 115	Asn Thr Gly Cys His Leu 120 125	Ile Gly Tyr Phe
115	Ser Lys Glu Lys Asn Ser 130	Phe Leu Asn Tyr Asn Val 135 140	Ser Cys Ile Leu

ES 2 462 740 T3

Thr Met Pro Gln Tyr Met Arg Gln Gly Tyr Gly Lys Met Leu Ile Asp
 145 150 155 160
 5 Phe Ser Tyr Leu Leu Ser Lys Val Glu Glu Lys Val Gly Ser Pro Glu
 165 170 175
 Arg Pro Leu Ser Asp Leu Gly Leu Ile Ser Tyr Arg Ser Tyr Trp Lys
 180 185 190
 10 Glu Val Leu Leu Arg Tyr Leu His Asn Phe Gln Gly Lys Glu Ile Ser
 195 200 205
 Ile Lys Glu Ile Ser Gln Glu Thr Ala Val Asn Pro Val Asp Ile Val
 210 215 220
 15 Ser Thr Leu Gln Ala Leu Gln Met Leu Lys Tyr Trp Lys Gly Lys His
 225 230 235 240
 20 Leu Val Leu Lys Arg Gln Asp Leu Ile Asp Glu Trp Ile Ala Lys Glu
 245 250 255
 Ala Lys Arg Ser Asn Ser Asn Lys Thr Met Asp Pro Ser Cys Leu Lys
 260 265 270
 25 Trp Thr Pro Pro Lys Gly Thr
 275
 <210> 43
 <211> 268
 30 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No20
 35 <400> 43
 Ile Lys Thr Ile Ala Phe Gly Arg Tyr Glu Leu Asp Thr Trp Tyr His
 1 5 10 15
 40 Ser Pro Tyr Pro Glu Glu Tyr Ala Arg Leu Gly Arg Leu Tyr Met Cys
 20 25 30
 45 Glu Phe Cys Leu Lys Tyr Met Lys Ser Gln Thr Ile Leu Arg Arg His
 35 40 45
 Met Ala Lys Cys Val Trp Lys His Pro Pro Gly Asp Glu Ile Tyr Arg
 50 55 60
 50 Lys Gly Ser Ile Ser Val Phe Glu Val Asp Gly Lys Lys Asn Lys Ile
 65 70 75 80
 Tyr Cys Gln Asn Leu Cys Leu Leu Ala Lys Leu Phe Leu Asp His Lys
 85 90 95
 55 Thr Leu Tyr Tyr Asp Val Glu Pro Phe Leu Phe Tyr Val Met Thr Glu
 100 105 110
 60 Ala Asp Asn Thr Gly Cys His Leu Ile Gly Tyr Phe Ser Lys Glu Lys
 115 120 125
 Asn Ser Phe Leu Asn Tyr Asn Val Ser Cys Ile Leu Thr Met Pro Gln
 130 135 140
 65 Tyr Met Arg Gln Gly Tyr Gly Lys Met Leu Ile Asp Phe Ser Tyr Leu
 145 150 155 160
 Leu Ser Lys Val Glu Glu Lys Val Gly Ser Pro Glu Arg Pro Leu Ser
 165 170 175
 70 Asp Leu Gly Leu Ile Ser Tyr Arg Ser Tyr Trp Lys Glu Val Leu Leu
 180 185 190

ES 2 462 740 T3

Arg Tyr Leu His Asn Phe Gln Gly Lys Glu Ile Ser Ile Lys Glu Ile
 195 200 205
 5 Ser Gln Glu Thr Ala Val Asn Pro Val Asp Ile Val Ser Thr Leu Gln
 210 215 220
 Ala Leu Gln Met Leu Lys Tyr Trp Lys Gly Lys His Leu Val Leu Lys
 225 230 235 240
 10 Arg Gln Asp Leu Ile Asp Glu Trp Ile Ala Lys Glu Ala Lys Arg Ser
 245 250 255
 Asn Ser Asn Lys Thr Met Asp Pro Ser Cys Leu Lys
 260 265
 15
 <210> 44
 <211> 136
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 20 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No21
 <400> 44
 25 Ala Tyr Val Glu Met Arg Arg Glu Ala Trp Ala Ser Lys Asp Ala Thr
 1 5 10 15
 Tyr Thr Ser Ala Arg Thr Leu Leu Ala Ile Leu Arg Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 30 Leu Ala Arg Leu Arg Met Val Asp Val Val Glu Lys Glu Asp Val Asn
 35 40 45
 Glu Ala Ile Arg Leu Met Glu Met Ser Lys Asp Ser Leu Leu Gly Asp
 50 55 60
 35 Lys Gly Gln Thr Ala Arg Thr Gln Arg Pro Ala Asp Val Ile Phe Ala
 65 70 75 80
 40 Thr Val Arg Glu Leu Val Ser Gly Gly Arg Ser Val Arg Phe Ser Glu
 85 90 95
 Ala Glu Gln Arg Cys Val Ser Arg Gly Phe Thr Pro Ala Gln Phe Gln
 100 105 110
 45 Ala Ala Leu Asp Glu Tyr Glu Glu Leu Asn Val Trp Gln Val Asn Ala
 115 120 125
 Ser Arg Thr Arg Ile Thr Phe Val
 130 135
 50
 <210> 45
 <211> 347
 <212> PRT
 55 <213> Homosapiens
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No22
 <400> 45
 60 Glu Gly Thr Gly Ser Thr Ala Thr Ser Ser Ser Ser Thr Ala Gly Ala
 1 5 10 15
 Ala Gly Lys Gly Lys Gly Lys Gly Gly Ser Gly Asp Ser Ala Val Lys
 20 25 30
 65 Gln Val Gln Ile Asp Gly Leu Val Val Leu Lys Ile Ile Lys His Tyr
 35 40 45
 Gln Glu Glu Gly Gln Gly Thr Glu Val Val Gln Gly Val Leu Leu Gly
 50 55 60
 70 Leu Val Val Glu Asp Arg Leu Glu Ile Thr Asn Cys Phe Pro Phe Pro
 65 70 75 80

ES 2 462 740 T3

Gln His Thr Glu Asp 85 Asp Ala Asp Phe Asp 90 Glu Val Gln Tyr Gln Met 95
 5 Glu Met Met Arg 100 Ser Leu Arg His Val 105 Asn Ile Asp His Leu His Val 110
 Gly Trp Tyr 115 Gln Ser Thr Tyr Tyr 120 Gly Ser Phe Val Thr 125 Arg Ala Leu
 10 Leu Asp 130 Ser Gln Phe Ser Tyr 135 Gln His Ala Ile Glu 140 Glu Ser Val Val
 15 Leu 145 Ile Tyr Asp Pro Ile 150 Lys Thr Ala Gln Gly 155 Ser Leu Ser Leu Lys 160
 Ala Tyr Arg Leu Thr 165 Pro Lys Leu Met Glu 170 Val Cys Lys Glu Lys 175 Asp
 20 Phe Ser Pro Glu 180 Ala Leu Lys Lys Ala 185 Asn Ile Thr Phe Glu 190 Tyr Met
 Phe Glu Glu 195 Val Pro Ile Val Ile 200 Lys Asn Ser His Leu 205 Ile Asn Val
 25 Leu Met 210 Trp Glu Leu Glu Lys 215 Lys Ser Ala Val Ala 220 Asp Lys His Glu
 30 Leu 225 Leu Ser Leu Ala Ser 230 Ser Asn His Leu Gly 235 Lys Asn Leu Gln Leu 240
 Leu Met Asp Arg Val 245 Asp Glu Met Ser Gln 250 Asp Ile Val Lys Tyr 255 Asn
 35 Thr Tyr Met Arg 260 Asn Thr Ser Lys Gln 265 Gln Gln Gln Lys His 270 Gln Tyr
 Gln Gln Arg 275 Arg Gln Gln Glu Asn 280 Met Gln Arg Gln Ser 285 Arg Gly Glu
 40 Pro Pro 290 Leu Pro Glu Glu Asp 295 Leu Ser Lys Leu Phe 300 Lys Pro Pro Gln
 45 Pro 305 Pro Ala Arg Met Asp 310 Ser Leu Leu Ile Ala 315 Gly Gln Ile Asn Thr 320
 Tyr Cys Gln Asn Ile 325 Lys Glu Phe Thr Ala 330 Gln Asn Leu Gly Lys 335 Leu
 50 Phe Met Ala Gln 340 Ala Leu Gln Glu Tyr 345 Asn Asn
 <210> 46
 <211> 302
 55 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No23
 <400> 46
 60 Lys Glu Gly Thr Gly 5 Ser Thr Ala Thr Ser 10 Ser Ser Ser Thr Ala Gly 15
 65 Ala Ala Gly Lys 20 Gly Lys Gly Lys Gly 25 Gly Ser Gly Asp Ser 30 Ala Val
 Lys Gln Val 35 Gln Ile Asp Gly Leu 40 Val Val Leu Lys 45 Ile Ile Lys His
 70 Tyr Gln Glu Glu Gly Gln Gly 55 Thr Glu Val Val Gln 60 Gly Val Leu Leu
 Gly Leu Val Val Glu Asp 70 Arg Leu Glu Ile Thr 75 Asn Cys Phe Pro Phe 80

ES 2 462 740 T3

Pro Gln His Thr Glu₈₅ Asp Asp Ala Asp Phe₉₀ Asp Glu Val Gln Tyr Gln
 5 Met Glu Met Met₁₀₀ Arg Ser Leu Arg His₁₀₅ Val Asn Ile Asp His₁₁₀ Leu His
 Val Gly Trp₁₁₅ Tyr Gln Ser Thr Tyr₁₂₀ Tyr Gly Ser Phe Val₁₂₅ Thr Arg Ala
 10 Leu Leu₁₃₀ Asp Ser Gln Phe Ser₁₃₅ Tyr Gln His Ala Ile₁₄₀ Glu Glu Ser Val
 15 Val₁₄₅ Leu Ile Tyr Asp Pro₁₅₀ Ile Lys Thr Ala Gln₁₅₅ Gly Ser Leu Ser Leu₁₆₀
 Lys Ala Tyr Arg Leu₁₆₅ Thr Pro Lys Leu Met₁₇₀ Glu Val Cys Lys Glu₁₇₅ Lys
 20 Asp Phe Ser Pro₁₈₀ Glu Ala Leu Lys Lys₁₈₅ Ala Asn Ile Thr Phe₁₉₀ Glu Tyr
 25 Met Phe Glu₁₉₅ Glu Val Pro Ile Val₂₀₀ Ile Lys Asn Ser His₂₀₅ Leu Ile Asn
 Val Leu₂₁₀ Met Trp Glu Leu Glu₂₁₅ Lys Lys Ser Ala Val₂₂₀ Ala Asp Lys His
 30 Glu₂₂₅ Leu Leu Ser Leu Ala₂₃₀ Ser Ser Asn His Leu₂₃₅ Gly Lys Asn Leu Gln₂₄₀
 Leu Leu Met Asp Arg₂₄₅ Val Asp Glu Met Ser₂₅₀ Gln Asp Ile Val Lys₂₅₅ Tyr
 35 Asn Thr Tyr Met₂₆₀ Arg Asn Thr Ser Lys₂₆₅ Gln Gln Gln Gln Lys₂₇₀ His Gln
 40 Tyr Gln Gln₂₇₅ Arg Arg Gln Gln Glu₂₈₀ Asn Met Gln Arg Gln₂₈₅ Ser Arg Gly
 Glu Pro₂₉₀ Pro Leu Pro Glu Glu₂₉₅ Asp Leu Ser Lys Leu₃₀₀ Phe Lys
 45 <210> 47
 <211> 151
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 50 <223> Traducción de SEQ ID No24
 <400> 47
 Met Ala Ala Glu Leu Val Glu Ala Lys Asn Met Val Met Ser Phe Arg
 55 Val Ser Asp Leu₂₀ Gln Met Leu Leu Gly₂₅ Phe Val Gly Arg Ser₃₀ Lys Ser
 60 Gly Leu Lys₃₅ His Glu Leu Val Thr₄₀ Arg Ala Leu Gln₄₅ Val Gln Phe
 Asp Cys₅₀ Ser Pro Glu Leu Phe₅₅ Lys Lys Ile Lys Glu₆₀ Leu Tyr Glu Thr
 65 Arg Tyr Ala Lys Lys Asn Ser Glu Pro Ala Pro₇₅ Gln Pro His Arg Pro₈₀
 Leu Asp Pro Leu Thr₈₅ Met His Ser Thr Tyr₉₀ Asp Arg Ala Gly Ala₉₅ Val
 70 Pro Arg Thr Pro₁₀₀ Leu Ala Gly Pro Asn Ile Asp Tyr Pro Val₁₁₀ Leu Tyr
 Gly Lys Tyr Leu Asn Gly Leu Gly Arg Leu Pro Ala Lys Thr Leu Lys

ES 2 462 740 T3

115 120 125
 Pro Glu Val Arg Leu Val Lys Leu Pro Phe Phe Asn Met Leu Asp Glu
 130 135 140
 5 Leu Leu Lys Pro Thr Glu Leu
 145 150
 10 <210> 48
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 15 <223> Traducción de SEQ ID No25
 <400> 48
 Val Cys Gln Ala Ser Gln Leu Gln Gly Gln Lys Glu Glu Ser Cys Val
 1 5 10 15
 20 Pro Val His Gln Lys Thr Val Leu Gly Pro Asp Thr Ala Glu Pro Ala
 20 20 25
 Thr Ala Glu Ala Ala Val Ala Pro Pro Asp Ala Gly Leu Pro Leu Pro
 25 35 40 45
 Gly Leu Pro Ala Glu Gly Ser Pro Pro Pro Lys Thr Tyr Val Ser Cys
 50 55 60
 30 Leu Lys Ser Leu Leu Ser Ser Pro Thr Lys Asp Ser Lys Pro Asn Ile
 65 70 75 80
 Ser Ala His His Ile Ser Leu Ala Ser Cys Leu Ala Leu Thr Thr Pro
 35 85 90 95
 Ser Glu Glu Leu Pro Asp Arg Ala Gly Ile Leu Val Glu Asp Ala Thr
 100 105 110
 40 Cys Val Thr Cys Met Ser Asp Ser Ser Gln Ser Val Pro Leu Val Ala
 115 120 125
 Ser Pro Gly His Cys Ser Asp Ser Phe Ser Thr Ser Gly Leu Glu Asp
 130 135 140
 45 Ser Cys Thr Glu Thr Ser Ser Ser Pro Arg Asp Lys Ala Ile Thr Pro
 145 150 155 160
 Pro Leu Pro Glu Ser Thr Val Pro Phe Ser Asn Gly Val Leu Lys Gly
 165 170 175
 50 Glu Leu Ser Asp Leu Gly Ala Glu Asp Gly Trp Thr Met Asp Ala Glu
 180 185 190
 55 Ala Asp His Ser Gly Gly Ser Asp Arg Asn Ser Met Asp Ser Val Asp
 195 200 205
 Ser Cys Cys Ser Leu Lys Lys Thr Glu Ser Phe Gln Asn Ala Gln Ala
 210 215 220
 60 Gly Ser Asn Pro Lys Lys Val Asp Leu Ile Ile Trp Glu Ile Glu Val
 225 230 235 240
 Pro Lys His Leu Val Gly Arg Leu Ile Gly Lys Gln Gly Arg Tyr Val
 245 250 255
 65 Ser Phe Leu Lys Gln Thr Ser Gly Ala Lys Ile Tyr Ile Ser
 260 265 270
 70 <210> 49
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homosapiens

ES 2 462 740 T3

<220>

<223> Traducción de SEQ ID No26

<400> 49

5 Phe Gly Phe Val Thr Met Thr Asn Tyr Glu Glu Ala Ala Met Ala Ile
1 5 10 15
Ala Ser Leu Asn Gly Tyr Arg Leu Gly Asp Lys Ile Leu Gln Val Ser
20 25 30
10 Phe Lys Thr Asn Lys Ser His Lys
35 40

<210> 50

15 <211> 60

<212> PRT

<213> Homosapiens

<220>

<223> Traducción de SEQ ID No27

20 <400> 50

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

<210> 51

35 <211> 962

<212> PRT

<213> Homosapiens

<220>

<223> Traducción de SEQ ID No28

40 <400> 51

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

ES 2 462 740 T3

	Met	Glu	Lys	Tyr	Pro	Gln	Lys	Glu	Lys	Thr	Lys	Glu	Asp	Leu	Asp	Ser
					165					170					175	
5	Arg	Ser	Asn	Leu	His	Leu	Pro	Glu	Thr	Lys	Phe	Ser	Glu	Leu	Ser	Lys
				180					185					190		
	Leu	Lys	Asn	Asp	Asp	Met	Glu	Lys	Ala	Asn	His	Ile	Glu	Ser	Val	Ile
			195					200					205			
10	Lys	Ser	Asn	Leu	Pro	Asn	Cys	Ala	Asn	Ser	Asp	Thr	Asp	Phe	Met	Gly
		210					215					220				
	Leu	Phe	Lys	Ser	Ser	Arg	Tyr	Asp	Pro	Ser	Ile	Ser	Phe	Ser	Gly	Met
	225					230					235					240
15	Ser	Leu	Ser	Asp	Thr	Met	Thr	Leu	Arg	Gly	Ser	Val	Gln	Asn	Lys	Leu
					245					250					255	
	Asn	Pro	Arg	Pro	Gly	Lys	Val	Val	Ile	Tyr	Ser	Glu	Pro	Asp	Val	Ser
				260					265					270		
	Glu	Lys	Cys	Ile	Glu	Val	Phe	Ser	Asp	Ile	Gln	Asp	Cys	Ser	Ser	Trp
			275					280					285			
25	Ser	Leu	Ser	Pro	Val	Ile	Leu	Ile	Lys	Val	Val	Arg	Gly	Cys	Trp	Ile
		290					295					300				
	Leu	Tyr	Glu	Gln	Pro	Asn	Phe	Glu	Gly	His	Ser	Ile	Pro	Leu	Glu	Glu
	305					310					315					320
30	Gly	Glu	Leu	Glu	Leu	Ser	Gly	Leu	Trp	Gly	Ile	Glu	Asp	Ile	Leu	Glu
					325					330					335	
	Arg	His	Glu	Glu	Ala	Glu	Ser	Asp	Lys	Pro	Val	Val	Ile	Gly	Ser	Ile
				340					345					350		
	Arg	His	Val	Val	Gln	Asp	Tyr	Arg	Val	Ser	His	Ile	Asp	Leu	Phe	Thr
			355					360					365			
40	Glu	Pro	Glu	Gly	Leu	Gly	Ile	Leu	Ser	Ser	Tyr	Phe	Asp	Asp	Thr	Glu
		370					375					380				
	Glu	Met	Gln	Gly	Phe	Gly	Val	Met	Gln	Lys	Thr	Cys	Ser	Met	Lys	Val
	385					390					395					400
45	His	Trp	Gly	Thr	Trp	Leu	Ile	Tyr	Glu	Glu	Pro	Gly	Phe	Gln	Gly	Val
					405					410				415		
	Pro	Phe	Ile	Leu	Glu	Pro	Gly	Glu	Tyr	Pro	Asp	Leu	Ser	Phe	Trp	Asp
				420					425					430		
	Thr	Glu	Glu	Ala	Tyr	Ile	Gly	Ser	Met	Arg	Pro	Leu	Lys	Met	Gly	Gly
			435					440					445			
55	Arg	Lys	Val	Glu	Phe	Pro	Thr	Asp	Pro	Lys	Val	Val	Val	Tyr	Glu	Lys
		450					455					460				
	Pro	Phe	Phe	Glu	Gly	Lys	Cys	Val	Glu	Leu	Glu	Thr	Gly	Met	Cys	Ser
	465					470					475					480
60	Phe	Val	Met	Glu	Gly	Gly	Glu	Thr	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Asp	Asp	His
					485					490					495	
	Leu	Pro	Phe	Thr	Ser	Val	Gly	Ser	Met	Lys	Val	Leu	Arg	Gly	Ile	Trp
				500					505					510		
	Val	Ala	Tyr	Glu	Lys	Pro	Gly	Phe	Thr	Gly	His	Gln	Tyr	Leu	Leu	Glu
			515					520					525			
70	Glu	Gly	Glu	Tyr	Arg	Asp	Trp	Lys	Ala	Trp	Gly	Gly	Tyr	Asn	Gly	Glu
		530					535					540				
	Leu	Gln	Ser	Leu	Arg	Pro	Ile	Leu	Gly	Asp	Phe	Ser	Asn	Ala	His	Met
	545					550					555					560
75	Ile	Met	Tyr	Ser	Glu	Lys	Asn	Phe	Gly	Ser	Lys	Gly	Ser	Ser	Ile	Asp

ES 2 462 740 T3

	565								570							575		
5	Val	Leu	Gly	Ile 580	Val	Ala	Asn	Leu	Lys 585	Glu	Thr	Gly	Tyr	Gly 590	Val	Lys		
	Thr	Gln	Ser 595	Ile	Asn	Val	Leu	Ser 600	Gly	Val	Trp	Val	Ala 605	Tyr	Glu	Asn		
10	Pro	Asp 610	Phe	Thr	Gly	Glu	Gln 615	Tyr	Ile	Leu	Asp	Lys 620	Gly	Phe	Tyr	Thr		
	Ser 625	Phe	Glu	Asp	Trp	Gly 630	Gly	Lys	Asn	Cys	Lys 635	Ile	Ser	Ser	Val	Gln 640		
15	Pro	Ile	Cys	Leu	Asp 645	Ser	Phe	Thr	Gly	Pro 650	Arg	Arg	Arg	Asn	Gln 655	Ile		
	His	Leu	Phe	Ser 660	Glu	Pro	Gln	Phe	Gln 665	Gly	His	Ser	Gln	Ser 670	Phe	Glu		
20	Glu	Thr	Thr 675	Ser	Gln	Ile	Asp	Asp 680	Ser	Phe	Ser	Thr	Lys 685	Ser	Cys	Arg		
	Val	Ser 690	Gly	Gly	Ser	Trp	Val 695	Val	Tyr	Asp	Gly	Glu 700	Asn	Phe	Thr	Gly		
25	Asn 705	Gln	Tyr	Val	Leu	Glu 710	Glu	Gly	His	Tyr	Pro 715	Cys	Leu	Ser	Ala	Met 720		
	Gly	Cys	Pro	Pro	Gly 725	Ala	Thr	Phe	Lys	Ser 730	Leu	Arg	Phe	Ile	Asp 735	Val		
30	Glu	Phe	Ser	Glu 740	Pro	Thr	Ile	Ile	Leu 745	Phe	Glu	Arg	Glu	Asp 750	Phe	Lys		
	Gly	Lys	Lys 755	Ile	Glu	Leu	Asn	Ala 760	Glu	Thr	Val	Asn	Leu 765	Arg	Ser	Leu		
40	Gly	Phe 770	Asn	Thr	Gln	Ile	Arg 775	Ser	Val	Gln	Val	Ile 780	Gly	Gly	Ile	Trp		
	Val 785	Thr	Tyr	Glu	Tyr	Gly 790	Ser	Tyr	Arg	Gly	Arg 795	Gln	Phe	Leu	Leu	Ser 800		
45	Pro	Ala	Glu	Val	Pro 805	Asn	Trp	Tyr	Glu	Phe 810	Ser	Gly	Cys	Arg	Gln 815	Ile		
	Gly	Ser	Leu	Arg 820	Pro	Phe	Val	Gln	Lys 825	Arg	Ile	Tyr	Phe	Arg 830	Leu	Arg		
50	Asn	Lys	Ala 835	Thr	Gly	Leu	Phe	Met 840	Ser	Thr	Asn	Gly	Asn 845	Leu	Glu	Asp		
	Leu	Lys 850	Leu	Leu	Arg	Ile	Gln 855	Val	Met	Glu	Asp	Val 860	Gly	Ala	Asp	Asp		
55	Gln 865	Ile	Trp	Ile	Tyr	Gln 870	Glu	Gly	Cys	Ile	Lys 875	Cys	Arg	Ile	Ala	Glu 880		
	Asp	Cys	Cys	Leu	Thr 885	Ile	Val	Gly	Ser	Leu 890	Val	Thr	Ser	Gly	Ser 895	Lys		
65	Leu	Gly	Leu	Ala 900	Leu	Asp	Gln	Asn	Ala 905	Asp	Ser	Gln	Phe	Trp 910	Ser	Leu		
	Lys	Ser	Asp 915	Gly	Arg	Ile	Tyr	Ser 920	Lys	Leu	Lys	Pro	Asn 925	Leu	Val	Leu		
70	Asp	Ile 930	Lys	Gly	Gly	Thr	Gln 935	Tyr	Asp	Gln	Asn	His 940	Ile	Ile	Leu	Asn		
	Thr 945	Val	Ser	Lys	Glu	Lys 950	Phe	Thr	Gln	Val	Trp 955	Glu	Ala	Met	Val	Leu 960		
75	Tyr	Thr																

ES 2 462 740 T3

<210> 52
 <211> 227
 <212> PRT
 5 <213> Homosapiens
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No29
 <400> 52

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

55 <210> 53
 <211> 130
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 60 <223> Traducción de SEQ ID No30
 <400> 53

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

ES 2 462 740 T3

Gly Val Ser Met Leu Tyr Ser Phe Phe Met Pro Ala Ala Lys Leu Lys
 65 70 75 80
 5 Glu Arg Leu Asp Gln Pro Met Thr Glu Ile Val Ser Arg Val Ser Lys
 85 90 95
 Arg Lys Leu Gly Arg His Val Arg Ala Leu Val Leu Glu Leu Cys Cys
 100 105 110
 10 Asn Asp Glu Ser Gly Glu Asp Val Glu Val Pro Tyr Val Arg Tyr Thr
 115 120 125
 15 Ile Arg
 130
 <210> 54
 <211> 155
 <212> PRT
 20 <213> Homosapiens
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No31
 <400> 54
 25 Leu Thr Glu Gly Gly Lys Gly Ser Ser Pro Ser Ile Arg Pro Ile Gln
 1 5 10 15
 Gly Ser Gln Gly Ser Ser Ser Pro Val Glu Lys Glu Val Val Glu Ala
 20 25 30
 30 Thr Asp Ser Arg Glu Lys Thr Gly Met Val Arg Pro Gly Glu Pro Leu
 35 40 45
 Ser Gly Glu Lys Tyr Ser Pro Lys Glu Leu Leu Ala Leu Leu Lys Cys
 50 55 60
 Val Glu Ala Glu Ile Ala Asn Tyr Glu Ala Cys Leu Lys Glu Glu Val
 65 70 75 80
 40 Glu Lys Arg Lys Lys Phe Lys Ile Asp Asp Gln Arg Arg Thr His Asn
 85 90 95
 Tyr Asp Glu Phe Ile Cys Thr Phe Ile Ser Met Leu Ala Gln Glu Gly
 100 105 110
 45 Met Leu Ala Asn Leu Val Glu Gln Asn Ile Ser Val Arg Arg Arg Gln
 115 120 125
 50 Gly Val Ser Ile Gly Arg Leu His Lys Gln Arg Lys Pro Asp Arg Arg
 130 135 140
 Lys Arg Ser Arg Pro Tyr Lys Ala Lys Arg Gln
 145 150 155
 55 <210> 55
 <211> 68
 <212> PRT
 <213> Homosapiens
 <220>
 60 <223> Traducción de SEQ ID No32
 <400> 55
 Ile Asp Asp Gln Arg Arg Thr His Asn Tyr Asp Glu Phe Ile Cys Thr
 1 5 10 15
 65 Phe Ile Ser Met Leu Ala Gln Glu Gly Met Leu Ala Asn Leu Val Glu
 20 25 30
 Gln Asn Ile Ser Val Arg Arg Arg Gln Gly Val Ser Ile Gly Arg Leu
 35 40 45
 70 His Lys Gln Arg Lys Pro Asp Arg Arg Lys Arg Ser Arg Pro Tyr Lys
 50 55 60

ES 2 462 740 T3

Ala Lys Arg Gln
65

5 <210> 56
<211> 129
<212> PRT
<213> Homosapiens
<220>
10 <223> Traducción de SEQ ID No33
<400> 56

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

40 <210> 57
<211> 194
<212> PRT
<213> Homosapiens
<220>
45 <223> Traducción de SEQ ID No34
<400> 57

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

ES 2 462 740 T3

Pro Tyr Ser Ile Asp Ser Glu Pro Gly Ser Pro Leu Leu Asp Asp Ala
 145 150 155 160
 5 Lys Val Lys Asp Glu Pro Asp Ser Pro Pro Val Ala Leu Gly Met Val
 165 170 175
 Asp Arg Ser Arg Ile Leu Leu Cys Val Leu Thr Phe Leu Cys Leu Ser
 180 185 190
 10 Phe Asn
 <210> 58
 <211> 257
 <212> PRT
 15 <213> Homosapiens
 <220>
 <223> Traducción de SEQ ID No35
 <400> 58
 20 Leu Arg Leu Val Val Pro Ala Thr Gln Cys Gly Ser Leu Ile Gly Lys
 1 5 10 15
 Gly Gly Cys Lys Ile Lys Glu Ile Arg Glu Ser Thr Gly Ala Gln Val
 20 25 30
 25 Gln Val Ala Gly Asp Met Leu Pro Asn Ser Thr Glu Arg Ala Ile Thr
 35 40 45
 30 Ile Ala Gly Val Pro Gln Ser Val Thr Glu Cys Val Lys Gln Ile Cys
 50 55 60
 Leu Val Met Leu Glu Thr Leu Ser Gln Ser Pro Gln Gly Arg Val Met
 65 70 75 80
 35 Thr Ile Pro Tyr Gln Pro Met Pro Ala Ser Ser Pro Val Ile Cys Ala
 85 90 95
 Gly Gly Gln Asp Arg Cys Ser Asp Ala Val Gly Tyr Pro His Ala Thr
 100 105 110
 40 His Asp Leu Glu Gly Pro Pro Leu Asp Ala Tyr Ser Ile Gln Gly Gln
 115 120 125
 45 His Thr Ile Ser Pro Leu Asp Leu Ala Lys Leu Asn Gln Val Ala Arg
 130 135 140
 Gln Gln Ser His Phe Ala Met Met His Gly Gly Thr Gly Phe Ala Gly
 145 150 155 160
 50 Ile Asp Ser Ser Ser Pro Glu Val Lys Gly Tyr Trp Ala Ser Leu Asp
 165 170 175
 Ala Ser Thr Gln Thr Thr His Glu Leu Thr Ile Pro Asn Asn Leu Ile
 180 185 190
 55 Gly Cys Ile Ile Gly Arg Gln Gly Ala Asn Ile Asn Glu Ile Arg Gln
 195 200 205
 60 Met Ser Gly Ala Gln Ile Lys Ile Ala Asn Pro Val Glu Gly Ser Ser
 210 215 220
 Gly Arg Gln Val Thr Ile Thr Gly Ser Ala Ala Ser Ile Ser Leu Ala
 225 230 235 240
 65 Gln Tyr Leu Ile Asn Ala Arg Leu Ser Ser Glu Lys Gly Met Gly Cys
 245 250 255
 70 Ser
 <210> 59
 <211> 47
 <212> PRT
 <213> Homosapiens

ES 2 462 740 T3

	<220>		
	<223> Traducción de SEQ ID No36		
	<400> 59		
5	Gly Asp Met Leu Pro Asn Ser Thr Glu Arg Ala Ile Thr Ile Ala Gly 1 5 10 15		
	Val Pro Gln Ser Val Thr Glu Cys Val Lys Gln Ile Cys Leu Val Met 20 25 30		
10	Leu Glu Thr Leu Ser Gln Ser Pro Gln Gly Arg Val Met Thr Ile 35 40 45		
	<210> 60		
15	<211> 101		
	<212> PRT		
	<213> Homosapiens		
	<220>		
	<223> Traducción de SEQ ID No37		
20	<400> 60		
	Ala Leu Ala Arg His Cys Gln Leu Glu Pro Asp His Glu Gly Val Pro 1 5 10 15		
25	Glu Glu Thr Asp Asp Phe Gly Glu Phe Arg Met Arg Val Ser Asp Leu 20 25 30		
	Val Lys Asp Leu Ile Phe Leu Ile Gly Ser Met Glu Cys Phe Ala Gln 35 40 45		
30	Leu Tyr Ser Thr Leu Lys Glu Gly Asn Pro Pro Trp Glu Val Thr Glu 50 55 60		
35	Ala Val Leu Phe Ile Met Ala Ala Ile Ala Lys Ser Val Asp Pro Glu 65 70 75 80		
	Asn Asn Pro Thr Leu Val Glu Val Leu Glu Gly Val Val Arg Leu Pro 85 90 95		
40	Glu Thr Val His Thr 100		
	<210> 61		
45	<211> 36		
	<212> ADN		
	<213> Artificial		
	<400> 61		
50	tcccccgggc ggaggctaga aggagagaga tgggtg	36	
	<210> 62		
	<211> 37		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
55	<400> 62		
	tccccggggg ctctaggtta ggatctactg gctccat	37	
	<210> 63		
	<211> 10		
60	<212> ADN		
	<213> artificial		
	<400> 63		
	gggccacgaa	10	
65	<210> 64		
	<211> 13		
	<212> ADN		
	<213> artificial		
	<400> 64		
70	ttcgtggccc ctg	13	

	<210> 65	
	<211> 16	
	<212> ADN	
5	<213> artificial	
	<400> 65	
	atcccggacg aaggcc	16
	<210> 66	
10	<211> 13	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<400> 66	
	ggccttcgtc cgg	13
15	<210> 67	
	<211> 67	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
20	<400> 67	
	tagccatggc cgcagggggc gcggccgcac tagtggggat ccttaattaa gggccactgg	60
	ggccccc	67
25	<210> 68	
	<211> 68	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
30	<400> 68	
	tcgagggggc cccagtggcc ctttaattaag gatccccact agtgcggccg cggcccctgc	60
	ggccatgg	68
35	<210> 69	
	<211> 67	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<400> 69	
40	ctagccatgg ccgcaggggc gcggccgca ctagtgggga tccttaatta agggccactg	60
	gggcccc	67
45	<210> 70	
	<211> 69	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<400> 70	
50	tcgagggggc cccagtggcc ctttaattaag gatccccact agtgcggccg cggcccctgc	60
	ggccatggc	69
55	<210> 71	
	<211> 68	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<400> 71	
	ctagccatgg ccgcaggggc gcggccgca ctagtgggga tccttaatta agggccactg	60
60	gggcccc	68
65	<210> 72	
	<211> 68	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<400> 72	
	tcgagggggc cccagtggcc ctttaattaag gatccccact agtgcggccg cggcccctgc	60

	ggccatgg	68
	<210> 73	
	<211> 76	
5	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<400> 73	
	aattcggggc cggacgggcc gcggccgcac tagtggggat ccttaattaa gggccactgg	60
10	ggcccctcga cctgca	76
	<210> 74	
	<211> 68	
	<212> ADN	
15	<213> artificial	
	<400> 74	
	ggtcgagggg cccagtggc ccttaattaa ggatccccac tagtgcggcc gcggcccgtc	60
	cggccccg	68
20	<210> 75	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
25	<400> 75	
	gcgtttggaa tcactacagg	20
	<210> 76	
	<211> 19	
30	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<400> 76	
	cacgatgcac gttgaagtg	19
35	<210> 77	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
40	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 77	
	ggagugcuuu ugggucuggt t	21
45		
	<210> 78	
	<211> 21	
	<212> ADN	
50	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
55	<400> 78	
	ccagacccaa aagcacucct t	21
60	<210> 79	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
65	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA tt protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 79	

	gugauggcac aucccgacgt t	21
	<210> 80	
	<211> 21	
5	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
10	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 80	
	cgucgggaug ugccaucact t	21
15	<210> 81	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
20	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 81	
25	guuccugaug gagcuguaat t	21
30	<210> 82	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
35	<400> 82	
	uuacagcucc aucaggaact t	21
40	<210> 83	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
45	<400> 83	
	gaagcaguuc aaguaugggt t	21
50	<210> 84	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
55	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 84	
	cccauacuug aacugcuuct t	21
60	<210> 85	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
65	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 85	

	ccaugccaga agacuggcut t	21
	<210> 86	
	<211> 21	
5	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
10	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 86	
	agccagucuu cuggcauggt t	21
	<210> 87	
15	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
20	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 87	
	ggagcgcgcc uuuuuuggt t	21
25	<210> 88	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
30	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 88	
35	ccaaaaagag gcgcgcucct t	21
	<210> 89	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
40	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 89	
45	ccuccagucu ucucucguet t	21
	<210> 90	
	<211> 21	
	<212> ADN	
50	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
55	<400> 90	
	gacgagagaa gacuggaggt t	21
	<210> 91	
	<211> 21	
60	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
65	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 91	
	cagccuggga augagacugt t	21

	<210> 92	
	<211> 21	
	<212> ADN	
5	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
10	<400> 92	
	cagucucauu cccaggcugt t	21
	<210> 93	
	<211> 21	
15	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
20	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 93	
	gaaagugaaa ucuccgcggt t	21
	<210> 94	
25	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
30	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 94	
	ccgcggagau uucacuuuct t	21
35	<210> 95	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
40	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 95	
45	ggaaccucuc cccguggaat t	21
	<210> 96	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
50	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 96	
55	uuccacgggg agagguucct t	21
	<210> 97	
	<211> 21	
	<212> ADN	
60	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
65	<400> 97	
	ugagacguau gaaaacaaut t	21

<210> 98
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 98
 10 auuguuuuca uacgucucat t 21

 <210> 99
 <211> 21
 <212> ADN
 15 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 20 <400> 99
 guggaggaga ucuacgacct t 21

 <210> 100
 <211> 21
 25 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 30 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 100
 ggucguagau cuccuccact t 21

 <210> 101
 35 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 40 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 101
 gaacuggaag acaaccccat t 21

 45 <210> 102
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 102
 uggguuguc uuccaguuct t 21

 55 <210> 103
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 103
 65 gccuguucag cagcauuggt t 21

 <210> 104

<211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 5 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 104
 ccaaugcugc ugaacaggct t 21
 10
 <210> 105
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 105
 20 cuagagaucc cucagaccct t 21
 <210> 106
 <211> 21
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 30 <400> 106
 gggucugagg gaucucuagt t 21
 <210> 107
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 40 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 107
 cguacgcgga auacuucgat t 21
 45 <210> 108
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 108
 ucgaaguauu ccgcuacgt t 21
 55
 <210> 109
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 109
 65 caaugacuua caaggcagct t 21
 <210> 110

<211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 5 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 110
 gcugccuugu aagucauugt t 21
 10
 <210> 111
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 15 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 111
 20 gaguggacug aagcacgagt t 21
 <210> 112
 <211> 21
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 30 <400> 112
 cucgugcuuc aguccacuct t 21
 <210> 113
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 40 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 113
 ggaaguagga agcaucauut t 21
 <210> 114
 <211> 21
 <212> ADN
 45 <213> artificial
 <220>
 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 50 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 114
 aaugaugcuu ccuacuucct t 21
 55 <210> 115
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 60 <221> misc_RNA
 <222> (1)..(21)
 <223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa
 <400> 115
 gagauacccc ucacucuggt t 21
 65
 <210> 116
 <211> 21

	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
5	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 116	
	ccagagugag ggguaucuct t	21
10	<210> 117	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
15	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 117	
	gacaugcuuc agcuuaucaat t	21
20	<210> 118	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
25	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 118	
30	ugauaagcug aagcauguct t	21
	<210> 119	
	<211> 21	
	<212> ADN	
35	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
40	<400> 119	
	ucaaguggga gaguucccut t	21
	<210> 120	
	<211> 21	
45	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
50	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 120	
	agggaacucu cccacuugat t	21
	<210> 121	
55	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
60	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 121	
	ccaacggaau ggccaagaat t	21
65	<210> 122	
	<211> 21	
	<212> ADN	

	<213> artificial	
	<220>	
	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
5	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 122	
	uucuuggcca uuccguuggt t	21
10	<210> 123	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
15	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 123	
	gacugucugc gacgcagcat t	21
20	<210> 124	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
25	<221> misc_RNA	
	<222> (1)..(21)	
	<223> complejo siRNA TT protege contra la degradación de ARNasa	
	<400> 124	
30	ugcugcgucg cagacaguct t	21
	<210> 125	
	<211> 458	
	<212> ADN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 125	
	cagctaaaag gagaagccat gcatgggcaa gtagactgta gtccaggaat atggcaacta	60
	gattgtacac atttagaagg aaaagttatc ctggtagcag ttcattgtagc cagtggatat	120
40	atagaagcag aagttattcc agcagagaca gggcaggaaa cagcatactt tctcttaaaa	180
	ttagcaggaa gatggccagt aacaacaata catacagaca atggcagcaa tttcaccagt	240
45	gctacagtta aagccgcctg ttggtgggca gggatcaagc aggaatttgg cattccctac	300
	aatcccaaaa gtcaaggagt agtagaatct atgaataaag aattaaagaa aattatagga	360
	caggtaagag atcaggctga acatcttaag acagcagtac aaatggcagt attcatccac	420
50	aattttaaaa gaaaaggggg gattggggggg tacagtgc	458
	<210> 126	
	<211> 152	
55	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 126	
60	Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly	
	1 5 10 15	
	Ile Trp Gln Leu Asp Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val	
	20 25 30	
65	Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala	
	35 40 45	
	Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala Gly Arg	
	50 55 60	
70		

ES 2 462 740 T3

	Trp	Pro	Val	Thr	Thr	Ile	His	Thr	Asp	Asn	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Ser	
	65					70					75					80	
5	Ala	Thr	Val	Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile	Lys	Gln	Glu	Phe	
					85					90					95		
	Gly	Ile	Pro	Tyr	Asn	Pro	Gln	Ser	Gln	Gly	Val	Val	Glu	Ser	Met	Asn	
				100					105					110			
10	Lys	Glu	Leu	Lys	Lys	Ile	Ile	Gly	Gln	Val	Arg	Asp	Gln	Ala	Glu	His	
			115					120					125				
	Leu	Lys	Thr	Ala	Val	Gln	Met	Ala	Val	Phe	Ile	His	Asn	Phe	Lys	Arg	
		130					135					140					
15	Lys	Gly	Gly	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ser									
	145					150											
	<210> 127																
20	<211> 159																
	<212> ADN																
	<213> Homo sapiens																
	<400> 127																
25	actagattgt	acacatttag	aaggaaaagt	tatcctggta	gcagttcatg	tagccagtgg											60
	atatatagaa	gcagaagtta	ttccagcaga	gacagggcag	gaaacagcat	actttctctt											120
	aaaattagca	ggaagatggc	cagtaacaac	aatacatatc													159
30	<210> 128																
	<211> 52																
	<212> PRT																
	<213> Homo sapiens																
	<400> 128																
35	Leu	Asp	Cys	Thr	His	Leu	Glu	Gly	Lys	Val	Ile	Leu	Val	Ala	Val	His	
	1				5					10					15		
	Val	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro	Ala	Glu	Thr	Gly	
40				20					25					30			
	Gln	Glu	Thr	Ala	Tyr	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly	Arg	Trp	Pro	Val	
			35				40					45					
45	Thr	Thr	Ile	His													
	50																
	<210> 129																
50	<211> 395																
	<212> ADN																
	<213> Homo sapiens																
	<400> 129																
55	gggcaagtag	actgtagtcc	aggaatatgg	caactagatt	gtacacattt	agaaggaaaa											60
	gttatcctgg	tagcagttca	tgtagccagt	ggatatatag	aagcagaagt	tattccagca											120
	gagacagggc	aggaaacagc	atactttctc	ttaaaattag	caggaagatg	gccagtaaca											180
60	acaatacata	cagacaatgg	cagcaatttc	accagtgcta	cagttaaagc	cgctgtttgg											240
	tgggcagggg	tcaagcagga	atttggcatt	ccctacaatc	cccaaagtca	aggagtagta											300
	gaatctatga	ataaagaatt	aaagaaaatt	ataggacagg	taagagatca	ggctgaacat											360
65	cttaagacag	cagtacaaat	ggcagtatcc	atcca													395
	<210> 130																
	<211> 131																
70	<212> PRT																
	<213> Homo sapiens																
	<400> 130																

ES 2 462 740 T3

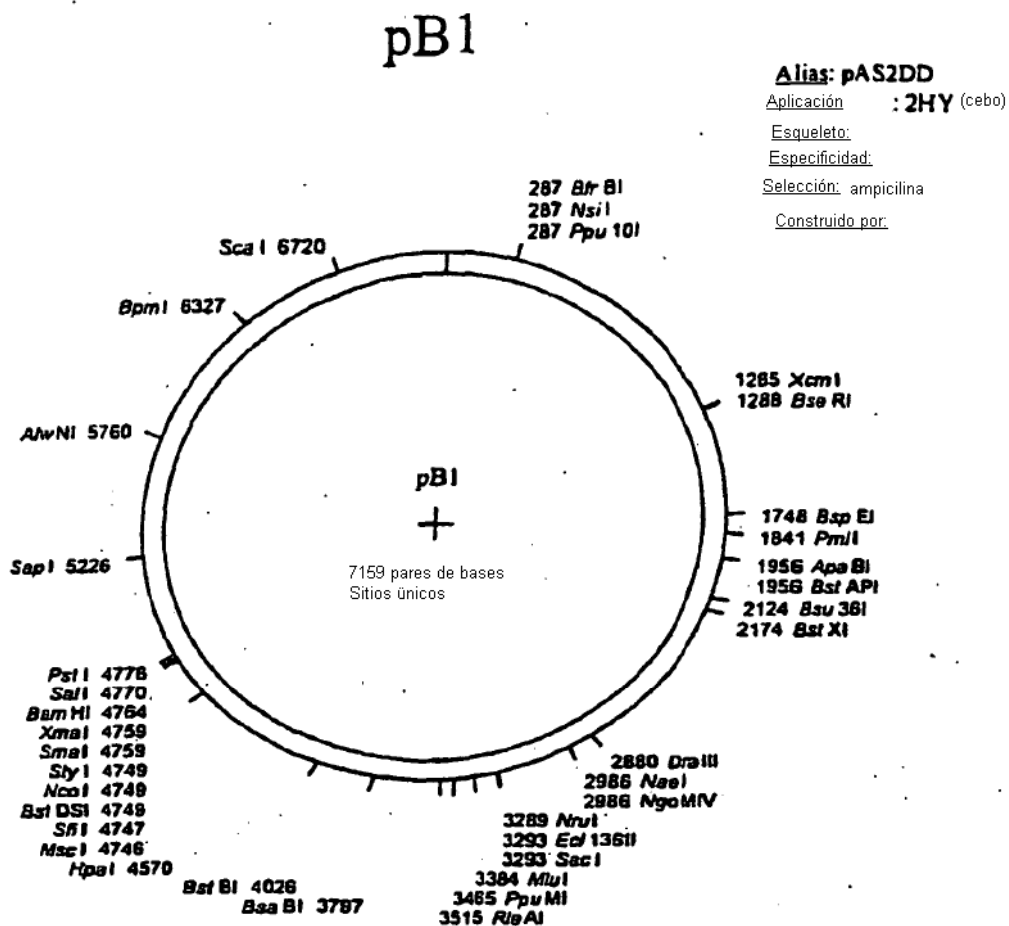
Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln Leu Asp Cys Thr His
 1 5 10 15
 5 Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr
 20 25 30
 Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr
 35 40 45
 10 Phe Leu Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val Thr Thr Ile His Thr
 50 55 60
 15 Asp Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Thr Val Lys Ala Ala Cys Trp
 65 70 75 80
 Trp Ala Gly Ile Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser
 85 90 95
 20 Gln Gly Val Val Glu Ser Met Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly
 100 105 110
 Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala
 115 120 125
 25 Val Phe Ile
 130
 <210> 131
 30 <211> 232
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 131
 35 aagggtgtct ccctaactga cacaacaaat cagaagactg agttacaagc aatttatcta 60
 gctttgcagg attcgggatt agaagtaaac atagtaacag actcacaata tgcattagga 120
 atcattcaag cacaaccaga tagaagtga tcagagttag tcagtcaaat aatagagcag 180
 40 ttaataaaaa aggaaaaggt ctatctggca tgggtaccag cacacaaagg aa 232
 <210> 132
 <211> 77
 <212> PRT
 45 <213> Homo sapiens
 <400> 132
 Lys Val Val Ser Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln
 1 5 10 15
 50 Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val
 20 25 30
 55 Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Arg
 35 40 45
 Ser Glu Ser Glu Leu Val Ser Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys
 50 55 60
 60 Glu Lys Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly
 65 70 75

REIVINDICACIONES

1. Polipéptido que consiste en la secuencia SEQ ID NO: 128.
- 5 2. Variante del polipéptido, según la reivindicación 1, en la que dicha variante es por lo menos el 95,0% idéntica a la SEQ ID NO: 128, calculada mediante el algoritmo de Needleman y Wunsch.
3. Polipéptido que consiste en la secuencia SEQ ID NO: 40.
- 10 4. Variante del polipéptido, según la reivindicación 3, en la que dicha variante es por lo menos el 95,0% idéntica a la SEQ ID NO: 40, calculada mediante el algoritmo de Needleman y Wunsch.
5. Polinucleótido que consiste en la secuencia SEQ ID NO: 127 o la secuencia SEQ ID NO: 17.
- 15 6. Variante del polinucleótido, según la reivindicación 5, en la que dicha variante es por lo menos el 95,0% idéntica a la SEQ ID NO: 127 o la SEQ ID NO: 17, calculada mediante el algoritmo de Needleman y Wunsch.
7. Variante del polinucleótido, según la reivindicación 5, en la que dichos cambios de nucleótidos son silenciosos y no alteran la secuencia de aminoácidos codificada por el polinucleótido tal como se define en las SEQ ID NO: 127 o
20 SEQ ID NO: 17.
8. Vector recombinante que consiste en una secuencia de polinucleótidos de VIH-1 o Transportina-SR, según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, y los elementos necesarios para la transcripción y la traducción de la secuencia de polinucleótidos de VIH-1 o Transportina-SR.
- 25 9. Célula huésped recombinante que contiene el vector recombinante, según la reivindicación 8.
10. Composición que comprende el vector, según la reivindicación 8, o la célula huésped recombinante, según la reivindicación 9.
- 30 11. Composición farmacéutica que comprende el polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y opcionalmente, un portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
12. Composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un vector recombinante, tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, opcionalmente un portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
- 35 13. Composición farmacéutica, según la reivindicación 12, en la que dicho vector incluye la secuencia de nucleótidos tal como se define en la SEQ ID NO:17.
- 40 14. Composición farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, para utilizar en el tratamiento o prevención del SIDA en un humano o mamífero.
15. Composición farmacéutica, según la reivindicación 11, para utilizar en el tratamiento o prevención del SIDA en un mamífero, en la que dicho polipéptido es un polipéptido tal como se define en la SEQ ID NO: 40 o una variante que tiene por lo menos el 95,0% de identidad con la SEQ ID NO: 40.
- 45 16. Composición farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, para utilizar en la inhibición de la replicación del VIH en células sensibles a la infección por VIH.
- 50 17. Utilización de un polipéptido, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para cribar moléculas que inhiben el virus de inmunodeficiencia humano del tipo 1.
18. Complejo entre la integrasa de VIH y la Transportina-SR, en el que la integrasa de VIH presenta un dominio de interacción seleccionado que tiene una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 128, y la Transportina-SR tiene un dominio de interacción seleccionado que tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 40.
- 55 19. Complejo entre la integrasa de VIH y la Transportina-SR, según la reivindicación 18, en el que el dominio de interacción seleccionado de la integrasa de VIH comprende una secuencia que es por lo menos el 95,0% idéntica a la SEQ ID NO: 128.
- 60 20. Complejo entre la integrasa de VIH y la Transportina-SR, según la reivindicación 18 ó 19, en el que el dominio de interacción seleccionado de la Transportina-SR comprende una secuencia que es por lo menos el 95,0% idéntica a la SEQ ID NO: 40.
- 65 21. siARN dirigido contra el gen de transportina-SR para utilizar en el tratamiento de la infección por VIH-1.

22. Utilización de un complejo, tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20, para aislar las moléculas anti-VIH capaces de alterar la interacción transportina-SR/integrasa.
- 5 23. Utilización de un polipéptido, tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para cribar moléculas que inhiben el virus de inmunodeficiencia humano.

Figura 1



Oligo 160

gagagtagtaacaaagggtc AAAGACAGTTGACTGTATCGCCG GAA TTT AT

Sfi I Sma I BamHI Sal I Pst I

G GCC ATG GAG GCC CCG GGG ATC CGT CGA CCT GCA GCC

Nco I

Oligo 161

AAG CTA ATT **ccgggcgaattcttatg**

Oligo 160 5' GAGAGTAGTAACAAAGGTC 3'
Oligo 161 5' CATAAGAAATTCGCCCCGG 3'

Figura 2

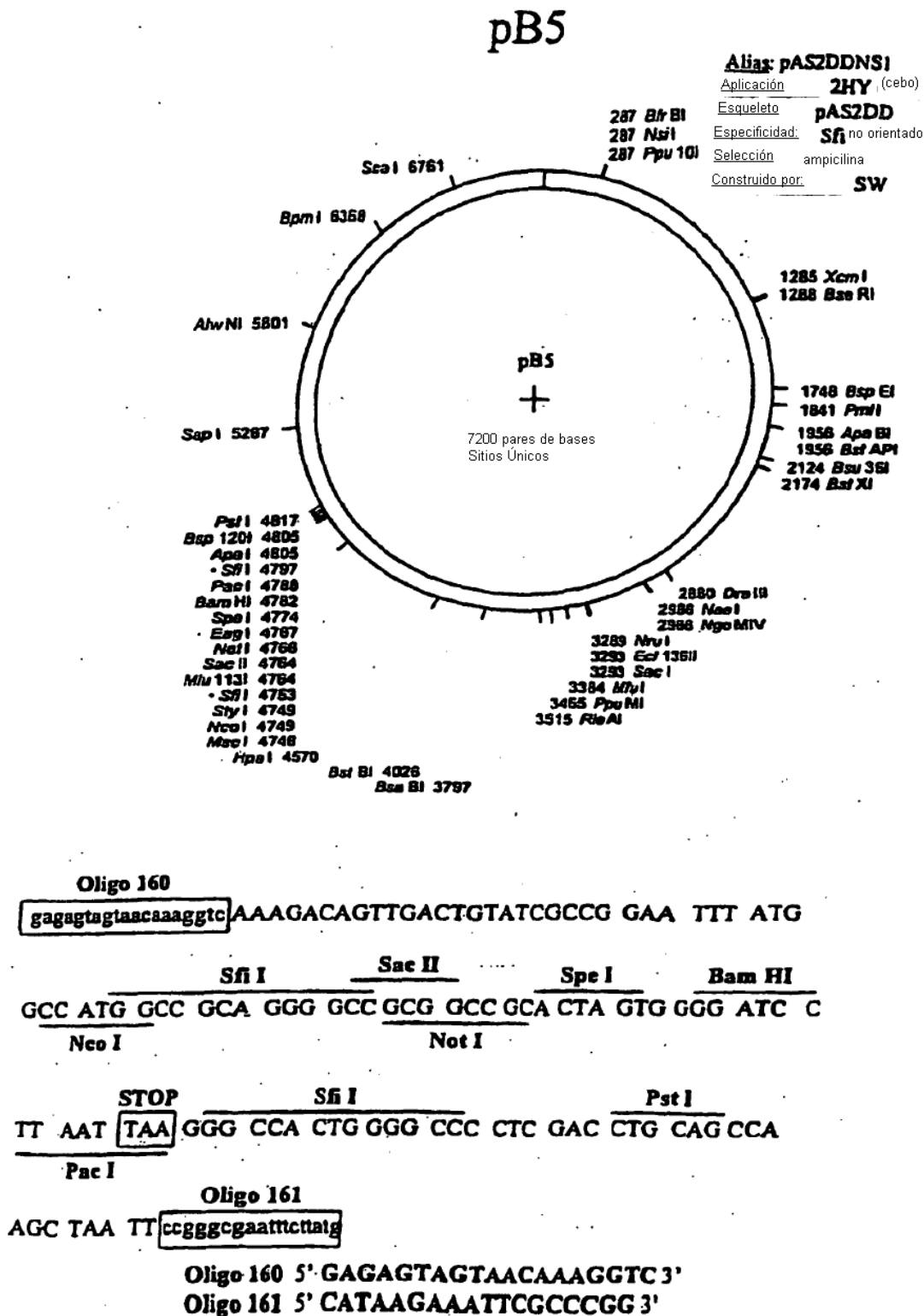
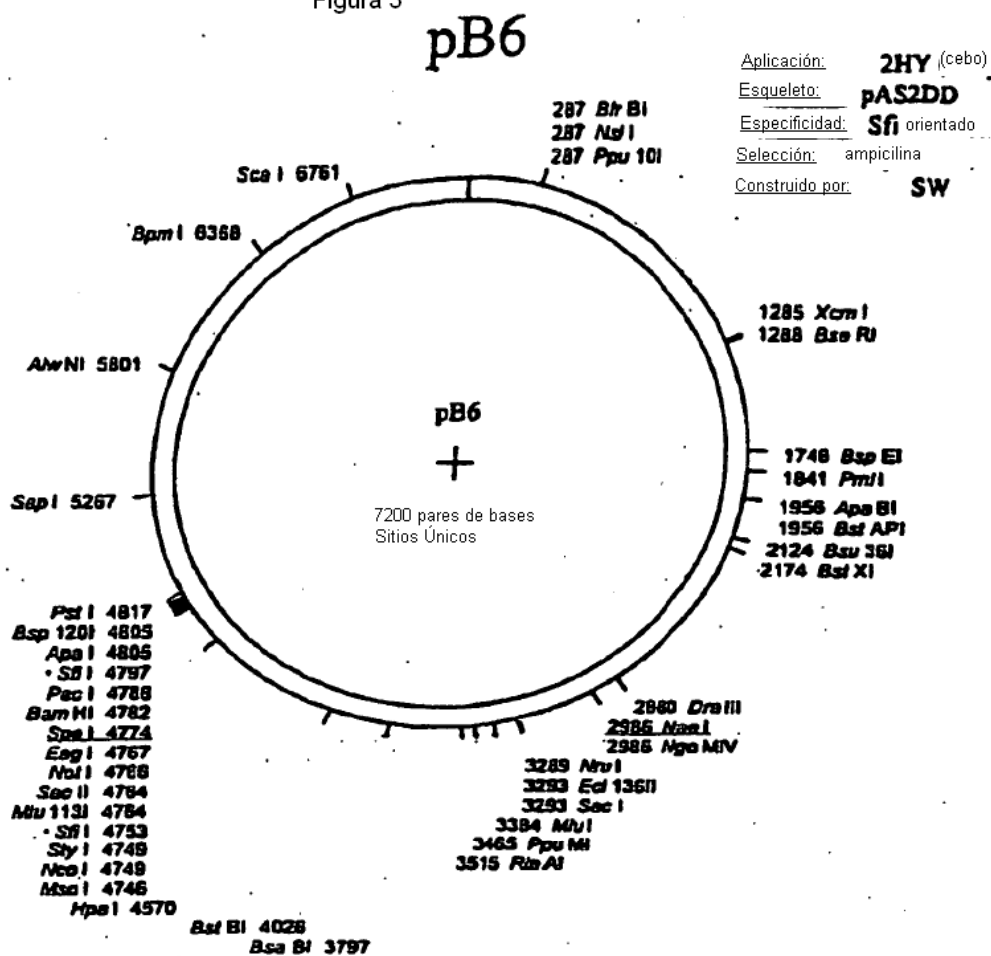


Figura 3

**Oligo 160**

gagagtagtaacaaagggtc AAAGACAGTTGACTGTATCGCCG GAA TTT ATG

Sfi I Sac II Spe I Bam HI
 GCC ATG GCC GGA CGG GCC GCG GCC GCA CTA GTG GGG ATC C
Neo I Not I

STOP Sfi I Apa I Pst I
 TT AAT **TAA** GGG CCA CTG GGG CCC CTC GAC CTG CAG CCA
Pac I

Oligo 161

AGC TAA TT **ccgggcgaatttctatg**

Oligo 160 5' GAGAGTAGTAACAAAGGTC3'

Oligo 161 5' CATAAGAAATTCGCCCGG3'

Figura 4

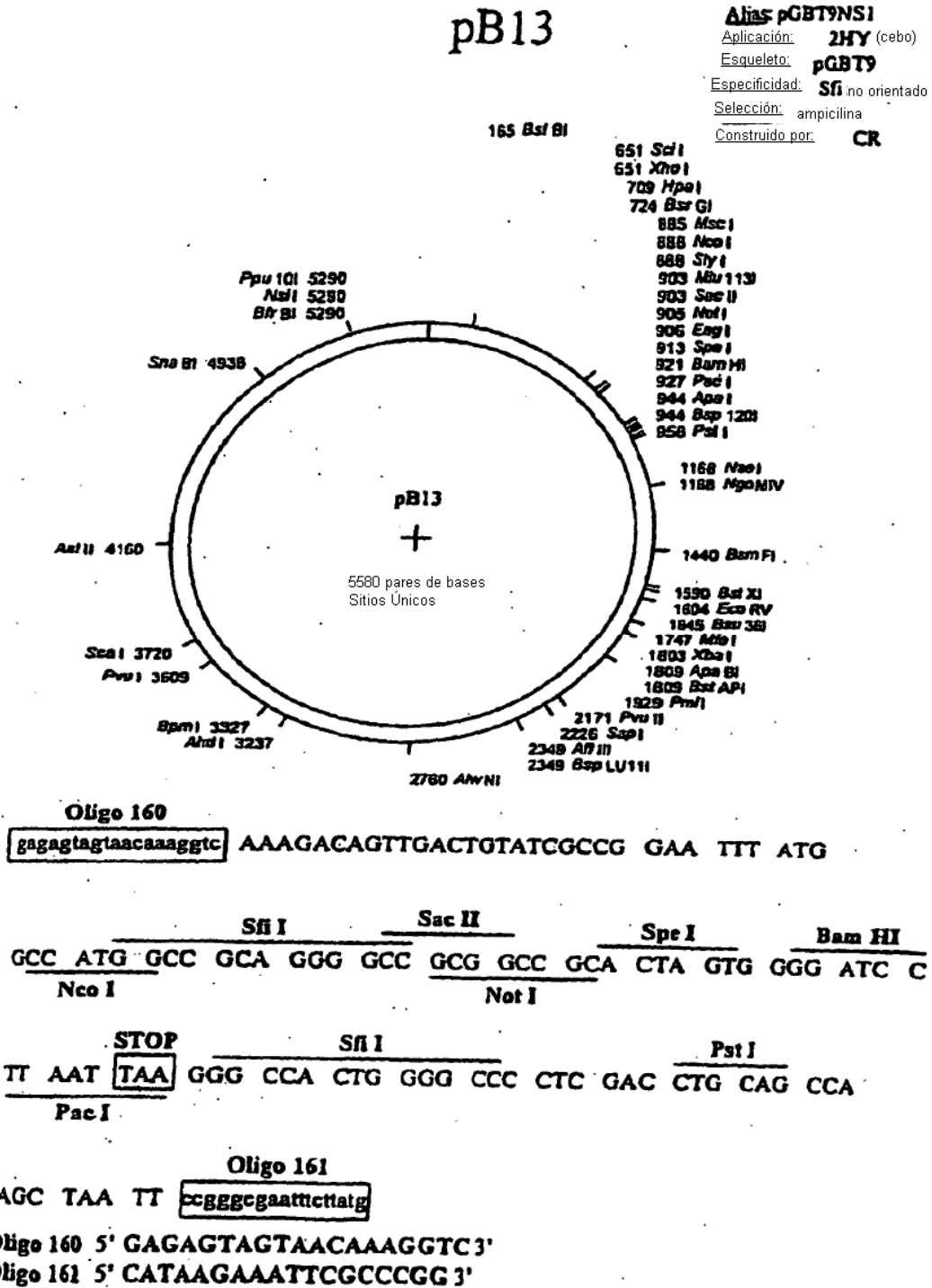
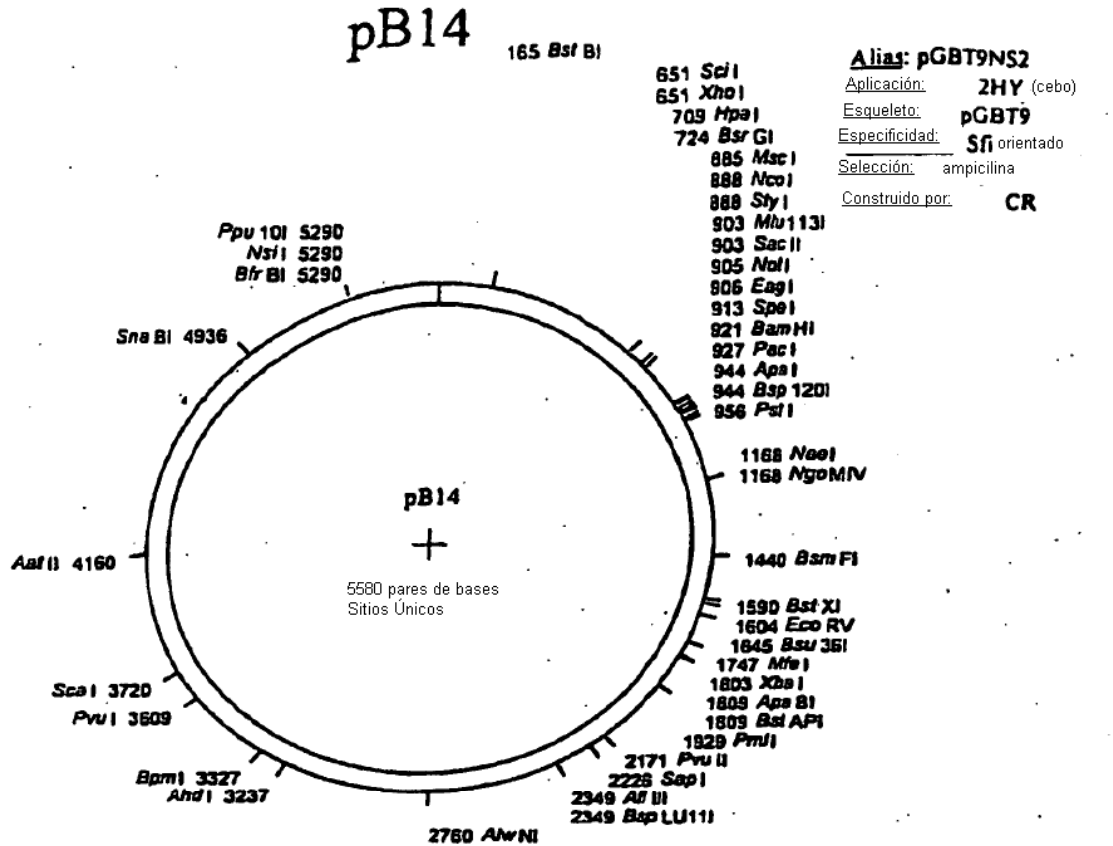


Figura 5



Oligo 160

gagagtagtaacaaagggtc AAAGACAGTTGACTGTATCGCCG GAA TTT ATG

Sfi I **Sac II** **Spe I** **Bam HI**
 GCC ATG GCC GGA CGG GCC GCG GCC GCA CTA GTG GGG ATC C
Nco I **Not I**

STOP **Sfi I** **Apa I** **Pst I**
 TT AAT **TAA** GGG CCA CTG GGG CCC CTC GAC CTG CAG CCA
Pac I

Oligo 161

AGC TAA TT **ccgggcgaattctatg**

Oligo 160 5' GAGAGTAGTAACAAAGGTC 3'

Oligo 161 5' CATAAGAAATTCGCCCCGG 3'

Figura 6

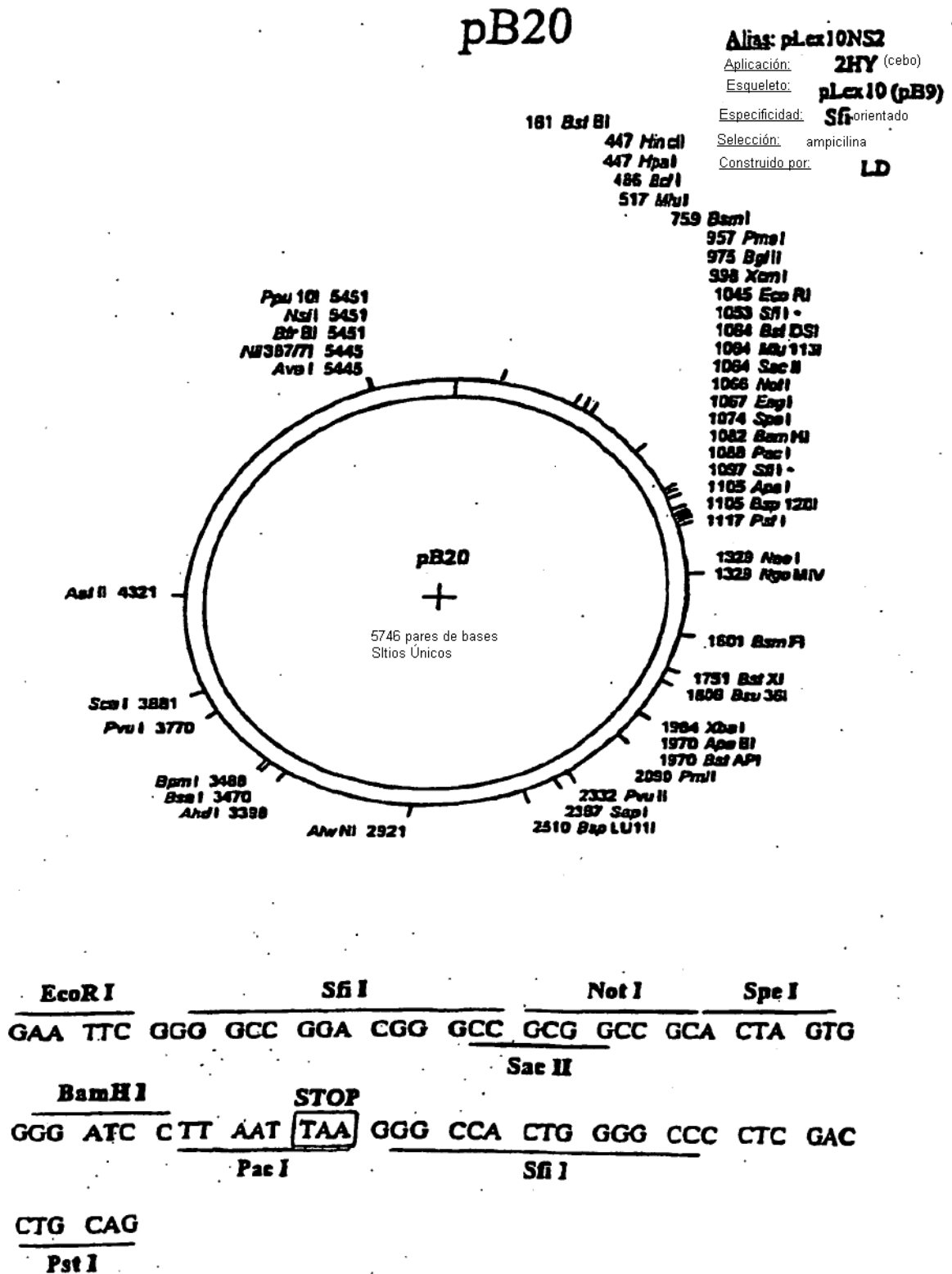


Figura 7

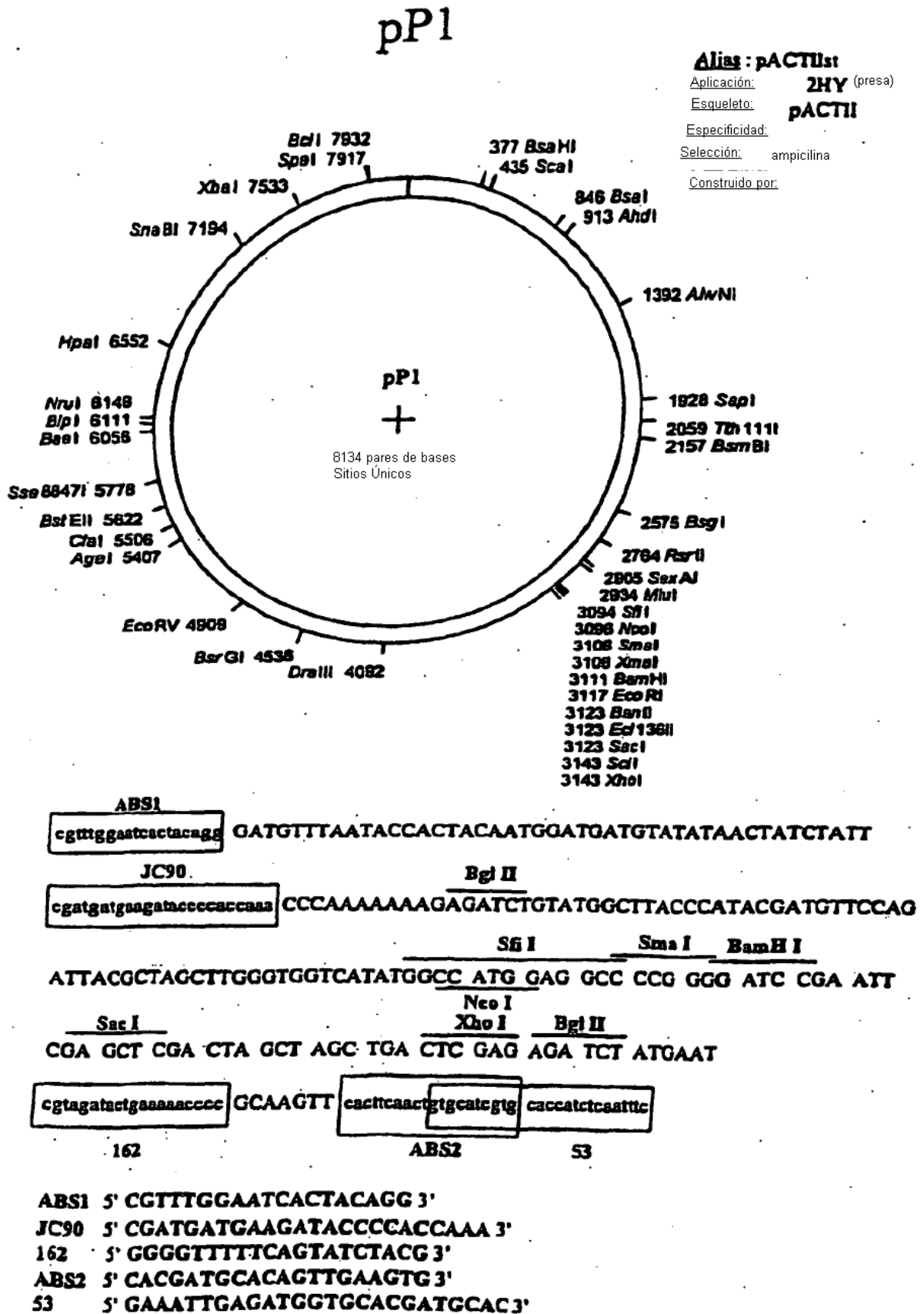


Figura 8

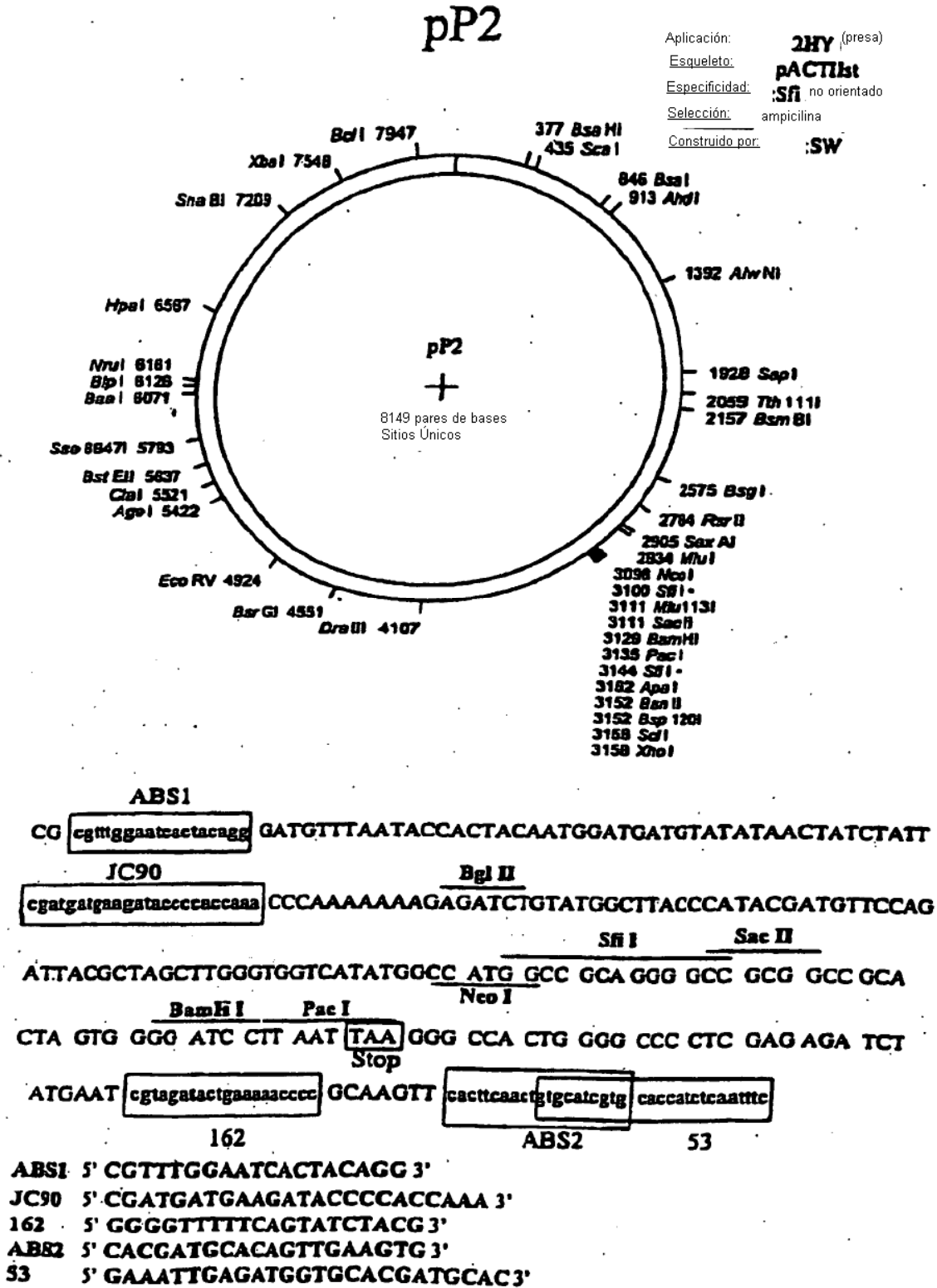
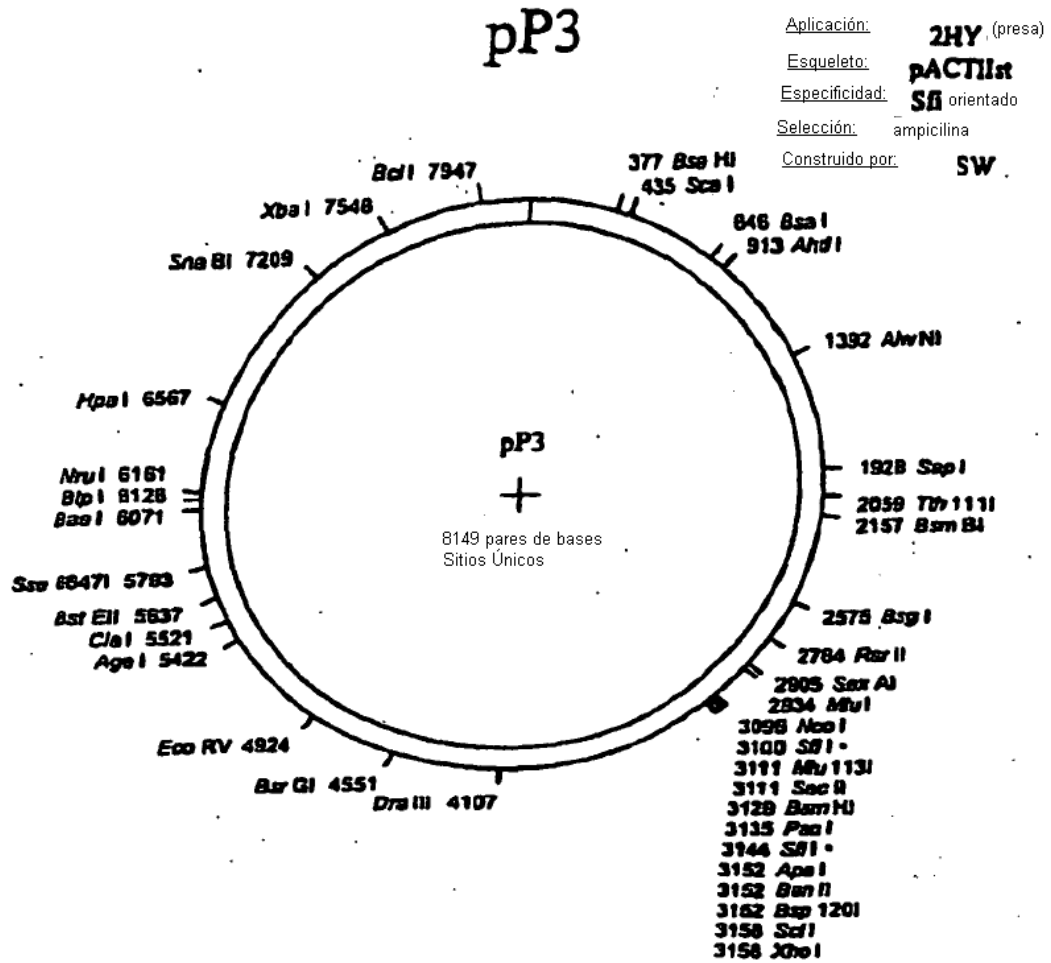


Figura 9



ABS1
CG cgttggaatcactacagg GATGTTTAATACCACTACAATGGATGATGTATATAACTATCTATT

JC90 cgatgatgaagataccccacaaa **Bgl II** CCCAAAAAAGAGATCTGTATGGCTTACCCATACGATGTTCCAG

Sfi I **Sac II**
ATTACGCTAGCTTGGGTGTCATATGGCC ATG GCC GGA CGG GCC GCG GCC GCA

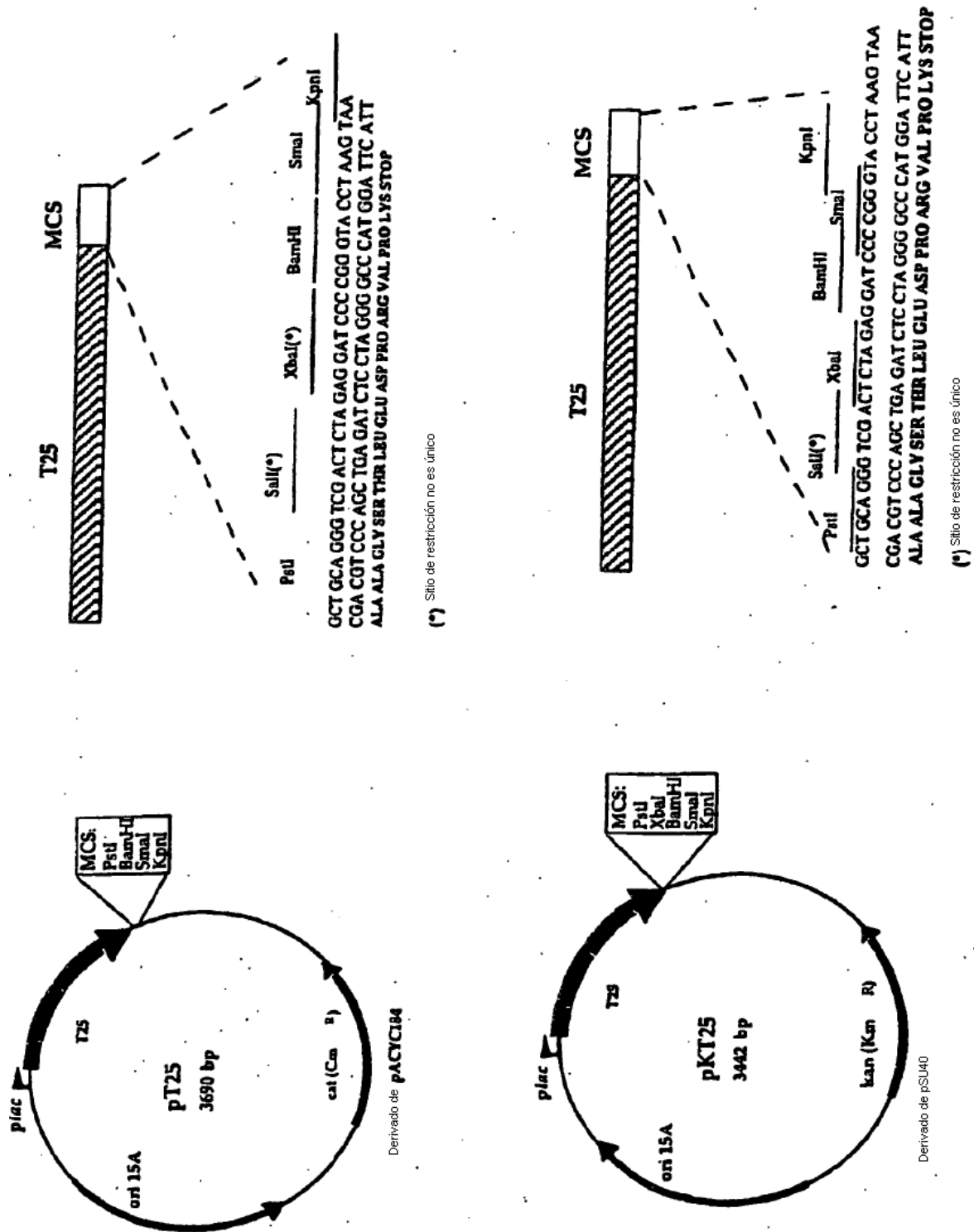
Bam HI **Pac I** **Neo I**
CTA GTG GGG ATC CTT AAT TAA GGG CCA CTG GGG CCC CTC GAG AGA TCT

Stop
ATGAAT cgtagatactgasaanacccc GCAAGTT cacttcaactgtgcatcgtg caccatctcaatttc

162 **ABS2** 53

ABS1 5' CGTTTGGAATCACTACAGG 3'
JC90 5' CGATGATGAAGATACCCACCAAA 3'
162 5' GGGGTTTTTCAGTATCTACG 3'
ABS2 5' CACGATGCACAGTTGAAGTG 3'
53 5' GAAATTGAGATGGTGCACGATGCAC 3'

Figura 12



VECTORS EXPRESSING THE T25 FRAGMENT

Figura 13

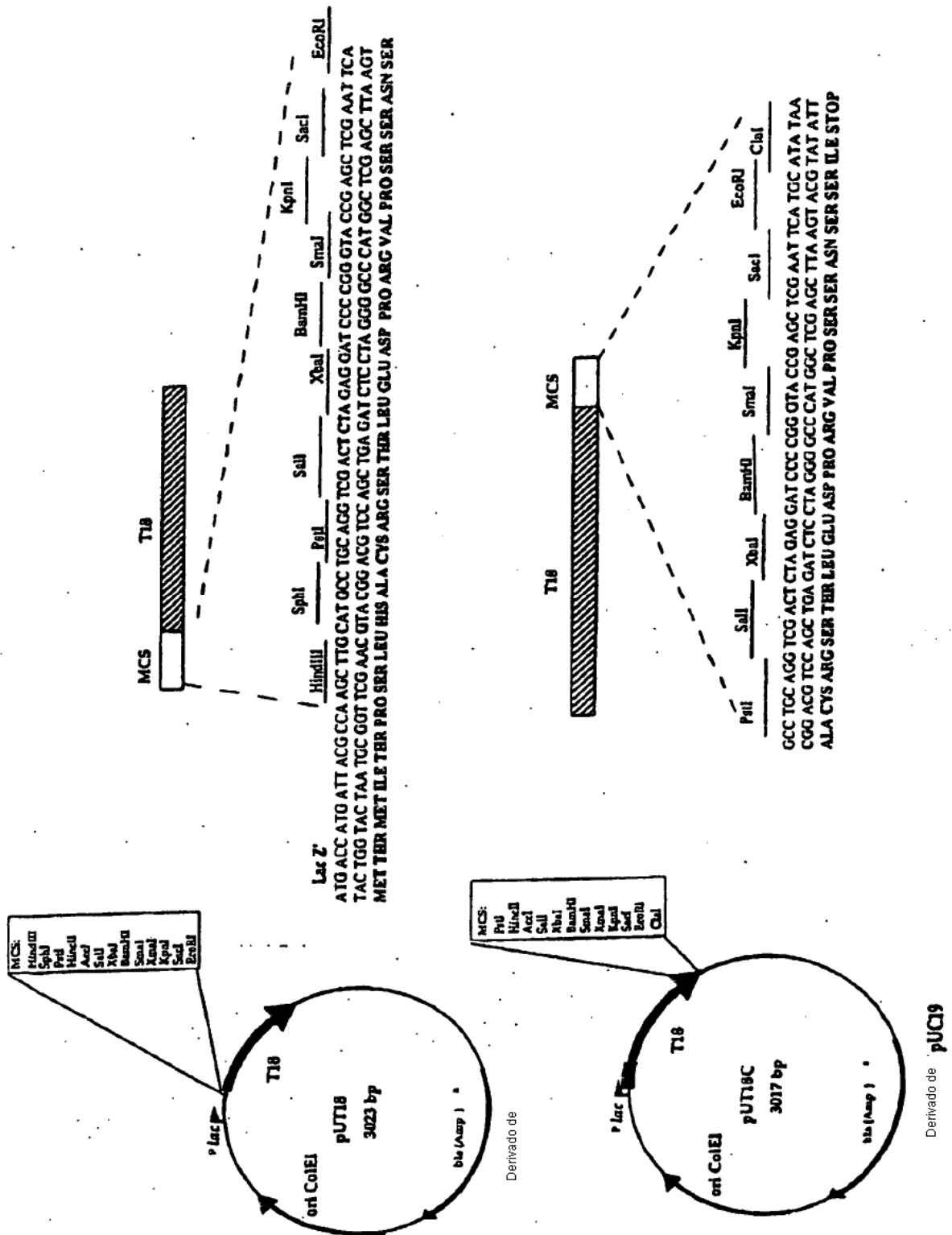
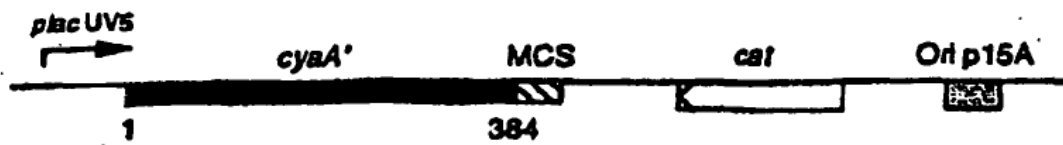
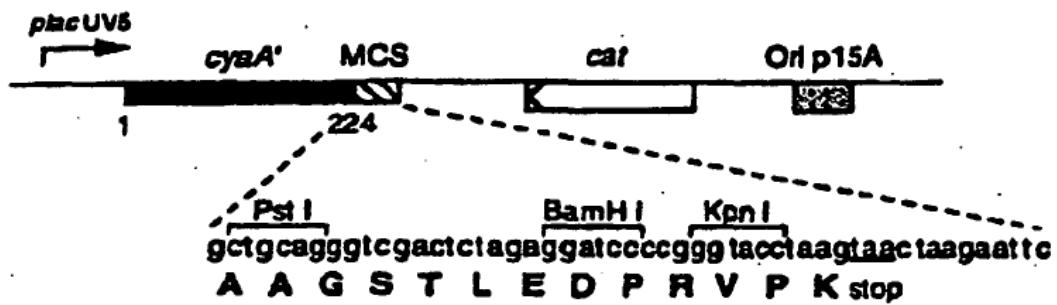


Figura 14

pCmAHL1



pT25



pT18

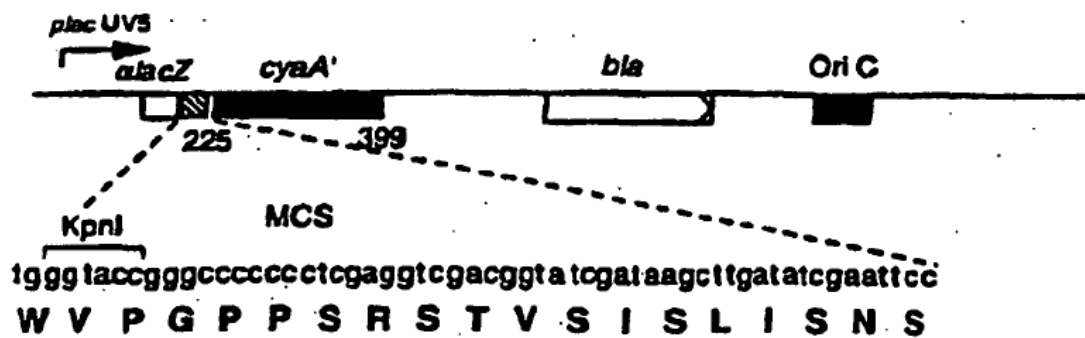


Figura 15

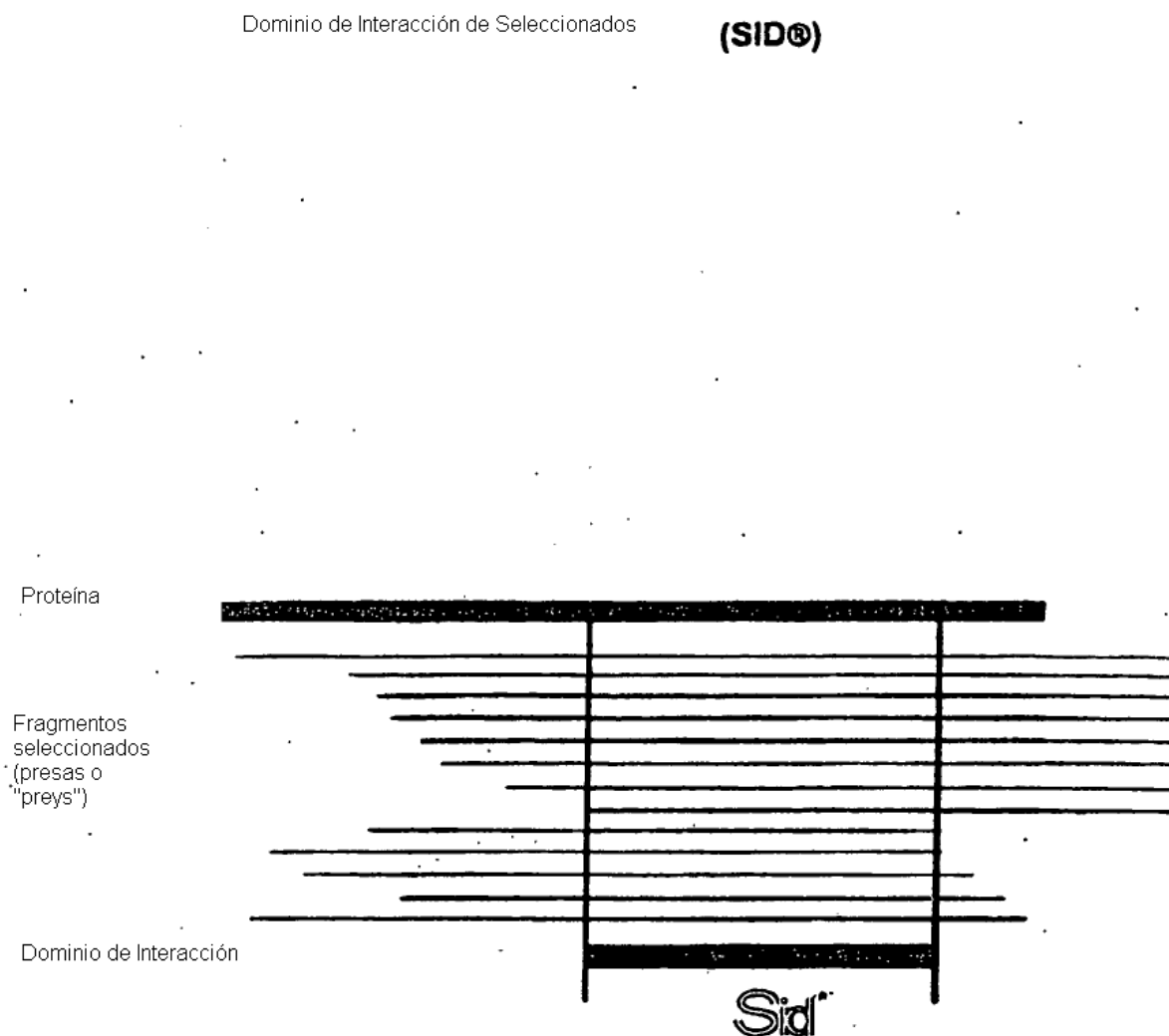
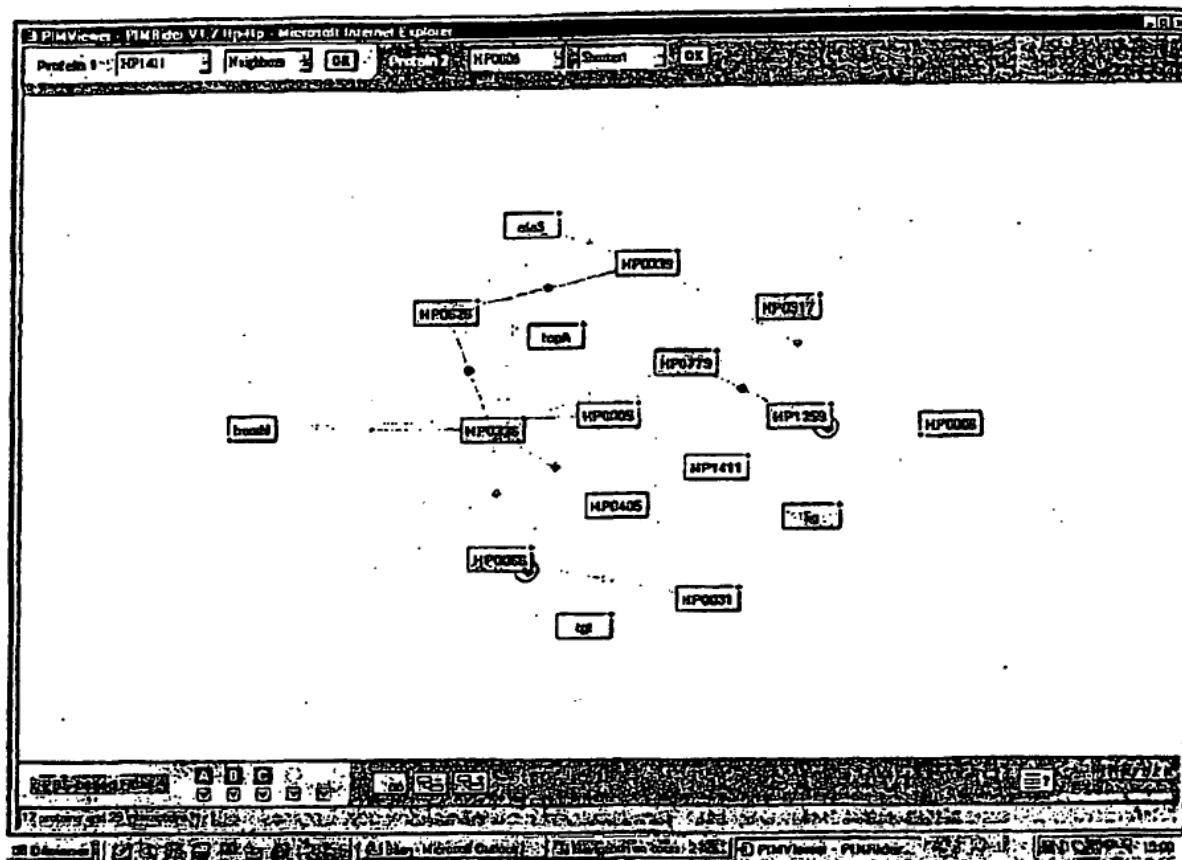
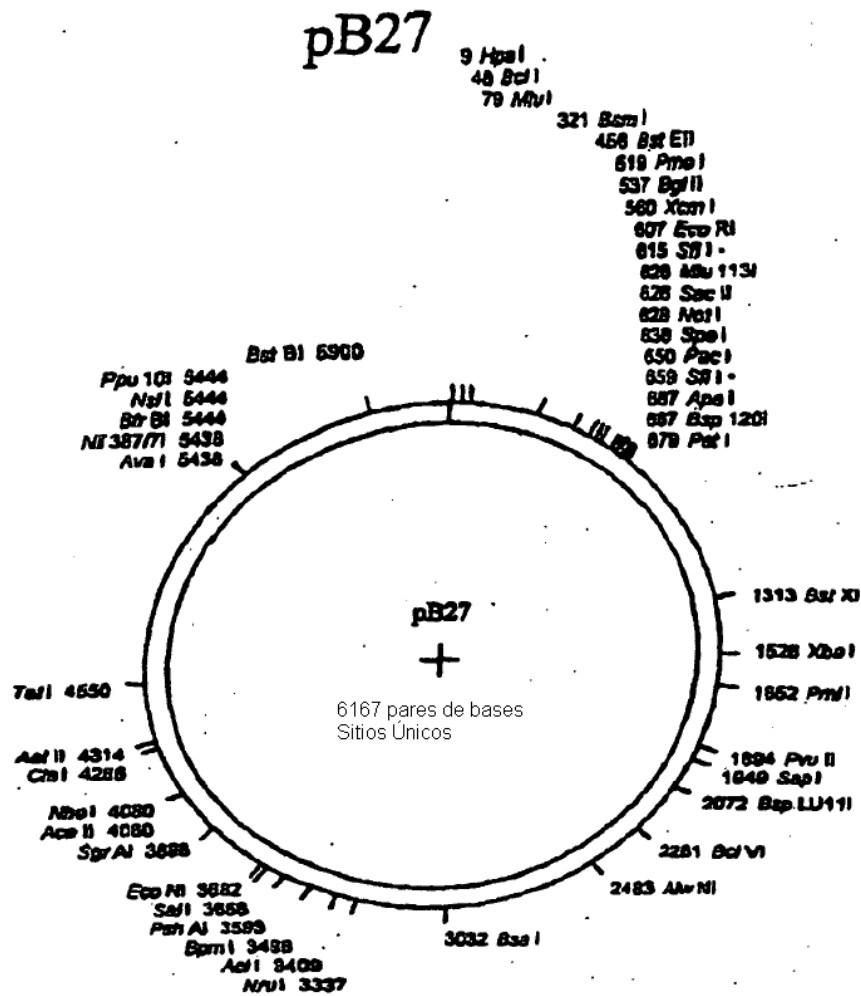


Figura 16



Ejemplo de mapa de interacción de proteínas

Figura 17



oli946

aaagtcgaac **tggtgccagaaaatagcgag** ttaaaccaatgtcgtaatcttcgtca
gcagagcttcaccatngaagggtggcggttgggttattcgcaacggcgactggctg

<u>EcoRI</u>	<u>SfiI</u>	<u>SacII</u>	<u>SpeI</u>
GAA	TTC	GGG	GCC
GGA	CGG	GCC	GCG
GCC	GCA	CTA	GTG
GGG	ATC		

<u>PstI</u>	<u>SfiI</u>	<u>ApaI</u>	<u>NotI</u>	<u>PstI</u>
CTT	AAT	TAA	GGG	CCA
CTG	GGG	CCC	CTC	OAC
CTG	CAO			

oli947

ccaa **gctaattccggcggaatt** tctatgattatgattttattataaataagttataaaaaataa

Oligo 946 5' TGTTGCCAGAAAATAGCGAG 3'

Oligo 947 5' AATTGCGCCCGGAATTAGC 3'

TGAAGGGCTAATTCACCTCCCAACAAAGACAAGATATCCTTGATCTGTGG
 GTCTACCACACACAAGGCTACTTCCCTGATTGGCAGAACTACACACCAGG
 GGGGACTAGATGGCCACTGACCTTTGGATGGTGCTTCAAGCTAGTACCAG
 TTGAGCCAGAGAAGATAGAAGAGGCCAATGCAGGAGAGAACAACCTGCTTG
 TTACACCCTATGAGCCAGCATGGAATGGATGACCCGGAGAGAGAAGGGTT
 AGAGTGGAGGTTTGACAGCCGCCTAGCATTTTCATCACGTGGCCCGAGAGC
 TGCATCCGGAGTACTACAAGAACTGATGACCTCGAGCTTTCTACAAGGGA
 CTTTCCGCTGGGGACTTTCCAGGGAAGCGTGCCCTGGGCGGGACTGGGGA
 GTGGCGAGCCCTCAGATGCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTGCCTGTACTG
 GGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAGCTA
 GGAAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCTTGAGTGCTTTAAGT
 AGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAAGTAGAGATCCCTCAGAC
 CCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACT
 TGAAAGCGAAAGGAAAACAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTT
 GCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCC
 AAAAAATTTTGTACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAG
 CGTCAGTATTAAGTGCGGGGGGAATTAGATAAGTGGGAAAAAATTCGGTTA
 AGGCCAGGGGGAAAGAAACAATATAGATTAACATATAGTATGGGCAAG
 CAGGGAGCTAGAACGATTCGCAGTTGATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAG
 AAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCGTCCCTTCAGACAGGA
 TCAGAAGAGCTTAGATCATTATATAATACAGTAGCCACCCTCTATTGTGT
 ACATCAAAAGATAGAGGTAAGAGACACCAAGGAAGCTTTAGAGAAGATAG
 AGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGAAAAAGCACAGCAAGCAGCAGCTGAC
 ACAGGAAACAGCAGCCAGGTCAGCCAAAATTACCCTATAGTGACAGAACCT
 ACAGGGGCAAATGGTACATCAGGCCATATCACCTAGAAGCTTTAAATGCAT
 GGGTAAAGTAGTGGAAGAGAAGGCGTTCAGCCCAGAAGTAATACCCATG
 TTTTCAGCATTATCAGAAGGAGCCACCCACAAAGATTTAAACACCATGCT
 AAACACAGTGGGGGGACACCAAGCAGCCATGCAAATGTTAAAGAGACCA
 TCAATGAGGAAGCTGCAGAATGGGATAGATTGCATCCAGTGCATGCAGGG
 CCTATTGCACCAGGCCAGATGAGAGAACCAAGGGGAAGTGACATAGCAGG
 AACTACTAGTACCCTTCAGGAACAAATAGGATGGATGACAAATAATCCAC
 CTATCCCAGTAGGAGAAATCTATAAAAGATGGATAATCCTGGGATTAAAT
 AAAATAGTAAGAATGTATAGTCCTACCAGCATTCTGGACATAAGACAAGG
 ACCAAAGGAACCCTTTAGAGATTATGTAGACCGGTTCTATAAAACTCTAA
 GAGCCGAGCAAGCTTCACAGGAGGTAAAAAATTGGATGACAGAAACCTTG
 TTGGTCCAAAATGCGAACCCAGATTGTAAGACTATTTTAAAGCATTGGG
 ACCAGCAGCTACACTAGAAGAAATGATGACAGCATGTCAGGGAGTGGGGG
 GACCCGGCCATAAAGCAAGAGTTTTGGCTGAAGCAATGAGCCAAGTAACA
 AATTCAGCTACCATAATGATGCAGAGAGGCAATTTTAGGAACCAAAGAAA
 AACTGTTAAGTGTTCAATTGTGGCAAAGAAGGGCACATAGCCAAAAATT

Figura 18A

GCAGGGCTCCTAGGAAAAAGGGCTGTTGGAAATGTGGAAAGGAAGGAC/
 CAAATGAAAGATTGTA CTGAGAGACAGGCTAATTTTTTAGGGAAGATCTG
 GCCTTCCCACAAGGGAAGGCCAGGAAATTTTCTTCAGAGCAGACCAGAG
 CAACAGCCCCATCAGAAGAGAGCGTCAGGTTTGGAGAAGAGACAACAAC
 CCCTCTCAGAAGCAGGAGCCGATAGACAAGGAACTGTATCCTTTAGCTTC
 CCTCAGATCACTCTTTGGCAGCGACCCCTCGTCACAATAAAGATAGGGGC
 GCAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAG
 AAGAAATGAATTTGCCAGGAAGATGGAAACCAAAAATGATAGGGGGAATT
 GGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACCCATAGAAATATG
 TGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACA
 TAATTGGAAGAAATCTGTTGACTCAGATTGTTGCACTTTAAATTTCCC
 ATTAGTCCTATTGAACTGTACCAGTAAAATTAAGCCAGGAATGGATGG
 CCCAAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGAAAAATAAAGCATTAG
 TAGAAATTTGTACAGAAATGAAAAGGAAGGGAAAATTTCAAAAATTGGG
 CCTGAAAACCCATACAATACTCCAGTATTTGCCATAAAGAAAAAGACAG
 TACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTAGAGAACTTAATAAGAGAACTC
 AAGACTTCTGGGAAGTTCAATTAGGAATACCACATCCCGCAGGGTTAAAA
 AAGAAAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGTGATGCATATTTTTCAGT
 TCCCTTACATGAAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTA
 TAAACAATGAGACACCAGGGACTAGATATCAGTACAATGTGCTTCCACAG
 GGATGGAAAGGGTCACCAGCAATATTCCAAAGTAGCATGACAACAATCTT
 AGAGCCTTTTAGAAAACAAAATCCAGACCTAGTTATCTATCAGTACATGG
 ATGATTTGTACGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGCATAGAACAAAA
 ATAGAGGAACTGAGACAACATCTGTTGAGGTGGGGATTTACCACACCAGA
 CAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCTTTGGATGGGTATGAACTCC
 ATCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATAGTGCTGCCAGAAAAAGATAGC
 TGGACTGTCAATGACATACAGAAGTTAGTGGGAAAATTGAATTGGGCAAG
 TCAGATTTATGCAGGGATTAAAGTAAGGCAATTATGTAACTCCTTAGGG
 GAACCAAAGCACTAACAGAAGTAATACCACTAACAGAAGAAGCAGAACTA
 GAACTGGCAGAAAACAGGGAAATTCTAAAAGAACCAGTACATGGAGTGTA
 TTATGACCCATCAAAAGACTTGATAGCAGAAATACAGAAGCAGGGGCAAG
 GCCAATGGACATATCAAATTTATCAAGAGCCATTTAAAAATCTGAAAACA
 GGAAAATATGCAAGAACGAGGGGTGCCACACTAATGATGTAAAACAATT
 AACAGAGGCAGTACAAAAAATAGCCACAGAAAGCATAGTAATATGGGGAA
 AGACTCCTAAATTTAACTACCCATACAAAAAGAAACATGGGAAACATGG
 TGGACAGAATATTGGCAAGCCACCTGGATTCTGAGTGGGAGTTTGTCAA
 TACCCCTCCCTTAGTGAAATTATGGTACCAGTTAGAGAAAGAACCCATAA
 TAGGAGCAGAACTTTCTATGTAGATGGGGCAGCTAACAGGGAGACTAAA
 TTAGGAAAAGCAGGATATGTTACTAACAAGGGAAGACAAAAGGTTGTCTC
 CCTAACTGACACAACAAATCAGAAGACTGAGTTACAAGCAATTTATCTAG

Figura 18B

CTTTGCAGGATTCGGGATTAGAAGTAAACATAGTAACAGACTCACAATAT
 GCATTAGGAATCATTCAAGCACAAACCAGATAGAAGTGAATCAGAGTTAGT
 CAGTCAAATAATAGAGCAGTTAATAAAAAAGGAAAAGGTCTATCTGGCAT
 GGGTACCAGCACACAAAGGAATTGGAGGAAATGAACAAGTAGATAAATTA
 GTCAGTGCTGGGATCAGGAAAGTACTATTTTTAGATGGAATAGATAAGGC
 CCAAGAAGAACATGAGAAATATCACAGTAATTGGAGAGCAATGGCTAGTG
 ATTTTAACCTGCCACCTGTAGTAGCAAAAGAAATAGTAGCCAGCTGTGAT
 AAATGTCAGCTAAAAGGAGAAGCCATGCATGGGCAAGTAGACTGTAGTCC
 AGGAATATGGCAACTAGATTGTACACATTTAGAAGGAAAAGTTATCCTGG
 TAGCAGTTCATGTAGCCAGTGGATATATAGAAGCAGAAGTTATTCCAGCA
 GAGACAGGGCAGGAAACAGCATACTTTCTCTTAAAATTAGCAGGAAGATG
 GCCAGTAACAACAATACATACAGACAATGGCAGCAATTTACCAGTGCTA
 CAGTTAAAGCCGCCTGTTGGTGGGCAGGGATCAAGCAGGAATTTGGCATT
 CCCTACAATCCCCAAAGTCAAGGAGTAGTAGAATCTATGAATAAAGAATT
 AAAGAAAATTATAGGACAGGTAAAGAGATCAGGCTGAACATCTTAAGACAG
 CAGTACAAATGGCAGTATTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGGATT
 GGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACAT
 ACAAATAAAGAACTACAGAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGG
 TTTATTACAGGGACAGCAGAGATCCACTTTGGAAAGGACCAGCAAAGCTC
 CTCTGGAAAGGTGAAGGGGCAGTAGTAATACAAGATAATAGTGACATAAA
 AGTAGTGCCAAGAAGAAAAGCAAAGATCATTAGGGATTATGGAAAACAGA
 TGGCAGGTGATGATTGTGTGGCAGGTAGACAGGATGAGGATTAGAGCATG
 GAAAAGTTTAGTAAACACCATATGTATATTTAGGGAAAGCTAGGGGAT
 GGTTTTATAGACATCACTATGAAAGTCCTCATCCAAGAATAAGTTCAGAA
 GTACACATCCCACTAGGGGATGCTAAATTGGTAATAACAACATATTGGGG
 TCTGCACACAGGAGAAAGAGACTGGCATTGTTGGTCAGGGAGTCTCCATAG
 AATGGAGGAAAAAGAGATATAGCACACAAGTAGACCCTGACCTAGCAGAC
 CAACTAATTCATCTGTATTACTTTGATTGTTTTTCAGAATCTGCTATAAG
 AAAGGCCATATTAGGATATAGAGTTAGTCCTAGGTGTGAATATCAAGCAG
 GACATAACAAGGTAGGATCTCTACAGTACTTGGCACTAACAGCATTATA
 ACACCAAAAAAGACAAAGCCACCTTTGCCTAGTGTTAAAAAACTGACAGA
 GGATAGATGGAACAAGCCCCAGAAGACCAAGGGCCACAGAGGGAGCCGCA
 CAATGAATGGACACTAGAGCTTTTAGAGGAGCTTAAGAGAGAAGCTGTTA
 GACATTTTCCTAGGCCATGGCTACATGGCTTAGGACAACATATCTATGAA
 ACTTATGGAGATACTTGGGCAGGAGTGGAAAGCCATAATAAGAATTCTGCA
 ACAACTGCTGTTTATTCATTTAGAAATTGGGTGTCAACATAGCAGAATAG
 GCATTATTCAACAGAGGAGAGCAAGAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTAA
 CCTAGAGCCCTGGAAGCATCCAGGAAGTCAGCCTAGGACTGCTTGTAACA
 ATTGCTATTGTAAAAGTGTTGCTTTCATTGCCAAGTTTGTTTTACAAAA
 AAAGGCTTAGGCATCTCCTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAG

Figura 18C

ACCTCCTCAGGACAGTCAGACTCATCAAAGTTCTCTATCAAAGCAGTAAG
 TAGTACATGTACTGCAATCTTTACAAGTATTAGCAATAGTAGCATTAGTA
 GTAGCAACAATAATAGCAATAGTTGTGTGGACCATAGTATTCATAGAATA
 TAGGAAAATATTAAGACAAAGGAAAATAGACAGGTAAATTAATAGAATAA
 CAGAAAGAGCAGAAGACAGTGGCAATGAGAGCGACGGAGATCAGGAAGAA
 TTATCAGCACTTGTGGAAAGGGGGCACCTTGCTCCTTGGGATGTTGATGA
 TCTGTAGTGTCTGCAGAACAATTGTGGGTCAAGTCTATTATGGGGTACCT
 GTGTGGAAAGAAGCAACCACCACTCTATTTTGTGCATCAGATGCTAAAGC
 ATATGATACAGAGGTACATAATGTTTGGGCCACACATGCCTGTGTACCCA
 CAGACCCCAACCCACAAGAAGTAAAATTGGAAAATGTGACAGAAAATTTT
 AACATGTGGAAAAATAACATGGTAGAACAATGCATGAGGATATAATCAG
 TTTATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTGTAAAATTAATCCACTCTGTG
 TTACTTTAAATTGCACTGATTTAAGGAATGCTACTAATACCACTAGTAGT
 AGCTGGGAAACGATGGAGAAAGGAGAAATAAAAACTGCTCTTTCAATAT
 CACCACAAGCATAAGAGATAAGGTACAGAAAGAATATGCACTTTTTTATA
 ACCTTGATGTAGTACCAATAGATAATGCTAGCTATAGGTTGATAAGTTGT
 AACACCTCAGTCATTACACAGGCCTGTCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAAT
 TCCCATACATTATTGTGCCCCGGCTGGTTTTGCGATTCTAAATGTAATG
 ATAAAAAGTTCAATGGAACAGGACCATGTACAAATGTCAGCACAGTACAA
 TGTACACATGGAATTAGGCCAGTAGTATCAACTCAACTGCTGTAAATGG
 CAGTCTAGCAGAAGAAGAGATAGTAATTAGATCTGAAAATTTACAAACA
 ATGCTAAAACTATAATAGTACAGCTGAACGAATCTGTAGTAATTAATTGT
 ACAAGACCCAACAACAATACAAGAAAAAGTATAAATATAGGACCAGGGAG
 AGCATTGTATACAACAGGAGAAATAATAGGAGATATAAGACAAGCACATT
 GTAACCTTAGTAAACACAATGGGAAAACACTTTAGAACAGATAGCTATA
 AAATTAAGAACAATTTGGGAATAATAAAACAATAATCTTTAATCCATC
 CTCAGGAGGGGACCCAGAAATTGTAACACACAGTTTTAATTGTGGAGGGG
 AATTTTTCTACTGTAATTCAACACAAGTGTACTTGAATGATACTAGA
 AAGTTAAATAACACTGGAAGAAATATCACACTCCCATGTAGAATAAAACA
 AATTATAAATATGTGGCAGGAAGTAGGAAAAGCAATGTATGCCCCTCCA
 TCAGAGGACAAATTAGATGTTTCATCAAATATTACAGGGCTGCTATTAACA
 AGAGATGGTGGTAAGGACACGAACGGGACTGAGATCTTCAGACCTGGAGG
 AGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAG
 TAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTG
 GTGCAGAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGACTAGGAGCTTTGTTCTTGGGTT
 CTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATAACGCTGACGG
 TACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAACAGCAGAACAACTCTG
 CTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCACCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGG
 CATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAGTCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAGGG
 ATCAACAGCTCCTAGGGATTTGGGGTTGCTCTGGAAAACCTATTGTCACC

Figura 18D

ACTACTGTGCCTTGAATACTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGAATGAAAT
 TTGGGATAACATGACTTGGATGAAGTGGGAAAGAGAAATTGACAATTACA
 CACACATAATACTCCTTAATTGAACAATCGCAGAACCAACAAGAAAAG
 AATGAACAAGAATTATTGGCATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTG
 GTTTGACATAACAAAATGGCTGTGGTATATAAAAATATTCATAATGATAG
 TAGGAGGCTTGATAGGTTTAAGAATAGTTTTTGTGTACTTTCTATAGTG
 AATAGAGTTAGGCAGGGATACTCACCATTATCGTTTCAGACCCACCTCCC
 AGCTCAGAGGGGACCCGACAGGCCCGACGGAATCGAAGAAGAAGGTGGAG
 AGAGAGACAGAGACAGATCCGGTCCATTAGTGGATGGCTTCTTAGCAATT
 ATCTGGGTGACCTACGGAGCCTGTGCCTTTTCAGCTACCACCGCTTGAG
 AGACTTACTCTTGATTGTAACGAGGATTGTGGAACCTTCTGGGACGCAGGG
 GGTGGGGAGTCCTCAAATATTGGTGGAAATCTCCTCCAGTATTGGATTGAG
 GAACTAAAGAATAGTGCTGTTAGCTTGCTCAACGCCACAGCTATAGCAGT
 AGCTGAGGGAACAGATAGGGTTATAGAAATATTACAAAGAGCTTTTAGAG
 CTGTTCTTCACATACCTGTAAGAATAAGACAGGGCTTGGAAAGAGCTTTG
 CTATAAGATGGGTGGCAAGTGGTCAAACGTAAGTATGGCTGGATGGCCTA
 CTGTAAGGGAAAGAATGAGACGAGCCGAGCCAGCAGCAGAAAGAATGAGA
 CGAGCTGAGCCAGCAGCAGATGGGGTGGGAGCAGTATCTCGAGACCTGGA
 AAGACATGGAGCAATCACAAGTAGCAATACAGCAGCTACTAATGCTGATT
 GTGCCTGGCTAGAAGCACAAGAGGAGGAGGAGGTGGGTTTTCCAGTCAGA
 CCTCAGGTACCTTTAAGACCAATGACTCACAAGGCAGCTATGGATCCTAG
 CCACTTTTTTAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCCTCCCAAC
 AAAGACAAGATATCCTTGATCTGTGGGTCTACCACACACAAGGCTACTTC
 CCTGATTGGCAGAACTACACACCAGGGGGGACTAGATGGCCACTGACCTT
 TGGATGGTGCTTCAAGCTAGTACCAGTTGAGCCAGAGAAGATAGAAGAGG
 CCAATGCAGGAGAGAACAACCTGCTTGTTACACCCTATGAGCCAGCATGGA
 ATGGATGACCCGGAGAGAGAAGGGTTAGAGTGGAGGTTTGACAGCCGCCT
 AGCATTTTCATCACGTGGCCCGAGAGCTGCATCCGGAGTACTACAAGAACT
 GATGACCTCGAGCTTTCTACAAGGGACTTTCCGCTGGGGACTTTCCAGGG
 AAGCGTGGCCTGGGCGGGACTGGGGAGTGGCGAGCCCTCAGATGCTGCAT
 ATAAGCAGCTGCTTTTGCCTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCT
 GAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAGCTAGGAAACCCACTGCTTAAGCCTCAA
 TAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTTAAGTAGTGTGTGCCCCGTCTGTTGTGTGA
 CTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAATCT
 CTAGCA.

Figura 18E

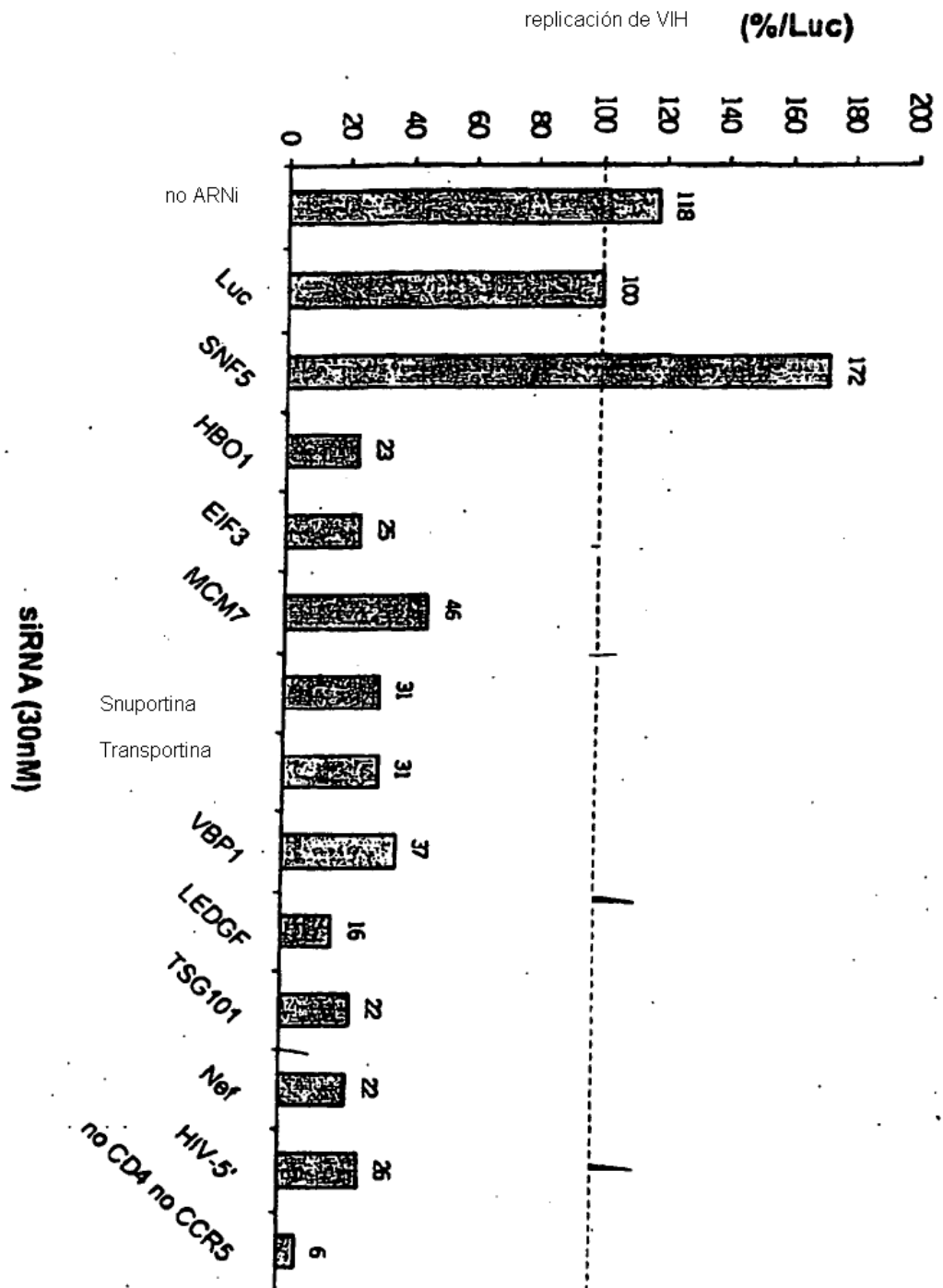


Figura 19



Figura 20

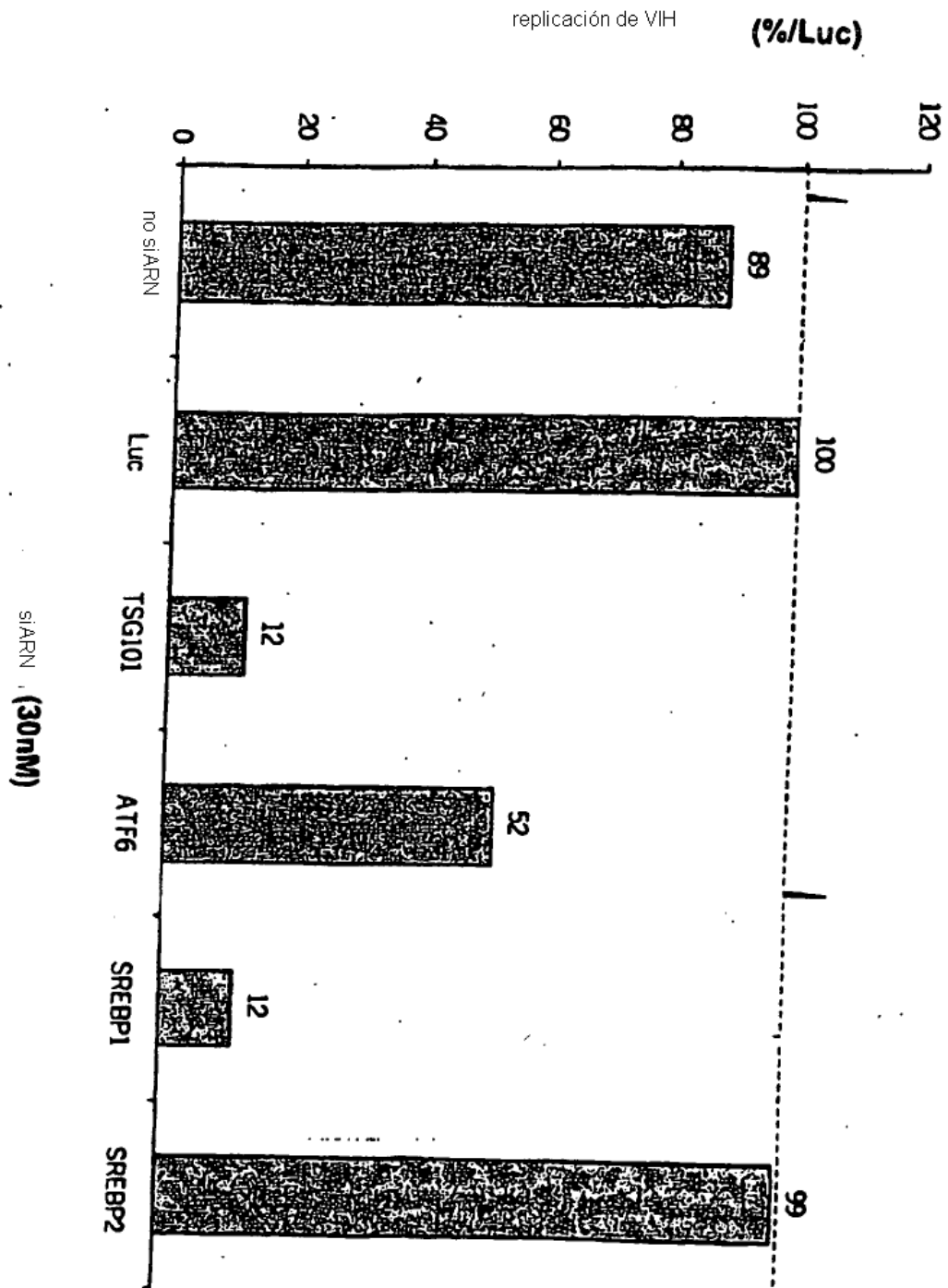


Figura 21

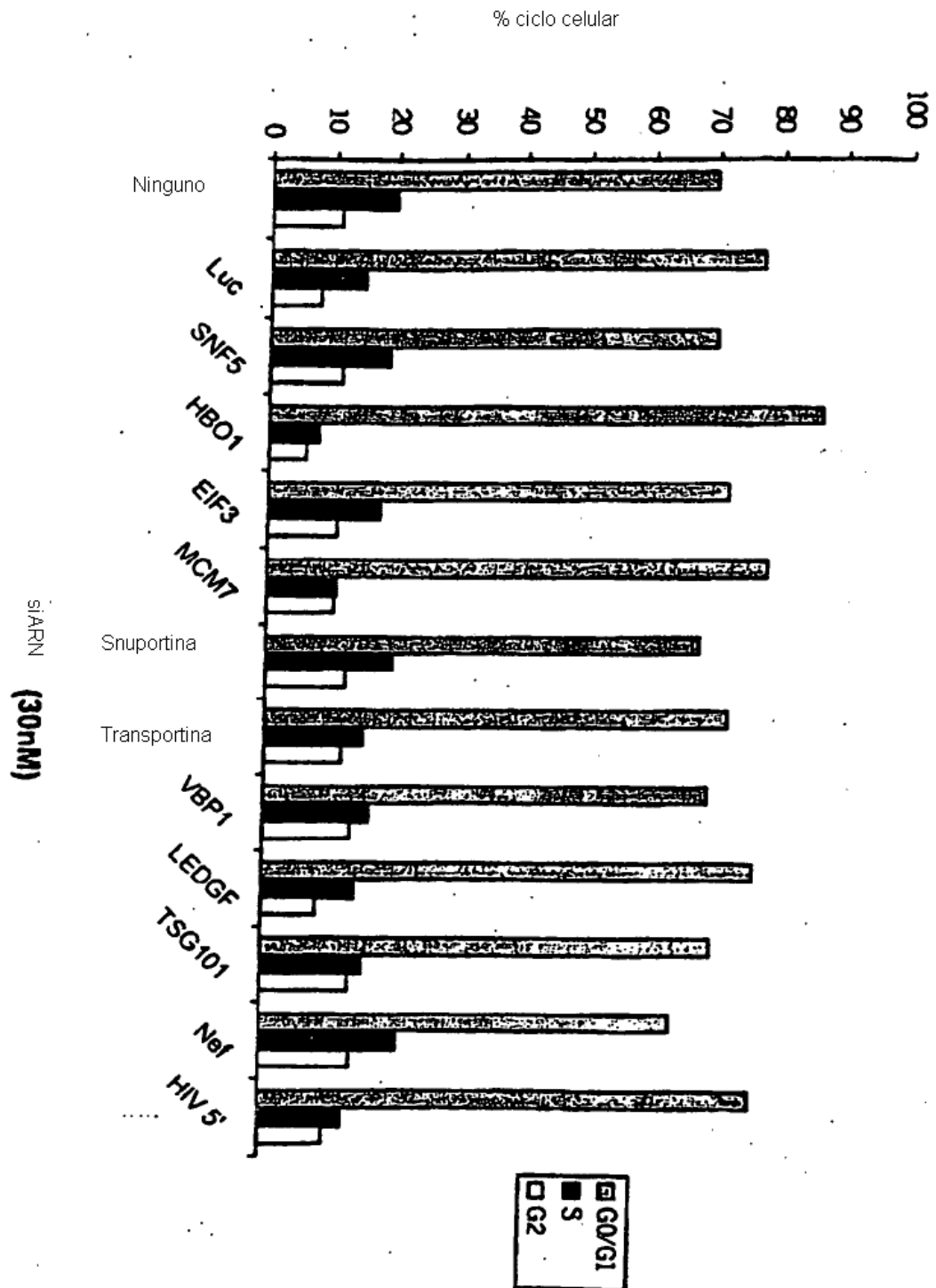


Figura 22

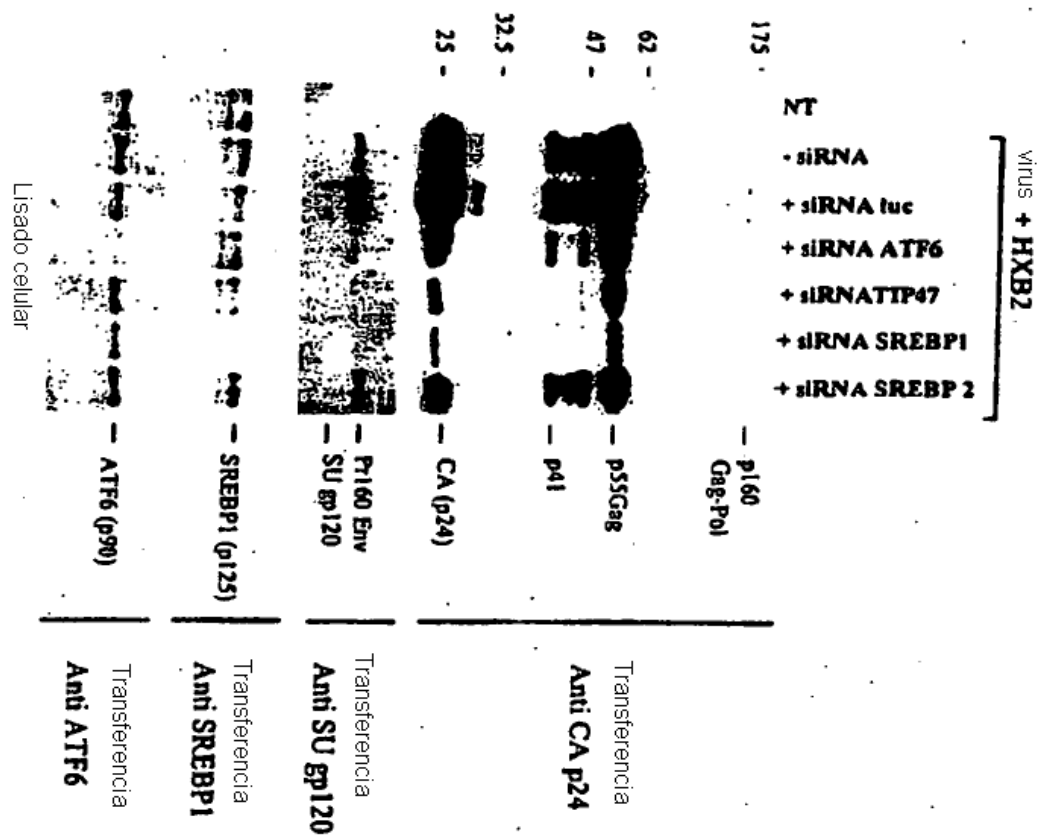


Figura 23

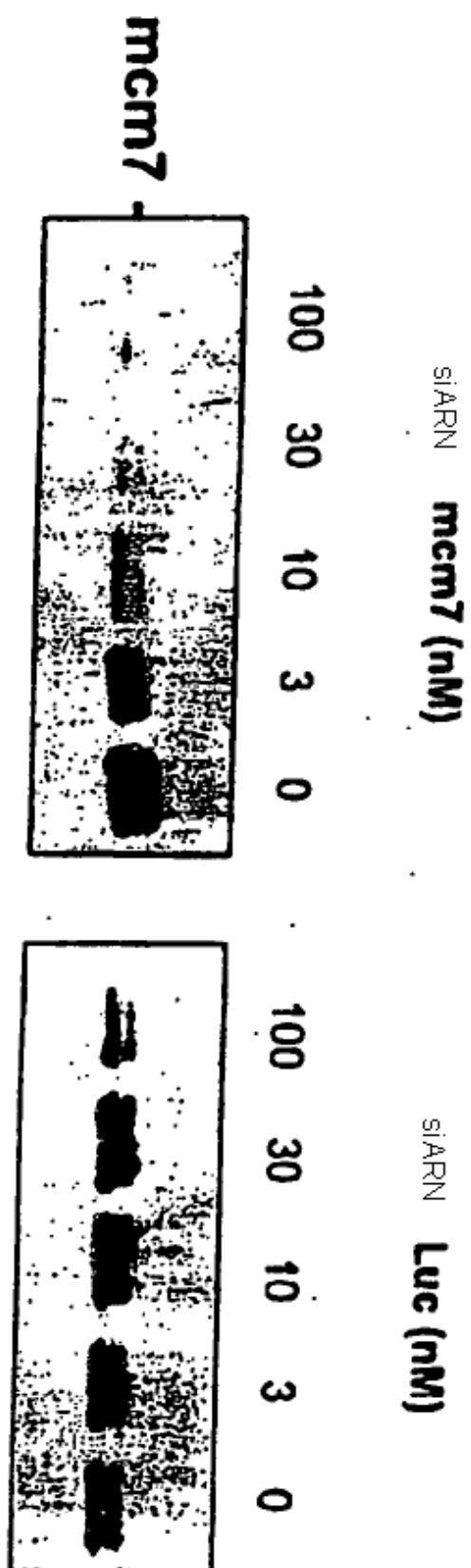


Figura 24