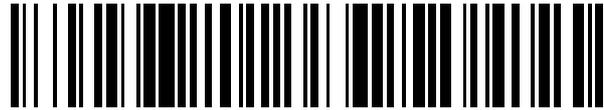


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 530 694**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**C12P 21/04** (2006.01)

**C12P 21/06** (2006.01)

**C12Q 1/70** (2006.01)

**G01N 33/567** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2005 E 05736317 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.12.2014 EP 1742658**

54 Título: **Factor de permisividad celular para virus, y usos del mismo**

30 Prioridad:

**23.04.2004 US 565214 P**

**09.12.2004 US 634736 P**

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

**04.03.2015**

73 Titular/es:

**ZOETIS P&U LLC (100.0%)  
100 Campus Drive  
Florham Park, NJ 07932 , US**

72 Inventor/es:

**CALVERT, JAY, GREGORY;  
SHIELDS, SHELLY, LYNN;  
SLADE, DAVID, EWELL y  
WELCH, SIAO-KUN, WAN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 530 694 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

Factor de permisividad celular para virus, y usos del mismo

### Campo de la invención

5 La presente invención proporciona procedimientos relacionados con la generación de células hospedadoras permisivas para el crecimiento de virus para virus SRRP de la familia *Arteriviridae*.

### Antecedentes de la invención

#### Arteriviridae

10 Los virus de la familia de los *Arteriviridae* incluyen el virus de la arteritis equina (VAE), el virus elevador de lactato deshidrogenasa (VLD) y el virus de la fiebre hemorrágica de simios (VFHS). El Arterivirus que tiene la mayor importancia económica es el virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (VSRRP).

#### VSRRP

15 El virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (VSRRP) es una de las enfermedades económicamente más importantes de los cerdos. El síndrome apareció de manera prácticamente simultánea en Norte América y en Europa Occidental a finales de la década de 1980, y desde entonces se ha extendido hasta convertirse en endémico en las principales naciones productoras de porcino de Europa, Asia, y América. El agente etiológico del SRRP es un virus que se ha denominado virus del SRRP o VSRRP. Para el SRRP europeo y americano, la enfermedad se caracteriza por la incapacidad reproductiva de las cerdas y cerdas jóvenes (abortos tardíos, mortinatos, y momias), por una elevada mortalidad en lechones, y por enfermedad respiratoria en cerdos de todas las edades. La enfermedad ha sido objeto de revisiones recientes (Mengeling y Lager, 2000; Murtaugh y col., 2002; Nodelijk, 2002; Plagemann, 2003).

20 En cerdos, la infección por VSRRP está limitada a un subconjunto de células del linaje de monocitos/macrófagos. Las células de macrófagos alveolares porcinos (MAP) totalmente diferenciadas son las células diana principales para la replicación viral (Duan y col., 1997a; Duan y col., 1997b). La inmortalización de las células MAP es técnicamente difícil, y cuando se realiza de manera exitosa, ha dado lugar a líneas celulares no permisivas al crecimiento del virus del SRRP (Weingartl y col., 2002). Los viriones del SRRP se unen específicamente a macrófagos y se internalizan en depresiones revestidas de clatrina mediante endocitosis. La liberación de vesículas endocíticas necesita un pH ácido (Nauwynck y col., 1999). La unión inicial de los viriones está mediada por la interacción de la proteína de la matriz viral con glicosaminoglicanos de sulfato de heparina (Delputte y col., 2002). La internalización puede facilitarse por una glucoproteína de membrana de 210 o 220 kDa, ya que la incubación de células MAP con anticuerpos monoclonales para este péptido bloquean la infección por el virus del SRRP (Duan y col., 1998; Wissink y col., 2003). La glucoproteína de 210 kDa se ha identificado recientemente como sialoadhesina, un miembro de la familia siglec de lectinas de tipo inmunoglobulina de unión a ácido siálico (Pensaert y col., 2003). La transfección de la línea celular PK15 (riñón porcino) no permisiva con sialoadhesina porcina confirió la capacidad de internalizar las partículas de VSRRP, pero se mantuvo un bloqueo aparente en la etapa de descapsidación, ya que los viriones entraron en vesículas celulares, pero no sufrió desintegración de la nucleocápsida y la fusión a la membrana de la vesícula. Los genes virales no se expresaron, y las células PK-15 transfectadas se hicieron no permisivas al virus del SRRP (Venderheijden y col., 2003). Hasta donde se sabe, no se ha demostrado que la transfección con sialoadhesina sea suficiente para convertir a cualquier línea celular no permisiva a VSRRP a un fenotipo permisivo a VSRRP.

30 Aparte de células porcinas primarias de linaje de monocitos/macrófagos, el otro único tipo celular conocido como permisivo para el crecimiento de VSRRP en cultivo celular es la línea celular de riñón de mono inmortalizada MA-104 (Chladek y col., 1998) y derivados, tales como MARC-145 (Kim y col., 1993) y CL-2621. Se desconoce por qué esta línea celular particular es permisiva, pero otras líneas celulares de mamífero no. El virus del SRRP se une específicamente a una variedad de tipos celulares distintos, pero no inicia la infección (Kreutz, 1998; Therrien y col., 2000). En células MARC-145, la internalización del virus mediante endocitosis y la posterior desencapsidación en vesículas de pH bajo parece imitar eventos similares en las células MAP (Kreutz y Ackermann, 1996). Sin embargo, una variedad de anticuerpos monoclonales que se unen a sialoadhesina porcina no consiguen detectar una proteína homóloga sobre la superficie de las células MARC-145 (Duan y col., 1998; Wissink y col., 2003), lo que sugiere que las células MARC-145 pueden usar un miembro divergente de la misma familia de proteínas o un receptor completamente diferente.

35 Las vacunas actuales para el VSRRP se propagan en líneas celulares de simio, lo que es una actividad potencialmente peligrosa. El uso de líneas celulares de simio para la producción de vacunas tiene el potencial de introducir virus de primate en líneas porcinas destinadas a su uso para xenotrasplante. Debido a que cada vez más se exploran los cerdos como fuente de órganos xenotrasplantados para seres humanos, la introducción de líneas celulares de primate a poblaciones de cerdos puede suponer en último lugar un riesgo para los seres humanos que reciban órganos xenotrasplantados. Por lo tanto, sería prudente evitar el uso de líneas celulares de simio en las preparaciones de vacunas porcinas. Por lo tanto sería deseable identificar o generar células que no sean de simio o

líneas celulares que sean capaces de soportar la replicación del VSRRP. Hacia este fin, es esencial identificar productos génicos que puedan ser responsables de conferir la permisividad para la replicación del VSRRP tal como se ha observado en determinadas líneas celulares de simio así como en células MAP. Una vez se han identificado dichos productos génicos, las células no permisivas pueden hacerse permisivas mediante la transfección del gen esencial a éstas, de este modo proporcionando una variedad más amplia de líneas de producción para una vacuna.

Un laboratorio ha comunicado que la proteína tetraspanina CD151 de células MRC-145, cuando se transfecta a células BHK-21 no permisivas, confiere permisividad al virus del SRRP (Kapil y Shanmukhappa, 2003; Shanmukhappa y Kapil, 2001). Esta observación todavía está por confirmar por un laboratorio independiente. En el presente documento se describe un polipéptido no relacionado, que cuando se transfecta a células no permisivas, confiere permisividad al virus del SRRP.

#### Referencias citadas

Chladek, D. W., Harris, L. L., y Gorcyca, D. E. Method of growing and attenuating a viral agent associated with mystery swine disease. Boehringer Ingelheim Animal Health, Inc. 677.585[US 5.840.563], 1-24. 24-11-1998. EE.UU. 9-7-1996. Tipo de Ref: Patente.

Dea, S., Gagnon, C.A., Mardassi, H., Pirzadeh, B., y Rogan, D. (2000). Current knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates [Revisión]. Arch. Virol. 145, 659-688.

Delputte, P.L., Vanderheijden, N., Nauwynck, H.J., y Pensaert, M.B. (2002). Involvement of the matrix protein in attachment of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to a heparinlike receptor on porcine alveolar macrophages. J. Virol. 76, 4312-4320.

Duan, X., Nauwynck, H.J., y Pensaert, M.B. (1997a). Effects of origin and state of differentiation and activation of monocytes/macrophages on their susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). Arch. Virol. 142, 2483-2497.

Duan, X., Nauwynck, H.J., y Pensaert, M.B. (1997b). Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). Vet. Microbiol. 56, 9-19.

Duan, X.B., Nauwynck, H.J., Favoreel, H.W., y Pensaert, M.B. (1998). Identification of a putative receptor for porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine alveolar macrophages. J. Virol. 72, 4520-4523.

Graversen, J.H., Madsen, M., y Moestrup, S.K. (2002). CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma. [Revisión] [19 refs]. International Journal of Biochemistry & Cell Biology 34, 309-314.

Gronlund J. Vitved L. Lausen M. Skjodt K. Holmskov U. Cloning of a novel scavenger receptor cysteine-rich type I transmembrane molecule (M160) expressed by human macrophage. Journal of Immunology 165(11):6406-6415, 2000.

Kapil, S. y Shanmukhappa, K. Host susceptibility factor(s) for porcine reproductive and respiratory syndrome virus and uses in swine breeding, as a target for antiviral compounds, and development of a non-simian recombinant cell line for propagation of the virus. none. US 2003/0186236 A1, 1-45. 2-10-2003. EE.UU. 28-1-2002. Tipo de Ref: Patente.

Kim, H.S., Kwang, J., Yoon, I.J., Joo, H.S., y Frey, M.L. (1993). Enhanced replication of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a homogenous subpopulation of MA-104 cell line. Arch. Virol. 133, 477-483.

Kreutz, L.C. (1998). Cellular membrane factors are the major determinants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus tropism. Virus Res. 53, 121-128.

Kreutz, L.C. y Ackermann, M.R. (1996). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus enters cells through a low pH-dependent endocytic pathway. Virus Res. 42, 137-147.

Mengeling, W.L. y Lager, K.M. (2000). A brief review of procedures and potential problems associated with the diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome. Veterinary Research 31, 61-69.

Meulenberg, J.J.M. (2000). PRRSV, the virus. Veterinary Research 31, 11-21.

Murtaugh, M.P., Xiao, Z.G., y Zuckermann, F. (2002). Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection [Review]. Viral Immunology 15, 533-547.

Nauwynck, H.J., Duan, X., Favoreel, H.W., Van Oostveldt, P., y Pensaert, M.B. (1999). Entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages via receptor-mediated endocytosis. J. Gen.

Viol. 80, 297-305.

Nodelijk,G. (2002). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) with special reference to clinical aspects and diagnosis - A review [Revisión]. Vet. Quart. 24,95-100.

5 Pensaert, M., Nauwynck, H., y Vanderheijden, N. Nucleic acid encoding polypeptide involved in cellular entrance of the PRRS virus. Akzo Nobel N.V. and Universiteit Gent. WO 03/010200 A2, 1-24. 6-2-2003. 18-7-2002. Tipo de Ref: Patente.

10 Philippidis,P., Mason,J.C., Evans,B.J., Nadra,I, Taylor,K.M., Haskard,D.O., y Landis,R.C. (2004). Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis - Antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. Circulation Research 94, 119-126.

Plagemann,P.G.W. (2003). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: Origin hypothesis. Emerging Infectious Diseases 9, 903-908.

15 Ritter,M., Buechler,C., Langmann,T., y Schmitz,G. (1999). Genomic organization and chromosomal localization of the human CD163 (M130) gene: a member of the scavenger receptor cysteine-rich superfamily. Biochemical & Biophysical Research Communications 260, 466-474.

Sanchez-Torres,C., Gomez-Puertas,P., Gomez-del-Moral,M., Alonso,F., Escribano,J.M., Ezquerra,A., y Dominguez,J. (2003). Expression of porcine CD163 on monocytes/macrophages correlates with permissiveness to African swine fever infection. Arch. Virol. 148, 2307-2323.

20 Shanmukhappa,K. y Kapil,S. (2001). Cloning and identification of MARC-145 cell proteins binding to 3'UTR and partial nucleoprotein gene of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Adv. Exp. Med. Biol. 494, 641-646.

Snijder,E.J. y Meulenberg,J.J.M. (2001). Arteriviruses. In Fields Virology, D.M.Knipe, P.M.Howley, D.E.Griffin, M.A.Martin, R.A.Lamb, B.Roizman, y S.E.Straus, Eds. (Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins), págs.1205-1220.

25 Therrien,D., St Pierre,Y., y Dea,S. (2000). Preliminary characterization of protein binding factor for porcine reproductive and respiratory syndrome virus on the surface of permissive and non-permissive cells. Arch. Virol. 145, 1099-1116.

30 Vanderheijden,N., Delputte,P.L., Favoreel,H.W., Vandekerckhove,J., Van Damme,J., van Woensel,P.A., y Nauwynck,H.J. (2003). Involvement of sialoadhesin in entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages. J. Virol. 77, 8207-8215.

Weingartl,H.M., Sabara,M., Pasick,J., van Moorlehem,E., y Babiuk,L. (2002). Continuous porcine cell lines developed from alveolar macrophages - Partial characterization and virus susceptibility. J. Virol. Methods 104, 203-216.

35 Wissink,E.H.J., van Wijk,H.A.R., Pol,J.M.A., Godeke,G.J., van Rijn,P.A., Rottier,P.J.M., y Meulenberg,J.J.M.(2003).Identification of porcine alveolar macrophage glycoproteins involved in infection of porcine respiratory and reproductive syndrome virus. Arch. Virol. 148, 177-187.

### Sumario de la invención

40 La invención incluye un procedimiento *in vitro* para facilitar la infección de una célula de vertebrado por un virus del SRRP, que comprende la etapa de dirigir la expresión aumentada de un polipéptido de CD163 en dicha célula de vertebrado en la que el polipéptido de CD163 comprende un dominio transmembrana, y en la que dicha expresión aumentada se logra mediante la introducción de ácido nucleico exógeno.

45 La expresión de un polipéptido de CD163 se logra mediante procedimientos de introducción de ácidos nucleicos exógenos que codifican polipéptidos de CD163. Dichos procedimientos incluyen pero sin limitación transfección, electroporación y fusión con un vehículo de un polinucleótido que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163.

El procedimiento puede convertir a células previamente no permisivas a VSRRP en permisivas a SRRP. El procedimiento también puede incluir una o más células que no expresaban previamente un polipéptido de CD163 en células a las que se induce para expresar un polipéptido de CD163.

50 Las células son de vertebrado y pueden ser de mamífero. Las células pueden ser células BHK21. Las células pueden derivarse de células de riñón porcino. Las células o línea celular puede derivarse de células de riñón de felino. Las células o línea celular puede ser pero sin limitación, células BHK-21, NLST-1, NLFK-1, Vero o RL. El VSRRP puede ser de genotipo europeo o americano del norte.

Tal como se indica anteriormente, la expresión aumentada de un polipéptido de CD163 puede lograrse mediante procedimientos que incluyen, pero sin limitación: transfección, electroporación y fusión con un vehículo de un polinucleótido que comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163. Se contempla cualquier polipéptido de CD163 que contenga una región transmembrana. Los polipéptidos de CD163 ejemplares se seleccionan del grupo que consiste en los polinucleótidos listados a continuación en los que:

- 5 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con SEC ID N°: 2;
- 10 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 2 en no más de 20 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 2 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 2;
- 15 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 1; uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 14;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 14 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- 20 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 14 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 14;
- 25 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 13
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 24 en no más de 2 sustituciones conservativas de aminoácidos; uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 24;
- uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 23;
- 30 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 96 %, 97 %, 98 %, o 99 %, de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 27;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 27 en no más de 20 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 27 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- 35 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 27;
- uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 26; uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 98 %, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 32;
- 40 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 32 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 32 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- 45 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 32;
- uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 31;
- uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 34;
- 50 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 34 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 34 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 34;
- 55 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 33;
- uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 36;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 36 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- 60 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 36 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;
- uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 36.
- 65 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 35;
- uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90 %,

- 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 42;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 42 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 5 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 42 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID  
 N°: 42;  
 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 41;  
 10 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 44;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 44 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 15 44 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID  
 N°: 44;  
 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 43;  
 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95%,  
 20 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 46;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 46 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 25 46 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID  
 N°: 46;  
 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 45;  
 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 48;  
 30 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 48 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que difiere de SEC ID N°:  
 48 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 uno de dichos polinucleótidos comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID  
 35 N°: 48; y  
 uno de dichos polipéptidos comprende un polinucleótido con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 47.

El procedimiento *in vitro* para facilitar la infección descrito anteriormente puede comprender además la etapa de producir un cultivo de virus.

El cultivo puede aislarse mediante el procedimiento descrito anteriormente.

- 40 Cualquiera de los procedimientos descritos anteriormente puede comprender además la etapa de producir una vacuna para el SRRP. La vacuna puede ser inactivada o viva atenuada.

Se describe en el presente documento una célula o línea celular que es útil en los procedimientos *in vitro* de la presente invención en los que la capacidad de una o más células para infectarse por un virus del SRRP se ha modificado dirigiendo la expresión aumentada de un polipéptido de CD163 que tiene un dominio transmembrana en dichas células.

- 45 La célula o línea celular puede ser previamente no permisiva a VSRRP y se hace permisiva a VSRRP dirigiendo la expresión aumentada de un polipéptido de CD163 en dicha célula o línea celular.

La célula o línea celular incluye células o líneas celulares que no expresaban un polipéptido de CD163 y se inducen para expresar un polipéptido de CD163.

- 50 Las células son células de vertebrado y pueden ser de mamífero. Las células pueden ser células BHK21. Las células pueden derivarse de células de riñón porcino. La célula o línea celular puede derivarse de células de riñón de felino. Las células pueden ser, pero sin limitación, células BHK-21, NLST-1, NLFK-1, Vero o RL. El VSRRP puede ser americano del norte o europeo.

La invención incluye un procedimiento para medir la propensión de una línea celular de ensayo a permitir la infección por un virus del SRRP que comprende:

- 55 a) proporcionar una muestra que contiene ácidos nucleicos de la línea celular de ensayo;  
 b) determinar la cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 o su complemento en dicha muestra;

en el que una cantidad aumentada del polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 en relación a una muestra de control derivada de una línea celular de control que se sabe que no soporta el crecimiento de dicho virus indica una propensión de la línea celular de ensayo a soportar la replicación de dicho virus.

La cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 puede determinarse mediante hibridación.

5 La cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 puede determinarse mediante PCR.

La invención también incluye un procedimiento para medir la propensión de una línea celular de ensayo a permitir la infección por un virus del SRRP que comprende:

- (a) proporcionar una muestra que contiene polinucleótidos de la línea celular de ensayo;
- (b) determinar la cantidad de polipéptido de CD163 en dicha muestra;

10 en el que una cantidad aumentada del polipéptido de CD163 en relación a una muestra de control derivada de una línea celular de control que se sabe que no soporta el crecimiento indica una propensión de la línea celular de ensayo a soportar la replicación de dicho virus.

La determinación puede lograrse poniendo en contacto un polipéptido de CD163 con un anticuerpo específico para el polipéptido de CD163, en condiciones en las que el anticuerpo se une al polipéptido de CD163.

15 La invención incluye un procedimiento para medir la propensión de un cerdo a infectarse por un virus de SRRP que comprende:

- a) proporcionar una muestra que contiene ácidos nucleicos del cerdo a ensayar;
- b) determinar la cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 o su complemento en dicha muestra;

20 en el que una cantidad aumentada de polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 en relación a una muestra de control derivada de un cerdo que se sabe que es resistente a dicha infección vírica indica una propensión del cerdo a ensayar a infectarse por dicho virus.

La determinación puede lograrse mediante hibridación o mediante PCR.

25 La invención también incluye un procedimiento para medir la propensión de un cerdo a infectarse por un virus de SRRP que comprende:

- (a) proporcionar una muestra que contiene polipéptidos del cerdo a ensayar;
- (b) determinar la cantidad de polipéptido de CD163 en dicha muestra;

30 en el que una cantidad aumentada de un polipéptido de CD163 en relación a una muestra de control derivada de un cerdo que se sabe que es resistente a dicha infección vírica indica una propensión del cerdo a ensayar a infectarse por dicho virus.

La determinación puede lograrse poniendo en contacto un polipéptido de CD163 con un anticuerpo específico para el polipéptido de CD163, en condiciones en las que el anticuerpo se une al polipéptido de CD163.

35 También se describe en el presente documento un polipéptido aislado que es útil en los procedimientos *in vitro* de la presente invención en los que el polipéptido se selecciona del grupo que consiste en los polipéptidos descritos a continuación:

un polipéptido aislado que tiene al menos un 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, de identidad con SEC ID N°: 2;

40 un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 2 en no más de 20 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 2 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 2

un polipéptido aislado que tiene al menos un 99 %, de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 14;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 14 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;

45 un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 14 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 14;

un polipéptido aislado que difiere de SEC ID N°: 24 en no más de 2 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 24;

un polipéptido aislado que tiene al menos un 96 %, 97 %, 98 %, o 99 %, de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 27;

50 un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 27 en no más de 20 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 27 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 27;

un polipéptido aislado que tiene al menos un 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°:

32;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 32 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 32 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos; un  
 polipéptido que comprende a SEC ID N°: 32;

5 un polipéptido aislado que tiene al menos un 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido  
 expuesto en SEC ID N°: 34;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 34 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 34 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

10 un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 34; un polipéptido aislado que tiene al menos un 95%, 96%, 97%,  
 98%, 99 % de identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 36;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 36 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;  
 un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 36 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido es un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 36;

15 un polipéptido aislado que tiene al menos un 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido  
 expuesto en SEC ID N°: 38;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 38 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 38 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 40;

20 un polipéptido aislado que tiene al menos un 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad con un polipéptido  
 expuesto en SEC ID N°: 40;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 40 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 40 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 40;

25 un polipéptido aislado que tiene un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad  
 con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 42;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 42 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 42 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 42;

30 un polipéptido aislado que tiene al menos un 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de  
 identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 44;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 44 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 44 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 44;

35 un polipéptido aislado que tiene al menos un 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de  
 identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 46;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 46 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 46 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos;

un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 46;

40 un polipéptido aislado que tiene al menos un 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % de  
 identidad con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 48;

un polipéptido que difiere de SEC ID N°: 48 en no más de 15 sustituciones conservativas de aminoácidos; un

polipéptido que difiere de SEC ID N°: 48 en no más de 10 sustituciones conservativas de aminoácidos; y

un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende a SEC ID N°: 48.

45 También se describe en el presente documento un polinucleótido de CD163 aislado que es útil en los procedimientos  
 de la presente invención en los que el polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en los polinucleótidos  
 enumerados anteriormente:

un polinucleótido aislado que comprende:

(a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 1 o 5

50 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 %, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 2

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 2,

(d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

55 un polinucleótido aislado que comprende:

(a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 12 o 13

(b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 14

(c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 14,

60 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 22 o 23
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 24,
- (c) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a) o (b).

un polinucleótido aislado que comprende:

- 5
- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 25 o 26
  - (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 96 %, 97 %, 98 %, o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 27
  - (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 27,
  - (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

10 un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 30 o 31
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 98 % o 99 %, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 32
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 32,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

15

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 33
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 34
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 34,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

20

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 35
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 36
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 36,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c),

25

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 37
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 38
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 38,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

30

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 39
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 40
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 40,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

35

40 un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 41
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 42
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 42,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

45

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 43
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 44
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 44,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

50

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 45  
 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96 %  
 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 46  
 (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 46,  
 5 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c); y

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en las SEC ID N°: 47  
 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96 %  
 10 97%, 98% o 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 48  
 (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 49,  
 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c),

Además de lo anterior, la invención incluye como aspecto adicional todas las realizaciones de la invención cuyo ámbito esté más limitado en algún modo que el de las variaciones anteriormente mencionadas específicamente.

### **Breve descripción de la lista de secuencias**

- 15 **SEC ID N°: 1** - secuencia de ADNc que codifica susCD163v1 porcino.  
**SEC ID N°: 2** - secuencia de aminoácidos predicha de susCD163v1 porcino.  
**SEC ID N°: 3** - secuencia de ADNc, Número de referencia de GenBank AJ311716.  
**SEC ID N°: 4** - secuencia de aminoácidos predicha derivada del número de referencia de GenBank AJ311716.  
**SEC ID N°: 5** - secuencia de ADNc de susCD163v1 que contiene secuencia flanqueante (no codificante).  
 20 **SEC ID N°: 6 - 11** - secuencias de cebador.  
**SEC ID N°: 12** - secuencia de ADNc que codifica susCD163v2 porcino que contiene secuencia flanqueante (no  
 codificante).  
**SEC ID N°: 13** - secuencia de ADNc que codifica susCD163v2 porcino.  
**SEC ID N°: 14** - secuencia de aminoácidos predicha de susCD163v2 porcino.  
 25 **SEC ID N°: 15 - 16**- secuencias de cebador.  
**SEC ID N°: 17** - secuencia de ADNc que codifica CD163v2 humano que contiene secuencia flanqueante (no  
 codificante).  
**SEC ID N°: 18** - secuencia de ADNc que codifica CD163v2 humano.  
**SEC ID N°: 19** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v2 humano.  
 30 **SEC ID N°: 20 - 21** - secuencias de cebador.  
**SEC ID N°: 22** - secuencia de ADNc que codifica CD163v2 murino que contiene secuencia flanqueante (no  
 codificante).  
**SEC ID N°: 23** - secuencia de ADNc que codifica CD163v2 murino.  
**SEC ID N°: 24** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v2 murino.  
 35 **SEC ID N°: 25** - secuencia de ADNc que codifica CD163v3 murino que contiene secuencia flanqueante (no  
 codificante).  
**SEC ID N°: 26** - secuencia de ADNc que codifica CD163v3 murino.  
**SEC ID N°: 27** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v3 murino.  
**SEC ID N°: 28 - 29** - secuencias de cebador.  
 40 **SEC ID N°: 30** - secuencia de ADNc que codifica CD163v3 de MARC-145 que contiene secuencia flanqueante  
 (no codificante).  
**SEC ID N°: 31** - secuencia de ADNc que codifica CD163v3 de MARC-145.  
**SEC ID N°: 32** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v3 de MARC-145.  
**SEC ID N°: 33** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v2 de células Vero.  
 45 **SEC ID N°: 34** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v2 de células Vero.  
**SEC ID N°: 35** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v3 de células Vero.  
**SEC ID N°: 36** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v3 de células Vero.  
**SEC ID N°: 37** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v4 de células Vero.  
**SEC ID N°: 38** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v4 de células Vero.  
 50 **SEC ID N°: 39** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v5 de células Vero.  
**SEC ID N°: 40** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v5 de células Vero.  
**SEC ID N°: 41** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v6 de células Vero.  
**SEC ID N°: 42** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v6 de células Vero.  
**SEC ID N°: 43** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v7 de células Vero.  
 55 **SEC ID N°: 44** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v7 de células Vero.  
**SEC ID N°: 45** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v2 canino.  
**SEC ID N°: 46** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v2 canino.  
**SEC ID N°: 47** - secuencia de ADNc que codifica transcrito de CD163v3 canino.  
**SEC ID N°: 48** - secuencia de aminoácidos predicha de CD163v3 canino.

60

**Breve descripción de las figuras**

**Figura 1** Comparación esquemática de susCD163v1 con AJ311716.

**Figura 2** Alineamiento de secuencia de aminoácidos de susCD163v1 (SEC ID N°: 2) con AJ311716 (SEC ID N°: 4).

**Figura 3** Alineamiento de secuencia de nucleótidos de susCD163v1 con AJ311716.

**Figura 4** Generación de fragmentos de ADN y ligación para poner a CD163 directamente detrás del promotor de RSV. Los plásmidos se digirieron con *DraIII* o *DrdI*, seguido de una reacción de despuntado con enzima Klenow. Después de la limpieza, los plásmidos se digirieron con *NotI*. La purificación en gel produjo fragmentos de ADN que se ligaron a continuación usando el término de *NotI* cohesivo. Los promotores de RSV (pRSV) y de SV40 (pSV40) se indican con flechas.

**Figura 5** Mapa del vector de clonación direccional V5/His/TOPO de pCDNA3.1.

**Figura 6** Tres líneas celulares de BHK/CMV/v1, N° 3, N° 5, y N° 12 y la línea celular de BHK no permisiva se infectaron con aislado P129 de VSRRP y se tiñeron con SDOW17-FITC. El panel A muestra un clon de célula BHK21 no permisivo. El panel B muestra el clon N° 3 de BHK/CMV/v1. El panel C muestra el clon N° 5 de BHK/CMV/v1. El panel D muestra el clon N° 12 de BHK/CMV/v1.

**Figura 7** Tres líneas celulares de BHK/RSV/v1, N° 2, N° 3, y N° 4 se infectaron con aislado P129 de VSRRP y se tiñeron con SDOW17-FITC. El panel A muestra el clon N° 2 de BHK/RSV/v1. El panel B muestra el clon N° 3 de BHK/RSV/v1. El panel C muestra el clon N° 4 de BHK/RSV/v1.

**Figura 8** Líneas celulares de riñón felino que expresan de manera estable CD163v1 porcino, que muestran placas de VSRRP. Las líneas celulares NLFK CMV-susCD163v1-G4F y NLFK-CMV-susCD163v1-G4L, ambas en pase 4, se infectaron con el aislado P129 de VSRRP americano del norte y se incubaron durante 6 días. Se fijaron monocapas con acetona al 80 % y se tiñeron con anticuerpo monoclonal SDOW17-FITC. La microscopía de contraste de fase (a la derecha) muestra regiones localizadas de las CPE virales (placas), mientras que la detección de FA (a la izquierda) muestra antígeno co-localizado de la nucleocápsida viral.

**Figura 9** Cuatro líneas celulares de FK/RSV/v1, N° 1, N° 2, N° 3, y N° 4 se infectaron con aislado P129 de VSRRP y se tiñeron con anticuerpo monoclonal SDOW17-FITC. El panel A muestra el clon celular N° 1 de FK/RSV/v1. El panel B muestra el clon N° 2 de FK/RSV/v1. El panel C muestra el clon N° 3 de FK/RSV/v1. El panel D muestra el clon N° 4 de FK/RSV/v1.

**Figura 10** Células PK-CMV-susCD163v1-A10 en el pase 19, infectadas con aislado P129 de VSRRP. A la izquierda: La monocapa se fijó con acetona al 80 % y se tiñó con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc), que es específico para la nucleocápsida del VSRRP. A la derecha: El mismo pocillo bajo iluminación de campo brillante, que muestra la distribución celular.

**Figura 11** BHK-CMVScript-susCD163v2-A9 en el pase 17 infectadas con aislado P129 del VSRRP. La monocapa se fijó con acetona al 80 % y se tiñó con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc), que es específico para la nucleocápsida del VSRRP.

**Figura 12** Tres ejemplos representativos de las líneas celulares de BHK/RSV/v2. Las células se infectaron con aislado P129 del VSRRP y a continuación se tiñeron con SDOW17-FITC. El panel A muestra la línea celular de BHK/RSV/v2 N° 1, el panel B muestra la línea celular de BHK/RSV/v2 N° 34, y el panel C muestra la línea celular de BHK/RSV/v2 N° 47.

**Figura 13** FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6 en el pase 15 infectadas con aislado P129 del VSRRP. La monocapa se fijó entonces con acetona al 80 % y se tiñó con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc), que es específico para la nucleocápsida del VSRRP.

**Figura 14** La cantidad de VSRRP de progenie producida por cuatro líneas celulares que expresaban susCD163v1 de manera estable, y por células MARC-145, se determinó en un experimento de curva de crecimiento usando el aislado NVSL 94-3 del VSRRP. Las muestras recogidas a intervalos de 12 horas se titularon sobre monocapas de células MARC-145.

**Figura 15** Análisis por citometría de flujo de la infección por VSRRP en presencia de anticuerpo específico para CD163. Se incubaron células BHK-21 que expresaban CD163 de MARC-145 de una transfección transitoria con anticuerpo específico para CD163 o IgG normal de cabra (NGS) y se infectaron con un VSRRP que expresaba GFP. Cada punto de datos representa los resultados de pocillos por triplicado.

**Figura 16** Análisis por citometría de flujo de la infección por VSRRP en presencia de anticuerpo específico para CD163. Se incubaron células NLFK que expresaban de manera estable CD163 humano con anticuerpo específico para CD163 o con IgG normal de cabra (NGS) y se infectaron con un VSRRP que expresaba GFP. A las 24 horas después de la infección se determinó el número de células infectadas que expresaban GFP. Cada punto de datos representa el resultado de un solo pocillo de células.

**Figura 17** Ilustración gráfica de seis variantes de corte y empalme alternativo de ARNm de CD163 recuperadas de células Vero. Las seis variantes difieren en la presencia o ausencia de tres exones, denominados E6, E105, y E83. Los exones E6 y E105 tienen longitudes que son múltiplos de tres, y por lo tanto no dan como resultado un cambio en el marco de lectura cuando están ausentes. Por el contrario, la ausencia de E83 da como resultado un marco de lectura desplazado y una secuencia de aminoácidos alternativa en el extremo carboxilo de la proteína (indicado por un patrón rallado en la figura). La región transmembrana (TM) hidrófoba está codificada dentro de E105.

**Figura 18** Células de PK-RSVScript-susCD163v2 N° 9 infectadas con aislado P129 del VSRRP. El sobrenadante no diluido de las MAP infectadas con aislado P201 del VSRRP se usó para infectar a células PK-RSVScript-susCD163v2 N° 9. Después de dos días de incubación se fijaron y tiñeron las células con anticuerpo monoclonal

SDOW17 tal como se describe en el Ejemplo 11.

**Figura 19** Células de FK-RSVScript-susCD163v2 N° 51 infectadas con aislado P129 del VSRRP. El sobrenadante no diluido de las MAP infectadas con aislado P201 del VSRRP se usó para infectar a células FK-RSVScript-susCD163v2 N° 51. Dos días después de la infección las células se fijaron con acetona y se tiñeron con anticuerpo monoclonal SDOW17 tal como se describe en el Ejemplo 11.

**Figura 20** Infección de clon N° 9 de células PK-RSVScript-susCD163v2 con aislado P201 del VSRRP. El panel A muestra una monocapa de células infectadas con P201 de VSRRP en el pase 1, veinticuatro horas después de la infección. El panel B muestra una monocapa de células 2 días después de la infección con sobrenadante de P201 de VSRRP libre de células en pase 10.

**Figura 21.** Se examinó la expresión de CD163 en células NLFK parentales y un subclon de FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6. Las células se fijaron en acetona al 80 % y se hicieron reaccionar con anti-CD163 humano de cabra (R&D System a 1:200) durante una hora seguido de lavado con PBS. Para la visualización, se usaron IgG de burro anti-cabra conjugados con FITC (Bioscience Resource Project a 1:100). No se detectó fluorescencia específica en las células NLFK parentales tal como se muestra en la Figura 21A. La mayoría de los subclones de FK.A6.A2 mostraron buena tinción de fluorescencia en presencia de CD163 (Figura 21B).

## Descripción detallada de la invención

### Definiciones generales

Las células y líneas celulares pueden ser "permisivas a virus" o "no permisivas a virus". Por ejemplo, una célula o línea celular que es permisiva a virus es capaz de permitir la infección por virus, la posterior replicación y la producción de virus. Una célula o línea celular que es no permisiva a virus no es capaz de permitir la infección por virus, la posterior replicación y la producción de virus. Una línea que ya es hasta cierto punto permisiva puede hacerse más permisiva mediante los procedimientos de la invención.

*Arteriviridae* se refiere a una familia de virus envueltos de ARN de cadena positiva que pertenecen al orden de los *Nidovirales*. La familia incluye el virus elevador de lactato-deshidrogenasa (VLD) de ratones, el virus de la arteritis equina (VAE), el virus de la fiebre hemorrágica de simios (VFHS), y el VSRRP.

El término "VSRRP" o virus del SRRP se refiere a los genotipos del virus del SRRP europeo y americano del norte. Dentro de cada genotipo, los aislados comparten una identidad de nucleótidos del 85 % o mayor. Entre genotipos, sin embargo, el nivel de identidad de secuencia es solo de aproximadamente un 60 %.

El virus del SRRP es un miembro de la familia *Arteriviridae*. El genoma de los arterivirus es un ARN monocatenario de polaridad positiva de una longitud entre 12 y 16 kb, capsulado en el extremo 5' y poliadenilado en el extremo 3'. Más de dos tercios del genoma se dedican a los marcos abiertos de lectura (ORF) 1a y 1b, que codifican las funciones no estructurales del virus. El ORF1b es una extensión del ORF1a, y es el resultado de un desplazamiento de marco ribosomal. Los ORF 1a y 1b se traducen directamente a partir del ARN genómico. Estos grandes productos polipeptídicos se escinden mediante proteasas virales para producir 12 o 13 péptidos discretos más pequeños. El resto de ORF, que codifican proteínas estructurales virales, se expresan a partir de una serie de ARN subgenómicos co-terminales en 3' (ARNsg). Los ARNsg se producen mediante la transcripción discontinua de ARN de cadena negativa, de tal modo que una secuencia líder 5' se fusiona a cada transcrito. Las principales proteínas estructurales son la nucleocápsida (N, codificada por ORF7), la proteína de matriz (M, codificada por ORF6), y la glucoproteína principal de la envuelta (GP5, codificada por ORF5). Las demás proteínas, GP4 (ORF4), GP3 (ORF3), GP2 (ORF2a), y E (ORF2b) son componentes estructurales menores del virión, cuyas funciones no se han dilucidado todavía. La biología molecular del VSRRP ha sido objeto de artículos de revisión recientes (Dea y col., 2000; Meulenberg, 2000; Snijder y Meulenberg, 2001).

Como se usa en el presente documento, la expresión "polipéptido de CD163" significa una proteína codificada por un gen de CD163 de mamífero, que incluye variantes alélicas que contiene cambios conservativos o no conservativos. Se ha comunicado una secuencia de ADNc que codifica un polipéptido de CD163 porcino (Número de referencia de GenBank AJ311716). También se ha comunicado un polipéptido de CD163 murino (Número de referencia de GenBank AF274883), así como múltiples variantes humanas, ilustradas por los Números de referencia de GenBank AAH51281 y CAA80543. En el presente documento se comunican polinucleótidos que codifican polipéptidos de CD163 porcinos, humanos, murinos, caninos y de mono verde africano y que comprenden las secuencias expuestas en las SEC ID N°: 1, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 42, 43, 45 y 47. Un "polipéptido de CD163" es un miembro de la familia de receptores *scavenger* ricos en cisteína (SRCR) de glucoproteínas transmembrana, y se cree que se expresa exclusivamente en monocitos y macrófagos. Un papel de CD163 identificado es la inhibición del daño oxidativo de tejidos después de la hemólisis mediante el consumo de complejos hemoglobina:haptoglobina por endocitosis. La posterior liberación de interleucina-10 y la síntesis de hemo-oxigenasa-1 da como resultado efectos antiinflamatorios y citoprotectores (Philippidis y col., 2004; Graversen y col., 2002). El gen de CD163 humano abarca 35 kb en el cromosoma 12, y consiste en 17 exones y 16 intrones. Se sabe que una variedad de isoformas del polipéptido de CD163, incluyendo los tipos unidos a membrana, citoplásmicos y secretados, se generan por corte y empalme alternativo (Ritter y col., 1999). Se prefieren particularmente las isoformas que comprenden un dominio transmembrana.

Un dominio transmembrana se caracteriza por un segmento de polipéptido de una secuencia mayor que está expuesto por ambos lados de una membrana. Los dominios citoplásmicos y extracelulares está separados por al menos un segmento transmembrana que atraviesa el ambiente hidrófobo de la bicapa lipídica. El segmento transmembrana está compuesto de restos de aminoácidos con cadenas laterales no polares, generalmente en forma de alfa-hélice. Los segmentos que contienen aproximadamente 20 - 30 restos hidrófobos son lo suficientemente largos como para atravesar la membrana como una alfa-hélice, y pueden a menudo identificarse mediante un gráfico de hidropatía. El dominio transmembrana predicho de las SEC ID N°: 2 y 14 se indican marcándolos en negrita en la memoria descriptiva. Determinar si otras secuencias de CD163 contienen una característica de secuencia similar se determina fácilmente mediante la inspección de la secuencia o gráficos de hidropatía. Las SEC ID N°: 37 - 40 son representativas de variantes de proteínas CD163 que no contienen un dominio transmembrana y sus ácidos nucleicos codificantes.

Tal como se usa en lo sucesivo en el presente documento, un "polinucleótido" se refiere generalmente a un polirribonucleótido o a un polidesoxirribonucleótido, que puede ser ARN o ADN no modificado o ARN o ADN modificado. Los "polinucleótidos" incluyen, sin limitación, ADN mono y bicatenario, ADN que es una mezcla de regiones mono y bicatenarias, ARN mono y bicatenario, ARB que es una mezcla de regiones mono y bicatenarias, y moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden ser monocatenarias o, más típicamente, bicatenarias o una mezcla de regiones mono y bicatenarias. Además, un "polinucleótido" se refiere a regiones de triple cadena que comprenden ARN o ADN o ARN y ADN. El término "polinucleótido" también incluye ADN o ARN que contienen una o más bases modificadas y ADN o ARN con estructuras modificadas por motivos de estabilidad u otros. Las bases "modificadas" incluyen, por ejemplo, bases tritiladas y bases infrecuentes, tales como inosina. Pueden efectuarse una variedad de modificaciones al ADN y al ARN; por lo tanto, un "polinucleótido" abarca formas química, enzimática o metabólicamente modificadas de polinucleótidos como se encuentran típicamente en la naturaleza, así como formas químicas de ADN y ARN características de virus y células. Un "polinucleótido" también abarca polinucleótidos relativamente cortos, generalmente citados como oligonucleótidos.

Tal como se usa en lo sucesivo en el presente documento, un "polipéptido" se refiere a cualquier péptido o proteína que comprende aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados. Un "polipéptido" se refiere tanto a cadenas cortas, citadas de manera común como péptidos, oligopéptidos u oligómeros, y a cadenas más largas, generalmente citadas como proteínas. Los polipéptidos pueden contener aminoácidos distintos de los 20 aminoácidos codificados por los genes. Los "polipéptidos" incluyen secuencias de aminoácidos modificadas bien por procesos naturales, tales como el procesado postraduccional, o mediante técnicas de modificación química que se conocen bien en la técnica. Dichas modificaciones están bien descritas en textos básicos y en monografías más detalladas, así como en una voluminosa bibliografía de investigación. Las modificaciones pueden suceder en cualquier parte de un polipéptido, incluyendo la estructura peptídica, las cadenas laterales de aminoácidos y los extremos amino o carboxilo. Se apreciará que puede estar presente el mismo tipo de modificación en un mismo grado o en grados variantes en varios sitios de un polipéptido dado. Asimismo, un polipéptido dado puede contener muchos tipos de modificaciones. Los polipéptidos pueden ser ramificados como resultado de la ubiquitinación, y pueden ser cíclicos, con o sin ramificación. Los polipéptidos cíclicos, ramificados y cíclicos ramificados pueden ser el resultado de procesos naturales postraducionales o pueden producirse mediante procedimientos sintéticos. Las modificaciones o formas modificadas incluyen acetilación, acilación, ribosilación por ADP, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de un resto hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de reticulaciones covalentes, formación de cistina, formación de piroglutamato, formilación, gamma-carboxilación, glucosilación, formación de anclaje de GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenilación, sulfatación, adición mediada por ARN transferente de aminoácidos a proteínas, tales como arginilación y ubiquitinación (véase, por ejemplo, Proteins-Structure and Molecular Properties, 2ª Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, Nueva York, 1993; Wold, F., Post-translational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, págs. 1-12 en Postrans-lational Covalent Modification of Proteins, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, Nueva York, 1983; Seifter y col., "Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors", Meth Enzymol (1990) 182:626-646 and Rattan y col., "Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging", Ann NY Acad Sci (1992) 663:4842).

Tal como se usa en lo sucesivo en el presente documento, "aislado" significa alterado por la mano del hombre de su estado natural. Si una composición o sustancia "aislada" ocurre en la naturaleza, se ha cambiado o se ha extraído de su ambiente original, o ambas. Por ejemplo, un polinucleótido o un polipéptido naturalmente presente en un animal vivo no está "aislado", pero el mismo polinucleótido o polipéptido separado de los materiales coexistentes de su estado natural está "aislado", tal como se emplea el término en el presente documento. Por lo tanto, "aislado", tal como se usa en el presente documento y tal como se entiende en la técnica, ya se refiera a polinucleótidos o polipéptidos "aislados", se entiende como separado del ambiente celular original en el que se encuentra normalmente el polipéptido o ácido nucleico. Por lo tanto, tal como se usa en el presente documento, únicamente a modo de ejemplo, un animal transgénico o una línea celular recombinante construida con un polinucleótido tal como se describe en el presente documento hace uso del ácido nucleico "aislado". Se excluyen específicamente de la definición de polinucleótidos aislados de la invención los cromosomas enteros aislados de células hospedadoras nativas de las que se derivó originalmente el polinucleótido.

En la divulgación siguiente se hará uso frecuentemente del término "identidad" o similitud aplicado a las secuencias de aminoácidos o polipéptidos. El porcentaje de "identidad" de secuencia de aminoácidos con respecto a polipéptidos se define en el presente documento como el porcentaje de restos de aminoácidos en la secuencia candidata que son idénticos a los restos en las secuencias diana después de alinear ambas secuencias e introducir espacios en blanco, si fuese necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y sin tener en consideración cualquier sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. El porcentaje de identidad de secuencia se determina mediante procedimientos convencionales. Por ejemplo, BLASTP 2.2.6 [Tatusova TA y TL Madden, "BLAST 2 sequences-a new tool for comparing protein and nucleotide sequences." (1999) FEMS Microbiol Lett. 174:247-250.]

10 Brevemente, tal como se indica anteriormente, se alinean dos secuencias de aminoácidos para optimizar las puntuaciones de alineamiento usando una penalización de apertura de espacios de 10, una penalización de extensión de espacios de 0,1, y la matriz de puntuación "blomsum62" de Henikoff y Henikoff (Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89:10915-10919. 1992).

El porcentaje de identidad se calcula entonces como:

$$\frac{\text{Número total de coincidencias idénticas}}{\text{[longitud de la secuencia más larga + número de espacios introducidos en la secuencia más larga para alinear las dos secuencias]}} \times 100$$

15 El porcentaje de "similitud" de secuencia (a menudo citado como "homología") respecto de un polipéptido tal como se describe en el presente documento, se define en el presente documento como el porcentaje de restos de aminoácidos en la secuencia candidata que son idénticos a los restos en las secuencias diana después de alinear las secuencias e introducir espacios, si fuese necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia (tal como se define anteriormente), y también teniendo en consideración cualquier sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia.

$$\frac{\text{Número total de coincidencias idénticas y sustituciones conservativas}}{100} \times \text{X}$$

20 **[longitud de la secuencia más larga + número de espacios introducidos en la secuencia más larga para alinear las dos secuencias]**

Los aminoácidos pueden clasificarse según características físicas y su contribución a la estructura secundaria y terciaria de la proteína. Se reconocen en la técnica una sustitución conservativa como una sustitución de un aminoácido por otro aminoácido que tiene propiedades similares.

Las sustituciones conservativas ilustrativas se exponen en la Tabla 1, 2 y 3 dada a .

**Tabla 1**  
**Sustituciones conservativas I**  
**CARACTERÍSTICA DE CADENA LATERAL AMINOÁCIDOS**

Alifática	
No polar	G A P I L V
Polar - no cargada	C S T M N Q
Polar - cargada	D E K R
Aromática	H F W Y
Otra	N Q D E

25 Como alternativa, los aminoácidos conservativos pueden agruparse tal como se describe en Lehninger, [Biochemistry, Segunda edición; Worth Publishers, Inc. NY:NY (1975), págs.71-77] tal como se expone en la Tabla 2, dada a continuación.

**Tabla 2**  
**Sustituciones conservativas II**  
**CADENA LATERAL**

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>AMINOÁCIDO</b>
No polar (hidrófoba)	
A. Alifática:	A L I V P
B. Aromática:	F W

C. Que contiene azufre:	M
D. Límite:	G
No cargada-polar	
A. Hidroxilo:	S T Y
B. Amidas:	N Q
C. Sulfhidrilo:	C
D. Límite:	G
Cargada positivamente (Básica):	K R H
Cargada negativamente (Ácida):	D E

Como otra alternativa, se exponen sustituciones conservativas ilustrativas en la Tabla 3, dada a continuación.

**Tabla 3**  
**Sustituciones conservativas III**

Resto original	Sustitución ilustrativa
Ala (A)	Val, Leu, Ile
Arg (R)	Lys, Gln, Asn
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe,
Leu (L)	Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys (K)	Arg, Gln, Asn
Met (M)	Leu, Phe, Ile
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala
Pro (P)	Gly
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala

**Procedimientos dirigidos a la producción de virus y células hospedadoras**

5 La invención proporciona un procedimiento *in vitro* para modificar la producción de un virus del SRRP en una célula de vertebrado que comprende la etapa de dirigir a dicha célula para expresar un polipéptido de CD163 que tiene un dominio transmembrana. Esto puede incluir hacer de una célula no permisiva al virus una célula permisiva al virus, o puede implicar hacer a una célula más permisiva al virus.

10 Un procedimiento para preparar un cultivo de un virus del SRRP comprende las etapas de: proporcionar una línea celular; dirigir a dicha línea celular para expresar un polipéptido de CD163; infectar dicha línea celular con el virus; y hacer que dicha línea celular produzca progenie viral.

Todos los procedimientos anteriores utilizan células y líneas celulares que expresan un polipéptido de CD163. CD163 puede facilitarse o aumentarse mediante procedimientos *in vitro* que implican la introducción de ácido nucleico exógeno en la célula. Dicha célula puede comprender un polinucleótido o vector de un modo que permita la expresión de un polipéptido de CD163 codificado.

15 Los polinucleótidos que codifican a CD163 puede introducirse en la célula hospedadora como parte de un plásmido circular, o como ADN lineal que comprende una región codificante de proteína aislada, o en un vector viral. Los procedimientos para introducir ácido nucleico exógeno en la célula hospedadora bien conocidos y puestos en práctica de manera rutinaria en la técnica incluyen transformación, transfección, electroporación, inyección nuclear, o infusión con vehículos, tales como liposomas, micelas, células fantasma, y protoplastos. Los sistemas de células  
20 hospedadoras de la invención son sistemas de células de vertebrado. Los hospedadores pueden incluir, pero sin limitación, los siguientes: células de riñón porcino (PK), células de riñón felino (FK), células testiculares de cerdo (ST), células de riñón de mono verde africano (células MA-104, MARC-145, VERO, y COS), células de ovario de hámster chino (CHO), células de riñón de cría de hámster, células 293 humanas, y fibroblastos 3T3 murinos.

La elección de un vector de expresión adecuado para la expresión de los polipéptidos de CD163 dependerá por supuesto de la célula hospedadora específica que se vaya a usar, y se encuentra dentro de las capacidades del experto habitual. Los ejemplos de vectores de expresión adecuados incluyen pSport y pcDNA3 (Invitrogen), pCMV-Script (Stratagene), y pSVL (Pharmacia Biotech). Los vectores de expresión para su uso en células hospedadoras de mamífero pueden incluir secuencias de control transcripcional y traduccional derivadas de genomas virales. Las secuencias de promotor y las secuencias de modificador que pueden usarse en la presente invención incluyen, pero sin limitación, las derivadas de citomegalovirus humano (CMV), virus del sarcoma de Rous (VSR), Adenovirus 2, virus del polioma, y virus 40 de simio (VS40). Los procedimientos para la construcción de vectores de expresión en mamífero se desvelan, por ejemplo, en Okayama y Berg (Mol. Cell. Biol. 3:280 (1983)); Cosman y col. (Mol. Immunol. 23:935 (1986)); Cosman y col. (Nature 312:768 (1984)); documento EP-A-0367566; y documento WO 91/18982.

Debido a que se sabe que las secuencias de CD163 existen en células de varias especies, puede modificarse el gen endógeno para permitir, o aumentar, la expresión del polipéptido de CD163. Las células pueden modificarse (por ejemplo, mediante recombinación homóloga) para proporcionar expresión aumentada reemplazando, en su totalidad o en parte, el promotor de CD163 de origen natural con la totalidad o parte de un promotor heterólogo, de tal forma que las células expresen polipéptido de CD163 a niveles mayores. El promotor heterólogo se inserta de tal modo que está unido operativamente a las secuencias codificantes de CD163 endógenas. [Véase, por ejemplo, la Publicación Internacional PCT N° WO 94/12650, la Publicación Internacional PCT N° WO 92/20808, y la Publicación Internacional PCT N° WO 91/09955.] También se contempla que, además de ADN de promotor heterólogo, puede insertarse ADN marcador amplificable (por ejemplo, *ada*, *dhfr*, y el gen *cad* multifuncional, que codifica la carbamil fosfato sintasa, la aspartato transcarbamilasa, y la dihidroorotasa) y/o ADN de intrón junto con el ADN de promotor heterólogo. Si está unido a la secuencia codificante de CD163, la amplificación del ADN marcador mediante procedimientos de selección estándar da como resultado la amplificación conjunta de las secuencias codificantes de CD163 en las células.

#### 25 Producción de vacuna

Los procedimientos descritos anteriormente pueden usarse para producir cualquier virus del SRRP con el fin de producción de vacunas o diagnósticos.

#### Producción de vacuna

Los procedimientos descritos anteriormente pueden usarse para producir virus con el fin de producción de vacunas o diagnósticos.

Puede producirse vacunas neutralizadas (inactivadas) o vivas. Por lo tanto, para producir una vacuna viva, se crece un aislado viral, o una variante atenuada o mutada del mismo, en cultivo celular. El virus se recoge de acuerdo con procedimientos conocidos en la materia. El virus puede entonces concentrarse, congelarse, y almacenarse a -70 °C, o criodesecarse y almacenarse a 4 °C. Antes de la vacunación, el virus se mezcla a una dosificación adecuada, (que es de aproximadamente  $10^3$  a  $10^8$  dosis infecciosas de cultivo tisular por ml (DICT<sub>50</sub>/ml)), con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como solución de suero salino, y opcionalmente un adyuvante.

La vacuna producida también puede comprender una vacuna inactivada o neutralizada que comprende un virus crecido mediante los procedimientos de la invención. La vacuna inactivada se produce mediante métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, una vez que el virus se propaga a titulaciones elevadas, será fácilmente evidente para los expertos en la materia que la masa antigénica del virus podrá obtenerse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la masa antigénica del virus puede obtenerse mediante dilución, concentración, o extracción. Todos estos procedimientos se han empleado para obtener masas antigénicas adecuadas para producir vacunas. Entonces se inactiva el virus mediante tratamiento con formalina, betapropiolactona (BPL), etilenimina binaria (BEI), u otros procedimientos conocidos para los expertos en la materia. Entonces el virus inactivado se mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una solución de suero salino, y opcionalmente un adyuvante. Los ejemplos de adyuvantes incluyen, pero sin limitación, hidróxido de aluminio, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, AMPHIGEN, saponinas, tales como Qui1A, y adyuvantes polipeptídicos, incluyendo interleucinas, interferones, y otras citocinas.

La inactivación mediante formalina se lleva a cabo mezclando la suspensión viral con formaldehído al 37 % hasta una concentración final de formaldehído del 0,05 %. La mezcla de virus-formaldehído se mezcla mediante agitación constante durante aproximadamente 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla de virus inactivado se ensaya para virus vivo residual ensayando el crecimiento en una línea celular adecuada.

La inactivación mediante BEI se lleva a cabo mezclando la suspensión viral de la presente invención con BEI 0,1 M (2-bromo-etilamina en NaOH 0,175 N) hasta una concentración final de BEI de 1 mM. La mezcla de virus-BEI se mezcla mediante agitación constante durante aproximadamente 48 horas a temperatura ambiente, seguido de la adición de tiosulfato de sodio 1,0 M hasta una concentración final de 0,1 mM. Se continua mezclando durante dos horas adicionales. La mezcla de virus inactivado se ensaya para virus vivo residual ensayando el crecimiento en una línea celular adecuada.

También pueden usarse células permisivas al virus que se han dirigido para expresar CD163 para cuantificar virus vivos. Dos procedimientos comunes, que son bien conocidos para los expertos en la materia, son el ensayo de placa y el ensayo de dilución limitante.

5 Las líneas celulares que expresan CD163 que son útiles en los procedimientos pueden usarse para crecer virus con el fin de producir antígeno viral para kits diagnósticos. Por ejemplo, pueden recubrirse placas de ELISA con lisados de células infectadas (con purificación opcional de partículas virales o extracción de proteínas virales seleccionadas) para detectar anticuerpos para el virus en suero de cerdo.

10 Puede usarse virus vivo o inactivado crecido en células que expresan CD163 después de la separación opcional de las proteínas virales para inmunizar animales para generar anticuerpos policlonales, monoespecíficos o monoclonales. Estos, a su vez, pueden usarse como base para ensayos diagnósticos para la detección y cuantificación de virus en suero de cerdo y otras muestras biológicas.

### Ensayos

15 La invención proporciona procedimientos para determinar la propensión de un animal a infectarse por un virus del SRRP o de una línea celular a soportar la replicación de un virus del SRRP. Se obtienen muestras y se ensayan para la expresión de CD163. El nivel de expresión génica de CD163 puede compararse con los niveles de controles en los que se sabe que no soportan la replicación del virus.

20 En el caso de un animal, las muestras pueden ser cualquier muestra que comprenda moléculas de ácido nucleico o proteínas de muestra, y obtenidas de cualquier tejido corporal que exprese CD163, incluyendo, pero sin limitación, macrófagos alveolares, células cultivadas, biopsias, u otras preparaciones de tejidos. El nivel de expresión puede determinarse a nivel de ARN mensajero o de proteína producida, o ambos.

### Ensayos basados en ácido nucleico

25 Los procedimientos para determinar los niveles de CD163 pueden estar basados en ácido nucleico tal como se ha indicado anteriormente. Los ácidos nucleicos derivados de CD163 pueden estar en solución o en un soporte sólido. En algunas realizaciones, pueden emplearse como elementos de matriz en micromatrices solos o en combinación con otras moléculas de elementos de matriz. Los procedimientos basados en ácidos nucleicos requieren generalmente el aislamiento de ADN o ARN de la muestra y la posterior hibridación o amplificación mediante la PCR usando cebadores específicos derivados de cualquier secuencia codificante de CD163 conocida en la técnica, o aquellas específicamente divulgadas como SEC ID N°: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47. El ADN o ARN puede aislarse de la muestra según cualquiera de una variedad de procedimientos bien conocidos para los expertos en la materia. Por ejemplo, se describen procedimientos de purificación de ácidos nucleicos en Tijssen, P. (1993) Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Hybridization With Nucleic Acid Probes, Parte I. Theory and Nucleic Acid Preparation, Elsevier, Nueva York, N.Y. En una realización preferida, se aísla el ARN total usando el reactivo de aislamiento de ARN total TRIZOL (Life Technologies, Inc., Gaithersburg Md.) y el ARNm se aísla usando cromatografía en columna de oligo d(T) o perlas de vidrio. Cuando se amplifican moléculas de ácido nucleico de muestra, es deseable amplificar las moléculas de ácido nucleico de muestra y mantener las abundancias relativas de la muestra original, incluyendo transcritos de baja abundancia. El ARN puede amplificarse *in vitro*, *in situ*, o *in vivo* (Véase Eberwine, Patente de los Estados Unidos N° 5.514.545).

40 También es ventajoso incluir controles dentro de la muestra para asegurar que los procedimientos de amplificación y marcado no cambian la verdadera distribución de moléculas de ácido nucleico en una muestra. A tal fin, se enriquece una muestra con una cantidad de una molécula de ácido nucleico de control predeterminada para ser detectable tras la hibridación con su molécula de ácido nucleico dispuesta de manera complementaria y la composición de moléculas de ácido nucleico incluye moléculas de ácido nucleico de referencia que hibridan de manera específica con las moléculas de ácido nucleico de control dispuestas. Después de la hibridación y el procesado, las señales de hibridación obtenidas deben reflejar de manera precisa las cantidades de moléculas de ácido nucleico de control dispuestas añadidas a la muestra.

45 Antes de la hibridación, puede ser deseable fragmentar las moléculas de ácido nucleico de muestra. La fragmentación mejora la hibridación minimizando la estructura secundaria y la hibridación cruzada a otras moléculas de ácido nucleico de muestra en la muestra o a moléculas de ácido nucleico no complementarias. La fragmentación puede llevarse a cabo por medios mecánicos o químicos.

### 50 Marcado

55 Las moléculas o sondas de ácido nucleico de muestra pueden marcarse con uno o más restos marcadores para permitir la detección de los complejos de molécula de ácido nucleico dispuesta/hibridada. Los restos de marcado pueden incluir composiciones que pueden detectarse por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, bioelectrónicos, inmunoquímicos, eléctricos, ópticos o químicos. Los restos de marcado pueden incluir radioisótopos, tales como (32)P, (33)P o (35)S, compuestos quimioluminiscentes, proteínas de unión marcadas, átomos de metales pesados, marcadores espectroscópicos, tales como marcadores fluorescentes y tintes, marcadores magnéticos, enzimas enlazadas, marcadores de espectrometría de masas, marcadores de espín, donantes y aceptores de

transferencia de electrones, y similares. Los marcadores fluorescentes preferidos incluyen los fluoróforos Cy3 y Cy5 (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway N.J.).

### Hibridación

5 Puede usarse la secuencia de molécula de ácido nucleico de SEC ID N°: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 y 47 u otras secuencias codificantes de CD163 en la técnica y fragmentos de los mismos en varias tecnologías de hibridación para diversos fines. Las sondas de hibridación pueden diseñarse o derivarse de cualquier secuencia de CD163 de mamífero pero pueden hacer uso de las secuencias desveladas en SEC ID N°: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 y 47. Dichas sondas pueden prepararse a partir de una región elevadamente específica o a partir de un motivo conservado, y se usan en protocolos para cuantificar el mensaje de CD163, variantes alélicas, o secuencias relacionadas. Las sondas de hibridación de la invención objeto pueden ser ADN o ARN y pueden derivarse de cualquier secuencia de CD163 de mamífero conocida en la técnica o de aquellas secuencias desveladas en el presente documento como SEC ID N°: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30 o de secuencias genómicas que incluyen promotores, potenciadores, e intrones del gen de mamífero. Las sondas de hibridación o de PCR pueden producirse usando oligomarcado, traducción de muescas, marcaje terminal, o amplificación por la PCR en presencia del nucleótido marcado. Puede usarse un vector que contiene la secuencia de ácido nucleico para producir una sonda de ARNm *in vitro* mediante la adición de una ARN polimerasa y moléculas de ácido nucleico marcado. Estos procedimientos pueden llevarse a cabo usando kits disponibles comercialmente tales como los proporcionados por Amersham Pharmacia Biotech.

20 La rigurosidad de la hibridación se determina por el contenido de G+C de la sonda, la concentración de sal, y la temperatura. En particular, la rigurosidad puede aumentarse reduciendo la concentración de sal o elevando la temperatura de hibridación. En soluciones usadas para algunas hibridaciones basadas en membranas, la adición de un disolvente orgánico, tal como formamida, permite que la reacción ocurra a una temperatura menor. La hibridación puede efectuarse a baja rigurosidad con tampones, tal como 5 x SSC con dodecilsulfato de sodio al 1 % (SDS) a 60 °C, lo que permite la formación de un complejo de hibridación entre secuencias de nucleótidos que contienen algunos desemparejamientos. Los lavados posteriores se llevan a cabo a mayor rigurosidad con tampones tales como 0,2 x SSC con SDS al 0,1 % a 45 °C (rigurosidad media) o a 68 °C (rigurosidad elevada). A rigurosidad elevada, los complejos de hibridación permanecerán estables en los casos donde las secuencias de ácido nucleico sean complementarias prácticamente por completo. En algunas hibridaciones basadas en membranas, puede añadirse formamida preferentemente a un 35 % o más preferentemente a un 50 % a la solución de hibridación para reducir la temperatura a la que se lleva a cabo la hibridación, y pueden reducirse las señales de fondo mediante el uso de otros detergentes, tales como Sarkosil o Triton X-100 y un agente bloqueante, tal como ADN de esperma de salmón. La selección de componentes y condiciones para la hibridación se conoce bien por los expertos en la materia y se revisan en Ausubel (anteriormente citado) y Sambrook y col. (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Plainview N.Y.

35 Las condiciones de hibridación a alta rigurosidad ilustrativas son las siguientes: hibridación a 42 °C en una solución de hibridación que comprende formamida al 50 %, SDS al 1%, NaCl 1 M, sulfato de dextrano al 10 %, y lavar dos veces durante 30 minutos a 60 °C en una solución de lavado que comprende 0,1 x SSC y SDS al 1 %. Se entiende en la técnica que pueden lograrse condiciones de rigurosidad equivalente mediante la variación de la temperatura y el tampón, o la concentración de sal tal como se describe en Ausubel, y col., (Eds.), *Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1994), págs. 6.0.3 to 6.4.10. Las modificaciones en las condiciones de hibridación pueden determinarse empíricamente o calcularse de manera precisa basándose en la longitud y el porcentaje de emparejamiento de bases de guanosina/citosina (GC) de la sonda. Las condiciones de hibridación pueden calcularse tal como se describe en Sambrook, y col., (Eds.), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, Nueva York (1989), págs. 9.47 a 9.51.

45 La especificidad de la hibridación puede evaluarse comparando la hibridación de moléculas de ácido nucleico de control de especificidad a moléculas de ácido nucleico de control de especificidad que se añaden a una muestra en una cantidad conocida. Las moléculas de ácido nucleico dispuestas de control de especificidad pueden tener uno o más desemparejamientos de secuencia en comparación con las moléculas de ácido nucleico dispuestas correspondientes. De este modo, es posible determinar si solo hibridan moléculas de ácido nucleico dispuestas complementarias a las moléculas de ácido nucleico de muestra o si se forman dobletes híbridos desemparejados.

50 Las reacciones de hibridación pueden llevarse a cabo en formatos de hibridación absolutos o diferenciales. En el formato de hibridación absoluto, las moléculas de ácido nucleico de una muestra se hibridan a las moléculas en un formato de micromatriz y las señales detectadas después de la formación del complejo de hibridación se correlacionan con los niveles de moléculas de ácido nucleico en una muestra. En el formato de hibridación diferencial, se analiza la expresión diferencial de un conjunto de genes en dos muestras biológicas. Para la hibridación diferencial, se preparan moléculas de ácido nucleico de ambas muestras biológicas y se marcan con distintos restos de marcado. Se añade a una micromatriz una mezcla de las dos moléculas de ácido nucleico marcadas. A continuación se examina la micromatriz en condiciones en las que las emisiones de los dos distintos marcadores son detectables individualmente. Las moléculas en la micromatriz que están hibridadas a números sustancialmente equivalentes de moléculas de ácido nucleico derivadas de ambas muestras biológicas dan una fluorescencia combinada distinta (Shalon y col., publicación PCT WO98/35505). Preferentemente, los marcadores

son marcadores fluorescentes con espectros de emisión diferenciables, tales como los fluoróforos Cy3 y Cy5.

Después de la hibridación, se lava la micromatriz para eliminar las moléculas de ácido nucleico no hibridadas y se detecta la formación de complejos entre los elementos de matriz hibridables y las moléculas de ácido nucleico. Los procedimientos para detectar la formación de complejos son bien conocidos para los expertos en la materia. Preferentemente, las moléculas de ácido nucleico se marcan con un marcador fluorescente y la medida de los niveles y patrones de fluorescencia indicativos de la formación de complejo se lleva a cabo mediante microscopía de fluorescencia, preferentemente, microscopía confocal de fluorescencia.

En un experimento de hibridación diferencial, las moléculas de ácido nucleico de dos o más muestras biológicas diferentes se marcan con dos o más marcadores fluorescentes diferentes con diferentes longitudes de onda de emisión. Las señales fluorescentes se detectan por separado con distintos fotomultiplicadores ajustados para detectar longitudes de onda específicas. Se obtienen las abundancias relativas/niveles de expresión de las moléculas de ácido nucleico en dos o más muestras.

Normalmente, las intensidades de fluorescencia de la micromatriz pueden normalizarse para tener en cuenta variaciones en las intensidades de hibridación cuando se usa más de una micromatriz en condiciones de ensayo similares. En una realización preferida, las intensidades de hibridación de complejos de moléculas individuales dispuestas de muestra de ácido nucleico se normalizan usando las intensidades derivadas de controles de normalización internos contenidos en cada micromatriz.

#### Ensayos basados en polipéptidos

Los procedimientos y reactivos para detectar y cuantificar polipéptidos de CD163 incluyen procedimientos bioquímicos analíticos, tales como electroforesis, espectroscopia de masas, procedimientos cromatográficos y similares, o varios procedimientos inmunológicos, tales como radioinmunoensayo (RIA), ensayos inmunoabsorbente acoplado a enzimas (ELISA), ensayos inmunofluorescentes, transferencia de Western, espectrometría de masas de captura por afinidad, actividad biológica, y otros descritos más adelante y evidentes para los expertos en la materia tras una revisión de esta divulgación.

#### Inmunoensayos

Los procedimientos para la detección de polipéptidos de CD163 que emplean uno o más reactivos de anticuerpo anti-CD163 (es decir, inmunoensayos) tal como se usan en el presente documento, incluyen un inmunoensayo, que es un ensayo que utiliza un anticuerpo (tal como se define de manera amplia en el presente documento e incluye específicamente fragmentos, quimeras y otros agentes de unión) que se une específicamente a un polipéptido o epítipo de CD163.

Se conocen una serie de formatos de ensayo de unión inmunológica bien establecidos adecuados para la puesta en práctica de la invención (véase, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nº 4.366.241; 4.376.110; 4.517.288 y 4.837.168). Véase, por ejemplo, Methods in Cell Biology Volumen 37: Antibodies in Cell Biology, Asai, ed. Academic Press, Inc. New York (1993); Basic and Clinical Immunology 7ª Edición, Stites & Terr, Eds. (1991); Harlow y Lane, anteriormente citado [por ejemplo, el capítulo 14], y Ausubel y col., anteriormente citado, [por ejemplo, el capítulo 11]. Normalmente, los ensayos de unión inmunológica (o inmunoensayos) utilizan un "agente de captura" para unirse específicamente a, y a menudo, inmovilizar el analito a una fase sólida. En una realización, el agente de captura es un resto que se une específicamente a un polipéptido o subsecuencia de CD163, tal como un anticuerpo anti-CD163.

Normalmente se detecta el producto génico de CD163 que se esté ensayando directa o indirectamente usando un marcador detectable. El marcador particular o grupo detectable usado en el ensayo no es típicamente un aspecto crítico de la invención, siempre que no interfiera de manera significativa con la unión específica del anticuerpo o anticuerpos usados en el ensayo. El marcador puede unirse covalentemente al agente de captura (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD163), o puede unirse a un tercer resto, tal como otro anticuerpo, que se une específicamente al polipéptido de CD163.

También se describen procedimientos y reactivos para los inmunoensayos competitivos y no competitivos para detectar polipéptidos de CD163. Los inmunoensayos no competitivos son ensayos en los que la cantidad de analito capturado (en este caso, CD163) se mide directamente. Uno de dichos ensayos es un inmunoensayo en dos sitios de base monoclonal que utiliza anticuerpos monoclonales reactivos para dos epítopos no interferentes sobre el polipéptido de CD163. Véase, por ejemplo, Maddox y col., 1983, J. Exp. Med., 158:1211 para información sobre los antecedentes. En un ensayo en "sándwich", el agente de captura (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD163) se une directamente a un sustrato sólido donde se inmoviliza. Estos anticuerpos inmovilizados capturan entonces cualquier polipéptido de CD163 presente en la muestra de ensayo. El polipéptido de CD163 inmovilizado de este modo puede entonces marcarse, es decir, mediante la unión a un segundo anticuerpo anti-CD163 que porte un marcador. Como alternativa, el segundo anticuerpo para CD163 puede carecer de marcador, pero unirse por un tercer anticuerpo marcado específico para anticuerpos de la especie de la que se deriva el segundo anticuerpo. El segundo anticuerpo, como alternativa, puede modificarse con un resto detectable, tal como biotina, al que puede unirse específicamente una tercera molécula marcada, tal como estreptavidina marcada con enzima.

En los ensayos competitivos, la cantidad de polipéptido de CD163 presente en la muestra se mide indirectamente midiendo la cantidad de un polipéptido de CD163 añadido (exógeno) desplazado (o eliminado de la competición) de un agente de captura (por ejemplo, anticuerpo para CD163) por el polipéptido de CD163 presente en la muestra. Un ensayo de inhibición de hapteno es otro ejemplo de ensayo competitivo. En este ensayo, se inmoviliza un polipéptido de CD163 sobre un sustrato sólido. Se añade a la muestra una cantidad conocida de anticuerpo para CD163, y se pone entonces en contacto la muestra con el polipéptido de CD163 inmovilizado. En este caso, la cantidad de anticuerpo anti-CD163 unido al polipéptido de CD163 inmovilizado es inversamente proporcional a la cantidad de polipéptido de CD163 presente en la muestra. La cantidad de anticuerpo inmovilizado puede detectarse bien detectando la fracción inmovilizada de anticuerpo o bien la fracción del anticuerpo que permanece en disolución. En este aspecto, la detección puede ser directa, en los casos donde el anticuerpo está marcado, o indirecta, en los casos donde el marcador está unido a una molécula que se une específicamente al anticuerpo, tal como se describe anteriormente.

#### Otros formatos de ensayo basados en anticuerpo

Los procedimientos y reactivos para detectar y cuantificar la presencia de polipéptido de CD163 en la muestra usando un formato de inmunotransferencia (transferencia de Western) se describen en el presente documento. Otro inmunoensayo es la llamada "cromatografía de flujo lateral". En una versión no competitiva de cromatografía de flujo lateral, una muestra se mueve a lo largo de un sustrato mediante, por ejemplo, acción capilar, y se encuentra con un anticuerpo móvil marcado que se une al analito formando un conjugado. El conjugado entonces se mueve a través del sustrato y encuentra un segundo anticuerpo inmovilizado que se une al analito. Por lo tanto, el analito inmovilizado se detecta detectando el anticuerpo marcado. En una versión competitiva de cromatografía de flujo lateral, una versión marcada del analito se mueve a través del vehículo y compite con analito no marcado por la unión con el anticuerpo inmovilizado. A mayor cantidad del analito en la muestra, habrá una menor unión por el analito marcado y, por tanto, habrá una menor señal. Véase, por ejemplo, May y col., Patente de los Estados Unidos N° 5.622.871 y Rosenstein, Patente de los Estados Unidos N° 5.591.645.

Dependiendo del ensayo, varios componentes, incluyendo el antígeno, anticuerpo diana, o anticuerpo anti-catepsina S, pueden unirse a una superficie o soporte sólido (es decir, un sustrato, membrana, o papel de filtro). Se conocen en la técnica muchos procedimientos para inmovilizar biomoléculas a una variedad de superficies sólidas. Por ejemplo, la superficie sólida puede ser una membrana (por ejemplo, nitrocelulosa), un disco de microtitulación (por ejemplo, PVC, polipropileno, o poliestireno), un tubo de ensayo (vidrio o plástico), una varilla (por ejemplo, vidrio, PVC, polipropileno, poliestireno, látex, y similares), un tubo de microcentrífuga, o una perla de vidrio o plástico. El componente deseado puede enlazarse covalentemente o unirse no covalentemente a través de un enlace no específico.

Puede emplearse una amplia variedad de polímeros orgánicos e inorgánicos, tanto naturales como sintéticos, como el material para la superficie sólida. Los polímeros ilustrativos incluyen polietileno, polipropileno, poli(4-metilbuteno), poliestireno, polimetacrilato, poli(tereftalato de etileno), rayón, nailon, poli(butirato de vinilo), difluoruro de polivinilideno (PVDF), siliconas, poliformaldehído, celulosa, acetato de celulosa, nitrocelulosa, y similares. Otros materiales que pueden emplearse incluyen papel, vidrio, cerámica, metales, metaloides, materiales semiconductores, cementos o similares. Además, pueden usarse sustancias que forman geles, tales como proteínas (por ejemplo, gelatinas), lipopolisacáridos, silicatos, agarosa y poli(acrilamidas). También son adecuados polímeros que forman varias fases acuosas, tales como dextranos, polialquilenglicoles o tensioactivos, tales como fosfolípidos, sales de alquilamonio de cadena larga (12-24 átomos de carbono) y similares. En los casos donde la superficie sólida es porosa, pueden emplearse varios tamaños de poro dependiendo de la naturaleza del sistema.

#### Espectrometría de masas

La masa de una molécula puede usarse frecuentemente como un identificador de la molécula. Por lo tanto, pueden usarse procedimientos de espectrometría de masas para identificar un analito de proteína. Los espectrómetros de masas pueden medir masas determinando el tiempo necesario para que un analito ionizado viaje a lo largo de un tubo de trayectoria y para ser detectado por un detector de iones. Un procedimiento de espectrometría de masas para proteínas es la espectrometría de masas de ionización desorción láser asistida por matriz ("MALDI"). En el MALDI, el analito se mezcla con un material de matriz que absorbe energía de la longitud de onda de un láser y se sitúa sobre la superficie de una sonda. Tras golpear la matriz con el láser, el analito se desorbe de la superficie de la sonda, se ioniza, y se detecta por el detector de iones. Véase, por ejemplo, Hillenkamp y col., Patente de los Estados Unidos N° 5.118.937.

Otros procedimientos de espectrometría de masas para proteínas se describen en Hutchens y Yip, Patente de los Estados Unidos N° 5.719.060. En uno de dichos procedimientos citado como Superficies Mejoradas para Captura de Afinidad ("SEAC") se usa un reactivo de afinidad de fase sólida que se une al analito específica o no específicamente, tal como un anticuerpo o ión metálico, para separar el analito de otros materiales en una muestra. Después el analito capturado se desorbe de la fase sólida mediante, por ejemplo, energía láser, se ioniza, y se detecta por el detector.

#### **Ácidos nucleicos**

Los ejemplos desvelan el descubrimiento por parte de los inventores de varios nuevos polinucleótidos de CD163. Los procedimientos de la presente invención utilizan varios nuevos polinucleótidos aislados (por ejemplo, secuencias de ADN y transcritos de ARN, hebras sentido y complementarias antisentido, mono y bicatenarias, incluyendo variantes de corte y empalme alternativo de las mismas, que codifican nuevos polipéptidos de CD163. Los inventores comunican en el presente documento nuevos polinucleótidos que codifican polipéptidos de CD163 porcino, murino, humano, canino, y de mono verde africano y que comprenden las secuencias expuestas en SEC ID N°: 1, 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47.

Debe tenerse en cuenta que desvelando las SEC ID N°: 1, 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 se proporciona a un experto en la técnica una multitud de procedimientos para obtener estas secuencias. A modo de ejemplo, sería posible generar sondas a partir de las secuencias desveladas en las SEC ID N°: 1, 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 y explorar ADNc porcino, murino, humano, canino, y de mono verde africano o librerías genómicas y de este modo obtener íntegramente las SEC ID N°: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 y 47, o su equivalente genómico. Sambrook, y col., (Eds.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, Nueva York (1989). También a modo de ejemplo, un experto en la materia reconocerá de manera inmediata que dadas las secuencias desveladas en las SEC ID N°: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 es posible generar los cebadores adecuados para amplificación mediante la PCR para obtener la secuencia completa representada por estas secuencias. (Véase, por ejemplo, PCR Technology, H. A. Erlich, ed., Stockton Press, Nueva York, 1989; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, M. A. Innis, David H. Gelfand, John J. Sninsky, y Thomas J. White, eds., Academic Press, Inc., Nueva York, 1990).

Los polinucleótidos de ADN útiles en los procedimientos de la presente invención incluyen ADNc, y ADN que se ha sintetizado químicamente en su totalidad o en parte y también se pretende incluir variantes alélicas de los mismos. Las variantes alélicas son formas modificadas de una secuencia de gen de tipo silvestre, siendo la modificación el resultado de la recombinación durante la segregación cromosómica, o la exposición a condiciones que den lugar a mutación genética. Las variantes alélicas, al igual que los genes de tipo silvestre, son secuencias de origen natural (en oposición a las variantes de origen no natural que surgen de la manipulación *in vitro*).

Las secuencias de ADN que codifican los nuevos polipéptidos de CD163 se exponen en las SEC ID N°: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47. El experto en la materia apreciará fácilmente que el ADN comprende una molécula bicatenaria, por ejemplo, la molécula que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 junto con la molécula complementaria (la "hebra no codificante" o "complemento") que tiene una secuencia deducible a partir de la secuencia de las SEC ID N°: 5, 12, 13, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, y 47 de acuerdo con las reglas de emparejamiento de bases de Watson-Crick para ADN. Otros polinucleótidos codifican los polipéptidos de CD163 porcino, murino y de mono verde africano de las SEC ID N°: 2, 14, 24, 27 y 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48 que difieren en secuencia de los polinucleótidos de las SEC ID N°: 1, 3, 5, 12, 13, 17, 18, 22, 23, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 y 47 en virtud de la degeneración conocida del código genético universal, como se conoce bien en la técnica. Los procedimientos de la presente invención, por tanto, contemplan usar aquellas moléculas de ADN y ARN que, en la expresión, codifican los polipéptidos de SEC ID N°: 2, 14, 24, 27 y 32. Habiendo identificado la secuencia de restos de aminoácidos codificada en el polipéptido de CD163, y con el conocimiento de todos los tripletes de codones para cada resto de aminoácidos particular, es posible describir todas las dichas secuencias de ARN y ADN. Las moléculas de ADN y ARN distintas de las específicamente desveladas en el presente documento caracterizadas únicamente por un cambio en un codón para un aminoácido particular, se encuentran, por lo tanto, dentro del ámbito de los procedimientos de la presente invención.

Se expone una tabla de aminoácidos y sus abreviaturas, símbolos y codones representativos en la siguiente Tabla 4.

**Tabla 4**

Aminoácido	Abreviatura	Símbolo	Codón(es)					
Alanina	Ala	A	GCA	GCC	GCG	GCU		
Cisteína	Cys	C	UGC	UGU				
Ácido aspártico	Asp	D	GAC	GAU				
Ácido glutámico	Glu	E	GAA	GAG				
Fenilalanina	Phe	F	UUC	UUU				

(continuación)

Aminoácido	Abreviatura	Símbolo	Codón(es)					
Glicina	Gly	G	GGA	GGC	GGG	GGU		
Histidina	His	H	CAC	CAU				
Isoleucina	Ile	I	AUA	AUC	AUU			
Lisina	Lys	K	AAA	AAG				
Leucina	Leu	L	UUA	UUG	CUA	CUC	CUG	CUU
Metionina	Met	M	AUG					
Asparagina	Asn	N	AAC	AAU				
Prolina	Pro	P	CCA	CCC	CCG	CCU		
Glutamina	Gln	Q	CAA	CAG				
Arginina	Arg	R	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGU
Serina	Ser	S	AGC	AGU	UCA	UCC	UCG	UCU
Treonina	Thr	T	ACA	ACC	ACG	ACU		
Valina	Val	V	GUA	GUC	GUG	GUU		
Triptófano	Trp	W	UGG					
Tirosina	Tyr	Y	UAC	UAU				

5 Como se conoce bien en la técnica, los codones constituyen tripletes de secuencias de nucleótidos en moléculas de ARNm y sus correspondientes moléculas de ADNc. Los codones están caracterizados por la base uracilo (U) cuando están presentes en una molécula de ARN pero están caracterizados por la base timidina (T) cuando están presentes en ADN. Un solo cambio en un codón para el mismo resto de aminoácido dentro de un polinucleótido no cambiará la secuencia o estructura del polipéptido codificado. Es evidente que cuando una expresión afirma que una secuencia de 3 nucleótidos particular "codifica" cualquier aminoácido particular, el experto habitual en la técnica reconocerá que la tabla anterior proporciona un medio para identificar los nucleótidos particulares en cuestión. A modo de ejemplo, si una secuencia de tres nucleótidos particular codifica treonina, la tabla anterior desvela que las secuencias de triplete posibles son ACA, ACG, ACC y ACU (ACT si es en ADN).

10 Por lo tanto, también se describen en el presente documento polinucleótidos aislados útiles en los procedimientos de la presente invención del modo siguiente:

un polinucleótido aislado que comprende:

- 15 (a) una secuencia de polinucleótido de susCD163v1 expuesta en las SEC ID N°: 1, y 5.  
 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 70 %, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 %, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 2  
 20 (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 2,  
 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 25 (a) una secuencia de polinucleótido de susCD163v2 expuesta en las SEC ID N°: 12 o 13  
 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 99%, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 14  
 (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 14,  
 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido de CD163v2 murino expuesta en las SEC ID N°: 22 o 23

- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 24,
- (c) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a) o (b);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 5 (a) una secuencia de polinucleótido de CD163v3 murino expuesta en las SEC ID N°: 25 o 26
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 27
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 27,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 10 (a) una secuencia de polinucleótidos de CD163v2 de mono verde africano expuesta en las SEC ID N°: 30 o 31
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 98 % o 99 % de identidad y/ similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 32
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 32,
- 15 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 20 (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 33
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 34
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 34,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 25 (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 35
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 36
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 36,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 30 (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 37
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 38
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 38,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 35 (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 39
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 40
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 40,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

40 un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 41
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 42
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 42,
- 45 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- 50 (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 43
- (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96 %, 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 44
- (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 44,
- (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 45  
 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96 % 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 46  
 5 (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 46,  
 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c); y

un polinucleótido aislado que comprende:

- (a) una secuencia de polinucleótido expuesta en SEC ID N°: 47  
 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96 % 97%, 98 % o 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 48  
 10 (c) un polinucleótido que codifica un polipéptido de SEC ID N°: 49,  
 (d) un polinucleótido que es el complemento de cualquiera de (a), (b) o (c);

15 La información de secuencia de polinucleótido proporcionada en el presente documento hace posible la expresión a gran escala del polipéptido codificado mediante técnicas bien conocidas y puestas en práctica de manera rutinaria en la técnica. Dichos polinucleótidos permiten la identificación y aislamiento de polinucleótidos que codifican polipéptidos de CD163v1 porcino relacionados, tales como variantes alélicas humanas y especies homólogas, mediante técnicas bien conocidas incluyendo hibridación de Southern y/o de Northern, y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

20 El conocimiento de la secuencia de cualquiera de las secuencias de CD163 desveladas en el presente documento también hace posible mediante el uso de hibridación de Western o de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la identificación de secuencias de ADN genómico que codifican las secuencias reguladoras de CD163, tales como promotores, operadores, potenciadores, represores, y similares.

25 Tal como se indica en la sección anterior titulada "Ensayos", dichos polinucleótidos también son útiles en ensayos de hibridación para detectar la capacidad de células para expresar CD163, o para medir niveles de expresión de CD163. Dichos polinucleótidos también pueden ser la base para procedimientos diagnósticos útiles para determinar la susceptibilidad de un animal a la infección vírica tal como se describe anteriormente.

30 La divulgación en el presente documento de los polinucleótidos de longitud completa que codifican un polipéptido de CD163 hace fácilmente disponible al experto habitual en la materia fragmentos del polinucleótido de longitud completa. Los fragmentos únicos de los polinucleótidos que codifican CD163 comprenden al menos 15 nucleótidos consecutivos hasta la longitud completa de la secuencia de longitud completa (incluyendo todos y cada uno de los valores enteros intermedios) de un polinucleótido que codifica un CD163 desvelado en el presente documento. Debido a que dichos polinucleótidos (incluyendo fragmentos) comprenden secuencias únicas para la secuencia de polinucleótido que codifica CD163 particular, hibridarán por lo tanto solo en condiciones de elevada rigurosidad o de rigurosidad moderada (es decir, "específicamente") a los polinucleótidos que codifican los diversos polipéptidos de CD163. Las secuencias únicas para dichos polinucleótidos son reconocibles mediante una comparación de secuencias con otros polinucleótidos conocidos, y pueden identificarse mediante el uso de programas de alineamiento usados de manera rutinaria en la técnica, por ejemplo, aquellos puestos a disposición en bases de datos públicas de secuencias. Dichas secuencias también son reconocibles a partir de análisis de hibridación de Southern para determinar el número de fragmentos de ADN genómico con los que hibridará un polinucleótido.  
 35 Dichos polinucleótidos pueden marcarse de tal forma que se permita su detección, incluyendo marcaje radiactivo, fluorescente y enzimático.

40 Pueden incluirse uno o más fragmentos de polinucleótidos únicos (u otros polinucleótidos de CD163 tal como se han discutido anteriormente) en kits que se usan para detectar la presencia de un polinucleótido que codifica CD163, o usarse para detectar variaciones en una secuencia de polinucleótidos que codifica CD163. También se hacen disponibles polinucleótidos antisentido que reconocen e hibridan con polinucleótidos que codifican CD163. Se proporcionan polinucleótidos antisentido de longitud completa y fragmentos. Las moléculas de fragmentos antisentido de la invención incluyen (i) aquellas que reconocen específicamente e hibridan con las variantes de CD163 desveladas en el presente documento (según se determina mediante la comparación de secuencia de ADN que codifica los CD163 con ADN que codifica otras moléculas conocidas). La identificación de secuencias únicas para los nuevos polinucleótidos que codifican a CD163 puede deducirse mediante el uso de cualquier base de datos de secuencia disponible públicamente, y/o mediante el uso de programas de comparación de secuencias comerciales. La singularidad de las secuencias seleccionadas en un genoma completo puede verificarse adicionalmente mediante análisis de hibridación. Después de la identificación de las secuencias deseadas, puede efectuarse un aislamiento mediante digestión de restricción o una amplificación usando cualquiera de las diversas técnicas de reacción en cadena de la polimerasa bien conocidas en la técnica. Los polinucleótidos antisentido son particularmente relevantes para regular la expresión de CD163 por aquellas células que expresan ARNm de CD163.  
 45  
 50  
 55

Los ácidos nucleicos antisentido (preferentemente oligonucleótidos de 10 a 20 pares de bases) capaces de unirse específicamente a secuencias de control de la expresión de CD163 o a ARN de CD163 se introducen en las células (por ejemplo, mediante un vector viral o un sistema de dispersión coloidal, tal como liposómico). El ácido nucleico

antisentido se une a la secuencia de nucleótidos diana de CD163 porcino en la célula y evita la transcripción o la traducción de la secuencia diana. Se contemplan específicamente oligonucleótidos antisentido de fosforotioato y metilfosfonato para su uso terapéutico mediante la invención. Los oligonucleótidos pueden modificarse adicionalmente mediante poli-lisina, transferrina polilisina, o restos colesterol en su extremo 5'. La supresión de la expresión de CD163 porcino a nivel transcripcional o traduccional es útil para generar modelos celulares o animales para enfermedades caracterizadas por la expresión aberrante de CD163 porcino o como una modalidad terapéutica.

Tal como se indica anteriormente en más detalle, los ácidos nucleicos descritos en el presente documento incluyen vectores que comprenden un polinucleótido tal como se define en el presente documento. Dichos vectores son útiles, por ejemplo, para amplificar los polinucleótidos en células hospedadoras para crear cantidades útiles de los mismos. El vector es un vector de expresión en el que el polinucleótido descrito en el presente documento se une operativamente a un polinucleótido que comprende una secuencia de control de la expresión. Dichos vectores son útiles para la producción recombinante de polipéptidos.

Las células hospedadoras se transforman o transfectan (de manera estable o transitoria) con polinucleótidos o vectores tal como se describe en el presente documento. Tal como se ha afirmado anteriormente, dichas células hospedadoras son útiles para la producción de virus y para la producción de vacunas.

#### Polipéptidos

Los ejemplos desvelan el descubrimiento por parte de los inventores de varios nuevos polipéptidos de CD163 que se exponen en las SEC ID N°: 2, 14, 19, 24, 27, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, y 48 del siguiente modo:

un polinucleótido aislado que comprende un polipéptido de susCD163v1 con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 2;

un polipéptido que tiene al menos un 70 %, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 4%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 %, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 2;

un polinucleótido aislado que comprende un polipéptido de susCD163v2 con la secuencia expuesta en SEC ID N°: 14;

un polipéptido que tiene al menos un 99 %, de identidad y/o similitud con un polipéptido de susCD163v2 expuesto en SEC ID N°: 14;

un polipéptido de CD163v2 murino que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 24;

un polipéptido de CD163v3 murino que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 27; un polipéptido que tiene un 96 %, 97 %, 98 %, o 99 %, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 27;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 32;

un polipéptido que tiene al menos un 98 % o 99 %, de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 32;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 34;

un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 34;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 36;

un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 36;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 38; un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 39;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 40;

un polipéptido que tiene al menos un 95 %, 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 40;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 42;

un polipéptido que tiene al menos un 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 42;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 44;

un polipéptido que tiene al menos un 90 %, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 44; un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 46;

un polipéptido que tiene al menos un 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 46;

un polipéptido que tiene la secuencia expuesta en SEC ID N°: 48; y

un polipéptido que tiene al menos un 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99 % de identidad y/o similitud con un polipéptido expuesto en SEC ID N°: 48.

Los polipéptidos pueden aislarse a partir de fuentes celulares naturales o pueden sintetizarse químicamente, pero preferentemente se producen mediante procedimientos recombinantes que implican a células hospedadoras, tal como se describe en el presente documento. Se espera que el uso de células hospedadoras de mamífero proporcione dichas modificaciones postraduccionales (por ejemplo, glucosilación, truncado, lipidación, y fosforilación) según se necesite para conferir una actividad biológica óptima a los productos de expresión recombinante. Se

incluyen las formas glucosiladas y no glucosiladas de los nuevos polipéptidos de CD163.

La sobreexpresión en hospedadores eucariotas o procariotas tal como se describen anteriormente facilita el aislamiento de polipéptidos de CD163 incluyendo polipéptidos de CD163 aislados tal como se exponen en las SEC ID N°: 2, 14, 19, 24, 27, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48 y variantes y sustituciones conservativas de aminoácidos en estos incluyendo polipéptidos marcados y etiquetados.

También se incluyen nuevos polipéptidos de CD163 que están "marcados". La expresión "marcados" se usa en el presente documento para referirse a la conjugación o unión covalente de cualquier grupo detectable adecuado, incluyendo enzimas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, beta-glucuronidasa, fosfatasa alcalina, y beta-D-galactosidasa), marcadores fluorescentes (por ejemplo, fluoresceína, luciferasa), y radiomarcadores (por ejemplo,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{32}\text{P}$ , y  $^{35}\text{S}$ ) al compuesto que se esté marcando. Las técnicas para marcar varios compuestos, incluyendo proteínas, péptidos, y anticuerpos son bien conocidas. Véase, por ejemplo, Morrison, *Methods in Enzymology* 32b, 103 (1974); Syvanen y col., *J. Biol. Chem.* 284, 3762 (1973); Bolton y Hunter, *Biochem. J.* 133, 529 (1973). El término marcado también puede abarcar un polipéptido que se ha unido covalentemente a un marcador de aminoácido tal como se discute anteriormente.

Además, los nuevos polipéptidos de CD163 pueden marcarse de manera indirecta. Esto implica la adición covalente de un resto al polipéptido y el posterior acoplamiento del resto añadido a un marcador o compuesto marcado que muestre unión específica al resto añadido. Las posibilidades para el marcado indirecto incluyen la biotinylación del péptido seguida de la unión a avidina acoplada a uno o más de los grupos marcadores anteriores. Otro ejemplo puede ser incubar un anticuerpo radiomarcado específico para un marcador de histidina con un polipéptido de CD163 que comprende un marcador de polihistidina. El efecto neto es unir el anticuerpo radiactivo al polipéptido debido a la considerable afinidad del anticuerpo por el marcador.

La invención también abarca variantes (o análogos) de la nueva proteína de CD163. En un ejemplo, se proporcionan variantes de inserción en las que uno o más restos de aminoácidos suplementan a una nueva secuencia de aminoácidos de CD163. Las inserciones pueden localizarse en uno o ambos extremos de la proteína, o pueden posicionarse dentro de regiones internas de la secuencia de aminoácidos de la nueva proteína de CD163. Las variantes insercionales con restos adicionales en uno o ambos extremos pueden incluir, por ejemplo, proteínas de fusión y proteínas que incluyen marcadores o etiquetas de aminoácidos. Las variantes de inserción incluyen nuevos polipéptidos de CD163 en los que uno o más restos de aminoácidos se añaden a una secuencia de aminoácidos de CD163, o a un fragmento biológicamente activo de las mismas.

Las variantes insercionales por lo tanto también incluyen proteínas de fusión en las que el extremo amino y/o carboxilo del nuevo polipéptido de CD163 se fusiona con otro polipéptido. Se conocen bien en la técnica varios polipéptidos marcadores y sus respectivos anticuerpos. Los ejemplos incluyen marcadores de poli-histidina (poli-his) o poli-histidina-glicina (poli-his-gly); el polipéptido marcador HA de la gripe y su anticuerpo 12CA5 [Field y col., *Mol. Cell. Biol.*, 8:2159-2165 (1988)]; el marcador c-myc y los anticuerpos 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 y 9E10 para este [Evan y col., *Molecular and Cellular Biology*, 5:3610-3616 (1985)], y el marcador de glucoproteína D (gD) del virus del herpes simple y su anticuerpo [Paborsky y col., *Protein Engineering*, 3(6):547-553 (1990)]. Otros polipéptidos marcadores incluyen el péptido Flag [Hopp y col., *BioTechnology*, 6:1204-1210 (1988)]; el péptido del epítipo KT3 [Martin y col., *Science*, 255:192-194 (1992)]; un péptido de epítipo de alfa-tubulina [Skinner y col., *J. Biol. Chem.*, 266:15163-15166 (1991)]; y el marcador peptídico de la proteína 10 del gen T7 [Lutz-Freyermuth y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:6393-6397(1990)]. Además, el polipéptido de CD163 puede marcarse con proteínas enzimáticas, tales como peroxidasa o fosfatasa alcalina.

Se incluyen las variantes de eliminación en las que uno o más restos de aminoácidos se eliminan en un nuevo polipéptido de CD163. Las eliminaciones pueden efectuarse en uno o ambos extremos del nuevo polipéptido de CD163, o con la retirada de uno o más restos dentro de la nueva secuencia de aminoácidos de CD163. Las variantes de eliminación, por tanto, incluyen todos los fragmentos del nuevo polipéptido de CD163.

Los polipéptidos de CD163 contienen un dominio transmembrana o de anclaje a membrana. Debe reconocerse que dichos dominios transmembrana son útiles cuando se expresan en el contexto de una proteína heteróloga para ayudar en el direccionamiento de la proteína heteróloga hacia las membranas. También debe reconocerse que puede ser ventajoso eliminar algunos dominios transmembrana para potenciar la purificación o solubilidad de la proteína. Las variantes de eliminación transmembrana de CD163 y los polinucleótidos que las codifican tienen un valor potencial como antivirales terapéuticos. Dichas variantes se desvelan específicamente en el presente documento como las SEC ID N°: 37-40.

Los procedimientos de la presente invención también incluyen el uso de variantes de los polipéptidos anteriormente mencionados, es decir, polipéptidos que varían respecto de la secuencia de referencia por sustituciones conservativas de aminoácidos.

Las sustituciones conservativas ilustrativas se exponen en las Tablas 1, 2 y 3 en la sección anterior titulada "Definiciones".

En aquellas situaciones en las que es preferible aislar parcial o completamente a los nuevos polipéptidos de CD163, la purificación puede llevarse a cabo usando procedimientos estándar bien conocidos para el experto en la materia. Dichos procedimientos incluyen, sin limitación, separación mediante electroforesis seguida de electroelución, varios tipos de cromatografía (inmunoafinidad, tamiz molecular, y/o intercambio iónico), y/o cromatografía líquida de alta presión. En algunos casos, puede ser preferible usar más de uno de estos procedimientos para la purificación completa.

La purificación de nuevos polipéptidos de CD163 puede lograrse usando una variedad de técnicas. Si el polipéptido se ha sintetizado de tal forma que contiene un marcador, tal como una hexahistidina (CD163/hexaHis) u otro péptido pequeño, tal como FLAG (Eastman Kodak Co., New Haven, Conn.) o myc (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) en su extremo carboxilo o amino, puede purificarse esencialmente en un procedimiento en una etapa haciendo pasar la solución a través de una columna de afinidad en la que la matriz de la columna tiene una elevada afinidad por el marcador o por el péptido directamente (es decir, un anticuerpo monoclonal que reconoce específicamente a CD163). Por ejemplo, la polihistidina se une con elevada afinidad y especificidad al níquel, por lo que puede usarse una columna de afinidad de níquel (tales como las columnas de níquel de marca comercial registrada de Quiagen) para la purificación de CD163/poliHis. (Véase, por ejemplo, Ausubel y col., eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, Sección 10.11.8, John Wiley & Sons, Nueva York [1993]).

Incluso si el nuevo polipéptido de CD163 se prepara sin un marcador o etiqueta para facilitar la purificación, el nuevo CD163 de la invención puede purificarse mediante cromatografía de inmunoafinidad. Para lograr esto, se tienen que preparar anticuerpos específicos para polipéptidos de CD163 por medios bien conocidos en la técnica.

Los anticuerpos generados contra los nuevos polipéptidos de CD163 descritos en el presente documento pueden obtenerse administrando los polipéptidos o fragmentos portadores de epítopos, análogos, o células a un animal, preferentemente un no humano, usando protocolos rutinarios. Para la preparación de anticuerpos monoclonales, puede usarse cualquier técnica conocida en la técnica que proporcione anticuerpos producidos por cultivos continuos de líneas celulares. Los ejemplos incluyen diversas técnicas, tales como aquellas en Kohler, G. y Milstein, C., *Nature* 256: 495-497 (1975); Kozbor y col., *Immunology Today* 4: 72 (1983); Cole y col., págs. 77-96 en *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985).

En los casos donde se preparen los nuevos polipéptidos de CD163 sin un marcador unido, y no estén disponibles anticuerpos, pueden usarse otros procedimientos de purificación bien conocidos. Dichos procedimientos incluyen, sin limitación, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de tamiz molecular, HPLC, electroforesis en gel nativo en combinación con elución de gel, y enfoque isoelectrico preparativo (máquina/técnica de "Isoprime", Hoefer Scientific). En algunos casos, pueden combinarse dos o más de estas técnicas para lograr una pureza aumentada.

Debe entenderse que la definición de polipéptidos, tal como se usa en el presente documento, pretende incluir polipéptidos que porten modificaciones distintas de la inserción, eliminación, o sustitución de restos de aminoácidos. A modo de ejemplo, las modificaciones pueden ser de naturaleza covalente, e incluyen, por ejemplo, unión química con polímeros, lípidos, y otros restos orgánicos e inorgánicos.

### Anticuerpos

Los anticuerpos también se encuentran abarcados por la presente divulgación (por ejemplo, anticuerpos monoclonales y policlonales, anticuerpos monocatenarios, anticuerpos quiméricos, anticuerpos bifuncionales/biespecíficos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, y anticuerpos con regiones determinantes de la complementariedad (CDR) injertadas, incluyendo compuestos que incluyen secuencias de CDR que reconocen específicamente a un polipéptido de la invención) específicos para nuevos CD163 o fragmentos de los mismos.

La expresión "específicos para", cuando se usa para describir anticuerpos de la invención, indica que la región variable de los anticuerpos reconoce y se une solo a los polipéptidos de CD163 (es decir, es capaz de distinguir a los polipéptidos de CD163 de otros polipéptidos conocidos por virtud de diferencias medibles en la afinidad de unión, a pesar de la posible existencia de identidad de secuencia localizada, homología, o similitud entre los nuevos CD163 y dichos polipéptidos). Se entenderá que los anticuerpos específicos pueden también interactuar con otras proteínas (por ejemplo, proteína A de *S. aureus* u otros anticuerpos en técnicas de ELISA) mediante interacciones con secuencias fuera de la región variable de los anticuerpos, y en particular, en la región constante de la molécula. Los ensayos de exploración para determinar la especificidad de unión de un anticuerpo se conocen bien y se practican de manera rutinaria en la técnica. Para una discusión exhaustiva de dichos ensayos, véase Harlow y col., (Eds), *Antibodies A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory; Cold Spring Harbor, NY (1988), Capítulo 6. Los anticuerpos que reconocen y se unen a fragmentos de los polipéptidos de CD163 descritos en el presente documento también están contemplados, siempre que los anticuerpos sean, primeramente y ante todo, específicos para los nuevos polipéptidos de CD163. Los anticuerpos pueden producirse usando cualquier procedimiento bien conocido y practicado de manera rutinaria en la técnica. Pueden humanizarse anticuerpos no humanos mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica. En un procedimiento, las CDR no humanas se insertan en un anticuerpo humano o secuencia marco conservada de anticuerpo de consenso. Pueden introducirse cambios adicionales en el marco conservado del anticuerpo para modular la afinidad o la inmunogenicidad.

Los anticuerpos, tal como se describen en el presente documento, son útiles para fines diagnósticos para detectar o cuantificar a los CD163, así como para la purificación de los CD163. También se abarcan kits que comprenden un anticuerpo para cualquiera de los fines descritos en el presente documento.

5 En general, un kit también incluye un antígeno de control para el que el anticuerpo es inmuno específico. La presente invención se ilustra además, pero se limita, mediante los siguientes ejemplos.

**Ejemplo 1: La transfección transitoria con CD163 porcino confiere permisividad a la infección por virus del SRRP a una línea celular no permisiva.**

10 Se usó el ARNm total de células de macrófagos alveolares porcinas para construir una biblioteca de ADNc en el plásmido pCMV-Sport6.1 (Invitrogen), con el ADNc clonado entre los sitios *EcoRV* y *NotI*. Un miembro de esta biblioteca, cuando se aisló y transfectó de manera transitoria a la línea celular BHK-21 (riñón de cría de hámster), confirió un fenotipo permisivo a SRRP. Las células se crecieron en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 5 % en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5 % a 37 °C. Los cultivos celulares se transfectaron de manera transitoria usando 10,0 ul de Lipofectamina 2000 (Invitrogen) y 2,0 ug de plásmido. Se transfectó una monocapa duplicada con plásmido pPAMB de control negativo. Este plásmido es pCMV-Sport6.1 que carece de inserción. La eficacia de la transfección se controló con un plásmido que expresa proteína verde fluorescente (GFP). Aproximadamente 24 horas después de la transfección, se infectaron las monocapas con los genotipos americano del norte (aislado P129) o europeo (aislado 96V198) del virus del SRRP. Para la detección de la replicación del SRRP, se fijaron las monocapas usando acetona al 80 % aproximadamente 24 horas después de la infección y se incubaron durante aproximadamente 1 hora con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc.). Este anticuerpo monoclonal es específico para la nucleocápsida viral del SRRP expresada a partir del marco abierto de lectura 7. Se usó un microscopio de fluorescencia invertido Nikon TE 300 con un objetivo 10x para fotografiar a una monocapa que contenía células positivas a FITC y una monocapa de control negativo.

25 Se confirmó que las células transfectadas se hicieron permisivas a los genotipos americano del norte (aislado P129) y europeo (aislado 96V198) del VSRP. La expresión de los genes virales pudo detectarse en muchas de las células BHK transfectadas, y la progenie viral fue fácilmente detectable en el sobrenadante. Las transfecciones de control usando vector sin inserción o plásmidos irrelevantes no confirieron permisividad.

30 La secuenciación de la inserción en el plásmido funcional, usando el kit de reacción de secuencia Big Dye Terminator Versión 1.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA) y el analizador de ADN de Applied Biosystems 3730 (Applied Biosystems), reveló un gen que era elevadamente homólogo al ADNc del gen de CD163 porcino publicado (Número de referencia de GenBank AJ311716). El ADNc identificado por los inventores contenía regiones 5' y 3' no traducidas adicionales en relación a AJ311716, y el marco abierto de lectura difirió de tres maneras: (1) una eliminación interna de 738 pb próxima al extremo 5', (2) una extensión de 15 pb del extremo 5' hasta un codón ATG cadena arriba, y (3) dieciséis cambios de nucleótidos que se predice que causan 10 cambios de aminoácidos. La identidad de secuencia de nucleótidos entre las secuencias fue del 99,4 %. Los alineamientos de la nueva secuencia de CD163 porcino descubierta con la secuencia anteriormente comunicada AJ311716 se muestran en las figuras 1 y 2. La nueva variante de CD163 porcina se denominó "susCD163v1".

SECUENCIA	ID N°
gtaataatac aagaagattt aatgggcat aaaaccttgg aatggacaaa ctcagaatgg 60	SEC ID N°: 5
tgctacatga aaactctgga tctgcagacc tgaactgag agtggtagat ggagtcactg 120	
aatgttcagg aagattgga gtgaattcc aaggagaatg ggaacaatc tgtgatgatg 180	
gctgggatag tgatgatgcc gctgtggcat gtaagcaact gggatgtcca actgctgtca 240	
ctgccattgg togagttaac gccagtgagg gaactggaca catttggtt gacagtgttt 300	
cttgccatgg acacgagtct gctctctggc agttagaca ccatgaaatg gaaagcatt 360	
attgcaatca taatgaagat gctgggtgta catgttctga tggatcagat ctggaactga 420	
gacttaaagg tggaggcagc cactgtgctg ggacagtgga ggtggaaatt cagaaactgg 480	
taggaaaagt gtgtgataga agctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc 540	
tgggatgtgg atctgcactc aaaacatcat atcaagtta ttccaaaacc aaggcaacaa 600	
acacatggct gtttgaagc agctgtaatg gaaatgaaac ttctcttgg gactgcaaga 660	
attggcagtg ggtggactt agttgtgate actatgacga agccaaaatt acctgctcag 720	
cccacaggaa acccagggtg gttggagggg acattcctg ctctggtcgt gttgaagtac 780	

ES 2 530 694 T3

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
aacatggaga caegtggggc acegtctgtg attctgactt ctctctggag ggggccagcg	840
tgetgtgcag ggaactacag tgcggcactg tggttccct cctgggggga gctcactttg	900
gagaaggaag tggacagatc tgggctgaag aattccagtg tgaggggcac gagtcccacc	960
tttcaactcg cccagtagca ccccgccctg acgggacatg tagccacagc agggacgtcg	1020
gcgtagtctg ctcaagatac acacaaatcc gcttgggtgaa tggcaagacc ccatgtgaag	1080
gaagagtgga gctcaacatt cttgggtcct gggggtccct ctgcaactct cactgggaca	1140
tggaagatgc ccatgtttta tgccagcagc ttaaagtgtg agttgccctt tctatcccgg	1200
gaggagcacc ttttgggaaa ggaagtgagc aggtctggag gcacatgtt cactgcactg	1260
ggactgagaa gcacatggga gattgttccg tcaactgctc gggcgcatca ctctgttctt	1320
cagggcaagt ggctctgta atctgctcag gaaaccagag tcagacacta tcccctgca	1380
attcatcctc ctccgaccca tcaagctcta ttatttcaga agaaaatggt gttgcctgca	1440
tagggagtgg tcaacttcgc ctggtcagtg gaggtggtcg ttgtgctggg agagttaggg	1500
tctatcatga gggctcctgg ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg aatgatgccc	1560
atgtggtgtg caaacagctg agctgtggat gggccattaa tgccactggg tctgctcatt	1620
ttggggaagg aacagggccc atttggctgg atgagataaa ctgtaatgga aaagaatctc	1680
atatttggca atgccactca catggttggg ggcggcacia ttgcaggcat aaggaggatg	1740
caggagtcat ctgctcggag ttcattgtctc tcagactgat cagtgaaaac agcagagaga	1800
cctgtgcagg gcgcctggaa gttttttaca acggagcttg gggcagcgtt ggcaagaata	1860
gcatgtctcc agccacagtg ggggtggtat gcaggcagct gggctgtgca gacagagggg	1920
acatcagccc tgcactctca gacaagacag tgtccaggea catgtgggtg gacaatgttc	1980
agtgtcctaa aggacctgac accctatggc agtgcccatc atctccatgg aagaagagac	2040
tggccagccc ctccagaggag acatggatca catgtgcaa caaataaga ctccaagaag	2100
gaaacactaa ttgttctgga cgtgtggaga tctggtaagg aggttcctgg ggcactgtgt	2160
gtgacgactc ctgggacctt gaagatgctc aggtggtgtg ccgacagctg ggtgtgtgct	2220
cagctttgga ggcaggaaaa gaggcgcgat ttggccaggg gactgggccc atatggtca	2280
atgaagtgaa gtgcaagggg aatgaaacct ccttgtggga ttgtcctgcc agatcctggg	2340
gccacagtga ctgtggacac aaggaggatg ctgctgtgac gtgttcagaa attgcaaaga	2400
gcccagaatc cctacatgcc acaggctgct catcttttgt tgcacttgca atctttgggg	2460
tcattctgtt ggctgtctc atcgattcc tcatttgac tcagaagcga agacagaggc	2520
agcgctctc agttttctca ggaggagaga attctgtcca tcaaattcaa taccgggaga	2580
tgaattcttg cctgaaagca gatgaaacgg atatgctaaa tcctcagga gaccactctg	2640
aagtacaatg aaaaggaaaa tgggaattat aacctggtga gttcagcctt taagatacct	2700
tgatgaagac ctggactatt gaatgagcaa gaatctgct cttacactga agattacaat	2760
acagtcctct gtctcctggf attccaaaga ctgctgttga atttctaaaa aatagattgg	2820
tgaatgtgac tactcaaagt tgtatgtaag actttcaagg gcattaaata aaaaagaata	2880
ttgtgaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	2930

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<pre> 1 M D K L R M V L H E N S G S A D L K L R   1 atggacaaactcagaatggtgctacatgaaaactctggatctgcagacctgaaactgaga 21 V V D G V T E C S G R L E V K F Q G E W   61 gtggtagatggagtcactgaatgttcaggaagattggaagtgaattccaaggagaatgg 41 G T I C D D G W D S D D A A V A C K Q L 121 ggaacaatctgtgatgatggctgggatagtgatgatgccgctgtggcatgtaagcaactg 61 G C P T A V T A I G R V N A S E G T G H 181 ggatgtccaactgctgtcactgccattggtcgagttaacgccagtgaggggaactggacac 81 I W L D S V S C H G H E S A L W Q C R H                     </pre>	<p>SEC ID N°: 1 y 2</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>241 atttggccttgacagtggtttcttgccatggacaagagctgctgctctctggcagtgtagacac  101 H E W G K H Y C N H N E D A G V T C S D  301 catgaatggggaagcattattgcaatcataaatgaagatgctgggtgacatggtctgat  121 G S D L E L R L K G G S H C A G T V E  361 ggatcagatctggaactgagaccttaaggtggaggcagccactgctgctgggacagtgagg  141 V E I Q K L V G K V C D R S W G L K E A  421 gtggaaatcagaaactggtaggaaaagtgtgtgatagaagctggggactgaaagaagct  161 D V V C R Q L G C G S A L K T S Y Q V Y  481 gatgtggtttgaggcagctgggatgctgctcctcaaaacatcatatcaagtttat  181 S K T K A T N T W L F V S S C N G N E T  541 tccaaaaccaaggcaacaaacacatggctggttgaagcagctgtaatggaaatgaaact  201 S L W D C K N W Q W G G L S C D H Y D E  601 tctctttgggactgcaagaattggcagtggggtggacttagttgtgatcactatgacgaa  221 A K I T C S A H R K P R L V G G D I P C  661 gccaaaattacctgctcagccacaggaacccaggctggttggaggggacattccctgc  241 S G R V E V Q H G D T W G T V C D S D F  721 tctggtcgtgtgaagtacaacatggagacacgtggggcacctgctgattctgacttc  261 S L E A A S V L C R E L Q C G T V V S L  781 tctctggaggcggccagctgctgctgcagggaactacagtgccgactgctggtttccctc  281 L G G A H F G E G S G Q I W A E B F Q C  841 ctgggggagctcactttggagaaggaagtggacagatctgggctgaagaattccagtg  301 E G H E S H L S L C P V A P R P D G T C  901 gggggcagcagctcccactttcactctgcccagtagcaccccgcctgacgggacatgt  321 E H S R D V G V V C S R Y T Q I R L V N  961 agccacagcaggcagctcggcgtagtctgctcaagatacacacaaatccgcttgggtaat  341 G K T P C E G R V B L N I L G S W G S L  1021 ggcaagaccccatgtgaaggaagagtggagctcaacattcttgggtcctgggggtccctc  361 C N S H W D M E D A H V L C Q Q L K C G  1081 tgcactctcactgggacatggaagatgcccatggttttatgccagcagcttaaatgtgga  381 V A L S I F G G A P F G K G S E Q V W R  1141 gttgccctttctatcccgaggagcacttttgggaaaggaagtggcagctctggagg  401 H M F H C T G T E K H M G D C S V T A L  1201 cacatggttctcactgactgggactgagaagcacatgggagattgttcctgactgctctg  421 G A S L C S S G Q V A S V I C S G N Q S  1261 ggccatcactctgcttctcaggggcaagtgccctctgtaattctgctcagggaaccagagt  441 Q T L S P C N S S S D P S S S I I S E  1321 cagacactatcccggtcaattcactcctcctggaccatcaagctctattatttccagaa  461 E N G V A C I G S G Q L R L V D G G G R  1381 gaaaatggtgttgcctcagggagtggtcaactctgctggtcgatggaggtggtcgt  481 C A G R V E V Y H E G S W G T I C D D S  1441 tgtgctgggagatgagaggtctatcatgagggtcctggggcaccatctgtgatgacagc  501 W D L N D A H V V C K Q L S C G W A I N  1501 tgggactgaaatgatgccatggtgtgcaaacagctgagctggtggatgggccaataat  521 A T G S A H F G E G T G P I W L D E I N  1561 gccactggttctgctcattttgggaaaggaacaggggccatttggctggatgagataaac  541 C N G K E S H I W Q C H S H G W G R H N  1621 tgtaatggaaaagaatctcatatttggcaatgccactcacatggttggggggcggcacaat  561 C R H K E D A G V I C S E F M S L R L I  1681 tgcaggcataaggaggtgaggagctcctgctcggagttcatgctctcagactgac  581 S E N S R E T C A G R L E V F Y N G A W  1741 agtgaanaacagcagagagcctgtgagggcgcctggaaagtttttcaaacggagcttgg  601 G S V G K N S M S P A T V G V V C R Q L  1801 ggccagcttggcaagaatagcatgtctccagccacagtggggtggatgacaggcagctg  621 G C A D R G D I S P A S S D K T V S R R  1861 ggctgtgcagacagggggacatcagccctgcatctcagacaagacagtgctccaggcac  641 M W V D N V Q C P K G P D T L W Q C P S  1921 atgtgggtggacaatgttcagtgctcctaaaggacctgacaccctatggcagtgcccatca  661 S P W K K R L A S P S E E T W I T C A N  1981 tctccatggaagaagagactggccagccctcagaggagacatggatcacatgtgccaac  681 K I R L Q E G N T N C S G R V E I W Y G  2041 aaaataagacttcaagaaggaacactaattggtctggcagtggtggagatctggtagcga  701 G S W G T V C D D S W D L E D A Q V V C  2101 ggttctggggcactgtgtgacgaotcctgggacctgaaagatgctcaggtggtgtgc  721 R Q L G C G S A L E A G K E A A F G Q G  2161 cgacagctgggctggtcagctttggaggcaggaaaagaggccgcatttggccagggg  741 T G P I W L N E V K C K G N E T S L W D  2221 actgggcccataatggctcaatgaagtgaagtgaagggaatgaaacctccttggggat  761 C P A R S W G H S D C G H K E D A A V T  2281 tgtcctgccagatcctggggccacagtgactgtggacacaaggaggatgctgctgtgacg  781 C S E I A K S R E S L H A T G R S S F V  2341 tgttcagaatgcaagagccgagaatccctacatgccacaggtcagctcatctttggt  801 A L A I F G V I L L A C L I A F L I W T  2401 gcacttgcactcttggggtcattctgttggcctgtctcatgcatctcctcatttggact  821 Q K R R Q R L S V F S G E N S V H  2461 cagaagcgaagacagaggcagcggctctcagtttctcaggaggagagaattctgtccat  841 Q I Q Y R E M N S C L K A D E T D M L N  2521 caaattcaatccgggagatgaattcttggcctgaaagcagatgaaacggatgctcaat  861 P E G D H S E V Q  2581 ccctcaggagaccactctgaagtacaa</p>	

(continuación)

SECUCENCIA	ID N°
1 MDKLRMVLHE NSGSADLKLK RVDGVTECSG RLEVKPGGEW GTICDDGWDS 51 DDAAVACKQL GCPTAVTAIG RVNASEGTGH IWLDSVSCHG HESALWQCRH	SEC ID N°: 2
101 HEWGKHYCNH NEDAGVTCSD GSDLELRKLG GSHCAGTVE VEIQKLVGKV 151 CDRSWGKLEA DVVCRQLGCG SALKTSYQVY SKTKATNTWL FVSSCNGNET 201 SLWDCRNWQW GGLSCDHYDE AKITCSAHRK PRLVGGDIPC SGRVEVQHGD 251 TWGTVCSDF SLEAASVLCR ELQCGTVVSL LGGAHFGEES GQINAEFQC 301 EGHESHLSLC FVAPRPDGTG SHSRDVGVC SRYTQIRLVN GKTPCEGRVE 351 LNLGSGWGL CNSHWDMDA HVLCCQLKCG VALSIPGGAP FGKGSQVWR 401 HMFHCTGTEK HMGDCSVIAL GASLCSGQV ASVICSGNQS QTLSPCNSSS 451 SDPSSSIIE ENGVACIGSG QLRLVDGGR CAGRVEVYHE GSWGTICDDS 501 WDLNDAHVVC KQLSCGWAIN ATGSAHPGEG TGPIWLDEIN CNGKESHIWQ 551 CSHSGWRHIN CRHKEDAGVI CSEFMSLRLLI SENSRETGAG RLEVFPYNGAW 601 GSVGKNSMSP ATVGVVCRQL GCADRGDISP ASSDKTVSRH MVDNVQCPK 651 GPDTLWQCFPS SPWKKRLASP SEETWITCAN KIRLQEGNTN CSGRVEIYWG 701 GSWGTVCDDSD WLEDAQVVC RQLGCGSALE AGKEAAGGQG TGPIWLNEVK 751 CKGNETSLED CPARSWGHSO CGHKEDAATV CSEIAKSRES LHATGRSSPV 801 ALAIFGVILL ACLIAFLIWT QKRRQRQLS VFSGGNSVH QIQYREMNSC 851 LKADETDMLN PSGDHSEVQ	

**Ejemplo 2: Construcción del plásmido pCMVsusCD163v1**

La construcción del plásmido pCMVsusCD163v1 se llevó a cabo del modo siguiente. El clon funcional en la biblioteca de ADN de macrófagos porcinos primarios en el que se identificó que confería permisividad al VSRP sirvió como molde para amplificación mediante la PCR de la inserción de CD163, incluyendo las regiones 5' y 3' no traducidas, usando los cebadores 5'DS-CD163 (SEC ID N°: 6) (5'-CGGAATTCGGCGGATGTAATAATACAAGAAGA-3') y 3'CD163 (SEC ID N°: 7) (5'CCGCTCGAGTAGTCCAG-GTCTTCATCAAGGTATCTT-3'). El cebador 5'DS-CD163 incorpora un sitio de restricción *SacII* en el extremo 5' de la inserción de CD163, mientras que el cebador 3'CD163 incorpora un sitio de restricción *XhoI* en el extremo 3' de la inserción (subrayado). Las reacciones que contenían 190 ng de plásmido se amplificaron usando ADN polimerasa Platinum *Pfx* (Invitrogen, N° de catálogo 11708-013) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las reacciones se calentaron a 94 °C durante 2 minutos, después se ciclaron 35 veces a 94 °C durante 20 segundos, a 55 °C durante 30 segundos, y 68 °C durante 3,5 minutos seguido de una extensión terminal a 72 °C durante 7 minutos. Los productos de la PCR resultantes se purificaron usando el kit de purificación de PCR Qiaquick (Qiagen, N° de catálogo 28104), se digirieron con las enzimas de restricción *SacII* y *XhoI*, y los fragmentos resultantes se purificaron en gel usando el kit de extracción de gel Qiaquick (Qiagen, N° de catálogo 28704). El fragmento de PCR de CD163 se ligó dentro del plásmido pCMV-Script (Stratagene, N° de catálogo 212220) preparado para aceptar el fragmento de PCR digerido por digestión con *SacII* y *XhoI* seguido de purificación en gel tal como se describe anteriormente. El material ligado se transformó en la cepa DH5α de *E. coli* y se seleccionaron los recombinantes mediante crecimiento en 50 µg/ml de kanamicina y se identificaron mediante análisis de restricción. El plásmido resultante, "pCMVsusCD163v1", contiene la inserción de CD163 porcina con eliminación interna descrita en el Ejemplo 1 bajo el control transcripcional del promotor de CMV eucariota y el gen de resistencia a neomicina/kanamicina bajo el control de promotores eucariotas y procariotas.

**Ejemplo 3: Construcción del vector de expresión pRSV-Script y pRSVsusCD163v1**

Se usó el plásmido pRc/RSV (Invitrogen) como molde para la amplificación por la PCR del promotor de VSR. La secuencia de promotor de VSR estaba contenida entre los nucleótidos 209 a 604 de pRc/RSV. Se sintetizaron el cebador directo PCIRSVLTR (SEC ID N°: 8) (5'-ACACTCGACATGTCGATGTACGGGCCAGATATACGCGT-3') y el cebador inverso VSRRTLSAC (SEC ID N°: 9) (5'TTCCTTACAGAGCTCGAGGTGCACACCAATGTGGTGAA -3'). Se incorporaron los sitios de reconocimiento de las endonucleasas *Pci I* y *Sac I* (subrayados) en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para futura clonación. La PCR se llevó a cabo usando el kit de ADN polimerasa HotMaster Taq (Eppendorf) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las reacciones contenían 0,9 ng de molde de plásmido pRc/RSV y 0,3 mM de cada cebador descrito anteriormente. Las reacciones se calentaron a 94 °C durante 2 minutos, después se ciclaron 30 veces a 94 °C durante 20 segundos, a 52 °C durante 10 segundos, y a 65 °C durante 1 minuto. El fragmento de PCR resultante se digirió con las enzimas de restricción *Pci I* y *Sac I*, se purificaron en gel, y se clonaron en el plásmido pCMV-Script (Stratagene) que se había digerido de manera similar para eliminar la secuencia de promotor de CMV. La construcción final puso al promotor de VSR inmediatamente cadena arriba del sitio de clonación múltiple, y se llamó "pRSV-Script".

La inserción susCD163v1 se clonó detrás del promotor de VSR del modo siguiente. Se extrajo la secuencia de susCD163v1 del plásmido pCMVsusCD163v1 mediante digestión de restricción (*Kpn I* y *Sac II*) y se purificó en gel. Este fragmento se ligó dentro del pRSV-Script que también se había digerido con las mismas enzimas y purificado en gel. La mezcla de ligación se transformó en *E. coli* DH5α y los transformantes se seleccionaron usando kanamicina a 50 µg/ml. El clon que contenía la inserción correcta se denominó "pRSVsusCD163v1".

**Ejemplo 4: Clonación y caracterización de una variante más larga de ADNc de CD163 porcino**

Basándose en la secuencia de CD163v1 porcino, se diseñaron un cebador directo 5'CD163NotIlong (SEC ID N°: 10) (5' CGGTCCGGAGCGGCCGCGATGTAATAATACAAGAAGATTTAAATGG-3') y un cebador inverso 3'CD163KpnI (SEC ID N°: 11) (5'CGGTTGGTACCCAGCAATATTCTTTTTATTTAATGCC-3') usando el programa Lasergene PrimerSelect (DNASTAR Inc., Madison, WI) para la amplificación de un gen de CD163 porcino de longitud completa. Se incluyeron los sitios de restricción de las endonucleasas *Not* I y *Kpn* I (subrayados) en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para permitir una clonación conveniente. El ARN celular total se preparó a partir de macrófagos alveolares primarios (MAP) recogidos de lavados pulmonares de cerdos sanos. La preparación de ARN se llevó a cabo usando el kit RNeasy mini (Qiagen, Valencia, CA). Las reacciones de RT-PCR se prepararon usando el kit SuperScript one-step RT-PCR for Long Templates (Invitrogen, Carlsbad, CA) y los parámetros de RT-PCR se ajustaron del siguiente modo: 50 °C durante 30 min, 94 °C durante 2 min, (94 °C 30 s, 55 °C 30 s y 68 °C 4 min) durante 35 ciclos, 72 °C durante 10 min. Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa GTG SeaKem al 0,8 %. Los productos de RT-PCR de varios tamaños se cortaron de los geles de agarosa y se extrajo el ADN usando el kit GeneClean (QBiogene). Estos productos de RT-PCR se clonaron en el vector de clonación pCR2.1-TOPO (Invitrogen). Los clones se analizaron mediante digestión de enzima de restricción para la presencia de una inserción. Las colonias que contenían inserciones se secuenciaron usando el kit de reacción de secuencia Big Dye Terminator Versión 1.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA) y el analizador de ADN de Applied Biosystems 3730 (Applied Biosystems) para confirmar la autenticidad de secuencia. Las secuencias se editaron y ensamblaron usando los programas Lasergene EditSeq y SeqMan (DNASTAR Inc., Madison WI). Un plásmido con una inserción grande se denominó "pCRsusCD163v2" (pCR2.1 que contenía la variante 2 de CD163 porcino que los inventores habían denominado SEC ID N°: 12). La secuencia codificante contenida dentro de SEC ID N°: 12 se reproduce más adelante y se denomina SECID N°: 13. El análisis de secuencia demostró que este CD163 porcino codifica una secuencia de aminoácidos d 1115 aminoácidos que los inventores han denominado SEC ID N°: 14. Cuando se compara con la secuencia de CD163 porcino en GenBank (N° de referencia AJ311716), la secuencia CD163v2 de los inventores es idéntica en un 98,9 % a nivel de aminoácidos. CD163v2 también tiene 5 restos de aminoácidos adicionales en el extremo 5', extendiendo el marco abierto de lectura hasta un codón de iniciación ATG cadena arriba dentro del marco (como en la secuencia de CD163v1 porcino descrita en el Ejemplo 1). CD163 porcino es idéntico en un 84,3 % a CD163 humano (N° de referencia de GenBank Z22968), e idéntica en un 73,7 % a CD163 de ratón (N° de referencia de GenBank AF274883) a nivel de aminoácidos. La secuencia de señal predicha y la región transmembrana de SEC ID N°: 14 se indican mediante subrayado y marcado en negrita, respectivamente. Determinar si otras secuencias de CD163 contienen características de secuencia similares se determina fácilmente mediante la inspección de la secuencia.

SECUENCIA	ID N°
gtataataac aagaagattt aaatggcata aaaccttga atggacaaac tcagaatggt 60	SEC ID N°: 12
gctacatgaa aactctggat ctgcagactt tagaagatgt tctgccatt taagttcctt 120	
cacttttgcg ttagtgcctg ttctcagtgct ctgcttggct actagttctc ttggaggaaa 180	
agacaaggag ctgaggctaa cgggttggta aaacaagtgc tctggaagag tggaggtgaa 240	
agtgcaggag gagtggggaa ctgtgtgtaa taatggctgg gacatggatg tggctctctg 300	
tgttttagg cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc actggatggg ctaattttag 360	
tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt cggaggaatg agtcagctct 420	
ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcataactgt actcaccaac aggatgctgg 480	
agtaacctgc tcagatggat ctgatttaga gatggggctg gtgaatggag gaaaccgggtg 540	
cttaggaaga atagaagtca aatttcaagg acgggtggga acagtgtgtg atgataactt 600	
caacataaat catgcttctg tggtttgtaa acaacttga tgtggaagtg ctgtcagttt 660	
ctctggttca gctaattttg gagaaggctc tggaccaatc tggtttgatg atcttctatg 720	
caatggaaat gagtgcagctc tctggaactg caaacatgaa ggatggggaa agcacaattg 780	
cgatcatgct gaggatgctg gagtgatctg cttaaatgga gcagacctga aactgagagt 840	
ggtagatgga gtcactgaat gttcaggaag attggaagtg aaattccaag gagaatgggg 900	
aacaactctg gatgatggct gggatagtga tgatgctgct gtggcatgta agcaactggg 960	
atgtccaact cctgtcactg ccattggctg agttaacgcc agtgaggaa ctggacacat 1020	
ttggcttgac agtgtttctt gccatggaca cagctctgct ctctggcagt gtagacacca 1080	
tgaatgggga aagcattatt gcaatcatga tgaagatgct ggtgtgacat gttctgatgg 1140	
atcagatctg gaactgagac ttaaaggctg aggcagccac tgtgctggga cagtggaggt 1200	
ggaaattcag aaactggtag gaaaagtgtg tgatagaagc tggggactga aagaagctga 1260	
tgtggttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaaa acatcatatc aagtttattc 1320	
caaaaccaag gcaacaaaca catggctggt tgtaagcagc tgtaatggaa atgaaacttc 1380	
tctttgggac tgcaagaatt ggcagtggtg tggacttagt tgtgatcact atgacgaagc 1440	
caaaattacc tgctcagccc acaggaaaoc caggctggtt ggaggggaca ttccctgctc 1500	
tggctggtt gaagtacaac atggagacac gtggggcacc gtctgtgatt ctgacttctc 1560	
tctggaggcg gccagcgtgc tgtgcaggga actacagtgc ggcactgtgg tttccctcct 1620	
ggggggagct cactttggag aaggaagtgg acagatctgg gctgaagaat tccagtgtga 1680	
ggggcacgag tcccacctt cactctgccc agtagcacc cgcctgaag ggacatgtag 1740	
ccacagcagg gacgtcggcg tagtctgctc aagatacaca caaatccgct tggatgatgg 1800	
caagaccoca tgtgaaggaa gagtggagct caacattctt gggctcctggg ggctccctctg 1860	
caactctcac tyggacatgg aagatgcccc tgttttatgc cagcagctta aatgtggagt 1920	
tgcccttct atcccgggag gagcacctt tgggaaagga agtgagcagg tctggaggca 1980	
catgtttcac tgcactggga ctgagaagca catgggagat tgttcogtca ctgctctggg 2040	
cgcatcactc tgttcttcag ggcaagtggc ctctgtaatc tgctcaggga accagagtca 2100	
gacactatct cgtgcaatt catcatcctc ggacceatca agctctatta tttcagaaga 2160	
aaatgggtgtt gctgcatag ggagtggctc acttcgctg gtcgatggag gtggctggtg 2220	
tgctgggaga gtgaggtct atcatgaggg ctctggggc accatctgtg atgacagctg 2280	

ES 2 530 694 T3

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
ggacctgaat gatgcccatg tgggtgtgcaa acagctgagc tgtggatggg ccattaatgc 2340	
cactggttct gctcattttg gggaaaggaac agggccattt tggctggatg agataaactg 2400	
taatggaaaa gaatctcata tttggcaatg ccactcacat ggttgggggc ggcacaattg 2460	
caggcataag gaggatgcag gagtcacatg ctcagagttc atgtctctga gactgatcag 2520	
tgaaaacagc agagagacct gtgcagggcg cctggaagtt ttttacaacg gagcttgggg 2580	
cagcgttggc aggaatagca tgtctccagc cacagtgggg gtggtatgca ggcagctggg 2640	
ctgtgcagac agaggggaca tcagccctgc atcttcagac aagacagtgt ccaggcacat 2700	
gtgggtggac aatgttcagt gtccctaaag acctgacaca ctatggcagt gcccatcctc 2760	
tccatggaag aagagactgg ccagcccctc agaggagaca tggatcacat gtgccaacaa 2820	
aataagactt caagaaggaa acactaattg ttctggacgt gtggagatct ggtacggagg 2880	
ttcctggggc actgtgtgtg acgactcctg ggacctgaa gatgctcagg tgggtgtgccg 2940	
acagctgggc tgtggctcag ctttggaggc aggaaaagag gccgcatttg gccaggggac 3000	
tgggcccata tggctcaatg aagtgaagtg caaggggaat gaaacctcct tgtgggattg 3060	
tcctgccaga tcctggggcc acagtgactg tggacacaag gaggatgctg ctgtgacgtg 3120	
ctcagaaatt gcaaagagcc gagaatccct acatgccaca ggtcgtcat cttttgttgc 3180	
acttgcaatc tttggggtca ttctgttggc ctgtctcctc gcattcctca tttggactca 3240	
gaagcgaaga cagaggcagc ggctctcagt tttctcagga ggagagaatt ctgtccatca 3300	
aattcaatac cgggagatga attcttgctt gaaagcagat gaaacggata tgctaaatcc 3360	
ctcaggagac cactctgaag tacaatgaaa aggaaaatgg gaattataac ctggtgagtt 3420	
cagcctttaa gataccttga tgaagacctg gactattgaa tgagcaagaa tctgcctctt 3480	
acactgaaga ttacaataca gtccctctgc tcctgggtatt ccaagactg ctgctgaatt 3540	
tctaaagaat agattgggtga atgtgactac tcaaagttgt atgtaagact ttcaagggca 3600	
ttaataaaaa aagaatattg ctg 3623	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1 M D K L R M V L H E N S G S A D F R R C  1 atggacaaactcagaatggtgctacatgaaaactctggatctgcagactttagaagatgt  21 S A H L S S F T F A V V A V L S A C L V  21 tctgccatttaagttccttcacttttgctgtagtcgctgttctcagtgccctgcttggtc  61 T S S L G G K D K E L R L T G G E N K C  41 tctagttctcttggaggaaaagacaaggagctgaggctaacgggtggtgaaaacaagtgc  121 actagttctcttggaggaaaagacaaggagctgaggctaacgggtggtgaaaacaagtgc  61 S G R V E V K V Q E E W G T V C N N G W  181 tctggaagagtggaggtgaaagtgcaggaggagtgagggaactgtgtgtaataatggctgg  81 D M D V V S V V C R Q L G C P T A I K A  241 gacatggatggtgctctgttgtttgtaggcagctgggatgtccaactgctatcaaagcc  101 T G W A N F S A G S G R I W M D H V S C  301 actggatgggctaatttttagtgcaggttctggacgcatttggatggatcatgtttctgt  121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H N C  361 cgagggatgagtcagctctctgggactgcaaacatgatggatgggaaagcataactgt  141 T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M G L  421 actcaccaacaggatgctggagtaacctgctcagatggatctgatttagagatggggctg  161 V N G G N R C L G R I E V K F Q G R W G  481 gtgaatggaggaaaccgggtgcttaggaagaatagaagtcaaatttcaaggacggtgggga  181 T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L E  541 acagtgtgtgatgataaactcaacataaatcatgcttctgtggtttgtaaacaaactgaa  201 C G S A V S F S G S A N F G E G S G P I  601 tgtggaagtgctgtcagtttctctggttcagctaatttggagaaggttctggaccaatc  221 W F D D L V C N G N E S A L W N C K H E  661 tggtttgatgatcttgtatgcaatggaatgagtcagctctctggaactgcaaacatgaa  241 G W G K H N C D H A E D A G V I C L N G  721 ggatgggaaagcacaattgcatcatgctgaggatgctggagtgatttgcttaaatgga  261 A D L K L R V V D G V T E C S G R L E V  781 gcagacctgaaaactgagagtggttagatggagtcactgaatggtcaggaagattggaagtg  281 K F Q G E W G T I C D D G W D S D D A A  841 aaattccaaggagaatggggaacaactctgtgatgatggctgggatagtgatgatgcccgt  301 V A C K Q L G C P T A V T A I G R V N A  901 gtggcatgtaagcaactgggatgtccaactgctgtcactgocattggtcgagttaacgcc  321 S E G T G H I W L D S V S C H G H E S A  961 agtgagggaaactggacacatttggcttgacagtgttcttggcatggacacgagctctgct</p>	<p>SEC ID N°: 13 y 14.</p>

(continuación)

SECUCENCIA	ID N°
<p>341 L W Q C R H H E W G K H Y C N H D E D A  1021 ctctggcagtgtagacaccatgaatgggaaagcattattgcaatcatgatgaagatgct  361 G V T C S D G S D L E L R L K G G G S H  1081 ggtgtgacatggtctgatggatcagatctggaactgagactaaaggtggaggcagccac  381 C A G T V E V E I Q K L V G K V C D R S  1141 tgtgctgggacagtgagggtggaattcagaactggtaggaaaagtgtgtgatagaagc  401 W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L K  1201 tggggactgaagaagctgatgtggttgcaggcagctgggatgtggatctgcaactcaaa  421 T S Y Q V Y S K T K A T N T W L F V S S  1261 acatcatatcaagtttattccaaaaccaaggcaacaacacatggctgtttgt.aagcagc  441 C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L S  1321 tghtaatggaatgaaacttctcttgggactgcaagaattggcagtgagggtggacttagt  461 C D H Y D E A K I T C S A H R K P R L V  1391 tgtgatcactatgaogaagcacaattacctgctcagccacaggaaccaggtggtt  481 G G D I P C S G R V E V Q H G D T W G T  1441 gggaggacattccctgctctggtcgtgtgaagtaaacatggagacagctggggcacc  501 V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q C  1501 gtctgtgattctgacttctctctggaggcggccagcgtgctgtgagggaactacagtgcc  521 G T V V S L L G G A H F G E G S G Q I W  1561 ggcactgtggttccctcctgggggagctcacttggagaaggagtggaacagatctgg  541 A E E F Q C R G H E S H L S L C F V A F  1621 gctgaagaattccagctgaggggcaogagtcaccacttctcactctgccagtagcacc  561 R P D G T C S H S R D V G V V C S R Y T  1681 cgccctgacgggacatgtagccacagcaggacgtcggcgtagtctgctcaagatacaca  581 Q I R L V N G K T P C E G R V E L N I L  1741 caaatccgcttggatgaatggcaagaccccatgtgaaggaagagtgaggctcaacattctt  601 G S W G S L C N S H W D M E D A H V L C  1801 gggctcctgggggtccctctgcaactctcactgggacatggaagatgccatgttttatg  621 Q Q L K C G V A L S I P G G A P F G K G  1861 cagcagcttaaatgtgaggttcccttctatccccgggagggagcacccttgggaaagga  641 S E Q V W R H M F H C T G T E K H M G D  1921 agtgagcaggtctggaggcacatgttctcactgcactgggactgagaagcacatgggagat  661 C S V T A L G A S L C S S G Q V A S V I  1981 tgttcgctcactgctctgggcgcatcactctgttcttcaggggcaagtgccctctgtaac  681 C S G N Q S Q T L S P C N S S S S D P S  2041 tgctcaggaaccagagtcagacactatctccgtgcaattcatcatcctcggaccatca  701 S S I I S E E N G V A C I G S G Q L R L  2101 agctctattatctcagaagaaaatggtgttgcctgcataggagtggtcaactcgctg  721 V D G G G R C A G R V E V Y H E G S W G  2161 gtcgatggaggtcgttctgtctgggagagtagaggtctatcatgagggtcctcggggc  741 T I C D D S W D L N D A H V V C K Q L S  2221 accatctgtgatgacagctgggacctgaatgatgccatgtggtgtgcaaacagctgagc  761 C G W A I N A T G S A H F G E G T G P I  2281 tgtggatgggccaatgaatgccaactggtctctgctcatttggggaaaggaacagggccatt  781 W L D E I N C N G K E S H I W Q C H S H  2341 tggctggatgagataaactgtaactgtaataagaaaagaaatctcatatttggcaatgccactccat  801 G W G R H N C R H K E D A G V I C S E F  2401 ggttggggcggcacaattgcaaggcataaggaggatgcaggagtcactctgctcagagttc  821 M S L R L I S E N S R E T C A S G R L E V  2461 atgtctctgagactgatcagtgaaaacagcagagagacctgtgcaggggcctggaagt  841 F Y N G A W G S V G R N S M S P A T V G  2521 ttttacaacggagcttggggcagcgttggcaggaatagcatgtctccagccacagtgggg  861 V V C R Q L G C A D R G D I S P A S S D  2581 gttgtatgcaggcagctgggtctgagacagaggggacatcagccctgcatctcagac  881 K T V S R H M W V D N V Q C P K G P D T  2641 aagacagtgctccagggcacatgtgggtggacaatgttcagtgctcctaaggacctgacaca  901 L W Q C P S S P W K K R L A S P S E E T  2701 ctatggcagtgcccatcatctccatggaagaagagactggccagccctcagaggagaca  921 W I T C A N K I R L Q E G N T N C S G R  2761 tggatcacatgtgccaacaaaataagacttcaagaaggaaacactaattgtctcggagct  941 V E I W Y G S W G T V C D D S W D L E  2821 gtggagatctggtacggaggttccctggggcactgtgtgtgacgactcctgggacctgaa  961 D A Q V V C R Q L G C G S A L E A G K E  2881 gatgctcaggtggtgctccgacagctgggtgtggctcagcttggaggcaggaagag  981 A A F G Q G T G P I W L N E V K C K G N  2941 gccgcatttggccaggggactgggccatattggctcaatgaagtgaagtgaagggaat  1001 E T S L W D C P A R S W G H S D C G H K  3001 gaaacctccttgtgggattgctcctgagatcctggggccacagtgactgtggacacaag  1021 E D A A V T C S B I A K S R E S L H A T  3061 gaggatgctgctgctcagctgctcagaattgcaagagcagagaatccctacatgcccaca  1041 G R S S F V A L A I F G V I L L A C L I  3121 ggtcgtcatcttgttgcacttgcaatcttggggctcattctgttggctgtctcatc  1061 A F L I W T Q K R R Q R Q R L S V F S G  3181 gcattcctcatttggactcagaagcgaagacagaggcagcggctctcagtttctcagga  1081 G E N S V H Q I Q Y R E M N S C L K A D  3241 ggagaaattctgctccatcaaatccagggagatgaattctgctgaaagcagat  1101 E T D M L N P S G D H S E V Q  3301 gaaacggatagctcaatccctcaggagaccactctgaagtacaa</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
1 <u>MDKLRMVLHE NSGSADERRC SAHLSSPTFA VVAVLSACLV TSSLGGKDKK</u> S1 LRLTGGENKC SGRVEVKVQE ENGTVCNNGW DMDVVSUVCR QLGCPATAKA	SEC ID N°: 14
101 TQWANFSAGS GRIWMDHVSC RGNESALWDC KHDGWGKHNC THQDAGVTC	
151 SDGSDLEMGL VNGGNRCLGR IEVKFQGRWG TVCDDNFNIN HASVVCKQLE	
201 CGSAVSPFSGS ANPGEESGPI WPDLLVCNGN ESALWNCKHE GWGRKNCDDHA	
251 EDAGVICLNG ADLKLRVVDG VTECSGRLEV KFOGEWGTIC DDGWDSDDA	
301 VACKQLGCPY AVTAIGRVNA SEGTGHIWLD SVSCHGHESA LWQCRHHEWG	
351 KHYCNHDEDA GVTCSDGSDL ELRLKGGGSH CAGTVEVEIQ KLVGKVCDRS	
401 WGLKEADVVC RQLGCGSALK TSYQVYSKTK ATNTWLFVSS CNGNETSLWD	
451 CKNWQWGGLS CDHYDEAKIT CSAHRKPRLV GGDIPCSGRV EVQHGDTWGT	
501 VCDSDPFLSA ASVLCRELQC GTVVSLGGA HFGEGSQIIN AEEFQCEGHE	
551 SHLSLCPVAP RPDGTCSHSR DVGVVCSRYT QIRLVNGKTP CEGRVELNIL	
601 GSWGSLCNSH WDMEDAHVLC QQLKCGVALS IPGGAPFGKG SEQVWRHMPH	
651 CTGTEKHMGD CSVTALGASL CSBGGVASVI CSGNQSQTLS PCNSSSSDPS	
701 SSIISEENGV ACTGSGQLRL VDGGRRCAGR VEVYHEGSWG TICDDSWDLN	
751 DAHVVCKQLS CGWAINATGS AHFGEGTGPI WLDEINCNK ESHIWQCHSH	
801 GWGRHNCRHK EDAGVICSEF MSLRLISENS RETCAGRLEV FYNANGWSVG	
851 RNSMSPATVG VVCRQLCAD RGDISPASSD KTVSRRHMVD NVQCPKGPDT	
901 LWQCPSSPWK KRLASPSBET WITCANKIRL QEGNTNCSGR VEIYWGGSWG	
951 TVCDDSWDLN DAQVVCRLG CGSALEAGKE AAFGQGTGPI WLNKVKCKGN	
1001 ETSLWDCPAR SWGHSDCGSK EDAAVTCEI AKSRESLHAT GRSSFVALAI	
1051 FGVILLACLI AFLIWTQRRR QRQLSVFSG GENSVHQIQY REMNSCLKAD	
1101 ETDMLNPSGD HSEVQ	

5 Sus CD163 v2 en pCRsusCD163v2 se liberó del vector pCR2.1 después de la digestión con las enzimas de restricción *Kpn* I y *Not* I y la purificación en gel. El vector receptor pCMV-Script también se cortó con el mismo par de enzimas de restricción y permitió una clonación direccional de susCD163v2 en el pCMV-Script. Después de la ligación de susCD163v2 con pCMV-Script, la mezcla ligada se usó para transformar células de *E. coli* STBL 2 (Invitrogen). Se descubrió que un transformante contenía el gen de CD163 mediante análisis de digestión con enzimas de restricción y se denominó clon N° 3 de pCMV-Script susCD163v2.

10 **Ejemplo 5: Preparación de un sistema de expresión basado en el promotor de VSR mediante procedimiento de ligación directa y transfección.**

Se desarrolló un procedimiento no basado en clonación para generar cantidades en microgramos de ADN adecuadas para su uso para generar líneas celulares estables que expresan CD163 a partir de un promotor de VSR (Figura 4). El procedimiento implica el aislamiento y ligación de dos trozos de ADN, uno que contiene el gen de neomicina y el casete de promotor de VSR derivado de pRSV-Script, y el otro que contiene la secuencia codificante de susCD163v2 de pCMVsusCD163v2. El plásmido del vector pRSV-Script se linealizó con *Dra*III cadena arriba del gen de neomicina, y se despusó con el fragmento Klenow de la ADN polimerasa de *E. coli*. Después se digirió este plásmido con *Not*I inmediatamente cadena abajo del promotor de VSR. El clon pCMVsusCD163v2 se digirió en la secuencia del vector cadena abajo de la inserción de CD163 con *Dra*III, y se despusó con fragmento Klenow de ADN polimerasa. La secuencia codificante de CD163 se liberó del vector con una *Not*I localizada inmediatamente cadena arriba de la secuencia codificante de CD163. Para cada digestión de plásmido se purificaron los fragmentos adecuados a partir de geles de agarosa. Se llevó una reacción de ligación a gran escala del modo siguiente. Se incubaron aproximadamente 20 µg de cada fragmento de ADN en un volumen de 600 µL con 15 unidades de ADN ligasa T4. La reacción se incubó a temperatura ambiente durante 20 minutos, tras los cuales se retiró una alícuota y la reacción se congeló sobre hielo seco. El análisis en gel de agarosa de la alícuota reveló que permanecía una cantidad significativa de ADN no ligado, por lo que se añadieron otras 15 unidades de ligasa y se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de la ligación, se purificó un trozo lineal de ADN que contenía todos los elementos adecuados mediante electroforesis en gel de agarosa. La ligación de los dos fragmentos de ADN a través del término cohesivo *Not* I dio como resultado la colocación de las secuencias 5' del gen de CD163 cadena abajo del promotor de VSR, permitiendo la expresión dirigida de CD163 en células de mamífero. Una vez aislado, el ADN purificado se usó para transfectar varias líneas celulares de mamífero.

35 **Ejemplo 6: Clonación y caracterización de ADNc de CD163 humano**

Basándose en una secuencia de ADNc de CD163 humano conocida (N° de referencia de GenBank BC051281), se diseñaron un cebador directo Hu5'*Not* (SEC ID N°: 15) (5'CACCGCGGCCGCGAAGTTATAAATCGCCACCATGAGCAAACTCAGAAT GG-3') y un cebador inverso Hu3'*Kpn* (SEC ID N°: 16) (5'-TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCATCAAGGTATCTTA-3') usando el programa PrimerSelect. Se incorporaron los sitios de restricción para *Not*I y *Kpn*I (subrayados) en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para facilitar la clonación en vectores de expresión. Se añadió la secuencia CACC al extremo 5' del

5 cebador 5' para permitir la clonación direccional en el vector pCDNA3.1D/V4/His/TOPO (Nº de catálogo K49001, Invitrogen, véase la Figura 6). Los ADNc de CD163 humano se amplificaron a partir de ARN extraído de la línea celular U937 después de estimularla con 12-miristato 13-acetato de forbol (100 ng/ml) durante 3 días. El ARN celular total se preparó usando el kit RNeasy (Qiagen). Las reacciones de RT-PCR y los procedimientos de secuenciación fueron los mismos que los descritos en el Ejemplo 4. Los productos de la PCR se separaron en gel de agarosa SeaKem al 0,8 % y se extrajeron del gel usando el kit GeneClean. Los productos de PCR se clonaron direccionalmente en el vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO siguiendo las instrucciones del fabricante. Se secuenciaron dos clones con inserciones grandes. Los procedimientos de secuenciación y de análisis de secuencia se describieron en el Ejemplo 4. Un clon con una inserción correcta se denominó "pcDNA3.1D-humCD163v2" y los inventores denominaron a la secuencia de la inserción como SEC ID Nº: 17.

15 El marco de lectura abierto de CD163 en pCDNA3.1D-humCD163v2 tiene 1121 restos de longitud (denominado SEC ID Nº: 18 que codifica SEC ID Nº: 19 desvelado más adelante), y es idéntica al 100 % a Z22968 de GenBank (un ADNc de CD163 humano de la misma longitud). La secuencia de CD163v2 de los inventores también es idéntica al 100 % a BC051281 y Z22969 de GenBank (variantes de corte y empalme alternativo de CD163 humano) salvo en que 42 restos no homólogos en las dos secuencias de GenBank sustituyen a los siete restos carboxilo-terminales de la secuencia de los inventores. Esta diferencia se debe a la presencia de un exón de 83 nucleótidos en BC051281 y Z22969, y el consiguiente desplazamiento de marco en el extremo 3' del exón. (Law, S.K., Micklem, K.J., Shaw, J.M., Zhang, X.P., Dong, Y., Willis, A.C. y Mason, D.Y. (1993) A new macrophage differentiation antigen which is a member of the scavenger receptor superfamily. European Journal of Immunology 23 (9), 2320-2325).

SECUENCIA	ID Nº
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgactt cagaagacat 60	SEC ID Nº: 17
tttgtcaacc tgagtccctt caccattact gtggtcttac ttctcagtgc ctgttttgtc 120	
accagttctc ttggagggaac agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180	
agcgggagag tggaaagtga agtccaggag gagtggggaa cygtgtgtaa taatggctgg 240	
agcatggaag cggctctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300	
cctggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360	
cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420	
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgacc tgctcagatg gatccaattt ggaatgagg 480	
ctgacgcgtg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacggtgg 540	
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt 600	
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcatctaatt ttggagaagg ctctggacca 660	
atctggttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720	
caaggatggg gaaagcataa ctgtgacat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780	
ggagcagatc tgagcctgag actggtgatg ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840	
gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag ttacgatgct 900	
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgccgtca cagccattgg tcgagttaac 960	
gccagtaagg gatctggaca catctggctt gacagcgttt cttgccaggg acatgaacct 1020	
gctgtctggc aatgtaaaca ccatgaatg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080	
gctggcgtga catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140	
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaagggt gtgtgacaga 1200	
ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260	
aaaacatctt atcaagtgtg ctccaaaatc caggcaacaa acacatggct gtttctaagt 1320	
agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtgactt 1380	
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacaggga acccagactg 1440	
gttggagggg acattccctg ttctggacgt gttgaagtga agcatggtga cacgtggggc 1500	
tccatctgtg attcggactt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>tgtggcacag ttgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagato 1620  tgggtgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca 1680  ccccgccag aaggaacttg tagccacagc agggatggtg gagtagtctg ctcaagatac 1740  acagaattc gcttgggtgaa tggcaagacc ccgtgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  cttgggtgct ggggatccct ctgtaactct cactgggaca tagaagatgc ccatgttctt 1860  tgccagcagc ttaaattggt agttgccctt tctaccccag gaggagcaog ttttggaaaa 1920  ggaaatggtc agatctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  gattgtcctg taactgctct aggtgcttca ttatgtcctt cagagcaagt ggcctctgta 2040  atctgctcag gaaaccagtc ccaaacactg tctctgtgca attcatctgc tttgggcca 2100  acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  ctggtaaatg gaggaggtgc ctgtgctggg agagttagaga tctatcatga gggctcctgg 2220  ggcccatct gtgatgacag ctgggacctg agtgatgcc acgtggtttg cagacagctg 2280  ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggggaagg aacagggccc 2340  atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400  cacggctggg ggcagcaaaa ttgcaggcac aaggaggatg cgggagtat ctgctcagaa 2460  ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctggaa 2520  gttttttaca atggagcttg gggcactggt ggcaagagta gcattgtctga aaccactgtg 2580  ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aatcaaccc tgcattctta 2640  gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  acgtgtggc agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccagccc ctggaggag 2760  acctggatca catgtgacaa caagataaga ctccaggaag gacccaetto ctgttctgga 2820  cgtgtggaga tctggcatgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ttgggacttg 2880  gacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccg atatggctca atgaagtga gtgcaagggt 3000  aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccatagtga gtgtgggcac 3060  aaggaagacy ctgcagtgaa ttgcacagat atttcagtgc agaaaacccc acaaaaagcc 3120  acaacaggtc gctcatcccg tcagtcatcc tttattgcag tgggatcct tggggttgtt 3180  ctgttggcca tttctgtgc attattcttc ttgactaaaa agcgaagaca gagacagcgg 3240  cttgcagttt cctcaagagg agagaactta gtccaccaa ttcaatacc ggagatgaat 3300  tcttgcctga atgcagatga tctggaccta atgaattcct caggaggcca ttctgagcca 3360  cactgaaaag gaaaatggga atttataacc cagtgagttc agcctttaag atacctgat 3420  gaagacctgg acta 3434</p>	
<p>I M S K L R M V L L E D S G S A D F R R H  1 atgagcaaaactcagaatggtgctacttgaagactctggatctgctgacttcagaagacat  21 F V N L S P F T I T V V L L L S A C F V  61 ttgtcaacctgagtccttaccattactgtggttacttctcagtgctgtttgtc  41 T S S L G G T D K E L R L V D G E N K C  121 accagttctcttggaggaaacagacaaggagctgaggctagtggatggtgaaaacaagtgt  61 S G R V E V K V Q B E W G T V C N N G W  181 agcgggagagtggaagtgaagtcaggaggagtggggaacgggtgtgtaataatggctgg  81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A  241 agcatggaagoggctctctgtgatttgaaccagctgggatgtccaactgctatcaaagcc  101 P G W A N S S A G S G R I W M D H V S C  301 cctggatgggtcaattccagtcaggttctggacgcatttggatggatcatgtttcttgt  121 R G N E S A L W D C K H D G W G K R S N</p>	<p>SEC ID N°: 18 y 19</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>361 cgtgggaatgagtcagctcttgggattgcaaacatgatggatgggaaagcatagtaac  141 C T H Q Q D A G V T C S D G S N L E M R  421 tgaactcaccacaagatgctggagtgactgctcagatggatccaatttggaatgagg  161 L T R G G N M C S G R I E I K F Q G R W  481 etgacgctggagggaatattgtgttctggaagaatagagatcaaattccaaggacggtgg  181 G T V C D D N F N I D H A S V I C R Q L  541 ggaacagtgctgagataacttcaacatagatcatgcatctgtcattttagtagacaactt  201 E C G S A V S F S G S S N F G E G S G P  601 gaattggaagtgctgctcagtttctctggttcatctaattttggagaaggctctggacca  221 I W P D D L I C N G N E S A L W N C K H  661 atctggtttgatgatcttatatgcaacggaaatgagtcagctctctggaactgcaaacat  241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K  721 caaggatgggaaagcataactgtgacctgctgaggatgctggagtgatttgcacaag  261 G A D L C S L R L V D G V T E C S G R L E  781 ggagcagatctgagctgagactggtagatggagtcactgaatggtcaggaaagattagaa  281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S Y D A  841 gtgagattccaagggaatgggggacaatattgtagacgctgggagtgatttgcacaag  301 A V A C K Q L G C P T A V T A I G R V N  901 gctgtggcatgcaagcaactgggatgtccaactgcccgtcacagccattggtogagttaac  321 A S K G F F G H I W L D S V S C Q G H E P  961 gccagtaaggatttggacacatctggcttgacagcttcttctggcaggacatgaaact  341 A V W Q C A K H H E W G K H Y C N H N E D  1021 gctgtctggcaatgtcaaacaccatgattgggaaagcattattgcaatcacaatgaagat  361 A G V T C S D G S D L B L R L R G G G S  1081 gctgggctgacatgttctgtaggatcagatctggagctaagacttagagtgaggcagc  381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R  1141 cgctgtgctgggacagttgaggtggagattcagagactgttaggaaaggtgtgtgacaga  401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L  1201 gctgggggactgaaagaagctgagtggtttgacagcagctgggatgaggatctgcaactc  421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N T W L F L S  1261 aaaaactcttcaagtgtaactcctcaaaaatccaggcaacaacacatggctgttcttaagt  441 S C N G N E T S L W D C R N W Q W G G L  1321 agctgtaacggaaatgaaacttctcttgggactgcaagaactggcaatggggtggactt  461 T C D H Y E B E A K I T C S A H R E P R L  1381 acctgtgatcactatgaaagaagccaaaatcaactgctcagcccacagggaaaccagactg  481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G  1441 gttggaggggacttccctgttctggacgtgtgaaagtgaagcatgggtgacacgtggggc  501 S I C D S D F S L E A A S V L C R E L Q  1501 tcaactgtgatttggacttctctctggaagctgcccagcttctatgcaaggaattacag  521 C G T V V S I L G G A H P G E G N G Q I  1561 tgtggcaactgtctctatctctggggggagctcaacttggagagggaaatggacagatc  541 W A B E F T C E G H E S H L S L C P V A  1621 tgggctgaagaattccagtgtagggacatgagtcceatcttcaactctgcccagtagca  561 P R P E T C S H S R D V G V V C S R Y  1681 cccggcccaaggaacttggtagccacagcaggatggtggagtagtctgctcaagatac  581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T  1741 acagaaattcgttggtagaatggcaagaacccctgtgagggcagagtgagctcaaaaag  601 L G A W G S L C N S H W D I B D A H V L  1801 cttggtgctggggatccctctgtaactctcactgggacatagaagatgcccattgtctt  621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A R F G K  1861 tgcagcagcttaaatgggagtgcccttctaccaccaggaggagcagcttttggaaaa  641 G N G Q I W R E M F H C T G T E Q H M G  1921 ggaatggtcagatctggaggcatalgttcaactgcaactgggactgagcagcacatggga  661 D C P V T A L G A S L C P S E Q V A S V  1981 gatgtctctgagactgcaaatgcaatggaaaagaatcccgcttggcagtgatgcaactctgta  681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P  2041 atctgctcaggaaaccagtcaccaaacctgctcctgcaactcatgctcttggggcca  701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R  2101 acaaggctaccattccagaagaaagtgtgtggcctgcatagagagtggtcaactctgca  721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W  2161 ctggtaaatggaggaggtcgctgtgctgggagagtagagatctatcatgagggtctctgg  741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L  2221 ggcaccatctgtgagactgggacactgagtgatgcccacgtggtttgacagacagctg  761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P  2281 ggcctgtggaggccattaatgcaactgggttctgctcatttgggaaaggaacaggggccc  781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S  2341 atctggctggatgagatgaaatgcaatggaaaagaatcccgcttggcagtgccattca  801 H G W G F Q Q N C R H K R D A G V I C S E  2401 caeggctgggggacgcaaatgcaaggcaaggaggatgcccggagttatctgctcagaa  821 F N S L R L T S E A S R E A C A G R L E  2461 ttcagctctctgagactgaccagtgaaagccagcagaggcctgtgcaaggcgtctggaa  841 V P Y N G A W G T V G K S S M S E T T V  2521 gttttcaactggacttgggactgttggcaagagtagcattgctgaaaccactgtg  861 G V V C R Q L G C A D K G K I R F A S L  2581 ggtgtggtgtgaggcagctgggctgtgacagcaaaagggaatcaaccctgcatcttta  881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D  2641 gacaaggccatgtccattccatgtgggtggacaatgttcagtgctcaaaaggacctgac  901 T L W Q C P S S P W E K R L A S P S E E  2701 acgtgtggcagtgcccatctccatgggagaagagactggcagccctcggaggag  921 T W I T C D N K I R L Q E G G P T S C S G  2761 acctggatcactgtgacaacaagataagactt.cagggaaggaccactctctgtctgga  941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L  2821 cgtgtggagatctggcatggaggttctctggggacagctctgtgatgactcttgggactt</p>	

(continuación)

SECUCENCIA	ID N°
961 D D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K 2081 gacgatgctcaggtgggtgtgtcaacaacttggctgtggccagctttgaaagcattcaaa 981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G 2941 gaagcagagtttgggtcaggggactggaccgatatggctcaatgaagtgaagtgcгаааggg 1001 N E S S L W D C P A R R R W G H S E C G H 3001 aatgagtcctccttgggtgattgtcctgcccagacgctggggccatagtgagtggtgggcac 1021 K E D A A V N C T D I S V Q K T P Q K A 3061 aaggaagacgctgcagtggaattgcacagatatttcagtgccagaaaacccccacaaaagcc 1041 T T G R S S R Q S S P I A V G I L G V V 3121 acaacaggtcgctcatccogtcagtcattcctttatgcagtcgggatccttgggggtgtt 1061 L L A I P V A L F F L T K K R R Q R Q R 3181 ctggtggccatttctcgtcgcattattccttcttgactaaaaagcgaagacagagacagcgg 1081 L A V S S R G E N L V H Q I Q Y R E M N 3241 cttgcagtttctcaagaggagagaacttagtccaccaaattcaataccgggagatgaa 1101 S C L N A D D L D L M N S S G G H S E P 3301 tcttgctgaatgcagatgatctggaactaatgaattcctcaggaggccattctgagcca 1121 H 3361 cac	
1 MSKLRMVLLE DSGSADFRRH FVNLSPFIT VVLLLSACFV TSSLGGTDKE 51 LRLVDGENKC SGRVEVKVQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPAIIKA 101 PGWANSSAGS GRIWMDHVSC RGNESALWDC KHDGWGRHSN CTHQQDAGVT 151 CSDGSNLEMR LTRGGNMCSG RIEIKFQGRW GTVCCDNFNI DHASVICRQL 201 RCGSAVSFSG SSNFGEBSGP IWFDDLICNG NESALWNCKH QGWGKHNCDB 251 AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRPQGEWGTI CDDGWDSYDA 301 AVACKQLGCP TAVTAIGRVN ASKGFPHIWL DSVSCQGHFP AVWQCKHHEW 351 GKHYCNHNEH AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR 401 GWGLKREADV CRQLGCGSAL KTSYQVYSKI QATNTWLFSL SCNGNETSLW 451 DCKNWQNGGL TCDHYEBAKI TCSAHREPRV VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG 501 SICDSDFSLE AASVLCRELQ CGTVVVSILG AHFEGEGNQI WAEFFQCEGH 551 ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVVCSRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT 601 LGAWGLCNS HWDIEDAHLV COQLKCGVAL STPGGARFGK GNGQIWRHMF 651 HCTGTROHMG DCPVTALGAS LCPSEQVASV ICSGNQSQTL SSCNSSSLGF 701 TRPTIPEESA VACIESGQLR LVNNGGRCAG RVBIYHEGSW GTICDDSWDL 751 SDAHVVCROL KCGEAINATG SAHPGEGTGP IWLDEMKNNG KESRIWQCHS 801 HGWGQQNCRH KEDAGVICSE FMSLRLTSEA SREACAGRLE VFYNGAWGTV 851 GKSSMSETTV GVVCRQLGCA DKGKINPASP DKAMSI PMWV DNVQCPKGPD 901 TLWQCPSPPW EKRLASPSSE TWITCDNKIR LQEGPSCSG RVEIWHGGSW 951 GTVCCDSDWL DDAQVVCQQL GCGPALKAFK EAEFGQGTGP IWLNEVKCKG 1001 NSSSLWDCFA RRWGHSECCH KEDAAVNCTD ISVQKTPQKA TTRSSSRQSS 1051 FIAVGLILGVV LLAI FVALFF LTKKRRQRQR LAVSSRGENL VHQIQYREMN 1101 SCLNADDLDL MNSSGGHSEP H	SEC ID N°: 19

**Ejemplo 7: Acción y caracterización de CD163 murino**

5 Basándose en la secuencia de CD163 murino en GenBank (AF274883), se diseñaron un cebador directo Mus-new5' (SEC ID N°: 20) (5'-CACCGCGGCCCGCCACACGGAGCCATCAAAATCATCAA-3') y un cebador inverso Mus-new3' (SEC ID N°: 21) (5'-GGTACCGCGGAACAAGCAAACCAATAGCAATATTGTTTAAATCCCTC-3') usando el programa PrimerSelect. Se incluyeron los sitios de restricción de las endonucleasas *Not* I y *Kpn* I en los cebadores 5' y 3', respectivamente, para permitir la clonación futura en otros vectores de expresión. Se recogieron macrófagos peritoneales de ratón de ratones 2 días después de inyectar medio de tioglicolato en la cavidad peritoneal. El ARN celular total se preparó a partir de macrófagos peritoneales usando el kit RNeasy. Las reacciones de RT-PCR y los parámetros de RT-PCR fueron los mismos que los descritos en el Ejemplo 4, excepto en la temperatura de hibridación que se aumentó a 60 °C y la temperatura de extensión que se aumentó a 72 °C. El producto de PCR se purificó en un gel de agarosa SeaKem al 0,8 % y se clonó direccionalmente en pCDNA3.1D/V5/His/TOPO de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se identificaron varios clones con inserciones grandes para posterior análisis. Un plásmido que contiene una inserción (SEC ID N°: 22) con un CD163 murino que codifica una proteína de la misma longitud (1121 aminoácidos, SEC ID N°: 24) y que difiere de AF274883 de GenBank en solo dos aminoácidos (99,8 % de identidad) se denominó "pCDNA3.1D-murCD163v2".

20 Se generó otro plásmido, "pCDNA3.1D-murCD163v3", que contenía una inserción (SEC ID N°: 25) que contenía una secuencia codificante de CD163 murino (SEC ID N°: 26) que codifica una proteína de 1159 aminoácidos de longitud (SEC ID N°: 27). Esta difiere de AF274883 en solo 3 aminoácidos en los primeros 1107 restos (identidad del 99,7 %), pero las secuencias divergen por completo a partir del resto 1108. Esto se debe a una inserción de 82 nucleótidos en el ADNc, y un desplazamiento concomitante en el marco de lectura cadena abajo de la inserción. Como resultado, CD163v3 murino contiene 52 aminoácidos en su extremo carboxilo terminal que no son homólogos

ES 2 530 694 T3

a los 14 restos carboxilo terminal de CD13v2 murino. Estas dos versiones alternativas de CD163 murino de "longitud completa" son lo más probablemente variantes de corte y empalme alternativo del mismo gen, tal como se ha descrito para CD163 humano (Law, S.K., Micklem, K.J., Shaw, J.M., Zhang, X.P., Dong, Y., Willis, A.C. y Mason, D.Y. (1993) A new macrophage differentiation antigen which is a member of the scavenger receptor superfamily. European Journal of Immunology 23 (9), 2320-2325).

5

SECUENCIA	ID N°
gctttggaat ggggagacac agaatgggtc ttcttggagg tgcaggatct cctgggtgta 60	SEC ID N°: 22
aaaggtttgt ccatctaggt ttctttgttg tggctgtgag ctcaacttctc agtgcctctg 120	
ctgtcactaa cgctcctgga gaaatgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca 180	
actgtagtgg gagagtggaa cttaaagatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg 240	
gctggagcat gaatgaagtg tccgtgggtt gccagcagct gggatgccc aacttctatta 300	
aagcccttgg atgggctaac tccagcggcg gctctggata tatctggatg gacaaagttt 360	
cttgtacagg gaatgagtca gctctttggg actgcaaaca tgatgggtgg ggaaagcata 420	
actgtaccca tgaaaaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaata ttggagatga 480	
gactggtgaa cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaaataaag ttccagggaa 540	
agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaaagatca cgcttctgtg atttgtaaac 600	
agcttggatg tggaaagtgc attagtttct ctggctcagc taaattggga gctggttctg 660	
gaccaatctg gctegatgac ctggcatgca atggaaatga gtcagctctc tgggactgca 720	
aacaccgggg atggggcaag cataactgtg accatgctga ggatgtcggg gtgatttgcct 780	
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtcagatgt tcaggaagat 840	
tggaaagtgag attccaagga gaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg 900	
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaactgc catcagtgcc attggtegag 960	
ttaatgccag tgagggatct ggacagattt ggcttgacaa catttcatgc gaaggacatg 1020	
aggcaactct ttgggagtgt aaacaccaag agtggggaaa gcattactgt catcatagag 1080	
<u>aagacgctgg cgtgacatgt tctgatggag cagatctgga acttagactt gtagggtggg 1140</u>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
gcagtcgctg tgctggcatt gtggaggtgg agattcagaa gctgactggg aagatgtgta	1200
gcogaggctg gacactggca gatgocgatg tggtttgca acagcttggg tgtggatctg	1260
cgcttcaaac ccaggctaag atctactcta aaactggggc acaaaatag tggctctttc	1320
ctggatcttg taatggaaat gaaactactt tttggcaatg caaaaactgg cagtggggcg	1380
gcctttcctg tgataatttc gaagaagcca aagttacctg ctgaggccac agggaaacca	1440
gactggttgg aggagaaatc ccatgctctg gtcgtgtgga agtgaacac ggagacgtgt	1500
ggggctccgt ctgtgatatt gacttgtctc tggaaagtgc cagtgtggtg tgcagggaat	1560
tacaatgtgg aacagtcgtc tctatcctag ggggagcaca ttttggagaa ggaagtggac	1620
agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccatcttca ctatgctcag	1680
tggcgccccc gctagacaga acttgtacct acagcagggg tgtcagcgtg gtctgctcac	1740
gatacataga tattcgtctg gcaggcggcg agtcctcctg tgagggaaga gtggagctca	1800
agacactcgg agcctggggc cccctctgca gttctcattg ggacatggaa gatgctcatg	1860
tcttatgtca gcagctgaag tgtggggttg cccaatctat tccagaagga gcacattttg	1920
ggaaaggagc tggctcagtc tggagtcaca tgttccactg cactggaact gaggaaacata	1980
taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgcgcagctg ttccgaagga caggctggcct	2040
ctgtcatctg ctgaggaaac caatcccaga cactattgcc atgtagtcca ttgtctccag	2100
tccaaacaac aagctctaca attccaaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggcc	2160
agcttcgctt ggtaggtgga ggtggctcgt gcgctggaag agtggaggtc taccacgagg	2220
gctcttgggg caccgtctgt gatgacaatt gggatagac tgatgccaat gtgggtgca	2280
agcagctgga ctgtggcgtg gcaattaacg ccaactggctc tgcttacttc ggggaaggag	2340
caggagctat ctggctagac gaagtcactc gcaactggaa agagtctcat atttggcagt	2400
gccattcaca tggctgggga cgcataaact gcaggcaca agaagatgca ggtgttatct	2460
gctccaggtt catgtctctg aggctgacca acgaagccca caaagaaaac tgcacaggtc	2520
gccttgaagt gttttacaat ggtacatggg gcagtatggc cagttagcaat atgtctccaa	2580
ccactgtggg ggtggtgtgc cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaaacca	2640
tacctcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga tctgtgtcag tgtccaaaag	2700
gagttgacac tttgtggcag tgcccctcgt caccttggaa acagagacag gccagcccct	2760
cctcccagga gtctcggatc atctgtgaca acaaaataag actccaggaa gggcatacag	2820
actgttcttg acgtgtggag atctggcaca aaggttcctg gggaaacagtg tgtgatgact	2880
cctgggatct taatgatgct aaggttgtat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga	2940
aggcactaaa agaagcagca tttggtccag gaactgggcc catatggctc aatgaaatta	3000
agtgtagagg gaatgagtc tccctgtggg attgtcctgc caaacctgg agtcacagcg	3060
actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgccctcc aaaaatgact tcagaatcac	3120
atcatggcac aggtcacccc accctcacgg cactcttggc ttgtggagcc attctattgg	3180
tccctctcat tgtcttctc ctgtggactc tgaagcagc acagattcag cgacttacag	3240
tttctcaag aggagaggtc ttgatacatc aagttcagta ccaagagatg gattcaagg	3300
cggatgatct ggacttctg aaatcctcgg gggctattca gaggcactc gagaaggaaa	3360
atgataaatt ataatecact gaggttggag ttaagaagc cttgacagga cagccagcta	3420
aatggaacaa gagcccagc aacgcaogga tgaccacagc tgcactctca tgcagtcctt	3480
tgtttctcgg aactctgctg aacctgcaa aaccatattt gtgaatgtga ccacttaata	3540
gagatgggag actttt	3556

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1 M G G H R M V L L G G A G S P G C K R F  1 atgggtggacacagaatgggtctctctggaggtgctggatctctcctggttgtaaaaggttt  21 V H L G F F V V A V S S L L S A S A V T  61 gtccatctaggtttctctgtgtggctgtgagctcactctcagtgccctctgctgtcact  41 N A P G E M K K E L R L A G G E N N C S  121 aacgctcctggagaatgaagaaggaactgagactggcgggtgggtaaaacaactgtagt  61 G R V E L K I H D K W G T V C S N G W S  181 gggagagtggaaacttaagatccatgacaagtggggcaagtgctgagtaacggctggagc  81 M N E V S V V C Q Q L G C P T S I K A L  241 atgaatgaagtgtcctgtgttttggcagcagctgggatgcccaacttctattaagccctt  101 G W A N S S A G S G Y I W M D K V S C T  301 ggatgggctaactccagccggctctggatatactggatggacaaagtctctgtaca  121 G N E S A L W D C K H D G W G K H N C T  361 gggatgagtgcagctcttgggactgcaaacatgatgggtgggaaagcataactgtacc  141 H E K D A G V T C S D G S N L E M R L V  421 catgaaaagatgtcggagtgacctgctcagatggatctaattggagatgagactggg  161 N S A G H R C L G R V E I K F Q G K W G  481 aacagtgcgggcaactgacttaggaagtagaaataaagtccagggaaagtggggg  181 T V C D D N F S K D H A S V I C K Q L G  541 acggtgtgtgaogacaactcagcaagatcaogcttctgtgatttgaacagcttggg  201 C G S A I S F S G S A K L G A G S G P I  601 tgtggaagtgcattagtctctcggctcagctaaattgggagctggtctcggaccaatc  221 W L D D L A C N G N E S A L W D C K H R  661 tggctcgatgacctggcagcaatggaaatgagtcagctctctgggactgcaaacaccgg  241 G W G K H N C D H A E D V G V I C L E G  721 ggatgggcaagcataactgtgacctgctgaggtgtcggtgtgatttgccttagaggga  261 A D L S L V D G V S R C S G R L E V  781 gcagatctgagcctgagactagtgatggatgctcagatggtcaggaagattggaagt  281 R F Q G E W G T V C D D N W D L R D A S  841 agattccaaggagaatggggaccgtgtgtgataaactgggactcctcgggatgctctc  301 V V C K Q L G C P T A I S A I G R V N A  901 gtggtgtgcaagcaactgggatgtccaactgccatcagtgccattggctgagttaatgcc  321 S E G S I W L D N I S C E G H E A T  961 agtgaggatctggacagatttggcttgacaacatttcatgcgaaggacatgaggcaact  341 L W E C K H Q E W G K H Y C H H R E D A  1021 otgggagtgtaaacaccaagagtggggaaagcattactgtcatagagaagacgct  361 G V T C S D G A D L E L R L V G G G S R  1081 ggcgtgacatgtctctgagcagatctggaacttagactttaggtggaggcagtcgc  381 C A G I V E V E I Q K L T G K M C S R G  1141 tgtgctggcattgtggagtgaggatcagaagctgactgggaagatgtgtagccgaggc  401 W T L A D A D V V C R Q L G C G S A L Q  1201 tggacactggcagatgctggttttgcagacagcttggatggatctgcgcttcaa  421 T Q A K I Y S K T G A T N T W L F P G S  1261 acccaggctaagatctactctaaaactgggcaacaaactcgtggctcttctcggatct  441 C N G N E T T F W Q C K N W Q W G G L S  1321 tgaatggaaatgaaactacttttggcaatgcaaaaactggcagtgggggcggcttcc  461 C D N F E E A K V T C S G H R S P R L V  1381 tgtgataaattcgaagaagcacaagttaactgctcaggccacagggaaaccagatggtt  481 G G E I P C S G R V E V K H G D V W G S  1441 ggaggagaaatcccagctctggtcgtgtggaagtgaacacggagacgtgtgggctcc  501 V C D P D L S L E A A S V V C R E L Q C  1501 gtctgtgatttgcactgtctctggaagctgacagtggtgtgaggggaattacaatgt  521 G T V V S I L G G A H F G E G S G Q I W  1561 ggaacagtcgtctctatcctagggggagcacatttggagaaggagtgagatctgg  541 G E E F Q C S G D E S H L S L C S V A P  1621 ggtgaagaatccagtgtagtgggatgagcccatcttctcactatgctcagtgccccc  561 P L D R T C T H S R D V S V V C S R Y I  1681 ccgctagacagaacttgcaccacagcgggatgtcagcgtagtctgctcacgatacata  581 D I R L A G G E S S C E G R V B L K T L  1741 gatattcgtctggcggcggagctcctcctgtgagggaaagagtgagctcaagacactc  601 G A W G P L C S S H W D M E D A H V L C  1801 ggagcctggggctcccctctgagcttctcattgggacatggaagatgctcatgtcttatgt  621 Q Q L K C G V A Q S I P E G A H P G K G  1861 cagcagctgaagtgtgggttgcccaatctattccagaaggagcacatttgggaaagga  641 A G Q V W S H M F H C T G T E E H I G D  1921 gctggctcaggtctggagctcacatgttccactgcaactggaactgaggaacatagggat  661 C L M T A L G A P T C S E G Q V A S V I  1981 tgcctcatgactgctctgggtgctgcaagctgttccgaaggacaggtggcctctgtcatc  681 C S G N Q S Q T L L P C S S L S P V Q T  2041 tgcctcaggaaaccaatccagacactattgccatgtagttcattgtctcagtcocaaaca  701 T S S T I P K E S E V P C I A S G Q L R  2101 acaagctcacaattccaaggagagtggaagttccctgcatagcaagtgccagcttcgc  721 L V G G G R C A G R V E V Y H E G S W  2161 ttggtaggtggaggtgctgctgctggaagagtgagggtctaccacaggggctcttgg  741 G T V C D N W D M T D A N V V C K Q L  2221 ggcaccgtctgtgtagcaattgggatatgactgatgccaatgtggtgtgcaagcagctg  761 D C G V A I N A T G S A Y F G E G A G A</p>	<p>SEC ID N°: 23 y 24</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>2281 gactgtggcgtggcaattaacgccactggctctgcttacttcggggaaggagcaggagct  781 I W L D E V I C T G K E S H I W Q C H S  2341 atctggcttagacgaagtcatctgcaactgggaaagagctcatatttggcagtgccattca  801 H G W G R H N C R H K E D A G V I C S E  2401 catggctggggacgccataactgcaggcacaaagaagatgcaggtgttatctgctcogag  821 F M S L R L T N E A H K E N C T G R L E  2461 ttcatgtctctgaggctgaccaacgaagcccaaaagaaaactgcacaggtcgccttgaa  841 V F Y N G T W G S I G S S N M S P T T V  2521 gtgtttacaatggtagatggggcagtagtggcagtagcaatattgtctccaaccactggtg  861 G V V C R Q L G C A D N G T V K P I P S  2581 ggggtggtgtgcccgtcagctgggctgtgcagacaacgggactgtgaaacccataccttca  881 D K T P S R P M W V D R V Q C P K G V D  2641 gacaagacaccatccaggcccattgtgggtagatcgtgtgcagtggtccaaaaggagttgac  901 T L W Q C P S S P W K Q R Q A S P S S Q  2701 actttgtggcagtgcccctcgtcaccttggaaacagagacaggccagcccctcctccag  921 E S W I I C D N K I R L Q E G H T D C S  2761 gagtcctggatcatctgtgacaacaaaataagactccagggaagggcatacagactgttct  941 G R V E I W H K G S W G T V C D D S W D  2821 ggacgtgtggagatctggcacaaggttccctggggaacagtggtgatgactcctgggat  961 L N D A K V V C K Q L G C G Q A V K A L  2881 cttaatgatgctaaggttgtatgtaagcagttgggctgtggccaagctgtggaaggcacta  981 K E A A F G P G T G P I W L N E I K C R  2941 aaagaagcagcatttgggtccaggaactgggcccattatgggtcaatgaaattaagtgtaga  1001 G N E S L W D C P A K P W S H S D C G  3001 gggaaatgagtcctcctggtgattgtcctgcaaacctggagtcacagcgactgtggg  1021 H K E D A S I Q C L P K M T S E S H H G  3061 cacaaagaagatgcttccatccagtgccctccaaaatgactcagaatcacatcatggc  1041 T G H P T L T A L L V C G A I L L V L L  3121 acaggtcaccaccctcaeggcactcttggtttgtggagccattctattggtcctcctc  1061 I V F L L W T L K R R Q I Q R L T V S S  3181 attgtctcctctggtgactctgaagcagcagacagattcagcagacttacagtttccctca  1081 R G E V L I H Q V Q Y Q E M D S K A D D  3241 agaggagaggtcttgatcatcaagttcagtagccaagagatggattcaaaggcggatgat  1101 L D L L K S S G V I Q R H T E K E N D N  3301 ctggacttgctgaaatcctcgggggtcattcagaggcacactgagaaggaaaatgataat  1121 L  3361 tta</p>	
<p>1 MGGHRMVLG GAGSFGCKRF VHLGFFVVAV SLLSASAVT NAPGEMKCEL  51 RLAGGENNCS GRVELKIHDK WGTVCSNGHS MNEVSVVCOQ LGCPTSICAL  101 GWANSSAGSG YIWMKVSCT GNEALWDCK HDGWGKHNC T HEKDAGVTC S  151 DGSNLEMRLV NSAGHRCLGR VEIKFQKWG TVCDDNFSKD HASVIKQLG  201 CGSAISFSGS AKLGAGSGPI WLDDLACNGN ESALWDCKHR GWGKHNCDA  251 EDVGVICLEG ADLSRLVDG VSRCSGRLEV RFQGEWGTVC DDNDLDRDAS  301 VVCKQLGCPT AISAIGRVNA SEGSQIWL D NISCEGHEAT LWECKHQEWG  351 KHYCHHREDA GVTCSGDADL ELRLVGGSR CAGIVEVEIQ KLTGKMC SRG  401 WTLADADVVC RQLGCGSALQ TQAKIYSKTG ATNTWLFPGS CNGNETTFWQ  451 CKNQWQGGLS CDNPEBAKVT CSGHREPRLV GGEIPCSGRV EVKHGDVWGS  501 VCDFDLSLEA ASVVCRELQC GTVVSILGGA HFGEGSQIW GEEFQCSGDE  551 SHLSLCSVAP PLDRCTHSR DVSVVCSRYI DIRLAGGESS CEGRVELKTL  601 GAWGPLCSSH WDMEDAHVLC QQLKCGVAQS IPEGAHFGK AGQVWSHMFH  651 CTGTBEHIGD CLMTALGAPT CSEGOVASVI CSONQSQTL PCSSLSFVQT  701 TSSTIPKESE VPCIASGQLR LVGGGRCAG RVEVYHEGSM GTVCDNDWDM  751 TDANVVCKQL DOGVAINATG SAYFGEGAGA IWLDEVICTG KBSHIWQCHS  801 HGWRHNCRH KEDAGVICSE FMSLRLTNEA HKENCTGRLE VFYNGTWGSI  851 GSSNMSPTTV GVVCRQLGCA DNGTVKPIPS DKTPSRPMWV DRVQCPKVD  901 TLWQCPSSPW KQRQASPSQ ESWII CDNKI RLQEGHTDCS GRVEIWHKGS  951 WGTVCDDSDW LNDKAVSKQ LCGQAVKAL KEAAGPGTG PIWLNBIKCR  1001 GNESSLWDCP AKPWSHSDCG HKEDASIQCL PKMTSESHG TGHPTLTALL  1051 VCGAILLVLL IVPLLWTLKR RQIQRLTVSS RGEVLHQVQ YQEMDSKADD  1101 LDLLKSSGVI QRHTEKENDN L</p>	<p>SEC ID N°: 24</p>

ES 2 530 694 T3

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
gctttggaat gggtagcac agaattggtc ttcttgagg tgetggatct cctggttgta 60	SEC ID N°: 25
aaaggtttgt ccatctaggt ttctttgttg tggetgtgag ctcaactctc agtgccctctg 120	
ctgtcactaa cgctcctgga gaaatgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca 180	
actgtagtgg gagagtggaa ctttaagatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg 240	
gctggagcat gaatgaagtg tccgtggttt gccagcagct gggatgccca acttctatta 300	
aagcccttgg atgggctaac tccagcgcg gctctggata tatctggatg gacaaagttt 360	
cttgtacagg gaatgagtca gctctttggg actgcaaaca tgatgggtgg ggaaagcata 420	
actgtacca tgaaaaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaat ttggagatga 480	
gactggtgaa cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaaataaag ttccagggaa 540	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaaagetca cgcttctgtg atttgtaaac 600	
agcttggatg tggaaagtgcc attagtttct ctggctcagc taaattggga gctggttctg 660	
gaccaatctg gctcogatgac ctggcatgca atggaaatga gtcagctctc tgggactgca 720	
aacaccgggg atggggcaag cataactgtg accatgctga ggatgtoggt gtgatttget 780	
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtcagatgt tcaggaagat 840	
tggaaagtgag attccaagga gaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg 900	
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaactgc catcagtgcc attggtcag 960	
ttaatgccag tgggggatct ggacagattt ggcttgaca catttcatgc gaaggcatg 1020	
aggcaactct ttgggagtgt aaacaccaag agtggggaaa gcattactgt catcatagag 1080	
aagacgctgg cgtgacatgt tctgatggag cagatctgga acttagactt gtaggtggag 1140	
gcagtcgctg tctggcatt gtggaggtg agattcagaa gctgactggg aagatgtgta 1200	
gccgaggctg gacactggca gatgaggatg tggttgacag acagcttggg tgtggatctg 1260	
cgcttcaaac ccaggctaag atctactcta aaactggggc aacaatacg tggctcttcc 1320	
ctggatcttg taatggaaat gaaactactt tttggcaatg caaaaactgg cagtggggcg 1380	
gccttctctg tgataatttc gaagaagcca aagttactg ctacggccac agggaaacca 1440	
gactggttgg aggagaaatc ccagctctg gtcgtgtgga aatgaaacac ggagacgtgt 1500	
gggctccgt ctgtgatttt gacttgtctc tggaaagtgc cagtgtgtg tgcagggaa 1560	
tacaatgtgg aacagtctgc tctatcttag ggggagcaca ttttggagaa ggaagtggac 1620	
agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccactcttca ctatgctcag 1680	
tggcgcctcc gctagacaga acttgtacc acagcaggga tgtcagcgtg gtctgtctac 1740	
gatacataga tattcgtctg gcaggcggcg agtctctctg tgagggaaga gtggagctca 1800	
agacactogg agcctggggc cccctctgca gttctcattg ggacatggaa gatgctcatg 1860	
tcttatgtca gcagctgaag tgtggggttg cccaatctat tccagaagga gcacattttg 1920	
ggaaaggagc tggctcaggc tggagtcaca tgttccactg cactggaaact gaggaacata 1980	
taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgcagcctg tccagaagga cagggtggct 2040	
ctgtcatctg ctcaggaaac caatcccaga cactattgcc atgtagtcca ttgtctccag 2100	
tccaaacaac aagctctaca attcacaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggcc 2160	
agcttctgctt ggtaggtgga ggtgtctgct gcgctggaag agtggaggtc taccacgagg 2220	
gctcttgggg cacogtctgt gatgacaatt gggatatgac tgatgccaat gtggtgtgca 2280	
agcagctgga ctgtggcgtg gcaattaacg ccactggctc tgettacttc ggggaaggag 2340	
caggagctat ctggctagac gaagtcatct gcactgggaa agagtctcat atttggcagt 2400	
gccattcaca tggctgggga cgcataact gcaggcacaa agaagatgca ggtgttatct 2460	
gctcagatt catgtctctg aggtgacca acgaagccc caaagaaaac tgcacaggtc 2520	
gccttgaagt gttttacaat ggtacatggg gcagttattg cagtagcaat atgtctccaa 2580	
ccactgtggg ggtggtgtgc cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaaacca 2640	
taccttcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga tctgtgcag tctccaaaag 2700	
gagttgacac tttgtggcag tggccctctg caccttgaa acagagacag gccagccct 2760	
ctccocagga gtctggatc atctgtgaca acaaaataag actccaggaa gggcatacag 2820	
actgttctgg acgtgtggag atctggcaca aaggttctctg gggaaactgt tgtgatgact 2880	
cctgggatct taatgatgct aaggttctat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga 2940	
aggcactaaa agaagcagca tttggctcag gaactgggcc catatggctc aatgaaatta 3000	
agtgtagagg gaatgagctc tccctgtggg attgtctctc caaacctgg agtcacagcg 3060	

ES 2 530 694 T3

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgcctccc caaaatgact tcagaatcac 3120	
atcatggcac aggtcacccc accctcacgg cactcttggg ttgtggagcc attctattgg 3180	
tcctcctcat tgtcttcctc ctgtggactc tgaagegacg acagattcag cgacttacag 3240	
cttcctcaag aggagaggtc ttgatacatc aagttcagta ccaagagatg gattcaaagg 3300	
cggatgatct ggacttgctg aaatcctcgg aaaattccaa caattcatat gattttaatg 3360	
atgatggact gacatctttg tctaaatac ttcctatttc tggaattaa aaggggtcat 3420	
tcagaggcac actgagaagg aaaatgataa ttataatcc actgaggttg gagttaaga 3480	
agccttgaca ggacagccag ctaaattgaa caagagccca ggcaacgcac ggatgaccac 3540	
agctgcacat tcatgcagtc ctttgttcc tggaactctg ctgacacctg aaaaaccata 3600	
tttgtgaatg tgaccactta atagagatgg gagactttt 3639	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>                     1 M G G H R M V L L G G A G S P G C K R F                      1 atgggtggacacagaatgggtctctctggaggtgctggatctcctgggtgtaaaaggttt                      21 V H L G F F V V A V S S L L S A S A V T                      61 gtccatctagggtttctttgttggctgtgagctcacttctcagtgccctctgctgtcact                      41 N A P G E M K K E L R L A G G E N N C S                      121 aacgctcctggagaatgaagaaggaactgagactggcgggtgggtaaaacaactgtagt                      61 G R V E L K I H D K W G T V C S N G W S                      181 gggagagtggaaacttaagatccatgacaagtggggcacagtggtgcagtaacggctggagc                      81 M N E V S V V C Q Q L G C P T S I K A L                      241 atgaatgaagtgtcctgggtttgcccagcagctgggatgcccaactctattaaagccctt                      101 G W A N S S A G S G Y I W M D K V S C T                      301 ggatgggctaactccagcggctctggatatactggatggacaaagtctctgtaca                      121 G N E S A L W D C K H D G W G K H N C T                      361 gggaaatgagtcagctctttgggactgcaaacatgatgggtgggaaagcataactgtacc                      141 H E K D A G V T C S D G S N L E M R L V                      421 catgaaaaagatgctggagtacctgctcagatggatctaatttgagatgagactgggtg                      161 N S A G G H R C L G R V E I K F Q G K W G                      481 aacagtgccggccaccgatgcttaggaagagtagaaataaagtccagggaaagtggggg                      181 T V C D D N F S K D H A S V I C K Q L G                      541 acggtgtgtgacgacaacttcagcaaatgacagctctctgtgatttgtaaacagcttggg                      201 C G S A I S F S G S A K L G A G S G P I                      601 tgtggaagtgccattagtttctctggctcagctaaattgggagctgggtctggaccaatc                      221 W L D D L A C N G N E S A L W D C K H R                      661 tggctcgatgacctggcatgcaatggaaatgagttagctctctgggactgcaaacaccgg                      241 G W G K H N C D H A E D V G V I C L E G                      721 ggatggggcaagcataactgtgaccatgctgaggatgctggtgatttgcttagagggg                      261 A D L S L R L V D G V S R C S G R L E V                      781 gcagatctgagcctgagactagtggatggagtgtccagatgttcaggaagattggaagtg                      841 R F Q G E W G T V C D D N W D L R D A S                      881 agattccaaggagaatgggggaccgtgtgtgatgataactgggatctccgggatgcttct                      301 V V C K Q L G C P T A I S A I G R V N A                      901 gtggtgtgcaagcaactgggatgtccaactgccatcagtgccattggctcagttaatgcc                      321 S E G S G Q I W L D N I S C E G H E A T                      961 agtggagactctggacagatttggttgacaacatttcagcgaaggacatgaggcaact                      341 L W E C K H Q E W G K H Y C H H R E D A                      1021 ctttgggagtgtaaacaccaagagtggggaaagcattactgtcatcatagagaagacgct                      361 G V T C S D G A D L E L R L V G G G S R                      1081 ggcgtgacatgttctgatggagcagatctggaacttagacttgttaggtggaggcagtcgc                      381 C A G I V E V E I Q K L T G K M C S R G                      1141 tgtgctggcatttggaggtggagattcagaagctgactgggaagatgtgtagccgaggg                      401 W T L A D A D V V C R Q L G C G S A L Q                      1201 tggacactggcagatgcccgtgtggttgcagacagcttggatgtggatctgcccgttcaa                      421 T Q A K I Y S K T G A T N T W L P P G S                      1261 acccaggctaagatctactctaaaactggggcaacaatacgtggctcttctcctggatct                      441 C N G N E T T F W Q C K N W Q W G G L S                      1321 tgtaatggaatgaaactacttttggcaatgcaaaaactggcagtgggggcggccttcc                      461 C D N F E E A K V T C S G H R E P R L V                      1381 tgtgataatttcgaagaagccaaagtacactgctcaggccacagggaaaccagactgggt                      481 G E I P C S G R V E M K H G D V W G S                      1441 ggaggagaatcccctgctctggtcgtggtgaaatgaaacacggagacgtgtgggctcc                      501 V C D F D L S L E A A S V V C R E L Q C                      1501 gtctgtgatttgaactgtctctggaagctgccagtggtgtgacgggaattacaatgt                      521 G T V V S I L G G A H F G E G S G Q I W                      1561 ggaacagtcgtctctatcctagggggagcacattttggagaaggaagtggacagatctgg                      541 G E E F Q C S G D E S H L S L C S V A P                      1621 ggtgagaatccagtgtagtggggatgagcccatcttctactatgctcagtgggcgc                      561 P L D R T C T H S R D V S V V C S R Y I                      1681 ccgctagacagaacttgtaccacagcagggatgtcagcgtagtctgctcacgatadata                      581 D I R L A G G E S S C E G R V E L K T L                      1741 gatattcgtctggcagggggagctcctcctgtgagggagagtgagctcaagcactc                 </p>	<p>SEC ID N°: 26 y 27</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>601 G A W G P L C S S H W D M E D A H V L C                      1801 ggagcctgggggtcccctctgcagttctcattgggacatggaagatgctcatgtcttatgt                      621 Q Q L K C G V A Q S I P E G A H F G K G                      1861 cagcagctgaagtgtggggttggccaatctattccagaaggagcacattttgggaaagga                      641 A G Q V W S H M F H C T G T E E H I G D                      1921 gctgggtcaggctcggagtcacatgttccactgcaactggaactgaggaacatagaggat                      661 C L M T A L G A P T C S E G Q V A S V I                      1981 tgccctcatgactgctctgggtgcccgcagctgttccgaaggacaggtggcctctgctcatc                      681 C S G N Q S Q T L L P C S S L S P V Q T                      2041 tgctcaggaaccaatcccagacactattgccatgtatgttcaattgtctccagtcctcaaca                      701 T S S T I P K E S E V P C I A S G Q L R                      2101 acaagctctacaattccaaaggagagtgaagttccctgcatagcaagtggocagcttcgc                      721 L V G G G G R C A G R V E V Y H E G S W                      2161 ttggtagggtggaggtgctgctgctggagagtgagggtctaccacgagggctcttgg                      741 G T V C D D N W D M T D A N V V C K Q L                      2221 ggcacgctctgtgatgacaattgggatatgactgatgccaatgtggtgtgcaagcagctg                      761 D C G V A I N A T G S A Y F G E G A G A                      2281 gactgtggcgtggcaattaacgcccactggctctgcttacttcggggaaggagcaggagct                      781 I W L D E V I C T G K E S H I W Q C H S                      2341 atctggctagacgaagtcactctgcaactgggaaagagctctcatatttggcagtgccattca                      801 H G W G R H N C R H K E D A G V I C S E                      2401 catggctggggagcgcataactgcaaggcacaagaagatgcaaggttatctgctccgag                      821 F M S L R L T N E A H K E N C T G R L E                      2461 ttcctgtctctgaggtgaccaacgaagcccacaaagaaaactgcacaggtcgccttgaa                      841 V F Y N G T W G S I G S S N M S P T T V                      2521 gtgttttacaatggtacatggggcagttatggcagtagcaatattgtctccaccactgtg                      861 G V V C R Q L G C A D N G T V K P I P S                      2581 ggggtgggtgctgctgagctgggctgtgcagacaaagggactgtgaaaccataccttca                      881 D K T P S R P M W V D R V Q C P K G V D                      2641 gacaagacaccatccagggccatgtgggtgagatcgtgtgcaaggtccaaaaggagtgac                      901 T L W Q C P S S P W K Q R Q A S P S S Q                      2701 actttgtggcagtgcccctctgctcaccttggaaacagagacagggccagcccctcctccag                      921 E S W I I C D N K I R L Q E G H T D C S                      2761 gagtccctggatcatctgtgacaacaaaataagactccaggaagggcatacagactgttct                      941 G R V E I W H K G S W G T V C D D S W D                      2821 ggacgtgtggagatctggcacaaggttccctggggaacagtggtgatgactcctgggat                      961 L N D A K V V C K Q L G C G Q A V K A L                      2881 cttaatgatgctaagggttggatgtaagcagttgggctgtggccaagctgtgaaggcacta                      981 K E A A F G P G T G P I W L N E I K C R                      2941 aaagaagcagcatttgggtccaggaactgggcccataatggctcaatgaattaagtgtaga                      1001 G N E S S L W D C P A K P W S H S D C G                      3001 gggaaatgagcttccctgtgggattgtcctgcccacacgggtggagtcacagcagactgtggg                      1021 H K E D A S I Q C L P K M T S E S H H G                      3061 cacaagaagatgcttccatccagtgctcccccacaaatgacttcagaatcacatcatggc                      1041 T G H P T L T A L L V C G A I L L V L L                      3121 acaggtcaccaccacctcagggcactcttgggttgggagccattctattggtcctcctc                      1061 I V F L L W T L K R R Q I Q R L T V S S                      3181 attgtcttctcctgtggactctgaagcgacgacagattcagcgacttacagtttctcctca                      1081 R G E V L I H Q V Q Y Q E M D S K A D D                      3241 agaggagaggtcttgatacatcaagttcagtaaccaagagatggattcaaaggcggatgat                      1101 L D L L K S S E N S N N S Y D F N D D G                      3301 ctggacttgtgaaatcctcgaaaattccaacaattcatatgattttaatgatgatgga                      1121 L T S L S K Y L P I S G I K K G S F R G                      3361 ctgacatctttgtctaaatatcttctatttctggaattaaaaggggctcattcagaggg                      1141 T L R R K M I I Y N P L R L E F K K P                      3421 aactgagaaggaaaatgataatttataatccactgaggttggagtttaagaagcct</p>	

(continuación)

SECUCENCIA	ID N°
1 MGGHRMVLG GAGSPGCKRF VHLGFFVVAV SLLSASAVT NAPGEMKKEL	SEC ID N°: 27
51 RLAGGENNCS GRVELKIHDK WGTVCSNGWS MNEVSVVCOQ LGCPTSICAL	
101 GWANSSAGSG YIWMKVVSCT GNEALWDCK HDGWGKHNT HEKDAGVTC	
151 DGSNLEMLRV NSAGHRCCLGR VEIKFQKMG TVCDDNFKD HASVICKQLG	
201 CGSAISFSGS AKLAGSGPI WLDDLACNGN ESALWDCKHR GWGKHNCDA	
251 EDVGVICLEG ADLSLRLVDC VSRCSGRLEV RPOGEGTVC DDNDLDRDAS	
301 VVCKQLGCPT AISAIGRVNA SEGSGQIWL NISCEGHEAT LWECKHQEWG	
351 KHYCHHREDA GVTCSGADL ELRLVGGGER CAGIVEVEIQ KLTGKMC	
401 WTLADADVVC RQLCGSALQ TQAKIYSRTG ATNTWLPFSG CNGNETTFWQ	
451 CKNQWGGLS CDNFEEAKVT CSHREPRIV GGEIPCSGRV EMKHGDVWGS	
501 VCDPDLSELA ASVVCRELQC GTVVSILGGA HFGEGSGQIW GEEFQCSGDE	
551 SHLSLCSVAP PLDRCTHSR DVSVCSRYI DIRLAGGESS CEGRVELKTL	
601 GAWGPLCSSH WDMEDAHVLC QQLKCGVAQS IPEGHPGKG AGQVWSHMFM	
651 CTGTEEHIGD CLMTALGAPT CSEGQVASVI CSGNQSQTL PCSSLSPVOT	
701 TSSTIPKESE VPCIASGQLR LVGGGRCAG RVEVYHEGSW GTVCDNWD	
751 TDANVVKQL DCGVAINATG SAYFEGGAGA IWLDEVICTG KESHIWQCHS	
801 HGWGRHNCRH KEDAGVICSE FMSLRLTNEA HKNCTGRLE VFPYNGTWSI	
851 GSSNMSPTTV GVVCRQLGCA DNGTVKPIPS DKTPSRPMWV DRVQCPKGV	
901 TLWQCPSSPW KQRQASPSSQ ESWIICDNKI RLQEGHTDCS GRVEIWHKGS	
951 WGTVCDDSDW LNDARVVKRQ LGCGQAVKAL KEAAFPGPTG PIWLNEIKCR	
1001 GNESSLWDCP AKPWSHSDCG HKEDASTQCL PKMTSESHHG TGHFTLTALL	
1051 VCGAILLVLL IVFLLWTLKR RQIQRLTVSS RGEVLIHQVQ YQEMDSKADD	
1101 LDLLKSSSENS NNSYDFNDDG LTSLSKYLPI SGIKKGSPRG TLRRKMIYN	
1151 PLRLEPKKP	

**Ejemplo 8: Clonación y caracterización de CD163 de MARC-145**

5 Se usaron un cebador directo 5'simianCD163 (SEC ID N°: 28) (5'-CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG-3' basado en CD163 humano) y un cebador inverso HuCD163-3'Kpn (SEC ID N°: 29) (5'-TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCAT-CAAGGTATCTTA-3') para amplificar ADNc de CD163 de células MARC-145 de riñón de mono verde africano. El ARN celular total se preparó a partir de células MARC-145 usando el kit RNeasy. Los parámetros de RT-PCR fueron los mismos que los descritos en el Ejemplo 4. Los productos de RT-PCR se clonaron direccionalmente en el vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO según las instrucciones del fabricante. Se analizaron varios clones que contenían inserciones grandes. El clon N° 25 se denominó "pCDNA3.1D-MARC-CD163v2". Este nuevo ADNc de CD163 de células MARC-145 tiene 1116 aminoácidos de longitud. Cuando se compara con las secuencias en la base de datos de GenBank, la secuencia de aminoácidos de CD163 de MARC-145 es un 96,3 % idéntica a CD163 humano (Z22968 de GenBank), un 84,7 % idéntica a CD163 de cerdo (AJ311716 de GenBank), y un 73,9 % idéntica a CD163 de ratón (AF274883 de GenBank).

15

ES 2 530 694 T3

SECUENCIA	ID N°
atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60	SEC ID N°: 30
tttgtcaact tgagtcctct cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120	
accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180	
agtgggagag tggaaagtgaa aatccaggag gagtgggaa cgggtgtgaa taatggctgg 240	
agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300	
actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360	
cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatgggaaa gcatagtaac 420	
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480	
ctgacgaatg gaggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540	
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgat ctgtggtttg taaacaactt 600	
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660	
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720	
caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780	
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840	
gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900	
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960	
gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020	
gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1080	
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200	
ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260	

ES 2 530 694 T3

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320	
agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg gggtaggactt 1380	
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagga acccagactg 1440	
gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500	
tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560	
tgtggcacag tegtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620	
tgggctgaag aattccagtg tgaggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca 1680	
ccccgccag aaggaacttg tagccacagc agggatggtg gagtgtctg ctcaagatac 1740	
acagaaatc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtga gctcaaacg 1800	
cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860	
tgccacaac ttaaatgtgg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920	
ggaaatggtc aggtctggag gcatatgitt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980	
gattgtcctg taactgctct ggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040	
atttgcctcag gaaaccagtc ccaaacactg tectcgtgca attcatcctc tctgggccc 2100	
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160	
ttgtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttaga tttatcatga gggctcctgg 2220	
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcagatgcc acgtggtgtg cagacagctg 2280	
ggctgtggag aggccattaa tgcactggt tetgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340	
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400	
catggctggg ggcagcaaaa ctgcagcac aaggagatg caggagtat ctgctcagag 2460	
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520	
gttttttaca acggagcttg gggcaggtt ggcaggagta acatgtctga aacctctgtg 2580	
ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aatcaacc tgcatctta 2640	
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgtc agtgtccaa aggacctgac 2700	
acgtgtggtc agtgcctcctc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctggaggag 2760	
acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gacctctc ctgttctgga 2820	
cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880	
aacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940	
gaagcagagt ttggtcaggg gactggacc atatggctca atgaagtga gtgcaaagg 3000	
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgtggg gccacagtga gtgtggacac 3060	
aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcaacga acaaaacccc acaaaaagcc 3120	
acaacaggtc agtcatccct tattgcagtc ggaatcctg gagtgttct cttggtcatt 3180	
ttcgtcgcct tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttctca 3240	
agaggagaga acttagtcca ccaaatcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300	
gatgatctg acctaataa ttctcagga ggcattctg aggcacactg aaaaggaaaa 3360	
tgggaattta taaccagtg agccttgaag ataccttgat gaagacctgg acta 3414	

ES 2 530 694 T3

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<pre> 1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H 1 atgagcaaactcagaatggtgctacttgaagactctggatctgctgacgtcagaagacat 21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V 61 ttgtcaacttgagtcccttcactattgctgtggtcttacttccgtgcctgtttgtc 41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C 121 accagttctctggaggaacaaccaaggagctgaggctagtggtggtgaaaacaagtg 61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W                     </pre>	<p>SEC ID N°: 31 y 32</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>181 agtgggagagtggaagtgaaatccaggaggagtggggaacgggtgtgtaataatggctgg  81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A  241 agcatggaagcagctctctgtgatttgaaccagctgggatgtccaactgctatcaaaagcc  101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C  301 actggatgggctaattccagtgacaggttctggaogcatttggatggatcatgttctctgt  121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N  361 cgtgggaatgagtcagctctttgggactgcaaacatgatggatggggaagcatagtaac  141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R  421 tgtactcaccacaagatgctggagtgacttgcctcagatggatccgatttggaaatgagg  161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W  481 ctgacgaatggagggaatagtgttctggaagaatagagatcaaatcccaaggacagtg  181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L  541 ggaacagtggtgatgataactcaacatcaatcatgcatctgtggtttgaacaactt  201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G F  601 gaatgtggaaagtctgtcagttctctctgggtcagctaatttggagaaggctctggacca  221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H  661 atctggatttgatgataactcaacatcaatcatgcatctgtggtttgaacaactt  241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K  721 caaggatggggaagcacaactgtgatcatgctgaggatgctggagtgtttgctcaaaag  262 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E  781 ggagcagatctgagcctgagactggtagatggagtccactgaatgttcaggagattagaa  281 V R F Q G E N G T I C D D E W D S H D A  841 gtgagattccaaaggagaatgggggacaatagtgtgatgagcgtgggacagtcagtgct  301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N  901 gctgtggcatgcaagcaactgggatgtccaactgctatcaccgocattggctgagttaac  321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P  961 gccagtgaggatttggacacatctggcttgacagtggttcttggcaggacatgaaact  341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D  1021 cgggtctggcaatgtaaacaccatgaatggggaagcattattgcaatcacaatgaagat  361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S  1081 gctggcgtaactgttctgagtgatcagatctggagcctaagacttagaggtggaggcagc  381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R  1141 cgtgtgctgggacagttgaggtggagattcagagactgttagggaaagctgtgacaga  401 G W G L K B A D V V C R Q L G C G S A L  1201 ggtggggactgaaagaagctgatgtgggttggcaggcagctgggatgtggatctgcactc  421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L P L S  1261 aaacacacctcaagctatactccaaaatccaggcaacaacatgtggctgttctcaagt  441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L  1321 agctgtaacgggaatgaaaacttctcttgggaactgcaagaactggcaatggggtggactt  461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L  1381 aactgtgatcactatgagaagcacaatccactgctcagccacagggaaccagactg  481 V G G D I P C S G R V E V R H G D T W G  1441 gttggaggagacattccctgttctggacgcttgaagtgaagcagtgtagacacatggggc  501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q  1501 tccgtctgtgattccgatttctctctggaaagctgccagcgttctatgagggaattacag  521 C G T V S I L G G A H F G E G N G Q I  1561 tgtggcacagctctctctatctctgggggagctcaacttggagagggaaatggacagatc  541 W A E B F Q C E G H E S K L S L C P V A  1621 tgggtgaaagaatccagtgatggaggacatgagctccatcttccatgcccagtagca  561 P R P E G T C T S H S R D V G V V C S R Y  1681 ccccgcccagaagctttagccacagcagggatgttggagtagtctgctcaagatac  581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T  1741 acagaaattcgttggatggaagcaccatgtgagggcagagtgagctcaaaaagc  601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L  1801 cttaatgctggggatccctctgcaactctcactgggacatagaagatgcccagttctt  621 C Q Q A L K C G V A L S T P G G A H F G K  1861 tgcacaacaacttaaatgtggagttgcccttctcaccagggaggagcacatttggaaaa  641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G  1921 ggaatggtcaggtctggaggcattgttcaactgcaactgggactggagcagcactggga  661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V  1981 gattgtcctgtaactgctctgggtgcttcaactatgctcctcaggggcaagtggcctctgta  681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P  2041 atttggctcaggaaaccagtcacaacactgtcctcgtgcaattcatcatctctgggccc  701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R  2101 acaaggctaccattccagaagaaagtgtgctggcctgcatagagagtggtcaactcgc  721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W  2161 ttggtaaatggaggaggtcgtgctgggagtagagatttatacatgaggctcctgg  741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L  2221 ggcaaccatctgtgacagctgggacctgagcagatgcocacgtggtgtgacagcagctg  761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P  2281 ggctgtggagaggcattaatgcaactggttctgctcaatttgggagaaggacaggcc  781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S  2341 atctggctggatgagatgaaatgcaatggaaagaatcccgcattttggcagtgccattca  801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E  2401 catggctggggcagcaaaactgcaggcacaaggagatgcaggagtattctgctcagag  821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E  2461 tccatgctctgagactgaccagtgaaagccagcagagaggcctgtgagggcgtctagaa  841 V P Y N G A W G S V G R S N M S E T T V  2521 gtttttacaacggagcttggggcagtggtggcaggagttaacatgtctgaaaccactgtg  861 G V V C R Q L G C A D K G K I N P A S L  2581 ggtgtggtgctgagcagctgggctgtgcaagcaagggaaaaatcaaccctgcatcttta  881 D K A N S I F M W V D N V Q C P K G P D  2641 gcaaggccatgctcattcccatgtgggtggacaatgttcagtgctcaaaaggactgac</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<pre> 901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E 2701 acgctgtggcagtgcccatcatctccatgggagaagagactggccaggccctcggaggag 921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G 2761 acctggatcacatgtgacaacaagatgagactacaagaaggaccacttctgttctgga 941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L 2821 cgtgtggagatctggcacggaggttccctgggggacagtggtgatgactcctgggacttg 961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K 2881 aacgatgctcaggtgggtgtgtcaacaacttggctgtggtccagctttgaaagcattcaaa 981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G 2941 gaagcagagtttgggtcaggggactggaccatattggctcaatgaagtgaagtgcaaaagg 1001 N E S S L W D C P A R R R W G H S E C G H 3001 aatgagtcttctctgtgggattgtcctgccagacgctggggccacagtgagtggtggacac 1021 K E D A A V N C T D I S T N K T P Q K A 3061 aaggaagacgctgagtgatggcaatggcagatatttcaacgaacaaaaccacacaaaaggc 1041 T T G Q S S L I A V G I L G V V L L V I 3121 acaacaggtcagtcaccccttattgagtcggaatccttggagttgttctcttggtcatt 1061 F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V S S 3181 ttctgtgcattattcttgactcaaaagcgaagacagagacagcggcttacagtttctca 1081 R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L N A 3241 agaggagagaacttagtccacaaattcaataccgggagatgaattcttgctgaatgca 1101 D D L D L M N S S G H S E A H 3301 gatgatctggacctaatgaattcctcaggaggccattctgaggcacac                     </pre>	
<pre> 1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSPTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE 51 LRLVDGENKC SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPTAIKA 101 TGNANSSAGS GRIWMDHVSC RGNESALWDC KHDGWGKHSN CTHQQDAGVT 151 CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIBLKFGQW GTVCCDNFNT NHASVVCQQL 201 ECGSAVSFSG SANFGEKSGP IWFDDLICNG NESALWCKH QGWGKHCNDH 251 AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRFQGENGTI CDDGWDSDHA 301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFHGIWL DSVSCQGHF AVWQCKHHEW 351 GKHYCNHNEH AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR 401 GWGLKEADV V CRQLGCGSAL KTSYQVYSKI QATNMWLEFLS SCNGNETSLW 451 DCKNQQWGL TCDHYEBAKI TCSAHREPL VGGDIPCSGR VEVKHDGTWG 501 SVCSDSFSLE AASVLCRELO CGTVVVSILGG AHFGEKNGQI WAEFQCEGH 551 ESHLSLCPVA PRFECTCSHS RDVGVVCSRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT 601 LNAWGLCNS HWDIEDARVL CQQLKCGVAL STPGGAHFGK GNGQVVRHMF 651 HCTGTBQHMG DCFVTALGAS LCPGQVASV ICSGNQSQTL SSCNSSSLGP 701 TRPTIPEESA VACIESGQLR LVNNGGRCAG RVEIYHEGSW GTICDDSWDL 751 SDAHVVCRL GCGEAINATG SAHPGEGTGP IWLDEMRCNG KESRIWQCHS 801 HGWQQNCRH KEDAGVICSE FMSLRLTSEA SREACAGRLB VFYNGAWGSV 851 GRSNMSETTV GVVCRQLGCA DKGKINPASP DKAMSIEMWV DNVQCPKGP 901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW 951 GTVCCDSWDL NDAQVVCQQL GCGPALKAFK EAEFGQGTGP IWLNEVKCKG 1001 NESSLWDCPA RRWGHSECGH KEDAAVNCTD ISTNKTPOKA TTGQSSLIIV 1051 GILGVVLLVI FVALFLTQKR RQRQLTVSS RGENLVHQIQ YREMNSCLNA 1101 DDLDLNNSG GHSEAH                     </pre>	SEC ID N°: 32

**Ejemplo 9. Clonación y caracterización de CD163 de simio a partir de células Vero.**

5 Se usaron un cebador directo 5'simianCD163 (SEC ID N°: 28) (5'-CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG-3' basado en CD163 humano) y un cebador inverso HuCD163-3'Kpn (SEC ID N°: 29) (5'-TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCAT-CAAGGTATCTTA-3') para amplificar ADNc de CD163 de células Vero. El ARN celular total se preparó a partir de células Vero usando el kit RNeasy. Los parámetros de RT-PCR fueron los mismos que los descritos en el Ejemplo 4. Los productos de RT-PCR se clonaron direccionalmente en el vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO según las instrucciones del fabricante. Se secuenciaron ocho clones que contenían inserciones grandes, y se encontraron seis patrones de corte y empalme alternativo discretos. Estos patrones se ilustran gráficamente en la Figura 17.

15 Las seis variantes de corte y empalme alternativo difieren en la presencia o ausencia de tres exones, denominados E6, E105, y E83. Las omisiones de E6 o E105 no cambian el marco de lectura, mientras que la omisión de E83 lo cambia. También se observaron patrones similares a v2 y/o v3 en células porcinas, murinas, humanas y MARC-145 de mono verde africano. Los patrones v4 y v5 carecen del exón de 105 nucleótidos que codifica la región transmembrana hidrófoba. Estos ADNc fueron incapaces de hacer que las células BHK fueran permisivas a la infección por VSRRP en un ensayo de transfección transitoria, probablemente debido a que CD163 se secreta en vez de quedar unido a la membrana. Aunque las moléculas de CD163 que carecen de una región transmembrana parecen no ser funcionales como factores de permisividad celular, es posible que tengan utilidad bien en la neutralización directa de virus (similar a anticuerpos neutralizantes), o como un inmunógeno para la inducción de anticuerpos anti-CD163 que puedan bloquear la infección viral del animal hospedador.

ES 2 530 694 T3

5 La variante de corte y empalme alternativo más larga, v7, contiene los tres exones E6, E105, y E83. Este nuevo ADNc de CD163 de células Vero codifica un polipéptido de 1153 aminoácidos de longitud. Cuando se compara con las secuencias en la base de datos de GenBank, la secuencia de aminoácidos de CD163v7 de Vero es un 95,4 % idéntica a CD163 humano (Z22968 de GenBank), un 83,7 % idéntica a CD163 de cerdo (AJ311716 de GenBank), y un 72,1 % idéntica a CD163 de ratón (AF274883 de GenBank). Las secuencias de nucleótidos y de ácidos nucleicos de las seis variantes de corte y empalme alternativo encontradas en células Vero se proporcionan a continuación (SEC ID N°: 33-44).

SECUENCIA	ID N°
<p>1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H  1 ATGAGCAAACCTCAGAATGGTGCTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT  21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V  61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTAFTGCTGPGGTCCTTACTTCTCCGTGCCTGTTTGTTC  41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C  121 ACCAGTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAAAAACAAGTGT  61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W  181 AGTGGGAGAGTGGAAAGTGAATAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG  81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A  241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAAACCAGCTGGGATGTCCAACCTGCTATCAAAGCC  101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C  301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAGGTTCTGGACGCATTTGGATGGATCATGTTTCTTGT  121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N  361 CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTTGGGACTGCAAAACATGATGGATGGGGAAAGCATAGTAAC  141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R  421 TGTACTCACCAACAAGATGCTGGAGTAACTTGCTCAGATGGATCCGATTTGGAAATGAGG  161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W  481 CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATTCGAAGGACAGTGG  181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L  541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACTT  201 E C G S A V S P S G S A N F G E G S G P  601 GAATGTGGAAGTCTGTCTAGTTTCTCTGGTTCAGCTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA  221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H  661 ATCTGGTTTGATGATCTTATATGCAACGGAATGAGTCACTCTCTGGAACCTGCAACAT</p>	<p>SEC ID N°: 33 y 34</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K                      721 CAAGGATGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGGATTGCTCAAAG                      261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E                      781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTCCAGGAAGATTAGAA                      281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A                      841 GTGAGATCCAAAGGAGAATGGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT                      301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N                      901 GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAACTGCTATCACCGCCATTTGGTCGAGTTAAC                      321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P                      961 GCCAGTGAGGGATTTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTCTTCCAGGGACATGAACCT                      341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D                      1021 GCGTCTGGCAATGTAAACACCATGAATGGGAAAGCATTTATTGCAATCACAATGAAGAT                      361 A G V T C S D G S G L E L R L R G G G S                      1081 GCTGGCGTAACATGTCTGATGGATCAGGTCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC                      381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R                      1141 CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATTCAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA                      401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L                      1201 GGCTGGGACTGAAAGAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACCTC                      421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S                      1261 AAAACATCCCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTCTAAGT                      441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L                      1321 AGCTGTAACGGAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAACTGGCAATGGGGTGGACTT                      461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L                      1381 ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCACAGGGAAACCCAGACTG                      481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G                      1441 GTTGGAGGAGACATTCCCTGTCTGAGACCGTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC                      501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q                      1501 TCCGTCTGTGATTCGGATTTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTCTATGCAGGGAATTACAG                      521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I                      1561 TGTGGCACATCTCTCTATCTCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC                      541 W T E E F Q C E G H E S K L S L C F V A                      1621 TGGACTGAAGAATTCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTTCACTCTGCCAGTAGCA                      561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y                      1681 CCCCGCCAGAAGGAACCTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC                      581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T                      1741 ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAACG                      601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L                      1801 CPTAAAGCCCTGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT                      621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K                      1861 TGCCAACAACCTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTACCCAGGAGGAGCACATTTGGAAAA                      641 G N G Q V W R H M P H C T G T E Q H M G                      1921 GGAATGGTCAGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA                      661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V                      1981 GATTGTCCTGTAACCTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCCTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA                      681 I C S G N Q S Q T L S S R N S S S L G P                      2041 ATTTGCTCAGGAAACCACTCCCAAACACTGTCTCCGCGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA                      701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R                      2101 ACAAGGCCATCCATCCAGAAGAAAGTGTGTGGCCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCCG                      721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W                      2161 TTGGTAAATGGAGGAGTCTGCTGTGCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCCTGG                      741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L                      2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACCTGGTGTGACAGACAGCTG                      761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G F                      2281 GGCTGTGAGAGGCCATTAATGCCACTGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC                      781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID Nº
<p>2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAATCCCGCATTGGCCAGTGCCATTCA  601 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E  2401 CATGGCTGGGGGCGAGCAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG  821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E  2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCAGTGAAGCCAGCAGAGAGGCGCTGTGCAGGGCGTCTAGAA  841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V  2521 GTTTTIIACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG  861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L  2581 GGTGTAGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTA  881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D  2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAAATGTTCACTGTCCAAAAGGACCTGAC  901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E  2701 ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG  921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G  2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCTGTCTGGA  941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L  2821 CGTGTGGAGATCTGGCAGGAGGTTCCTGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG  961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K  2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAA  981 E A E P G Q G T G P I W L N E V K C E G  2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCGAAGGG  1001 N E S S L W D C P A R R R W G H S E C G H  3001 AATGAGTCTTCTGTGGGATTGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGTGAGTGTGGACAC  1021 K E D A A V N C T D I S T R K T P Q K A  3061 AAGGAAGACGCTGCAGTGAATTGCACAGATATTTCAACGCGCAAAACCCCAAAAAGCC  1041 T T G Q S S L I A V G I L G V V L L A I  3121 ACAACAGGTCACTCATCCCTTATTGCAGTCGGAATCCTTGGAGTGTCTCTCTGGCCATT  1061 F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V S S  3181 TTCGTGCAFTATTCTTACTCAAAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTTTCTCTCA  1081 R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L N A  3241 AGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAATCAATACCGGGAGATGAATTCITGCCTGAATGCA  1101 D D L D L M N S S G G H S E A H  3301 GATGATCTGGACCTAATGAATCCTCAGGAGGCCATTCTGAGGCACAC</p>	
<p>1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSFFTIA VVLLLRACFV FSSLGGTTKE LRLVDGENKC  61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPTAIKA TGWANSSAGS GRIWMDHVSC  121 RGNESALWDC KHDGWGKHSN CTHQQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIRIKPQSQW  181 GTVCDDNFNI NHASVVCQQL ECGSAVSFSG SANFEGSGSP IWFDLINCNG NESALWNCXH  241 QGWGKHNCDH AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTRCSGRLE VRFQGEWGTI CDDGWDSHDA  301 AVACKQLGCP TAITAIGRVM ASEBPGHIWL DSVSCQGHPE AVWQCKHHEW GKHYCNHNE  361 AGVTCSDGSG LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLGKVCDR GWGLKEADV CRQLGCGSAL  421 KTSYQVYSKI QATNMWLFSL SCNGNETSLW DCKNWQWGL TCDHYEAKI TCSAHRPRL  481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCSDSFSLE AASVLCRELO CGTVVSILGG AHFEGNGOI  541 WTBEFQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVCVSRV TEIRLVNGKT PCEGRVELKT  601 LNAWGLCNS HWDIEDAHVL CQOLKCGVAL STPGGAHPFK GNGQVWRHMF HCTGTBQRMG  661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSQTL SSRNSSSLGP TRPTIPESA VACIESGQLR  721 LVNNGGRCAG RVEIYHGSW GTICDDSWDL SDHVVCRLQ GCCEAINATG SAHPGEGTGP  781 IWLDEMRCNG KESRIWQCHS HGWGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRILTSEA SREACAGLE  841 VFYNGAWGSV GRSNMSETTV GVVCRLGCA DKGRINSASL DKAMSIEMNV DNVQCPKQPD  901 TLWQCPSSSEW EKRLARPSEE TWITCDNKM RLOEPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDSDWDL  961 NDAQVVCQQL GCGPALKAFK BAEPGQGTGP IWLNEVRCEG NESSLWDCPA RRWGHSECOH  1021 KEDAAVNCTD ISTRKTPQKA TTGQSSLIIV GILGVLLAI FVALFLTQKR RQRRLTVSS  1081 RGENLVHQIQ YREMNSCLNA DDLDMNSSG GHSEAH</p>	<p>SEC ID Nº: 34</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p> <b>1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H</b>  <b>1 ATGAGCAAACTCAGAATGGTGTACTTGAAGACTCTGGATCTGTGACGTCAGAAGACAT</b>  <b>21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V</b>  <b>61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATGCTGTGGTCTEACTTCTCCGTGCCGTGTTTGTGTC</b>  <b>41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C</b>  <b>121 ACCAGTTCTCTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGCTGAAAACAAGTGT</b>  <b>61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W</b>  <b>181 AGTGGGAGAGTGAAGTGAAAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG</b> </p>	<p>SEC ID N°: 35 y 36</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A                  241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCGCTGGGATGTCCTCAACTGCTATCAAAGCC                  101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C                  301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAGGTTCTGGACCGCATTGGATGGATCATGTTTCTTGT                  121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N                  361 CGTGGGAATGAGTCACTCTTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGAAAGCATAGTAAC                  141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R                  421 TGTACTCACCAACAGATGCTGGAGTAACTTGCTCAGATGGATCCGATTTGGAAATGAGG                  161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W                  481 CTGACGAATGGAGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAAATTCACAGGACAGTGG                  181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L                  541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGITTTGTAACCAACTT                  201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P                  601 GAATGTGGAAAGTCTGTCTGATTTCTCTGGTTCCAGCTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA                  221 I N F D D L I C N G N E S A L W N C K H                  561 ATCTGGITTTGATGATCFPATATGCAACGGAAATGAGTCACTCTCTGGAACTGCAACAT                  241 Q G W G G K H N C D H A E D A G V I C S K                  721 CAAGGATGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTATTGCTCAAAG                  261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E                  781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTGAGGAAGATTAGAA                  281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A                  841 GTGAGATTCACAGGAGAAATGGGGGACAAATATGTGATGACGCTGGGACAGTCAATGATGCT                  301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N                  901 GCTGTGGCATGCAACCACTGGGATGTCACACTGCTATCACCGCCATTTGGTGGAGTTAAC                  321 A S E G F G H I W L D S V S C O G H E P                  961 GCCAGTGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTATTGCTCAAAG                  341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D                  1021 GCGGTCTGGCAATGAAACACCATGAAATGGGAAAGCATTATTGCAATCACAATGAGAT                  361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S                  1081 GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC                  381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R                  1141 CGCTGTCTGGGACAGTGGAGTGGAGATTGAGACTGTGAGGAAAGGTGTGTGACAGA                  401 G W G G L K E A D V V C R Q L G C G S A L                  1201 GGCTGGGGAGAAAGAGCTGATGTGGTTGTCAGGAGCTGGGATGGATCTGCACTC                  421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S                  1261 AAAACATCCTAAGTAACTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTCTTCTAAGT                  441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L                  1321 AGCTGTAACGGAATGAACACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAGTGGCAATGGGGTGGACTT                  461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L                  1381 ACCGTGTATCACTATGAGAAGCCAAAATTAACCTGCTCAGCCCAAGGGAACCCAGACTG                  481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G                  1441 GTTGGAGGAGATTCCTCTGTTCTGGACGCTTGAAGTGAAGCATGGTGGACACATGGGGC                  501 S V C D S D P S L E A A S V L C R R L Q                  1501 TCCGTCTGTGATTCGGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTCTATGTCAGGGAATTCAG                  521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I                  1561 TGTGGCAGTCTGTCTCTCTCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC                  541 W T E E F Q C E G H E S H L S L C P V A                  1621 TGGACTGAAGAATTCAGTGTGAGGACATGAGTCCCATCTTCACTCTGCCAGTAGCA                  561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y                  1681 CCCCAGGAGAGGACTTGTAGCCACAGCAGGATTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC                  581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T                  1741 ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCATGTCAGGAGGAGGAGTGGAGCTCAAACG                  601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L                  1801 CTTAATGCTGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT                  621 C Q Q L K C G V A L S T P G G G A H F G K                  1861 TGCCAACTTAAATGTTGGAGTTGCCCTTCTACCCAGGAGGAGCATTITGGAAAA                  641 G N G Q V N R H M F H C T G T E Q H M G                  1921 GGAATGCTCAGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA                  661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V                  1981 GATTGCTCTGTAAGTCTCTGGGTGCTTCACTATGTCCTTCCAGGCAAGTGGCTCTGTA                  681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P                  2041 ATTTGCTCAGGAACCCAGTCCCAAACACTGCTCTGTCGCAATTCATCATCTCTGGGCCCC                  701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R                  2101 ACAAGGCTTACCAATCCAGAAGAAAGTCTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC                  721 L V N G G R C A G R V E I Y H E G S W                  2161 TTGGTAAATGGAGGAGTCTGCTGCTGGAGAGTAGAGATTATCATGAGGGCTCTCGG                  741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L                  2221 GGCACCACTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGGCAGCAGCTG                  761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P                  2281 GGCTGTGGAGAGCCATTAATGCCACTGGTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC                  781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S                  2341 ATCTGGCTGGAGAGATGAAATGCAATGGAAAGAAATCCCGCATTGGCAGTGCATTTCA                  801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E                  2401 CATGGCTGGGGGAGCAAACTGCAGGACCAAGGAGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG                  821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E                  2461 TTCATGCTCTGAGACTGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGGCAGCAGCTG                  841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V                  2521 GTTTTTACACCGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAAACATGTTGAAACCACTGTG                  861 G V V C R L G C A D K G K I N S A S L                  2581 GGTGTAGTGTGACAGGAGCTGGCTGTGACAGCAAGGAAATCAACTCTGCATCTTTA                  881 D K A M S I F M W V D N V Q C P R G F D                  2641 GACAAGGCCATGTCCATTTCCATGTGGGTGGACATGTTCACTGTCAAAAGGACCTGAC                  901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>2701 ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG                      921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G                      2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAGAAGGACCCACTTCCTGTTCTGGA                      941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L                      2821 CGTGTGGAGATCTGGCACGGAGGTTCTGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG                      961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A P K                      2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTTGGCTGTGGTCCAGCTTGAAAGCATTCAAA                      981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G                      2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAAGGG                      1001 N E S S L W D C P A R R R W G H S E C G H                      3001 AATGAGTCTTCCTTGTGGGATTGTCTCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAAGTGTGGACAC                      1021 K E D A A V N C T D I S T R K T P Q K A                      3061 AAGGAAGACCGCTGCAGTGAATTCACACGATATTTCAACCGCAAAACCCCAAAAAGCC                      1041 T T G Q S S L I A V G I L G V V L L A I                      3121 ACAACAGGTCACTCATCCCTTATTGCACTCGGAATCCTTGGAGTTGTCTCTTGGCCATT                      1061 F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V S S                      3181 TTCGTCGCATTATTCTTCAAAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTTTCTCTCA                      1081 R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L N A                      3241 AGAGGAGAGAAGCTTAGTCCACCAAATTCATACCGGGAGATGAATTCCTTGCCTGAATGCA                      1101 D D L D L M N S S E N S N E S A D F N A                      3301 GATGATCTGGACCTAATGAATTCCTCAGAAAATTCATGAGTCACTGATTCAATGCT                      1121 A E L I S V S K F L P I S G M E K E A I                      3361 GCTGAACATAATTCTGTGTCTAAATTCCTTCTTCTTCTGGAATGGAAAAGGAGGCCATT                      1141 L R H T E K E N G N L                      3421 CTGAGGCACACTGAAAAGGAAAATGGGAATTA</p>	
<p>1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSPPTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC                      61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPATAKA TGWANSSAGS GRIWMDHVSC                      121 RGNESALWDC KHDGWGKHSN CTHQODAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIEIKFQQQW                      181 GTVCDNFNI NHASVVKQL ECGSAVSFSG SANFGEBSGP IWFDLDCNG NESALWNCKH                      241 QGWGHCNCDH AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRFQGEWGTI CDDGWDSHDA                      301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFHILW DSVSCQHPEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNEP                      361 AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWGLKEADV VCRQLGCGSAL                      421 KTSYQVYSKI QATNMWFLS SCNGNETSLW DCKNQQWGL TCDHYEBAKI TCSAHREPRL                      481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCDSDFSLE AASVLCRELO CGTVVSI LGG AHFGEENGQI                      541 WTEEPQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVVCSRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT                      601 LNAWGS LCNS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHFGK GNGQVWRHMF HCTGTEQHMG                      661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSOTL SSCNSSLGP TRPTIPEESA VACIBSGQLR                      721 LVNNGGRCAG RVEIYHEGSW GTICDDSWDL SDAHVVCRQL GCGRAINATG SAHFGEETGP                      781 IWLDEMCKNG KESRIWQCHS HGWGQQNCRH KEDAGVICSE FMSLRRLTSEA SREACAGRLE                      841 VFYNGAWGSV GRSNMSETTV GVVCRQLGCA DKGKINSASL DKAMSIEMV DNVQCPKGF                      901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNKMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDDSWDL                      961 NDAQVVCQQL GCGPALKAFK EAEPGQGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCPA RRWGHSECGH                      1021 KEDAAVNCTD ISTRTPQKA TTGQSSLIIV GILGVLLAI FVALFLTKR RQRQLTVSS                      1081 RGENLVHQIQ YREMNLSLNA DDLDMNSSE NSNESADPNA AELISVSKFL PISGMEKEAI                      1141 LRHTEKENG N L</p>	<p>SEC ID N°: 36</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H                      1 ATGAGCAAACTCAGAATGGTGTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT                      21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V                      61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTCCTGTTTGTGTC                      41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C                      121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAAAACAAGTGT                      61 S G R V E V K I Q E B W G T V C N N G W                      181 AGTGGGAGAGTGGAAAGTGAATAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG                      81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A                      241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAAGCTGGGATGTCCAAGTCTATCAAAGCC                      101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C                      301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAGGTTCTGGACGCATTTGGATGGATCATGTTTCTTGT                      121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N                      361 CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGGAAGCATAGTAAC                      141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R                      421 TGTACTCACCAACAAGATGCTGGAGTAACTTGCTCAGATGGATCCGATTTGGAAATGAGG                      161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W                      481 CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATCCAAGGACAGTGG                      181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L                      541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACTT                      201 E C G S A V S P S G S A N F G E G S G P                      601 GAATGTGGAAGTGTCTGTCAGTTTCTCTGGTTCAGCTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA                      221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H                      661 ATCTGGTTTGTATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAAGTCAACAT</p>	<p>SEC ID N°: 37 y 38</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K                      721 CAAGGATGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTATTGCTCAAAG                      261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E                      781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTGAGGAAGATAGAA                      281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A                      841 GTGAGATTCGAAGGAGAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT                      301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N                      901 GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAACCTGCTATCACCGCCATGGTTCGAGTTAAC                      321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P                      961 GCCAGTGGGGATTTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTCTTCTGCCAGGGACATGAACCT                      341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D                      1021 GGGTCTGGCAATGTAAACACCATGAATGGGAAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT                      361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S                      1081 GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC                      381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R                      1141 CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGTGGAGATTCAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA                      401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L                      1201 GGCTGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAAGGAGCTGGGATGTGGATCTGCACCTC                      421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S                      1261 AAACATCCCTATCAAGTATACCCAAAATCCAGGCAACAACATGTGGCTGTTTCTAAGT                      441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L                      1321 AGCTGTAAACGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAGCTGGCAATGGGGTGGACTT                      461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L                      1381 ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATACCTGCTCAGCCCACAGGGAACCCAGACTG                      481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G                      1441 GTTGGAGGAGACATCCCTGTTCTGGACGGTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC                      501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q                      1501 TCGTCTGTGATTCGGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCTATGCAGGGAATTACAG                      521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I                      1561 TGTGGCACAGTCTGCTCTATCCTGGGGGAGCTCAGTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC                      541 W T E E F Q C R G H E S H L S L C P V A                      1621 TGGACTGAAGAATTCAGTGTGAGGACATGAGTCCCATCTTCACTCTGCCAGTAGCA                      561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y                      1681 CCCCAGCCAGGAGGAACTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC                      581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T                      1741 ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAACG                      601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L                      1801 CTPAATGCCTGGGATCCCTCTGCAACTCTCAGTGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT                      621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K                      1861 TGCCAACAACCTTAAATGTGGAGTTGOCCTTTCTACCCAGGAGGAGCACATTTGGAAAA                      641 G N G Q V W R H M P H C T G T E Q H M G                      1921 GGAATGGTCAAGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCCTGGGACTGAGCAGCACATGGGA                      661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V                      1981 GATTGTCTGTAACCTGCTCTGGGTGCTTCACTATGCTCTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA                      681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P                      2041 ATTTGCTCAGGAAACCAGTCCCAACACTGTCTCGTGCATTCATCATCTCTGGGCCCA                      701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R                      2101 ACAAGGCTACCATTCACAGAAGAAAGTGTGTGGCCTGCATAGAGAGTGTCAACTTCGG                      721 L V N G G G R C A G R V E I Y R E G S W                      2161 TTGGTAAATGGAGGAGGCTGCTGTGCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCCTGG                      741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L                      2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGTGTGCAGACAGCTG                      761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P                      2281 GGCTGTGAGAGGGCCATTAATGCCACTGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC                      781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID Nº
<p>2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAGAATCCCGCATTTGGCAGTGCCATTCA                      801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E                      2401 CATGGCTGGGGCAGCAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG                      821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E                      2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCAGTGAAGCCAGCAGAGAGGCCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA                      841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V                      2521 GTTTTTTACAACCGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG                      861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L                      2581 GGTGTAGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA                      881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D                      2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAAATGTTTCAGTGTCCAAAAGGACCTGAC                      901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E                      2701 ACGCTGTGGCAGTGCCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGCAG                      921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G                      2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCTGTCTTCTGGA                      941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L                      2821 CGTGTGGAGATCTGGCAGGAGGTTCTTGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG                      961 N D A Q V V C Q Q L G C G F A L K A F K                      2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCAITCAA                      981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G                      2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAAGGG                      1001 N E S S L W D C P A R R R W G H S E C G H                      3001 AATGAGTCTTCCTTGTGGGATGTCTCCAGACCGCTGGGGCCACAGTGAAGTGTGGACAC                      1021 K E D A A V N C T D I S T R K T P Q K A                      3061 AAGGAAGACCGTGGGTAATGACACAGATATTTCAACGCGCAAAACCCACAAAAGCC                      1041 T T V S S R G B N L V H Q I Q Y R E M N                      3121 ACRACGGTTTCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAATCAATACCGGGAGATGAAT                      1061 S C L N A D D L N L M N S S G G H S E A                      3181 TCTTGCCTGAATGCAGATGATCTGAACCTAATGAATTCCTCAGGAGGCCATTCTGAGGCA                      1081 H * K G K W E F I T Q                      3241 CACTGAAAAGGAAAATGGGAATTTATAACCCAG</p>	
<p>1 MSKLRMVILLE DSGSADVRRH FVNLSFPTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC                      61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPAIIKA TGWANSSAGS GRIWMDHVSC                      121 RGNESALWDC KHDGWGKHSN CTEQQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIRIKFQGGW                      181 GTVCDDNFNI NHASVVCQQL ECGSAVSFSG SANPGEESGP IWFDDLICNG NESALWNCXH                      241 QGWGKHNCDH AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRPQGEWGTI CDDGWDSDHA                      301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFGHIWL DSVSCQGHPE AVWQCKHHEW GHYCNHNEH                      361 AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWLKEADV CRQLGCGSAL                      421 KTSYQVYSKI QATNMWLFSL SCNGNETSLW DCKNWQWGL TCDHYEAKI TCSAHREPR                      481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCDSDFSL EASVLCRELO CGTVVSIILGG AHFEGNGQI                      541 WTEBFQCBGH BSHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVVCSRY TEIRLVNGKT PCBGRVELKT                      601 LNAWGLCNS HNDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHFGK GNGQVWRHMF HCTGTQOHMG                      661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSOTL SSCNSSLGPT TRPTIPERSA VACIESGQLR                      721 LVNNGGRCAG RVEIYHEGSW GTICDDSWDL SDAHVVCRQL GCGEAINATG SAHFEGGTOP                      781 IWLDEMKNCG KESRIWQCHS HGWGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRILTSEA SREACAGRLE                      841 VFYNGANGSV GRSNMSETTV GVVCRQLGCA DKGKINSASL DKAMSIPMWV DNVCCKGFPD                      901 TLWQCFSSPW EKRLARPSSE TWITCDNKM LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDSDWDL                      961 NDAQVVCQQL GCGPALKAPK EAFEGQGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCEA RRWGHSECGH                      1021 KEDAAVNCTD ISTRKTPOKA TTVSSRGENL VHQIQYREMN SCLNADDLNL MNSSGGHSEA                      1081 H</p>	<p>SEC ID Nº: 38</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p> <b>1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H</b>  <b>1 ATGAGCAAACCTC&amp;GAATGGTGCTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT</b>  <b>21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V</b>  <b>61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCCTGTTTGTGTC</b>  <b>41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C</b>  <b>121 ACCAGTTCTCTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAAAACAAGTGT</b>  <b>61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W</b>  <b>181 AGTGGGAGAGTGGAAGTGAAAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGOTGTGTAATAATGGCTGG</b>  <b>81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A</b>  <b>241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAGCTGGGATGTCCAACCTGCTATCAAGCC</b> </p>	<p>SEC ID N°: 39 y 40</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C                      301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAGGTTCTGGACGCCAATTTGGATGGATCATGTTTCTTGT                      121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N                      361 CGTGGGAATGAGTCAGCTCTTTGGGACTGCACAACATGATGGATGGGAAAGCATAGTAAC                      141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R                      421 TGTACTCACCAACAGATGCTGGAGTACTTGCTCAGATGGATCCGATTGGAAATGAGG                      161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W                      481 CTGACGAATGGAGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATTCGAAGACAGTGG                      181 G T V C D D N F N V N H A S V V C K Q L                      541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACGTCATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACAACCTT                      201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P                      601 GAATGTGGAAATGCTGTCAGTTTCTCTGTTTCACTAATTTGGAGAGGCTCTGGACCA                      221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H                      661 ATCTGGTTTGTATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAACGCAACAT                      241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K                      721 CAAGATGGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGTATTGCTCAAAG                      261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E                      781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTCCAGGAAGATTGAA                      281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A                      841 GTGAGATTCBAAGGAGAAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT                      301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N                      901 GCTGTGGCAGCAAGCAACTGGGATGTCCAACGCTATCACCGCCATTGGTGGAGTTAAC                      321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P                      961 GCCAGTGGGGATTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTCTTGGCCAGGGACATGAACCT                      341 A V W Q C K H H E W G K H Y C M H N E D                      1021 GCGTCTGGCAATGTAACACCATGAATGGGAAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT                      361 A G V T C S D G S D L B L R L R G G G S                      1081 GCTGGCCTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC                      381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R                      1141 CGCTGTCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATLCAGAGACTGTTAGGGAAAGTGTGTGACAGA                      401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L                      1201 GGCTGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC                      421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S                      1261 AAAACATCCTATCAAGTATACTCCAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTTCTAAGT                      441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L                      1321 AGCTGTAACGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAGTGGCAATGGGGTGGACTT                      461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L                      1381 ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCACAGGGAAACCAGACTG                      481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G                      1441 GTTGGAGGAGACATCCCTGTTCTGGACGCGTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC                      501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q                      1501 TCCGTCGTGATTCGATTTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCTATGCAGGGAAATTACAG                      521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I                      1561 TGTGGCACAGTCTCTCTATCTGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAATGGACAGATC                      541 W A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A                      1621 TGGGCTGAAGAATTCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTCACTCTGCCAGTAGCA                      561 P R F E G T C S R S R D V G V V C S R Y                      1681 CCCCAGGAGAACTGTAGCCACAGCAGGATGTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC                      581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T                      1741 ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAACG                      601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L                      1801 CTTAATGCTGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT                      621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K                      1861 TGCCAACAACCTTAAATGTGGAGTTGCCCTTCTACCCAGGAGGACACATTTGGAAAA                      641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1921 GGAAATGGTCAGGTCCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA  661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V  1981 GATTGTCCGTAACTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCTTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA  681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P  2041 ATTTGCTCAGGAAACCAGTCCCAAACACTGTCTCGTGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA  701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R  2101 ACAAGGCCTACCATTCAGBAGAAAGTGTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC  721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W  2161 TTGGTAAATGGAGGAGGTCGCTGTGCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCCTGG  741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L  2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACCGTGGTGTGCAGACAGCTG  761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G F  2281 GGCTGTGGAGAGGCCATTAATGCCACTGGTCTCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC  781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S  2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAAATCCCGTATTTGGCAGTGCCATTCA  801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E  2401 CATGGCTGGGGGAGCAAACTGCAGGCACAAGGAGSATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG  821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E  2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCAGTGAAGCCAGCAGAGAGGCCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA  841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V  2521 GTTTTTTACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG  861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L  2581 GGTGTGGTGTGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA  881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D  2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTCAAGTGTCCAAAAGGACCTGAC  901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E  2701 ACGCTGTGGCAGTGGCCATCATCTCCATGGGAGAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG  921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G  2762 ACCTGGATCAGATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCCACTTCTGTCTGGA  941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L  2821 CGTGTGGAGATCTGGCACGGAGGTTCTGGGGACAGTGTGTGATGACTCTGGGACTTG  961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K  2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAA  981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G  2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGCAAAGGG  1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H  3001 AATGAGTCTTCTTGTGGGATGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAAGTGTGGACAC  1021 K E D A A V N C T A Q K I S T H K T P Q  3061 AAGGAAGACGCTGCAGTGAATTGCACAGCACAAAAATTTCAACGCACAAAACCCACAA  1041 K A T T V S S R G E N L V H Q I Q Y R B  3121 AAAGCCACAACAGTTTCCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAATTCATACCGGGAG  1061 M N S C L N A D D L D L M N S S G G H S  3181 ATGAATTCCTGCTGAATGCAGATGATCTGGACCTAATGAATTCCTCAGGAGGCCATTCT  1081 E A H * K G K W E F I T Q  3241 GAGGCACACTGAAAAGGAAAATGGGAATTTATAACCCAG</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSPTTIA VVLLLRACFV TSSLGGTKE LRLVDGENKC                      61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPAIIKA TGWANS SAGS GRIWMDHVSC                      121 RGNESALWDC KHDGWGKHSN CTHQQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIEIKPQQQW                      181 GTVCDDNFNV NHASVVCKQL ECGSAVSPSG SANPGE GSGP IWFDLLICNG NESALWNCKH                      241 QGWGKHNCDH AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRFQGEWGTI CDDGWDSHDA                      301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASBGFHIIWL DSVSCQGHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNE                      361 AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLGKVC DR GWGLKEADV CRQLGCGSAL                      421 KTSYQVYSKI QATNMWLFSL SCNGNETSLW DCKNWQWGL TCDHYERAKI TCSAHREPR                      481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCDSDFSLE AASVLCRELO CGTVVSILGG AHFGE GNGQI                      541 WAEEFQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTC SHS RDVGVVCSRY TEIRLVNGKT PCBGRVELKT                      601 LNANGSLCNS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHPGK GNGQVWRHMF HCTGT EQHMG                      661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSQTL SSCNSSLGP TRPTIPEESA VACIESGQLR                      721 LVNGGGRCAG RVEIYHEGSW GTICDDSWDL SDAHVVCRQL GCBEAINATG SAHPGEGTGP                      781 IWLDEMKNCG KESRIWQCHS HGWQQNCRH KEDAGVICSE FMSLRILTSEA SREACAGRLB                      841 VFYNGAWGSV GRSNMSETTV GVVCRQLGCA DKGKINSASL DKAMSIPMWV DNVQCPKGF                      901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDSDWDL                      961 NDAQVVCQL GCGPALKAFK EAEPGQGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCPA RRWGHSECGH                      1021 KEDAAVNCTA QKISTHKTPQ KATTVSSRGE NLVHOIQYRE MNSCLNADDL DLMNSSGGHS                      1081 EAH</p>	<p>SEC ID N°: 40</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID Nº
<p>1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H                      1 ATGAGCAAACCTCAGAATGGTGTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTCAGAAGACAT                      21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V                      61 TTTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATTGCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCGTGTTTGTTC                      41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C                      121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGAACAAGTGT                      61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W                      181 AGTGGGAGAGTGGAAATCCAGGAGGAGTGGGAAACGGTGTGTAATAATGGCTGG                      81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A                      241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAGCTGGGATGTCCAACCTGCTATCAAAGCC                      101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C                      301 ACTGGATGGGCTAATTCAGTGCAGGTTCTGGACGCATTGGATGGATCATGTTTCTTGT                      121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N                      361 CGTGGGAATGAGTCACTCTTGGGACTGCAACATGATGGATGGGAAAGCATAGTAAC                      141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R                      421 TGTACTCACCACAAGATGCTGGAGTACTTGCTCAGATGGATCCGATTTGGAAATGAGG                      161 L T N G G N M C S G R I E I K F Q G Q W                      481 CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATCCAAGGACAGTGG                      181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L                      541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGTTTGTAAACAACCT                      201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P                      601 GAATGTGGAAGTGTGTGAGTTTCTCTGGTTTCTGAGTAAATTTGGAGAAGGCTCTGGACCA                      221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H                      661 ATCTGGTTTGATGATCTTATATGCAACGGAATGAGTCACTCTCTGGAAGTCAACAT                      241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K                      721 CAAGGATGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGAATTTGCTCAAAG                      261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E                      781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTGAGGAAGATTAGAA                      281 V R P Q G E W G T I C D D G W D S H D A                      841 GTGAGATTTCCAGGAGAAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCAATGATGCT                      301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N                      901 GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAACCTGCTATCACCGCCATTGGTTCAGATTAAC                      321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P                      961 GCCAGTGGAGGATTTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTCTTGGCCAGGGACATGAACCT                      341 A V W Q C K H H E W G K H Y C N H N E D                      1021 GCGGTCTGGCAATGTAAACACCATGAATGGGAAAGCATTATTGCAATCACAATGAAGAT                      361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S                      1081 GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC                      381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R                      1141 CGCTGTGCTGGACAGTTGAGGTGGAGATTGAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA                      401 G W G L K B A D V V C R Q L G C G S A L                      1201 GGCTGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC                      421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S                      1261 AAAACATCCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAACATGTGGCTGTTTCTAAGT                      441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L                      1321 AGCTGTAAACGGAATGAAACTTCTCTTGGGACTGCAAGACTGGCAATGGGGTGGACTT                      461 T C D H Y B E A K I T C S A H R E P R L                      1381 ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCCACAGGGAACCCAGACTG                      481 V G G D I F C S G R V E V K H G D T W G                      1441 GTTGGAGGAGACATTCCTGTCTGAGCGGTTGAAGTGAAGCATGTTGACACATGGGGC                      501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q</p>	<p>SEC ID Nº: 41 y 42</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1501 TCCGCTCTGTGATTTCGGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCGTTCCTATGCAGGGAATTACAG                      521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I                      1561 TGTGGCACAGTCGTCTCTATCTCTGGGGGAGCTCAGTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC                      541 W A B E F Q C E G H E S H L S L C P V A                      1621 TGGGCTGAAGAATCCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTTCACTCTGCCAGTAGCA                      561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y                      1681 CCCC GCCAGAAGAACTTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC                      581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T                      1741 ACAGAARTTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG                      601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L                      1801 CTTAATGCCTGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCCAAGTTCCT                      621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K                      1861 TGCCAACTAATAATGTGAGTGGCCCTTCTACCCAGGAGGAGCACATTTGGAAAA                      641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G                      1921 GGAAATGGTCAGGTCTGGAGGCATATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA                      661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V                      1981 GATTGTCTGTAACTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCTCAGGGCAAGTGGCCCTCTGTA                      681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P                      2041 ATTTGCTCAGGAAACAGTCCCAACACTGCTCTGTGCAATTCATCATCTCTGGGCCCA                      701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R                      2101 ACAAGGCTACCACTCCAGAAGAAAGTGTCTGGCCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC                      721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W                      2161 TTGGTAAATGGAGGAGTGGCTGTGCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCTGG                      741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L                      2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGTGCAGACAGCTG                      761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P                      2281 GCTGTGGAGAGGCCATTAATGCCACTGGTTCTGCTCATTTTGGAGAAGGAACAGGGCCC                      781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S                      2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAAATCCCGTATTGGCAGTGCCATTCA                      801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E                      2401 CATGGCTGGGGGCGCAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG                      821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E                      2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCAAGTGAAGCCAGCAGAGAGGCGCTGTGCAGGGCGTCTAGAA                      841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V                      2521 GTTTTTTACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGTCTGAAACCACTGTG                      861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L                      2581 GGTGGTGTGTCAGGAGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA                      881 D K A M S I P M W V D N V Q C P R G P D                      2641 GACAAGGCCATGTCCATTCCCATGTGGGTGGACAATGTTCACTGTCCAAAAGGACCTGAC                      901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E                      2701 ACGCTGTGGCAGTCCCATCACTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG                      921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G                      2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCTGTCTGGA                      941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L                      2821 CGTGTGGAGATCTGGCACGGAGTTCCTGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG                      961 M D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K                      2881 AACGATGCTCAGTGGTGTGTCAACAACCTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAA                      981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G                      2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTGAAGGG                      1001 N E S S L W D C P A R R W G H S E C G H                      3001 AATGAGTCTTCCITGTGGGATGTCTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGTGTGGACAC                      1021 K E D A A V N C T A Q K I S T H K T P Q                      3061 AAGGAAGACGCTGCAGTGAATGACACAGCAAAAATTTCAACGCACAAAACCCCAAA                      1041 K A T T G R S F L I A F G I L G V V L L                      3121 AAAGCCACAACAGGTCGGTCACTTCTTATTGCRATTCGGAACTCCTTGGAGTGTCTCTTG</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
1061 A I F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V 3181 GCCATTTTCGTGCGCATTATTCTTGACTCAAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTT 1081 S S R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L 3241 TCCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAATTC AATACCGGGAGATGAATTCTTGCCCTG 1101 N A D D L D L M N S S G G H S E A H 3301 AATGCAGATGATCTGGACCTAATGAATTCCTCAGGAGGCCATTCTGAGGCACAC	
1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSPPTIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC 61 SGRVEVKIQE EWGTVCNNGW SMBAVSVICN QLGCPATAKA TGWANSSAGS GRIWMDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGWGKHSN CTHQODAGVT CSDGSDLEMR LTNGGNMCSG RIEIKFQGGW 181 GTVCDDNFNI MHASVVCKQL ECGSAVSPSG SANFGEESGP IWFDDLICNG NESALWNCKH 241 QGWGKHNCDH AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRFQGEWGTI CDDGWDSDHA 301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASBGFHGIWL DSVSCQGHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNE 361 AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWGLKEADV CRQLGCGSAL 421 KTSYQVYSKI QATNMWLFSL SCNGNETSLW DCKNWQWGL TCDHYEAKI TCSAHREPR 481 VGGDIPCSGR VEVKHGDTWG SVCSDSDFSL AASVLCRELQ CGTVVVSILGG AHFGEENGQI 541 WABEFQCEGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSSS RDVGVVCSRY TEIRLVNGKT PCBGRVELKT 601 LNAWGLCNS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHPGK GNGQVWRHMF HCTGTBOHMG 661 DCPVTALGAS LCPGQVASV ICSGNQSQTL SSCNSSLGP TRPTIPEESA VACIESGQLR 721 LVNNGGRCAG RVELYHEGSW GTICDDSWDL SDAHVVCRQL GCGEAINATG SAHFGEGTGP 781 IWLDEMCKNG KESRIWQCHS HGWGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRLTSEA SREACAGRL 841 VFYNGAWGSV GRSNMSETTV GVVCRQLGCA DKGKINSASL DKANSIPMWV DNVQCPKGP 901 TLWQCPSSPW EKRLARPSBE TWITCDNKMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDDSWDL 961 NDAQVVCQQL GCGPALKAPK EAEFGQGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCPA RRWGHSECGH 1021 KEDAAVNCTA QKISTHKTPQ KATGRSPLI AFGILGVVLL AIFVALFLTQ KRRQRRLTV 1081 SSRGENLVHQ IQYREMNCSL NADDLDMNS SGGHSEAH	SEC ID N°: 42

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1 M S K L R M V L L E D S G S A D V R R H</p> <p>1 ATGAGCAAACCTCAGAAATGGTGTACTTGAAGACTCTGGATCTGCTGACGTGAGAAGACAT</p> <p>21 F V N L S P F T I A V V L L L R A C F V</p> <p>61 TTGTCAACTTGAGTCCCTTCACTATGTCTGTGGTCTTACTTCTCCGTGCCCTGTTTGTGTC</p> <p>41 T S S L G G T T K E L R L V D G E N K C</p> <p>121 ACCAGTTCTCTTGGAGGAACAACCAAGGAGCTGAGGCTAGTGGATGGTGA AAAACAAGTGT</p> <p>61 S G R V E V K I Q E E W G T V C N N G W</p> <p>181 AGTGGGAGAGTGGAAATGAAAATCCAGGAGGAGTGGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG</p> <p>81 S M E A V S V I C N Q L G C P T A I K A</p> <p>241 AGCATGGAAGCAGTCTCTGTGATTTGTAACCAGCTGGGATGTCCAACCTGCTATCAAAGCC</p> <p>101 T G W A N S S A G S G R I W M D H V S C</p> <p>301 ACTGGATGGGCTAATCCAGTGCAGTTCTGGACGCATTTGGATGGATCATGTTTCTTGT</p> <p>121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H S N</p> <p>361 CGTGGGAATGAGTCACTCTTTGGGACTGCAAACATGATGGATGGGAAAGCATAGTAAC</p> <p>141 C T H Q Q D A G V T C S D G S D L E M R</p> <p>421 TGTA CTACCAACAAGATGCTGGAGTGACTTGCTCAGATGGATCCGATTTGGAAATGAGG</p> <p>161 L T N G G N M C S G R I E I K P Q G Q W</p> <p>481 CTGACGAATGGAGGGAATATGTGTTCTGGAAGAATAGAGATCAAATTC AAGGACAGTGG</p> <p>181 G T V C D D N F N I N H A S V V C K Q L</p> <p>541 GGAACAGTGTGTGATGATAACTTCAACATCAATCATGCATCTGTGGTTTGTAAACA ACT</p> <p>201 E C G S A V S F S G S A N F G E G S G P</p> <p>601 GAATGTGGAAATGCTGTCAAGTTTCTCTGTTTCACTAATTTTGGAGAAGGCTCTGGACCA</p> <p>221 I W F D D L I C N G N E S A L W N C K H</p> <p>661 ATCTGGTTTGTATGATCTTATATGCAACGGAAATGAGTCACTCTCTGGAAC TGCAACAT</p> <p>241 Q G W G K H N C D H A E D A G V I C S K</p> <p>721 CAAGGATGGGAAAGCATAACTGTGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGATTTGCTCAAAG</p> <p>261 G A D L S L R L V D G V T E C S G R L E</p> <p>781 GGAGCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTCAAGGAGATTAGAA</p> <p>281 V R F Q G E W G T I C D D G W D S H D A</p> <p>841 GTGACATTCCAAGGAGAATGGGGACAATATGTGATGACGGCTGGGACAGTCATGATGCT</p> <p>301 A V A C K Q L G C P T A I T A I G R V N</p> <p>901 GCTGTGGCATGCAAGCAACTGGGATGTCCAACCTGCTATCACC GCCATTGGTCCAGTTAAC</p> <p>321 A S E G F G H I W L D S V S C Q G H E P</p> <p>961 GCCAGTGAGGGAATTTGGACACATCTGGCTTGACAGTGTCTTCCAGGGACATGAACCT</p>	<p>SEC ID N°: 43 y 44</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>341 A V W Q C K E H E W G K H Y C N H N E D                      1021 GCGGTCTGGCAATGTAAACACCATGAATGGGGAAAGCATTATGCAARTCACAAATGAAGAT                      361 A G V T C S D G S D L E L R L R G G G S                      1081 GCTGGCGTAACATGTTCTGATGGATCAGATCTGGAGCTAAGACTTAGAGGTGGAGGCAGC                      381 R C A G T V E V E I Q R L L G K V C D R                      1142 CGCTGTGCTGGGACAGTTGAGGTGGAGATTGAGAGACTGTTAGGGAAGGTGTGTGACAGA                      401 G W G L K E A D V V C R Q L G C G S A L                      1201 GGCTGGGACTGAAAGAAGCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACTC                      421 K T S Y Q V Y S K I Q A T N M W L F L S                      1261 AAAACATCCTATCAAGTATACTCCAAAATCCAGGCAACAAACATGTGGCTGTTTCTAAGT                      441 S C N G N E T S L W D C K N W Q W G G L                      1321 AGCTGTAAACGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAGTGGCAATGGGGTGGACTT                      461 T C D H Y E E A K I T C S A H R E P R L                      1381 ACCTGTGATCACTATGAAGAAGCCAAAATTACCTGCTCAGCCACAGGGAACCCAGACTG                      481 V G G D I P C S G R V E V K H G D T W G                      1442 GTTGGAGGAGACATTCCTGTTCTGGACGCGTTGAAGTGAAGCATGGTGACACATGGGGC                      501 S V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q                      1501 TCCGTCTGTGATTCGGATTCTCTCTGGAAGCTGCCAGCCTTCTATGCAAGGAATTACAG                      521 C G T V V S I L G G A H F G E G N G Q I                      1561 TGTGGCACAGTCGTCTCTATCCTGGGGGGAGCTCACTTTGGAGAGGGAAATGGACAGATC                      541 W A E E F Q C E G H E S H L S L C P V A                      1621 TGGGCTGAAGAAATTCAGTGTGAGGGACATGAGTCCCATCTTTCACTCTGCCCAGTAGCA                      561 P R P E G T C S H S R D V G V V C S R Y                      1681 CCCCGCCAGAAAGAACTGTGAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTAGTCTGCTCAAGATAC                      581 T E I R L V N G K T P C E G R V E L K T                      1741 ACAGAAATTCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAGGGCAGAGTGGAGCTCAAAACG                      601 L N A W G S L C N S H W D I E D A H V L                      1801 CTTAATGCGCTGGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCACGTTCTT                      621 C Q Q L K C G V A L S T P G G A H F G K                      1861 TGCCAACAACTTAAATGTGGAGTGGCCCTTTCTACCCAGGAGGAGCACATTTTGGRAAA                      641 G N G Q V W R H M F H C T G T E Q H M G                      1921 GGAATGGTCAAGTCTGGAGGCATATGTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGA                      661 D C P V T A L G A S L C P S G Q V A S V                      1981 GATGTCTGTAACTGCTCTGGGTGCTTCACTATGTCCTTCAGGGCAAGTGGCCTCTGTA                      681 I C S G N Q S Q T L S S C N S S S L G P                      2041 APTGCTCAGGAAACAGTCCCAACACTGTCTCGTCAATTTCATCATCTCTGSGGCCA                      701 T R P T I P E E S A V A C I E S G Q L R                      2101 ACAAGGCCTACCATTCAGAAAGAAAGTGTGTGGCCTGCATAGAGAGTGGTCAACTTCGC                      721 L V N G G G R C A G R V E I Y H E G S W                      2161 TTGGTAAATGGAGGAGCTCGCTGTCTGGGAGAGTAGAGATTTATCATGAGGGCTCCTGG                      741 G T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L                      2221 GGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGCGATGCCACGTTGGTGTGACAGACGCTG                      761 G C G E A I N A T G S A H F G E G T G P                      2281 GGCTGTGAGAGGCCAATTAATGCCACTGTTCTGCTCAITTTGGAGAAGGAACAGGGCCC                      781 I W L D E M K C N G K E S R I W Q C H S                      2341 ATCTGGCTGGATGAGATGAAATGCAATGGAAAAGAAATCCCGTATTTGGCAGTGCCATTCA                      801 H G W G Q Q N C R H K E D A G V I C S E                      2401 CATGGCTGGGGGAGCAAAACTGCAGGCACAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAG                      821 F M S L R L T S E A S R E A C A G R L E                      2461 TTCATGTCTCTGAGACTGACCAAGTGAAGCCAGCAGAGAGCCCTGTGCAGGGCGTCTAGAA                      841 V F Y N G A W G S V G R S N M S E T T V                      2521 GTTTTTTACAACGGAGCTTGGGGCAGTGTGGCAGGAGTAACATGPTCTGAAACCACTGTG                      861 G V V C R Q L G C A D K G K I N S A S L                      2581 GGTGTGGTGTGACAGGCTGGGCTGTGCAGACAAAGGAAAATCAACTCTGCATCTTTA                      881 D K A M S I P M W V D N V Q C P K G P D</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>2641 GACAAGGCCATGTCCATCCCATGTGGGTGGACAATGTTTCAGTGTCCAAAAGGACCTGAC                      901 T L W Q C P S S P W E K R L A R P S E E                      2701 ACGCTGTGGCAGTGGCCATCATCTCCATGGGAGAAGAGACTGGCCAGGCCCTCGGAGGAG                      921 T W I T C D N K M R L Q E G P T S C S G                      2761 ACCTGGATCACATGTGACAACAAGATGAGACTACAAGAAGGACCCACTTCTGTCTGGA                      941 R V E I W H G G S W G T V C D D S W D L                      2821 CGTGTGGAGATCTGGCACGGAGGTTCTCTGGGGACAGTGTGTGATGACTCCTGGGACTTG                      961 N D A Q V V C Q Q L G C G P A L K A F K                      2881 AACGATGCTCAGGTGGTGTGTCAACAACCTGGCTGTGGTCCAGCTTTGAAAGCATTCAA                      981 E A E F G Q G T G P I W L N E V K C K G                      2941 GAAGCAGAGTTTGGTCAGGGGACTGGACCCATATGGCTCAATGAAGTGAAGTCAAAGGG                      1001 N E S S L W D C P A R R R W G H S E C G H                      3001 AATGAGTCTTCTTGTGGGATTGTCTGCCAGACGCTGGGGCCACAGTGAAGTGTGGACAC                      1021 K E D A A V N C T A Q K I S T H K T P Q                      3061 AAGGAAGACGCTGCAGTGAATTGCACAGCACAAAAAATTTCAACGCACAAAACCCACAA                      1041 K A T T G Q S F L I A F G I L G V V L L                      3121 AAAGCCACAACAGGTCAGTCATTCCTTATTGCATTCCGAATCCTTGGAGTTGTTCTCTTG                      1061 A I F V A L F L T Q K R R Q R Q R L T V                      3181 GCCATTTTCGTGCGATTATTCTTGACTCAAAGCGAAGACAGAGACAGCGGCTTACAGTT                      1081 S S R G E N L V H Q I Q Y R E M N S C L                      3241 TCCTCAAGAGGAGAGAACTTAGTCCACCAAATTCATACCGGAGATGAATTCTTGCTG                      1101 N A D D L D L M N S S E N S N E S A D F                      3301 AATGCAGATGATCTGGACCTAATGAATTCCTCAGAAAATTCATGAGTCAAGTCAATTC                      1121 N A A E L I S V S K F L P I S G M E K E                      3361 AATGCTGCTGAACTAATTTCTGTGTCTAAATTTCTTCTTCTTCTGGAATGGAAAAGGAG                      1141 A I L R H T E K E N G N L                      3421 GCCATTTCTGAGGCACACTGAAAAGGAAAATGGGAATTTA</p>	
<p>1 MSKLRMVLLE DSGSADVRRH FVNLSPFITIA VVLLLRACFV TSSLGGTTKE LRLVDGENKC                      61 SGRVBEVKIQE EWGTVCNNGW SMEAVSVICN QLGCPTAIKA TGWANSSAGS GRIWMDHVSC                      121 RGNESALWDC KHDGWGKHSN CTHQDAGVT CSDGSDLEMR LTNGNMCDSG RIEIKFOGQW                      181 GTVCCDNFMI NHASVVKQL ECGSAVSPFG SANFEGSGP IWFDDLICNG NESALWNCKH                      241 QGWGKHNCDH AEDAGVICSK GADLSLRLVD GVTECSGRLE VRFQGEWGTI CDDGWDSDHA                      301 AVACKQLGCP TAITAIGRVN ASEGFGHIWL DSVSCQGHEP AVWQCKHHEW GKHYCNHNE                      361 AGVTCSDGSD LELRLRGGGS RCAGTVEVEI QRLLGKVCDR GWGLKEADV CRQLGCGSAL                      421 KTSYQVYSKI QATNMMLFSL SCNGNETSLW DCKNWQWGL TCDHYEBAKI TCSAHREPR                      481 VGGDIPCSGR VEVKHGDIWG SVCSDSFSLE AASVLCRELO CGTVVSVILGG AHFGEQNGQI                      541 WAEFQCEBGH ESHLSLCPVA PRPEGTCSHS RDVGVCVCSRY TEIRLVNGKT PCEGRVELKT                      601 LNANGSLCMS HWDIEDAHLV CQQLKCGVAL STPGGAHFVK GNGQVWRHMF HCTGTEQHM                      661 DCPVTALGAS LCPSGQVASV ICSGNQSQTL SSCNSSLGP TRPTIPEESA VACIESGQLR                      721 LVNQGRCAG RVBIYHEGWS GTICDDSDWL SDAHVVCRQL CGCEALNATG SAHPGEGTGP                      781 IWLDEMKCNG KESRIWQCHS HGWGQONCRH KEDAGVICSE FMSLRLTSEA SREACAGRL                      841 VFYNGAWGSV GRSNMSETTV GVVCRQLGCA DKGKINSASL DKAMSIPMWV DNVQCPKGP                      901 TLWQCPSSPW EKRLARPSEE TWITCDNKMR LQEGPTSCSG RVEIWHGGSW GTVCDDSDWL                      961 NDAQVVCQQL GCGPALKAFK EABFGQGTGP IWLNEVKCKG NESSLWDCPA RRGHSECGH                      1021 KEDAAVNCTA QKISTHKTPO KATGTQSFLI AFGILGVVLL AIFVALFLTQ KRRQRRLTV                      1081 SSRGENLVHQ IQYREMNCSL NADDLDMNS SENSNEBADF NAAELISVSK FLPISGMEKE                      1141 AILRHTEKEN GN</p>	<p>SEC ID N°: 44</p>

**Ejemplo 10. Clonación y caracterización de CD163 canino a partir de células DH82.**

Se usaron un cebador directo 5'simianCD163 (SEC ID N°: 28) (5'-CACCGGAATGAGCAAACCTCAGAATGG-3' basado en CD163 humano) y un cebador inverso HuCD163-3'Kpn (SEC ID N°: 29) (5'-TGCTCCGGTACCTAGTCCAGGTCTTCAT-CAAGGTATCTTA-3') para amplificar ADNc de CD163 de células DH82. El ARN celular total se preparó a partir de células DH82 usando el kit RNeasy. Los parámetros de RT-PCR fueron los mismos que los descritos en el Ejemplo 4. Los productos de RT-PCR se clonaron direccionalmente en el vector pCDNA3.1D/V5/His/TOPO según las instrucciones del fabricante. Se analizaron varios clones que contenían inserciones grandes. Se analizaron varios clones con inserciones grandes, y estas se encontraron entre los patrones de corte y empalme alternativo v2 o v3 vistos en otras especies. La variante v2 carece de un exón de 81 nucleótidos



(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>961 AGTGAGGGAAGTGGACACATTTGGCTTGACAATCTTTCCTGCCAAGGAGACGAATCTGCT  341 L W Q C R H H E W G K H Y C N H N E D A  1021 CTCTGGCAGTGTAGACACCATGAAATGGGAAAGCATATATGCAATCATAAATGAAGATGCT  361 G V T C S D G S D L E L R L V G G G S R  1081 GGTGTGACATGTTCTGATGGATCAGACCTGGAGCTGAGACTTGTCCGTGGAGGCAGCCGC  381 C A G T V E V E I Q K L L G K V C D R G  1141 TGTGCTGGACAGTGGAGGTTGAAATTCAGAACTGCTAGGGAAAGTATGTGATAGAGGC  401 W G L K E A D V V C K Q L G C G S A L K  1201 TGGGACTGAAAGAACCGATGTGTTTGCAGCAGTGGGATGTGGATCTGCTCTCAA  421 T S Y Q R Y S K V K A T N T W L P L S R  1261 ACGTCTTATCAGCGTTATTCCAAGTTAAGGCAACAACACATGGCTGTTTTTAAGCCGC  441 C S G N E T S L W D C K N W Q W G G L S  1321 TGTAGTGGCAATGAAACTTCCCTTTGGGACTGCAAGAATGGCAGTGGGCTGGACTGAGC  461 C D H Y E E A K V T C S A H R E P R L V  1381 TGTGATCACTATGAAGAAGCTAAAGTTACCTGCTCAGCCCCACAGGGAACCCAGACTAGTT  481 G G D I P C S G R V E V K H G D T W G T  1441 GGAGGAGATATCCCTGCTCTGGTCTGTGTAAGTGAACATGGTGACATGGGGCACC  501 V C D S D P S L E A A S V L C R E L Q C  1501 GTCTGTGATTCGACTTCTCTTTGGAAGCTGCCAGTGTGCTGTGCAGAGATTACAGTGT  521 G T V I S I L G G A H F G E G N G Q I W  1561 GGACAGTCACTCCATCTAGGGGAGCTCACTTTGGAGAAGGAAATGGACAGATCTGG  541 A E E F Q C E G Q B S H L S L C S V A S  1621 GCTGAAGAATCCAGTGTGAGGGCAGGAGTCCCATCTTCACTCTGTTAGTAGCCTCT  561 R P D G T C S H S R D V G V V C S R Y T  1681 CGCCAGATGGGACCTGTAGCCACAGCAGGGATGTTGGAGTCGTCTGCTCAAGATACAG  581 E I R L V N G Q S P C E G R V E L K I L  1741 GAAATCCGCTTGGTGAATGGCCAGTCCCCGTGTGAAGGAAGAGTGGAGCTCAAGATACTT  601 G N W G S L C N S H W D I E D A H V F C  1801 GGGAACTGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCCATGTTTTCTGT  621 Q Q L K C G V A L S I P G G A H F G K G  1861 CAGCAGCTCAAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTATTCCGGGAGGAGCACATTTGGGAAAGGA  641 S G Q I W R H M F H C T G T E Q H M G D  1921 AGTGGTCAGATCTGGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGAGAT  661 C P V T A L G A T L C S A G Q V A S V I  1981 TGCCCTGTAACCTCTCTGGGCGCAGCCTGTGTTCTGCTGGGCAAGTGGCCCTCTGTAATC  681 C S G N Q S Q T L S P C N S T S L D P T  2041 TGCCTCAGGAATCAGAGCCAGACGCTATCCCATGCAATTCACATCTCTGGACCCAACA  701 R S T T S E E S A V A C I A S G Q L R L  2101 AGATCTACCACCTCGGAAGAAAGTGTGTTGCTGTGATTTGGGAGTGGGCAACTTCGCCTG  721 V N G G G R C A G R I E V Y H E G S W G  2161 GTAAATGGAGGCGTTCGCTGTGCTGGGAGAATAGAGGTCTACCATGAGGGCTCCTGGGGC  741 T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L G  2221 ACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGTGTATGCCATGTGGTGTGCAGACAGCTGGGC  761 C G V A I N A T G S A H F G E G T G P I  2281 TGTGGAGTGGCCATTAATGCCACTGGCTCTGCTCATTTTGGGGAAGGAACAGGGCCCATC  781 W L D E V N C N G K E S H I W Q C R S H  2341 TGGCTGGACGAGGTGAACGTGAATGGAAAGGAATCTCATATCTGGCAATGCCGCTCACAC  801 G W G Q H N C R H K E D A G V I C S E F  2401 GGCTGGGGCAACAACAATGCAGACATAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAGTTC  821 M S L R L I D E T S R D I C A G R L E V  2461 ATGTCTCTCAGACTGATGATGAAACCAGCAGAGACATCTGTGCAGGGCGTCTTGAAGTT  841 F Y N G A W G S V G K S N M S A T T V E  2521 TTTTACAATGGAGCTTGGGGCAGCGTGGCAGAGTAATATGTCTGCAACCACTGTGGAG  861 V V C R Q L G C A D K G S I N P A S S D  2581 GTNGTATGCAGGCAACTGGGTTGTGCAGACAAGGGGAGCATCAACCTGCATCTTCAGAC</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>881 K P M S R H M W V D N V Q C P K G P D T                  2641 AAGCCCATGTCCAGGCACATGTGGGTGGACAATGTCCAGTGTCCAAAAGGACCTGACACC                  901 L W Q C P S S P W K Q R V A S S S E E T                  2701 TTATGGCAGTGCCCATCTTCTCCATGGAAACAGAGAGTGGCCAGTCTTCAGAGGAGACC                  921 W I T C A N K I R L Q E G T S N C S G R                  2761 TGGATCACATGTGCCAACAGATAAGACTTCAAGAAGGAACCTCTAATGTTCTGGACGT                  941 V E L W H G G S W G T V C D D S W D L E                  2821 GTGGAGCTCTGGCACGGAGGTTCTGGGGGACAGTGTGCGATGACTCTGGGACCTTGAA                  961 D A Q V V C R Q L G C G P A L E A L K E                  2881 GATGCACAAGTGGTGTGTGACAGCTGGGCTGTGGCCCAGCATTAGAAGCACTAAAAGAG                  981 A A F G Q G T G P I W L N D V K C K G N                  2941 GCAGCATTGGTTCAGGGGACTGGGCCTATATGGCTCAATGACGTGAAGTGCAAAGGGAAT                  1001 E S S L W D C P A R P W G H S D C G H K                  3001 GAGTCTTCTTGTGGGATGTTCTCTGCTAGACCCTGGGGGACAGTACTGTGGCCACAAG                  1021 E D A A V R C S E I A M A Q R S S N P R                  3061 GAAGATGCTGCTGTGAGGTGCTCAGAAATTGCAATGGCCCAAAGATCATCAAATCCTAGA                  1041 G H S S L V A L G I F G V I L L A F L I                  3121 GGTCACTCATCCCTTGTTCATTGGGGATCTTTGGTGTCAITCTTCTGGCCTTCTCATC                  1061 A L L L W T Q R R R Q Q Q R L T V S L R                  3181 GCTCTCTCTGTGGACTCAAAGGCGAAGACAGCAACAGCGCCTTACAGTTCCTTGAGA                  1081 G E N S V H Q I Q Y R E M N S S L K A D                  3241 GGAGAGAATTCTGTCCACAAATTCAATACCGGAAATGAATTCTTCCTGAAAGCAGAT                  1101 D L D V L T S S E D H F E V H                  3301 GATCTGGACGTGCTGACTTCTCAGAAAGACCATTTTGAGGTACAC</p>	
<p>1 MSKLRMVPHG NSGSADFRR FALLCPSAVA VVSILSTCLM TNSLGRADKE MRLTDGEDNC                  61 SGRVEVKVQE EWGTVCNNGW GMDEVSVICR QLGCPATAKA AGWANSRAGS GRIWMDHVSC                  121 RGNESALWDC KHDGHWKHC SHOODAGVTC SDGSSLEMRL MNGGNQCSGR IEVKFOGQWG                  181 TVCDDNFNID HASVVKQLE CGSAVSPSGS ANPGEBSGPI WFDDLVCSSN ESALWNCKHE                  241 GWGKHNCDA EDVGVICLDG ADLSLRLVDG VTECSGRLEV KFQGEWGTVC DDGWDSDNDA                  301 VVCKQLGCP AVTAIGRVNA SEGSGHIWLD NLSQGDSEA LWQCRHHEWG KHYCNHNEDA                  361 GVTCSDGSDL ELRLVGGGSR CAGTVEVEIQ KLLGKVCDRG WGLKEADVVC KQLGCGSALK                  421 TSYQRYSKVK ATNTWLFSLR CSGNETSLWD CRNHWGGLS CDHYBEAKVT CSAHREPLV                  481 GGDIFCSGRV EVKHGDTWGT VCDSDPSLEA ASVLCRELQC GTVISILGGA HFGEGNGQIW                  541 ABEFQCEGQE SHLSLCSVAS RPDGTCSSR DVGVCSSRYT EIRLVNGQSP CBGRVELKIL                  601 GNWGSCLNSH WDIEDAHVPC QOLKCGVALS IPGGAHFGKG SQIWRHMFH CTGTBOHMGD                  661 CPVTALGATL CSAGQVASVI CSGNQSQTLS PCNSTSLDPT RSTTSEESAV ACTIASGQLRL                  721 VNGGRCAGR IEVYHEGSWG TICDSDWLS DAHVVCRLG CGVAINATGS AHFGEGTGPI                  781 WLDEVNCGNK BSHINQCRSH GWGQHNCRHK EDAGVICSEF MSLRLIDETS RDIAGRLEV                  841 FYNGAWGSVG KSNMSATTVE VVCRQLGCAD KGSINPASSD KPMSRHMVD NVQCPKGPDT                  901 LWQCPSSPWK QRVASSSEET WITCANKIRL QEGTSNCSGR VELWHGGSWG TVCDDSDWLE                  961 DAQVVCRLG CGPALBALKE AAFQGTGPI WLNDVKCKGN ESSLWDCPAR PWGHSDCGHK                  1021 EDAAVRCSEI AMAORSSNPR GHSSLVALGI FGVILLAFLLI ALLLWTQRRR QOORLTVSLR                  1081 GENSVHQIQY REMNSLKD DLDVLTSSD HFEVH</p>	<p>SEC ID N°: 46</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>1 M S K L R M V P H G N S G S A D F R R C</p> <p>1 ATGAGCAAACCTCAGAATGGTCCCACATGGAAACTCTGGATCTGCTGACTTTAGAAGATGT</p> <p>21 F A L L C P S A V A V V S I L S T C L M</p> <p>61 TTTGCCCTCTTGTGTCCCTCTGCTGTGGCTGTGGTCTCCATTCTCAGTACCTGTTTGATG</p> <p>41 T N S L G R A D K E M R L T D G E D N C</p> <p>121 ACCAATTCCTCTTGGGAGAGCAGATAAAGAGATGAGGCTAACGGATGGTGAAGACAATTGC</p> <p>61 S G R V E V K V Q E E W G T V C N N G W</p> <p>181 TCCGGGAGAGTGGAAAGTCAAAGTCCAGGAGGAGTGGGAACGGTGTGTAATAATGGCTGG</p> <p>81 G M D E V S V I C R Q L G C P T A I K A</p> <p>241 GGCATGGATGAAGTCTCTGTGATTTGCAGGCAGCTGGGATGTCCCACTGCTATCAAAGCC</p> <p>101 A G W A N S R A G S G R I W M D H V S C</p> <p>301 GCTGGATGGGCCAATTCAGGGCAGGCTCTGGACGAATCTGGATGGATCATGTTTCTTGT</p> <p>121 R G N E S A L W D C K H D G W G K H N C</p> <p>361 CGAGGGAATGAATCTGCTCTCTGGGACTGCAAACATGATGGATGGGGAAGCACAACTGC</p> <p>141 S H Q Q D A G V T C S D G S S L E M R L</p>	<p>SEC ID N°: 47</p>

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>421 AGTCATCAACAGGATGCTGGAGTAACCTGTTTCAGATGGATCCAGTTTGGAGATGAGGTTG  161 M N G G N Q C S G R I E V K P Q G Q W G  481 ATGAACGGCGGAAACCACTGTTCTGGCGAATAGAAGTCAAGTTCACGGGACAGTGGGGA  181 T V C D D N F N I D H A S V V C K Q L E  541 ACAGTGTGTGATGACAACCTCAACATAGATCATGCTTCTGTGGTTTGTAAACAGCTCGAA  201 C G S A V S F S G S A N F G E G S G P I  601 TGTGGAAGTGTCTGTCAGTTTCTCTGTTTCAGCTAATTTTGGAGAAGGTTCTGGGCCAATC  221 W P D D L V C S G N E S A L W N C K H E  661 TGGTTTGTATGATCTTGTGTGACAGTGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAAGTGCAGCATGAA  241 G W G K H N C D H A E D V G V I C L D G  721 GGATGGGAAAGCATAACTGTGATCAGCTGAGGATGTTGGAGTGAATTGCTTGGATGGA  261 A D L S L R L V D G V T E C S G R L E V  781 GCAGATCTGAGCCTGAGACTGGTAGATGGAGTCACTGAATGTTTCAGGAAGATTAGAAGTA  281 K F Q G E W G T V C D D G W D S N D A A  841 AAATTCACAGGGGAATGGGGACAGTGTGTGATGATGGCTGGGATAGTAATGATGCTGCT  301 V V C K Q L G C P T A V T A I G R V N A  901 GTGGTATGTAACAACCTGGGATGCCCACTGCTGTCCAGCCATTGGTCGAGTTAACGCC  321 S E G S G H I W L D N L S C Q G D E S A  961 AGTGAGGGAAGTGGACACATTTGGCTTGACAATCTTTCCTGCCAAGGAGACGAATCTGCT  341 L W Q C R H H E W G K H Y C N H N E D A  1021 CTCTGGCAGTGTAGACACCATGAATGGGAAAGCATATTGCAATCATAATGAAGATGCT  361 G V T C S D G S D L E L R L V G G G S R  1081 GGTGTGACATGTTCTGTAGGATCAGACCTGGAGCTGAGACTTGTCCGGTGGAGGCAGCCGC  381 C A G T V E V E I O K L L G K V C D R G  1141 TGTGCTGGACAGTGGAGGTTGAAATTCAGAACTGCTAGGGAAAGTATGTGATAGAGGC  401 W G L K E A D V V C K Q L G C G S A L K  1201 TGGGACTGAAAGAAGCCGATGTGGTTTGCAGCAGTGGGATGTGGATCTGCTCTCAA  421 T S Y Q R Y S K V K A T N T W L F L S R  1261 ACGTCCATATCAGCGTTTATCCAAAGTTAAGGCAACAAACACATGGCTGTTTTAAGCCGC  441 C S G N E T S L W D C K N W Q W G G L S  1321 TGTAGTGGCAATGAAACTTCCCTTTGGACTGCAAGAACTGGCAGTGGGGTGGACTGAGC  461 C D H Y E E A K V T C S A H R E P R L V  1381 TGTGATCACTATGAAGAAGCTAAAGTTACCTGCTCAGCCCCACAGGGAACCCAGACTAGTT  481 G G D I P C S G R V E V K H G D T W G T  1441 GGAGGAGATATCCCTGCTCTGGTCTGTGTTGAAAGTGAACATGGTGACACATGGGGCACC  501 V C D S D F S L E A A S V L C R E L Q C  1501 GTCTGTGATTCCGACTTCTCTTTGGAAGCTGCCAGTGTGCTGTGCAGAGATTACAGTGT  521 G T V I S I L G G A H F G E G N G Q I W  1561 GGCACAGTCATCTCCATCTAGGGGAGCTCACTTTGGAGAAGGAAATGGAACAGATCTGG  541 A E E P Q C E G Q E S H L S L C S V A S  1621 GCTGAAGAATPCAGTGTGAGGGCCAGGAGTCCCATCTTTCACTCTGTTTCAGTAGCCTCT  561 R P D G T C S H S R D V G V V C S R Y T  1681 CGCCCAGATGGGACCTGTAGCCACAGCAGGATGTTGGAGTCGTCTGCTCAAGATACCG  581 E I R L V N G Q S P C E G R V E L K I L  1741 GAAATCCGCTTGGTGAATGGCCAGTCCCGTGTGAAGGAAGAGTGGAGCTCAAGATACTT  601 G N W G S L C N S H W D I E D A H V F C  1801 GGAACCTGGGATCCCTCTGCAACTCTCACTGGGACATAGAAGATGCCCATGTTTTCTGT  621 Q Q L K C G V A L S I P G G A H F G K G  1861 CAGCAGCTCAAAATGTGGAGTTGCCCTTCTATTCCGGGAGGAGCACATTTTGGGAAAGGA  641 S G Q I W R H M F H C T G T E Q H M G D  1921 AGTGGTCAGATCTGGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGGACTGAGCAGCACATGGGAGAT  661 C P V T A L G A T L C S A G Q V A S V I  1981 TGCCCTGTAACCTGCTCTGGCCGCGAGCTGTGTTCTGCTGGGCAAGTGGCCCTCTGTAATC  681 C S G N Q S Q T L S P C N S T S L D P T  2041 TGCTCAGGAAATCAGAGCCAGACGCTATCCCATGCAATTCACATCTCTGGACCCARCA</p>	

(continuación)

SECUENCIA	ID N°
<p>701 R S T T S E E S A V A C I A S G Q L R L                  2101 AGATCTACCACTTCGGAAGAAAGTGCCTGTTGCTTGTATTGCCAGTGGGCAACTTCGCCTG                  721 V N G G G R C A G R I E V Y H E G S W G                  2161 GTAATGGAGGCGGTGCTGTGCTGGGAGAATAGAGGTCTACCATGAGGGCTCCTGGGGC                  741 T I C D D S W D L S D A H V V C R Q L G                  2221 ACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAGTGATGCCCATGTGGTGTGCAGACAGCTGGGC                  761 C G V A I N A T G S A H F G E G T G P I                  2281 TGTGGAGTGGCCATTGAATGCCACTGGCTCTGCTCATTTTGGGGAAGGAACAGGGCCCATC                  781 W L D E V N C N G K E S H I W Q C R S H                  2341 TGGCTGGACGAGGTGAAGTGAATGAAAGGAATCTCATATCTGGCAATGCCGCTCACAC                  801 G W G Q H N C R H K E D A G V I C S E F                  2401 GGCTGGGGGCAACACAACACTGCAGACATAAGGAGGATGCAGGAGTTATCTGCTCAGAGTTC                  821 M S L R L I D E T S R D I C A G R L E V                  2461 ATGTCCTCAGACTGATGATGAAACCAGCAGAGACATCTGTGCAGGGCGTCTTGAAGTT                  841 F Y N G A W G S V G K S N M S A T T V E                  2521 TTTTACAAATGGAGCTTGGGGCAGCGTTGGCAAGAGTAATATGTCTGCAACCACTGTGGAG                  861 V V C R Q L G C A D K G S I N P A S S D                  2581 GTGGTATGCAGGCAACTGGGTTGTGCAGACAAGGGGAGCATCAACCCTGCATCTTCAGAC                  881 K P M S R H M W V D N V Q C P K G P D T                  2641 AAGCCCATGTCCAGGCACATGTGGGTGACAAATGTCCAGTGTCCAAAAGGACCTGCACACC                  901 L W Q C P S S P W K Q R V A S S S E E T                  2701 TTATGGCAGTGCATCTTCTCCATGGAAACAGAGAGTGGCCAGTCTTCAGAGGAGACC                  921 W I T C A N K I R L Q E G T S N C S G R                  2761 TGGATCACATGTGCCAACAAGATAAGACTTCAAGAAGGAACCTCTAATTTGTTCTGGACGT                  941 V E L W H G G S W G T V C D D S W D L E                  2821 GTGGAGCTCTGGCAGGAGGTTCTGGGGGACAGTGTGCGATGACTCCTGGGACCTTGAA                  961 D A Q V V C R Q L G C G P A L E A L K E                  2881 GATGCACAAGTGGTGTGTCGACAGCTGGGCTGTGGCCAGCATTAGAAGCACTAAAAGAG                  981 A A F G Q G T G P I W L N D V K C K G N                  2941 GCAGCATTTGGTCAGGGGACTGGCCCTATATGGCTCAATGACCTGAAGTGCAAAGGGAAAT                  1001 E S S L W D C P A R P W G H S D C G H K                  3001 GAGTCTTCCTTGTGGGATTTGTCCTGCTAGACCCCTGGGGGACAGTACTGTGGCCACAAG                  1021 E D A A V R C S E I A M A Q R S S N P R                  3061 GAAGATGCTGCTGTGAGGTGCTCAGAAATGCAATGGCCAAAGATCATCAATCCTAGA                  1041 G H S S L V A L G I F G V I L L A F L I                  3121 GGTCACTCATCCCTTGTGTCATTGGGGATCTTTGGTGTCAFTCTTCTGGCCCTTCTCATC                  1061 A L L L W T Q R R R Q Q Q R L T V S L R                  3181 GCTCTCCTCTTGTGGACTCAAAGGGGAGACAGCAACAGCGGCTTACAGTTTCCCTTGAGA                  1081 G E N S V H Q I Q Y R E M N S S L K A D                  3241 GGAGAGAATTCGTCCACCAAATTCARTACCGGGAATGAATTCCTCCCTGAAAGCAGAT                  1101 D L D V L T S S E Y F N E S D D F N D A                  3301 GATCTGGACGTGCTGACTTCTCAGAAATATCCCAATGAGTCAGATGATTTTAAATGATGCT                  1121 G L I S V S K S L P I S G                  3361 GGGCTAATTTCTGTGTCTAAATCTTCTCTAFTTCTGGA</p>	

(continuación)

SECUCENCIA	ID N°
1 MSKLRMVPHG NSGSADFRRC FALLCPSAYA VVSILSTCLM TNSLGRADKE MRLTDGEDNC 61 SGRVEVKVQE EMGTVCNNGW GMDEVSVICR QLGCPTAIKA AGWANSRAGS GRIWMDHVSC 121 RGNESALWDC KHDGWGKHCN SHQODAGVTC SDGSSLEMRL MNGGNQCSGR IEVKPOGQMG 181 TVCDDNFNID HASVVKQLE CGSAVSFSGS ANFGEGSGPI WFDDLVCSON ESALWNCHE 241 GWGKHNCDA EDVGVICLDG ADLSLRLVDG VTECSGRLEV KPQGEWGTVC DDGWDSDAA 301 VVCKQLGCPT AVTAIGRVNA SBGSGHIWLD NLSQGDSEA LWQCRHHEWG KHVCNHNEDA 361 GVTCSGSDSL ELRLVGGGSR CAGTVEVEIQ KLLGKVCDRG WGLKEADVVC KQLGCGSALK 421 TSYQRYSKVK AINTWLFSLR CSGNETSLWD CKNWQWGLS CDHYBEAKVI CSAHREPLV 481 GGDIPCSGRV EVKHGDTWGT VCDSDFSLEA ASVLCRELQC GTVISILGGA HFGEGNGQIW 541 AEEFQCEGQE SHLSLCSVAS RPDGTCSSHR DVGVVCSRYT EIRLVNGQSP CEGRVELKIL 601 GNWGSLSNSH WDIEDAHVFC QQLKCGVALS IPGGAHFGKG SGQIWRHMFH CTGTEQHMGD 661 CPVTALGATL CSAGQVASVI CSGNQSQTLS PCNSTSLDPT RSTTSESAV ACIASGQLRL 721 VNGGRCRAGR IEVYHEGSWG TICDDSDWLS DAHVVCRLQG CGVALNATGS AHFGEGTGPI 781 WLDEVNCGK BSHINQCRSH GWGQHCRHK EDAGVICSEF MSLRLIDETS RDICAGRLEV 841 FYNAGWSVG KSNMSATTVE VVCRQLGCAD KGSINPASSD KPMSRHMWVD NVQCPKGPDT  901 LWQCPSSPWK QRVASSSEET WITCANKIRL QEGTSNCSGR VELWHGGSWG TVCDDSWDLE 961 DAQVVCRLG CGPALEALKE AAFGQGTGPI WLNDVKCKGN ESSLWDCPAR PWGHSDCGHK 1021 EDAAVRCEI AMAQRSSNPR GHSSLVALGI FGVILLAPLI ALLLWTRRR QQRLTIVSLR 1081 GENSVHQIQY REMNSSLKAD DLDVLTSSSEY PNESEDFNDA GLISVSKSLP ISG	SEC ID N°: 48

**Ejemplo 11. Varias líneas celulares se hacen permisivas a infección por VSRRP americano del norte después de transfección transitoria con pCMV-susCD163v1**

- 5 Se obtuvieron células de riñón porcino (PK032495), testiculares de cerdo Norden Labs (NLST-1) y de riñón de perro Norden Labs (NLDK-1) a través de Pfizer Inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 5 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Las líneas celulares de riñón de cría de hámster (BHK21), de riñón felino Norden Labs (NLFK-1), y de pulmón de conejo (RL) se obtuvieron a través de Pfizer Inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Las células Vero se obtuvieron a través de Pfizer inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en Medio Esencial Mínimo Alfa (MEM, formulación de Pfizer Inc.) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, L-glutamina 2 mM y gentamicina a 20 microgramos por ml. Los pocillos de cultivo celular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup> células se transfectaron con 2 microgramos por pocillo de plásmido pCMV-susCD163v1, en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (N° de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. La línea celular RL se transfectó con 1,0 microgramos por pocillo de plásmido pCMV-susCD163v1. Un miembro de la biblioteca de ADNc de células PAM sin inserciones, denominado pPAMB (esencialmente un vector de plásmido pSport vacío), se usó como plásmido de control negativo. A las 24 horas después de la transfección los pocillos se aspiraron y lavaron dos veces con DMEM/FBS al 5 % seguido de infección con aislado P129 de VSRRP americano del norte. Se dejó adsorber el virus en 0,5 ml de medio de crecimiento durante un mínimo de dos horas, tras las cuales se añadió medio adicional hasta un volumen final de 2,0 ml y se incubó durante toda la noche. Entonces se retiró el virus, se lavaron los pocillos dos veces con medio de crecimiento, y se añadió medio de crecimiento fresco (2,0 ml por pocillo). Se tomó inmediatamente una muestra de tiempo cero de fluido de cultivo para determinar el nivel de fondo de virus infeccioso del inóculo. A un tiempo mínimo de 48 horas después de la infección se exploró la permisividad de los cultivos retirando los fluidos del cultivo para ensayar virus viable, y se detectaron las células permisivas en la monocapa mediante ensayo de anticuerpos fluorescentes (FA). La FA se completó fijando la monocapa con acetona al 80 % y se tiñó con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc.), que es específico para la proteína de la nucleocápsida del VSRRP. El virus viable se tituló inoculando diluciones de fluidos de cultivo a células MARC-145. La Tabla 5 muestra los resultados de infección por virus mediante FA y la presencia de virus de progenie para cada línea celular ensayada. La incapacidad para detectar virus de progenie en algunas líneas celulares puede ser el resultado de bajas titulaciones de virus en los fluidos de cultivo celular, por debajo del límite de detección del ensayo. La permisividad de las células Vero a la infección por VSRRP se aumentó mediante la expresión de CD163v1. En comparación con la medición de tiempo cero de virus de fondo, hubo un aumento aproximadamente dos-log en las titulaciones de virus en las células Vero transfectadas con pCMV-susCD163v1, mientras que hubo un aumento menor de uno-log en la titulación de las células transfectadas con plásmido de control negativo pPAMB. Todas las líneas celulares, salvo NLDK-1 fueron positivas mediante FA para permisividad a la infección por aislado P129 de VSRRP después de la transfección con pCMV-susCD163v1.

Tabla 5

Exploración de la permisividad de varias líneas celulares a aislado P129 de NA VSRRP después de transfección transitoria con pCMV-susCD163v1 o pPAMB				
Línea celular transfectada	Ensayo de anticuerpo fluorescente		Progenie de virus producida	
	pCMV-susCD163v1	pPAMB	pCMV-susCD163v1	pPAMB
BHK21	+++	-	+++	-
PK032495	+	-	+	-
NKFK-1	+	-	+	-
NLST-1	+	-	-	-
NLDK-1	-	-	NT	NT
RL	+	-	-	-
Vero	++	+	++	+

+++ = Elevadamente positivo  
 ++ = Moderadamente positivo  
 + = Ligeramente positivo  
 - = No detectable  
 NT = No ensayado

**Ejemplo 12. Las células BHK21 se hacen permisivas a la infección por VSRRP europeo después de la transfección transitoria con pCMV-susCD163v1**

- 5 La línea celular de riñón de cría de hámster (BHK21) se obtuvo a través de Pfizer Inc, y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Los pocillos de cultivo celular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup> células se transfectaron con 2 microgramos por pocillo de plásmido pCMV-susCD163v1, en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (N° de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. A las 24 horas después de la transfección los pocillos se aspiraron y lavaron dos veces con DMEM/FBS al 5 % seguido de infección con aislado 96V198 de VSRRP europeo. Se dejó adsorber el virus durante un mínimo de 2 horas. Entonces se retiró el virus, se lavaron los pocillos dos veces con medio de crecimiento, y se añadió medio de crecimiento fresco (2,0 ml por pocillo). Se tomó inmediatamente una muestra de tiempo cero de fluido de cultivo para determinar el nivel de fondo de virus infeccioso del inóculo. A un tiempo mínimo de 48 horas después de la infección se exploró la permisividad de los cultivos retirando los fluidos del cultivo para ensayar virus viable, y se detectaron las células permisivas en la monocapa mediante ensayo de anticuerpos fluorescentes (FA). La FA se completó fijando la monocapa con acetona al 80 % y se tiñó con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc.), que es específico para la proteína de la nucleocápsida del VSRRP. El virus viable se tituló inoculando diluciones de fluidos de cultivo a células MARC-145. Como resultado de la transfección transitoria de células BHK21 con pCMV-susCD163v1, las células se hicieron permisivas a la infección por aislado 96V198 de VSRRP europeo y produjeron virus de progenie.

**Ejemplo 13: Genes de CD163 de múltiples especies animales hacen a las células BHK21 permisivas a la infección por virus del SRRP**

- 25 Se usaron células BHK21 crecidas en DMEM (Invitrogen, número de catálogo 11965) suplementado con suero fetal bovino al 10 %, piruvato sódico 1 mM y antibióticos, en experimentos de transfección transitoria. Antes de la transfección se lavaron las células una vez con OptiMEM (Invitrogen) sin suero u otros aditivos. Se usó Lipofectamina 2000 (Invitrogen) en todos los experimentos de transfección según el protocolo proporcionado por el fabricante. La mezcla de transfección consistió en 10 microlitros de Lipofectamina 2000 y 2-3 microgramos de ADN por pocillo de 35 mm. Después de incubación durante la noche, se retiró el medio de transfección y se infectó a las células con aislado P129 de VSRRP. Se dejó que progresase la infección durante 24-48 horas, cuando se fijaron las células con acetona al 80 % y se tiñeron con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technology Inc., Brookings, SD). La tinción de la proteína de la nucleocápsida se visualizó con un microscopio de fluorescencia.

Tabla 6. La transfección transitoria de células BHK21 con varios genes de CD163 las hace permisivas a la infección por virus del SRRP.

Tabla 6

Estructura plásmido	del	Gen de CD163	Infección por VSRRP (FA)
pCMV-Script		CD163v1 de cerdo	+++
pRSV-Script		CD163v1 de cerdo	+++
pcDNA3.1D		CD163v2 de cerdo	++
pcDNA3.1D		CD163v2 humano	++
pcDNA3.1D		CD163v3 de ratón	+
pcDNA3.1D		CD163v2 de mono verde africano (célula MARC-145)	+++
pcDNA3.1D		CD163v7 de células Vero	+++
pcDNA3.1D		CD163v2 de células DH82	+++
+++ = Elevadamente positivo ++ = Moderadamente positivo + = Ligeramente positivo			

#### 5 Ejemplo 14. Generación de líneas celulares estables de BHK21 permisivas a VSRRP usando pCMV-susCD163v1

Se crecieron células BHK21 en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado con suero fetal bovino al 10 %, piruvato sódico 1 mM, y antibióticos. Para la transfección, se sembraron las células a aproximadamente un 90 % de confluencia en placas de 6 pocillos y se incubaron durante toda la noche a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %. Las células se transfectaron con ADN de pCMV-susCD163v1 usando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) según las instrucciones del fabricante. Un día después de la transfección se tripsinizaron las células y se resembraron en placas de 96 pocillos en una serie de diluciones. Para seleccionar los transfectantes estables, el medio se suplementó con Geneticina 1 µg/ml (G418 sulfato, número de catálogo de Invitrogen 10131-027) desde ese momento en adelante. El medio se cambió cada 3-5 días. Las placas se cultivaron hasta que aquellos pocillos con colonias derivadas de células individuales alcanzaron la confluencia, momento en el cual se tripsinizaron las placas y se sembraron en placas de 96 pocillos por duplicado. Una de las placas de 96 pocillos duplicadas se infectó con aislado P19 de VSRRP y los clones permisivos para la infección se identificaron mediante tinción con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado con FITC. Los clones positivos se expandieron desde la segunda placa duplicada. Para asegurar la homogeneidad, los cultivos positivos se clonaron a partir de células individuales mediante dilución limitante. En cada clonación, los subclones que mostraron un crecimiento robusto y una elevada permisividad a VSRRP se seleccionaron para expansión. Se seleccionaron tres clones denominados BHK/CMV/v1 N° 3, BHK/CMV/v1 N° 5, y BHK/CMV/v1 N° 12 (Figura 6). Estas líneas celulares mantuvieron el fenotipo permisivo a lo largo de 20 pases.

#### 25 Ejemplo 15. Generación de líneas celulares estables de BHK21 permisivas a VSRRP usando pRSV-susCD163v1

Las células BHK-21 se cultivaron tal como se describe en el Ejemplo 14. Se transfectó a las células BHK-21 con pRSVsusCD163v1 usando Lipofectamina 2000 tal como se describe en el Ejemplo 14. La clonación de células transfectadas y la exploración para clones permisivos se llevó a cabo esencialmente tal como se describe en el Ejemplo 14. De la clonación original, se identificaron 3 clones individuales como permisivos y se volvieron a clonar posteriormente dos veces más para asegurar la homogeneidad y para intentar aislar subclones de mayor permisividad (véase la Figura 7). Las líneas celulares resultantes se llamaron BHK/RSV/v1, N° 2, N° 3, y N° 4. Todos estos clones han mantenido el fenotipo permisivo a lo largo del mayor pase ensayado (paso 11 para el clon N° 2, paso 7 para el clon N° 3, y paso 5 para el clon N° 4).

**Ejemplo 16. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisivas a VSRRP usando pCMV-susCD163v1**

Se crecieron células de riñón felino Norden Labs parentales (NLFK) a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio Eagle modificado de Dulbecco (número de catálogo de Invitrogen 11965-092) suplementado con suero fetal bovino al 10 %, piruvato sódico 1 mM, y antibióticos. Se transfectaron varios pocillos de 33 mm que contenían aproximadamente 2 x 10<sup>6</sup> células cada uno con 4 microgramos por pocillo de pCMV-susCD163v1, en OptiMEM, usando Lipofectamina 2000 (número de catálogo de Invitrogen 10131-027) para seleccionar células que expresaban el gen de resistencia a neomicina. El medio se cambió cada 2 o 3 días para mantener la potencia de la Geneticina. Después de 19 días de selección, la placa de 96 pocillos con la menor densidad celular inicial (aproximadamente 200 células/pocillo) río 70 pocillos vacíos y 26 pocillos con una o más colonias de células resistentes a G418 (el número calculado de células resistentes/pocillo es 0,3, usando la distribución de Poisson). Estos 26 pocillos se dividieron en pocillos duplicados y se dejaron reposar durante toda la noche. Un conjunto de pocillos se infectó con aislado P129 de VSRRP, se incubó durante 24 horas, después se fijó con acetona al 80 % y se tiñó con anticuerpo monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc), que es específico para la nucleocápsida del VSRRP. De los 26 clones, 8 contenían algunas células que estaban infectadas por VSRRP. Uno de estos, denominado "NLFK-CMV-susCD163v1-G4", fue claramente más permisivo que los otros con aproximadamente un 100 % de las células con tinción positiva para antígeno viral.

En el paso celular 5, hubo algunas evidencias de heterogeneidad fenotípica en la línea celular NLFK-CMV-susCD163v1-G4. Por lo tanto, las células se clonaron a partir de células individuales mediante dilución limitante en medio que contenía G418, comenzando con reservas congeladas de NLFK-CMV-susCD163v1-G4 en pase 4. Doce de dichos clones ("A" - "L") se expandieron para su estudio. De estos, los clones NLFK-CMV-susCD163v1-G4F y NLFK-CMV-susCD163v1-G4L fueron destacables por su capacidad para formar placas discretas (áreas localizadas de CPE) cuando se infectaron con aislado P129 del VSRRP (véase la Figura 8).

**Ejemplo 17. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisivas a VSRRP usando pRSV-susCD163v1**

Se crecieron células de riñón felino Norden Labs (NLFK) a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en Medio Esencial Mínimo Alfa (número de catálogo de Invitrogen 12571-071) suplementado con suero fetal bovino al 10 % y antibióticos. Las células NLFK se sembraron en placas de 6 pocillos a aproximadamente un 90 % de confluencia y se dejaron adherirse durante toda la noche. Después se transfectaron las células con plásmido pRSV-susCD163v1 usando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas se clonaron las células tal como se describe en el Ejemplo 14. La exploración para clones de células permisivas a VSRRP se llevó a cabo tal como se describe en el Ejemplo 14. Se seleccionaron cuatro clones de la exploración y se clonaron a partir de una sola célula mediante dilución limitante dos veces más. Se seleccionaron cuatro clones denominados FK/RSV/v1 N° 1, FK/RSV/v1 N° 2, FK/RSV/v1 N° 3, y FK/RSV/v1 N° 4. Estas líneas celulares han mantenido el fenotipo permisivo a VSRRP a lo largo de al menos 8 pases (véase la Figura 9).

**Ejemplo 18. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisivas a VSRRP usando pCMV-susCD163v1**

Se obtuvieron células de riñón porcino parentales (PK032495) a través de Pfizer Inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 5 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Los pocillos de cultivo tisular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup> células cada uno se transfectaron con 2 microgramos por pocillo de plásmido pCMV-susCD163v1, en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (N° de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células se lavaron con PBS y se retiraron del sustrato usando Acutasa (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y se diluyeron en medio de crecimiento que contenía Geneticina (G418 sulfato, número de catálogo de Invitrogen 10131-027) a 1,0 miligramos por ml y se sembraron en placas de 96 pocillos a varias densidades para asegurarse la recuperación de clones de célula individual después de la selección de Geneticina. A lo largo de la selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la selección, los pocillos que contenían clones de células individuales se expandieron en placas de 96 pocillos duplicadas y se dejaron incubar hasta que se logró una confluencia del 100 %. Un conjunto de pocillos se exploró para permisividad a VSRRP infectándolos con aislado P129 de VSRRP durante un mínimo de 48 horas. Se encontró que once clones eran permisivos al VSRRP. Uno de estos, denominado "PK-CMV-susCD163v1-A10", mantuvo claramente el fenotipo permisivo después de numerosos pases (véase la Figura 10).

**Ejemplo 19. Generación de líneas celulares estables de BHK21 permisivas a VSRRP usando pCMVScript-susCD163v2**

Se obtuvieron células de riñón de cría de hámster parentales (BHK21) a través de Pfizer Inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Los pocillos de cultivo tisular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup>

células cada uno se transfectaron con 2 microgramos por pocillo pCMVScript-susCD163v2, en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (Nº de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células se lavaron con PBS y se retiraron del sustrato usando Acutasa (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y se diluyeron en medio de crecimiento que contenía Geneticina (G418 sulfato, número de catálogo de Invitrogen 10131-027) a 1,0 miligramos por ml y se sembraron en placas de 96 pocillos a varias densidades para asegurarse la recuperación de clones de célula individual después de la selección de Geneticina. A lo largo de la selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la selección, los pocillos que contenían clones de células individuales se expandieron en placas de 96 pocillos duplicadas y se incubaron hasta que se logró una confluencia del 100 %. Un conjunto de pocillos se exploró para permisividad infectándolos con aislado P129 de VSRRP e incubándolos durante un mínimo de 48 horas.

Se encontró que tres clones eran permisivos al VSRRP, y uno de estos, denominado "BHK-CMVScript-susCD163v2-A9", se seleccionó para estudio posterior (véase la Figura 11).

#### **Ejemplo 20. Generación de líneas celulares estables de BHK-21 permisivas a VSRRP usando pRSV-susCD163v2**

Las células BHK-21 se cultivaron tal como se describe en el Ejemplo 14. Las células BHK-21 se transfectaron con la construcción de ADN pRSV-susCD163v2 ligada descrita en el Ejemplo 5 usando lipofectamina 2000 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La clonación y selección posterior de líneas celulares permisivas a VSRRP se llevó a cabo tal como se describe en el Ejemplo 14. De los 336 clones de células individuales explorados, 129 fueron positivos. Varios de estos clones se han pasado hasta 7 veces y han mantenido el fenotipo permisivo a VSRRP (véase la Figura 12). Estas líneas celulares se han denominado BHK/RSV/v2, seguidas de una codificación numérica del clon.

#### **Ejemplo 21. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisivas a VSRRP usando pCMVScript-susCD163v2**

Se obtuvieron células de riñón porcino parentales (PK032495) a través de Pfizer Inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 5 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Se transfectaron pocillos de cultivo tisular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup> células cada uno con 2 microgramos por pocillo de pCMVScript-susCD163v2 en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (Nº de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células se lavaron con PBS y se retiraron del sustrato usando Acutasa (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y se diluyeron en medio de crecimiento que contenía Geneticina (G418 sulfato, número de catálogo de Invitrogen 10131-027) a 1,0 miligramos por ml y se sembraron en placas de 96 pocillos a varias densidades para asegurarse la recuperación de clones de célula individual después de la selección de Geneticina. A lo largo de la selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la selección, los pocillos que contenían clones de células individuales se expandieron en placas de 96 pocillos duplicadas y se incubaron hasta que se logró una confluencia del 100 %. Un conjunto de pocillos se exploró para permisividad infectándolos con aislado P129 de VSRRP e incubándolos durante un mínimo de 48 horas. Un clon denominado "PK-CMVScript-susCD163v2-D1" mostró el fenotipo permisivo a VSRRP.

#### **Ejemplo 22. Generación de líneas celulares estables de BHK21 permisivas a VSRRP usando pcDNA3.1D-humCD163v2**

Se obtuvieron células de riñón de cría de hámster parentales (BHK21) a través de Pfizer Inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Los pocillos de cultivo tisular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup> células cada uno se transfectaron con 2 microgramos por pocillo de pcDNA3.1D-humCD163v2, en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (Nº de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células se lavaron con PBS y se retiraron del sustrato usando Acutasa (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104) y se diluyeron en medio de crecimiento que contenía Geneticina (G418 sulfato, número de catálogo de Invitrogen 10131-027) a 1,0 miligramos por ml y se sembraron en placas de 96 pocillos a varias densidades para asegurarse la recuperación de clones de célula individual después de la selección de Geneticina. A lo largo de la selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la selección, los pocillos que contenían clones de células individuales se expandieron en placas de 96 pocillos duplicadas y se incubaron hasta que se logró una confluencia del 100 %. Se exploró la permisividad de un conjunto de pocillos infectándolos con aislado P129 del VSRRP, incubados durante un mínimo de 48 horas. Se encontró que siete clones candidatos eran permisivos al VSRRP. Hubo algunas evidencias de heterogeneidad fenotípica en cada uno de los siete clones candidatos, probablemente debido a que no eran clonales. Por lo tanto, los clones candidatos se clonaron a partir de células individuales mediante dilución limitante en medio que contenía G418. Se obtuvo un clon de una sola célula con clara permisividad a VSRRP y se denominó BHK-cDNA3.1D-humCD163v2-H9.

**Ejemplo 23. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisivas a VSRRP usando pcDNA3.1D-humCD163v2**

Se crecieron células de riñón felino Norden Labs parentales (NLFK) a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Se transfectoron pocillos de cultivo tisular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup> células cada uno con 2 microgramos por pocillo de pcDNA3.1D-humCD163v2 en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (Nº de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células se lavaron con PBS, se retiraron del sustrato usando Acutasa (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104), se diluyeron en medio de crecimiento que contenía Geneticina (G418 sulfato, número de catálogo de Invitrogen 10131-027) a 500 microgramos por ml, y se sembraron en placas de 96 pocillos a varias densidades para asegurar la recuperación de clones de células individuales después de la selección de Geneticina. A lo largo de la selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la selección, los pocillos que contenían clones de células individuales se expandieron en placas de 96 pocillos duplicadas y se incubaron hasta que se logró una confluencia del 100 %. Un conjunto de pocillos se exploró para permisividad a VSRRP infectándolos con aislado P129 de VSRRP durante un mínimo de 48 horas. Se observó que cinco clones eran permisivos. Uno de estos, denominado "FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6", mostró claramente el fenotipo permisivo (véase la Figura 13).

Se examinó la expresión de CD163 en células NLFK parentales y un subclon de FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6. Las células se fijaron en acetona al 80 % y se hicieron reaccionar con anti-CD163 humano de cabra (R&D System a 1:200) durante una hora seguido de lavado con PBS. Para la visualización, se usaron IgG de burro anti-cabra conjugados con FITC (Biosdesign Inc a 1:100). No se detectó fluorescencia específica en las células NLFK parentales tal como se muestra en la Figura 21A. La mayoría de los subclones de FK.A6.A2 mostraron buena tinción de fluorescencia en presencia de CD163 (Figura 21B).

**Ejemplo 24. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisivas a VSRRP usando pcDNA3.1D-humCD163v2**

Se obtuvieron células de riñón porcino parentales (PK032495) a través de Pfizer Inc. y se crecieron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de crecimiento que consistía en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Número de catálogo de Invitrogen 11965) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 5 %, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM y antibióticos. Los pocillos de cultivo tisular (35 mm) que contenían aproximadamente 1 x 10<sup>6</sup> células cada uno se transfectoron con 2 microgramos por pocillo de pcDNA3.1D-humCD163v2, en DMEM sin FBS o antibióticos, usando Lipofectamina 2000 (Nº de catálogo de Invitrogen 11668-027) según las instrucciones del fabricante. Después de incubación durante la noche, las células se lavaron con PBS, se retiraron del sustrato usando Acutasa (Innovative Cells Technologies, número de catálogo AT104), se diluyeron en medio de crecimiento que contenía Geneticina (G418 sulfato, número de catálogo de Invitrogen 10131-027) a 1,0 miligramos por ml, y se sembraron en placas de 96 pocillos a varias densidades para asegurar la recuperación de clones de células individuales después de la selección de Geneticina. A lo largo de la selección de Geneticina, el medio se cambió aproximadamente cada 3 a 5 días. Después de la selección, los pocillos que contenían clones de células individuales se expandieron en placas de 96 pocillos duplicadas y se incubaron hasta que se logró una confluencia del 100 %. Un conjunto de pocillos se exploró para permisividad a VSRRP infectándolos con aislado P129 de VSRRP durante un mínimo de 48 horas. Se observó que dos clones eran permisivos. Uno de estos, denominado "PK-cDNA3.1D-humCD163v2-B11" mostró claramente el fenotipo permisivo al VSRRP.

**Ejemplo 25. Generación de línea celular estable de riñón felino permisiva a VSRRP usando pRSV-Script MARC CD163v2 ligado**

Se desarrolló un procedimiento no basado en clonación para generar cantidades en microgramos de ADN adecuadas para su uso para generar líneas celulares estables que expresan CD163 a partir de un promotor de VSR (Figura 4). Se adaptó un procedimiento similar para poner CD163v2 de simio de células MARC-145 detrás del promotor de VSR. El procedimiento implica el aislamiento y ligación de dos trozos de ADN, uno que contiene el gen de neomicina y el casete de promotor de VSR derivado de pRSV-Script, y la otra que contiene la secuencia codificante de CD163v2 de MARC de pCDNA3.1D MARC CD163v2. El plásmido del vector pRSV-Script se linealizó con *Hind* III y *Kpn* I. Primeramente se digirió el plásmido con *Kpn* I y se despuntó con el fragmento Klenow de ADN polimerasa de *E. coli*. Después se digirió este plásmido con *Hind* III inmediatamente cadena abajo del promotor de VSR. El clon pCDNA3.1D MARC CD163v2 se digirió en la secuencia del vector cadena abajo de la inserción de CD163 con *EcoRV*, y *Hind* III cadena arriba de CD163. La secuencia codificante de CD163 se liberó del vector. Para cada digestión de plásmido se purificaron los fragmentos adecuados a partir de geles de agarosa. Se llevó una reacción de ligación a gran escala del modo siguiente. Se incubaron aproximadamente 20 µg de cada fragmento de ADN en un volumen de 600 µL con 15 unidades de ADN ligasa T4. La reacción se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de la ligación, se purificó un trozo lineal de ADN que contenía todos los elementos adecuados mediante electroforesis en gel de agarosa. Se llevó a cabo análisis de digestión con enzimas de restricción para confirmar la autenticidad de cada fragmento ligado. La ligación de los dos fragmentos de ADN a través del término cohesivo *Hind* III dio como resultado la colocación de las secuencias 5' del gen de CD163 de

MARC cadena abajo del promotor de VSR, permitiendo la expresión dirigida de CD163 en células de mamífero. Una vez aislado, el ADN purificado se usó para transfectar líneas celulares de mamífero seleccionadas.

Se crecieron células de riñón felino Norden Labs (NLFK) a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en DMEM suplementado con suero fetal bovino al 5 % y antibióticos. Las células NLFK se sembraron en placas de 6 pocillos a aproximadamente un 90 % de confluencia y se dejaron adherirse durante toda la noche. Entonces se transfectaron las células con plásmido pRSV-MARC CD163v2 ligado usando Lipofectamina 2000 siguiendo las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas se clonaron las células tal como se describe en el Ejemplo 12. La exploración para clones de células permisivos a VSRRP se llevó a cabo tal como se describe en el Ejemplo 12. Un clon fue positivo a infección por VSRRP y se denominó NLFK-MARC CD 163 D4. Este clon D4 ha mantenido el fenotipo permisivo a VSRRP a lo largo de 9 pases.

**Ejemplo 26. Cinética de crecimiento del aislado NVSL 94-3 del VSRRP en células BHK-21 y NLFK recombinantes que expresan de manera estable susCD163v1 a partir del promotor de CMV.**

Se cuantificaron las cantidades de virus de progenie producidas por células BHK-21 o NLFK infectadas por VSRRP modificadas de manera estable por ingeniería genética para expresar susCD163v1. Se sembraron cuatro líneas celulares que expresaban susCD163v1, BHK/CMV/susv1 N° 3, BHK/CMV/susv1 N° 5, BHK/CMV/susv1 N° 12, y FK/CMV/susv1 G4 a subconfluencia en placas de 6 pocillos y, después de incubación durante toda la noche, se infectaron con el aislado NVSL 94-3 del VSRRP. Se incluyeron células MARC-145 en el experimento por comparación. Las células se infectaron a un m.o.i de aproximadamente 0,1. El virus se adsorbió durante 60-90 minutos y se retiró. Las células se lavaron tres veces con PBS para retirar el virus residual. Se recogieron alícuotas de un mililitro de los cultivos a intervalos de 12 horas comenzando inmediatamente después de la infección y se continuó hasta 96 horas. Se añadió medio fresco de cultivo a las células en varios puntos temporales para mantener el volumen de cultivo suficiente para evitar que se secase la monocapa de células. Los sobrenadantes de cultivo se almacenaron a -80 °C hasta que se recogieron todas las muestras. La cantidad de VSRRP presente en los sobrenadantes de cultivo se determinó mediante un ensayo de placa en células MARC-45. La Figura 14 muestra que todas las líneas celulares recombinantes que expresan CD163 ensayadas fueron capaces de producir VSRRP de progenie.

**Ejemplo 27. Bloqueo de la infección por VSRRP con anticuerpo anti-CD163: Células transfectadas de manera transitoria.**

Las células BHK-21, sembradas en placas de 24 pocillos, se transfectaron de manera transitoria con el plásmido pCDNA3.1D-MARC-CD163v2 descrito en el Ejemplo 8, usando Lipofectamina 2000, tal como se describe en el Ejemplo 14. Después de incubación durante toda la noche para permitir la expresión de CD163, se añadió una titulación de anticuerpo policlonal de cabra específico para CD163 humano (R&D Systems, N° de catálogo AF1607) en PBS a las células en un volumen de 100µl. Como control, se usaron cantidades equivalentes de IgG de cabra normal (R&D Systems, N° de catálogo AB-108-C). A continuación de una incubación de una hora a 37 °C, se infectaron las monocapas con aproximadamente  $1 \times 10^7$  pfo de una cepa de P129 recombinante del VSRRP que expresa GFP. Las monocapas de células, con anticuerpo anti-CD163 y VSRRP, se incubaron a 37 °C durante una hora, tiempo tras el cual se aspiró la mezcla inóculo de virus/anticuerpo, se lavó la monocapa una vez con PBS, y se añadió 1 ml de medio de crecimiento a los pocillos. Las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C para permitir la expresión de GFP dirigida por el VSRRP. Para el análisis, las células se tripsinizaron, se resuspendieron en 500µl de PBS y se analizaron mediante citometría de flujo para numerar las células infectadas por VSRRP mediante la expresión de GFP. Para la citometría de flujo, las células BHK-21 no infectadas se usaron para ajustar el valor inicial para la detección de fluorescencia, y se analizaron aproximadamente 100.000 de cada muestra posterior. Los resultados del análisis, mostrados en la Figura 15, muestran que el anticuerpo específico de CD163 era capaz de reducir significativamente el número de células infectadas en comparación con células incubadas con IgG de cabra normal.

**Ejemplo 28: Bloqueo de la infección por VSRRP mediante anticuerpo anti-CD163: Células transfectadas de manera estable.**

Las células NLFK que expresan de manera estable CD163 humano (FK-cDNA3.1D-humCD163v2-A6), descrita en el Ejemplo 23, se sembraron en placas de 24 pocillos. Después de dejar que se adhiriesen las células durante toda la noche, se añadió una titulación de anticuerpo policlonal de cabra específico para CD163 humano (R&D Systems, N° de catálogo AF1607) en PBS a las células en un volumen de 100µl. Como control, se usaron cantidades equivalentes de IgG de cabra normal (R&D Systems, N° de catálogo AB-108-C). A continuación de una incubación de una hora a 37 °C, se infectaron las monocapas con aproximadamente  $1 \times 10^7$  pfo de una cepa de P129 recombinante del VSRRP que expresa GFP. Las monocapas de células, con anticuerpo anti-CD163 y VSRRP, se incubaron a 37 °C durante una hora, tiempo tras el cual se aspiró la mezcla inóculo de virus/anticuerpo, se lavó la monocapa una vez con PBS, y se añadió 1 ml de medio de crecimiento a los pocillos. Las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C para permitir la expresión de GFP dirigida por el VSRRP. Para el análisis, las células se tripsinizaron, se resuspendieron en 500µl de PBS, y se analizaron mediante citometría de flujo para numerar las células infectadas por VSRRP mediante la expresión de GFP. Se analizaron aproximadamente 100.000 células de cada muestra. Los resultados del análisis, mostrados en la Figura 16, muestran que el anticuerpo específico de

CD163 era capaz de reducir significativamente el número de células infectadas en comparación con células incubadas con IgG de cabra normal.

**Ejemplo 29. Generación de líneas celulares estables de riñón porcino permisivas a VSRRP usando pRSV-susCD163v2.**

5 Se cultivaron células de riñón porcino (PK032495) tal como se describe en el Ejemplo 21. Para la transfección, se sembraron las células en una placa de 24 pocillos a un 80 % de confluencia y se dejaron recuperar durante toda la noche. La transfección de ADN de pRSV-susCD163v2 descrita en el Ejemplo 5 se llevó a cabo usando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La clonación posterior y selección de células permisivas a VSRRP se llevó a cabo esencialmente tal como se describe en el Ejemplo 14. La clonación  
10 inicial mediante dilución limitante no pudo proporcionar clones derivados de una sola célula, por lo que se volvieron a clonar 5 pocillos de células permisivas a VSRRP mediante dilución limitante para producir líneas celulares clonales. Se seleccionaron 10 clones para estudio posterior y uno de estos clones, PK-RSVScript-susCD163v2 N° 9 mostró la capacidad para soportar crecimiento de focos de VSRRP poco tiempo después de la infección (véase la Figura 18).

15 **Ejemplo 30. Generación de líneas celulares estables de riñón felino permisivas a VSRRP usando pRSV-susCD163v2.**

Se cultivaron células de riñón felino NLFK tal como se describe en el Ejemplo 17. Para la transfección, se sembraron las células a aproximadamente un 80 % de la densidad máxima en placas de 24 pocillos. Después de una incubación durante toda la noche, se transfectaron las monocapas con RSV/susCD163v2 derivado de ligación  
20 (véase el Ejemplo 5) usando Lipofectamina siguiendo las instrucciones del fabricante. La clonación de las células transfectadas y la selección de los clones de células permisivas a VSRRP se llevó a cabo esencialmente tal como se describe en el Ejemplo 14. Uno de los 67 clones celulares ensayados para permisividad a VSRRP, el 20, se observó que era positivo. Un ejemplo de la tinción observada se muestra en la Figura 19.

**Ejemplo 31. Paso del aislado P201 del VSRRP en células PK-RSVScript-susCD163v2**

25 La amplificación de un aislado clínico del VSRRP se llevó a cabo del modo siguiente. Se sembraron células de macrófagos alveolares periféricos (MAP) a  $5,4 \times 10^6$  células por cada  $10 \text{ cm}^2$  en un disco de 6 pocillos usando medio OptiMEM suplementado con FBS al 2 %. Después de 6 horas se aspiró el medio y una alícuota de 2 ml de suero recogida de un cerdo infectado por VSRRP se añadió a las células. Después de una adsorción de 90 minutos, el inóculo de suero se retiró y se reemplazó con OptiMEM. A aproximadamente 40 minutos después de la infección, se  
30 recogió el sobrenadante y se aclaró con una centrifugación de 10 minutos. El sobrenadante se usó directamente para infectar a células PK-RSVScript-susCD163v2 de clon N° 9 usando una adsorción de 6 horas. Después de retirar el inóculo se realimentó a las células con DMEM. El virus P201 se pasó en serie sobre la línea celular N° 9 de PK-RSVScript-susCD163v2 usando pases alternativos de sobrenadantes de células infectadas y libres de células. Los inventores observaron que para una difusión eficaz del virus, las células debían sembrarse a un 50–70 % de confluencia el día antes de la infección, usando matraces de células que se mantuvieron por debajo de la  
35 confluencia. Para seguir la progresión de la infección, cada pase se replicó en múltiples pocillos de células infectadas de manera idéntica y cada día se fijó uno de los pocillos con acetona y se tiñó con el anticuerpo monoclonal SDOW17 marcado con FITC. Si el porcentaje de células infectadas no era mayor del 50 % y no se viese un desarrollo de progresión de focos significativos frente a las observaciones de días anteriores, las células en un pocillo equivalente se tripsinizaron y pasaron a múltiples pocillos frescos. Estos pases de células infectadas fueron  
40 típicamente a una división 1:4 y en ocasiones incluyeron la adición de un número equivalente de células de un cultivo no infectado. Como alternativa, si la tinción de SDOW17 reveló que los focos de células infectadas se habían extendido lo suficientemente para suponer más del 50 % de las células totales, el sobrenadante libre de células se recogió y usó para infectar múltiples pocillos de células recientemente sembradas (Figura 20). Después de 11 pases, los pases de células que intervienen no fueron necesarios ya que el virus era capaz de crecer hasta una titulación  
45 suficiente como para permitir el pase de sobrenadante de virus libre de células.

**Ejemplo 32. Exploración de varias líneas celulares de CD163 para permisividad a varios aislados de VSRRP europeos y americanos del norte**

Se evaluaron varias líneas celulares transgénicas en CD163 para permisividad a pases bajos de aislados de VSRRP europeos y americanos del norte (véase la Tabla 7). Las líneas celulares transgénicas en CD163 descritas en  
50 ejemplos anteriores incluyeron NLFK-MARC CD163 D4, PK-RSVScript-susCD163v2 clon N° 9 y PK-CMV-susCD163v1-A10. Cada línea celular de CD163 junto con las líneas celulares MARC-145, líneas celulares de riñón felino parentales, de riñón porcino parentales (que sirven como controles) se plantaron en placas de 96 pocillos de cultivo tisular. El medio de crecimiento se retiró de las monocapas y se inoculó con 0,1 ml por pocillo de cada aislado de VSRRP. En el día 3 después de la infección, las placas se fijaron con acetona al 80 % y se tiñeron con anticuerpo  
55 monoclonal SDOW17 conjugado a FITC (Rural Technologies Inc.) que es específico para la nucleocápsida. Los resultados del ensayo con anticuerpo fluorescente (FA) están en la Tabla 7.

Tabla 7

Resultados de FA de la exploración la permisividad de varias líneas celulares de CD163 a aislados de VSRRP europeos y americanos del norte						
Línea celular de CD163	Aislado de VSRRP <sup>a</sup>					
	EU98V226	P129	P201	1151	94-3	IND5
NLFK-MARC CD163 D4	++	+	+++	+++	++	++++
Clon PK-RSVScript-susCD163v2 N° 9	+	+	++	+	+	++
PK-CMV-susCD163v1-A10	+	+	++	++	++	++
MARC-145	++	+	+++	+	++++	+++
Riñón porcino (parental)	-	-	-	-	-	-
Riñón felino (parental)	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Todos los aislados de VSRRP son americanos del norte, excepto EU98V226, que es un aislado europeo.

**Ejemplo 33. La inducción de CD163 con 12-miristato 13 acetato de forbol hace a las células U937 humanas permisivas a la infección por VSRRP.**

5 Se propagaron las células U937 obtenidas a través de la ATCC (CRL-1593.2) en medio RPMI que contenía suero y aditivos según las especificaciones de la ATCC. Se sabe que estas células expresan CD163 cuando se activan mediante tratamiento con PMA (Gronlund y col., 2000). Las células U937 se sembraron por duplicado en los pocillos de una placa de 6 pocillos. Un conjunto de pocillos se trató con 100 ng/ml de PMA y el otro se dejó sin tratar. Tres días después de la estimulación con PMA, un pocillo de cada conjunto se infectó con el aislado P129 del VSRRP. El otro pocillo de cada conjunto se fijó y tiñó para la expresión de CD163 en un ensayo de anticuerpo in 10 munofluorescente indirecto usando anticuerpo de cabra anti-CD163 humano (R&D System) y de burro anti-IgG de cabra conjugado a FITC (BioDesign International).

15 Las células U937 no tratadas continuaron la propagación hasta alta densidad 3 días después de la plantación inicial. Las células U937 tratadas con PMA dejaron de propagarse, aumentaron, y se unieron a la superficie de los pocillos de cultivo. Una pequeña fracción de las U937 no tratadas fueron positivas a la tinción de CD163, mientras que prácticamente todas las U937 tratadas con PMA fueron positivas para tinción de CD163. En las células U937 no tratadas, no se observaron células infectadas por VSRRP. Sin embargo, cientos de células U937 tratadas con PMA se infectaron por VSRRP. Esto demuestra que las células no permisivas pueden hacerse permisivas a la infección por VSRRP después de la inducción química de la expresión de CD163.

20 Las características adicionales y variaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la materia a la luz de la integridad de la presente solicitud, incluyendo la descripción detallada, y todas las dichas características están previstas como aspectos de la invención. Igualmente, Las características de la invención descritas en el presente documento pueden recombinarse en formas de realización adicionales que también están previstas como aspectos de la invención, independientemente de si las combinaciones de características se mencionen anteriormente de manera específica como un aspecto o forma de realización de la invención. Asimismo, solo dichas limitaciones que se describen en el presente documento como críticas para la invención deben verse como tales; las variaciones de 25 la invención que carezcan de limitaciones que no se han descrito en el presente documento como críticas están previstas como aspectos de la invención. Será evidente que la invención puede ponerse en práctica de otro modo distinto al descrito de manera particular en la descripción y ejemplos anteriores.

30 Son posibles numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención a la luz de las enseñanzas anteriores y, por tanto, se encuentran dentro del ámbito de la invención. La divulgación completa de todas las publicaciones citadas en el presente documento se incorpora al presente documento a modo de referencia hasta el punto que no sea inconsistente con la divulgación en el presente documento.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Calvert, Jay  
 Slade, David  
 Shields, Shelly  
 Welch, Jenny

5

<120> Factor de permisividad celular para virus, y usos del mismo

<130> PC32282

<160> 48

<170> PatentIn version 3.2

10

<210> 1  
 <211> 2607  
 <212> ADN  
 <213> Sus scrofa

<400> 1

```

atggacaaac tcagaatggg gctacatgaa aactctggat ctgcagacct gaaactgaga      60
gtggtagatg gagtcactga atgttcagga agattggaag tgaaattcca aggagaatgg      120
ggaacaatct gtgatgatgg ctgggatagt gatgatgccg ctgtggcatg taagcaactg      180
ggatgtccaa ctgctgtcac tgccattggg cgagttaacg ccagtgaggg aactggacac      240
atctggcttg acagtgtttc ttgccatgga cacgagtctg ctctctggca gtgtagacac      300
catgaatggg gaaagcatta ttgcaatcat aatgaagatg ctggtgtgac atgttctgat      360
ggatcagatc tggaactgag acttaaaggg ggaggcagcc actgtgctgg gacagtggag      420
gtggaaattc agaaactggg aggaaaagtg tgtgatagaa gctggggact gaaagaagct      480
gatgtggttt gcaggcagct gggatgtgga tctgcaactca aaacatcata tcaagtttat      540
tccaaaacca aggcaacaaa cacatggctg tttgtaagca gctgtaatgg aatgaaact      600
tctctttggg actgcaagaa ttggcagtg ggtggactta gttgtgatca ctatgacgaa      660
gccaaaatta cctgctcagc ccacaggaaa ccaggctgg ttggagggga cattccctgc      720
tctggtcgtg ttgaagtaca acatggagac acgtggggca ccgtctgtga ttctgacttc      780
tctctggagg cggccagcgt gctgtgcagg gaactacagt gcggcactgt ggtttccctc      840
ctgggggggag ctcactttgg agaaggaagt ggacagatct gggctgaaga attccagtgt      900
gaggggcaag agtcccacct ttcactctgc ccagtagcac cccgccctga cgggacatgt      960
agccacagca gggacgtcgg cgtagtctgc tcaagataca cacaatccg cttggtgaat     1020
ggcaagacct catgtgaagg aagagtggag ctcaacattc ttgggtcctg ggggtccctc     1080
tgcaactctc actgggacat ggaagatgcc catgttttat gccagcagct taaatgtgga     1140
gttgcccttt ctatcccggg aggagcacct tttgggaaag gaagtgagca ggtctggagg     1200
    
```

15

ES 2 530 694 T3

cacatgtttc actgcactgg gactgagaag cacatgggag attgttccgt cactgctctg 1260  
 ggcgcatcac tctgtttcttc agggcaagtg gcctctgtaa tctgctcagg gaaccagagt 1320  
 cagacactat ccccgtagaa ttcacatcc tcggacccat caagctctat tatttcagaa 1380  
 gaaaatggtg ttgectgcat agggagtggc caacttcgcc tggtcgatgg aggtggctgt 1440  
 tgtgctggga gagtagaggt ctatcatgag ggctcctggg gcaccatctg tgatgacagc 1500  
 tgggacctga atgatgcccc tgtggtgtgc aaacagctga gctgtggatg ggccattaat 1560  
 gccactggtt ctgctcattt tggggaagga acagggccca tttggctgga tgagataaac 1620  
 tgtaatggaa aagaatctca tatttggcaa tgccactcac atggttgggg gcggcacaat 1680  
 tgcaggcata aggaggatgc aggagtcatc tgctcggagt tcatgtctct cagactgatc 1740  
 agtgaaaaca gcagagagac ctgtgcaggg cgcctggaag ttttttaca cggagcttgg 1800  
 ggcagcgttg gcaagaatag catgtctcca gccacagtgg gggtggtatg caggcagctg 1860  
 ggctgtgcag acagagggga catcagccct gcactctcag acaagacagt gtccaggcac 1920  
 atgtgggtgg acaatgttca gtgtcctaaa ggacctgaca ccctatggca gtgcccata 1980  
 tctccatgga agaagagact ggccagcccc tcagaggaga catggatcac atgtgccaac 2040  
 aaaataagac ttcaagaagg aaacactaat tgttctggac gtgtggagat ctggtacgga 2100  
 ggttcctggg gcaactgtgtg tgacgactcc tgggaccttg aagatgctca ggtggtgtgc 2160  
 cgacagctgg gctgtggctc agctttggag gcaggaaaag aggccgcatt tggccagggg 2220  
 actgggcca tatggctcaa tgaagtgaag tgcaagggga atgaaacctc cttgtgggat 2280  
 tgtcctgcca gatcctgggg ccacagtgc tgtggacaca aggaggatgc tgctgtgacg 2340  
 tgttcagaaa ttgcaaagag ccgagaatcc ctacatgcca caggtegctc atcttttgtt 2400  
 gcacttgcaa tctttggggc cattctgttg gcctgtctca tcgcattcct catttgact 2460  
 cagaagcga gacagaggca gcggctctca gttttctcag gaggagagaa ttctgtccat 2520  
 caaattcaat accgggagat gaattcttgc ctgaaagcag atgaaacgga tatgctaaat 2580  
 ccctcaggag accactctga agtacia 2607

<210> 2  
 <211> 869  
 <212> PRT  
 5 <213> Sus scrofa  
 <400> 2





Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly Gly Ala His Phe Gly Glu  
 275 280 285

Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe Gln Cys Glu Gly His Glu  
 290 295 300

Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro Arg Pro Asp Gly Thr Cys  
 305 310 315 320

Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys Ser Arg Tyr Thr Gln Ile  
 325 330 335

Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu Gly Arg Val Glu Leu Asn  
 340 345 350

Ile Leu Gly Ser Trp Gly Ser Leu Cys Asn Ser His Trp Asp Met Glu  
 355 360 365

Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser  
 370 375 380

Ile Pro Gly Gly Ala Pro Phe Gly Lys Gly Ser Glu Gln Val Trp Arg  
 385 390 395 400

His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Lys His Met Gly Asp Cys Ser  
 405 410 415

Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys Ser Ser Gly Gln Val Ala Ser  
 420 425 430

Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr Leu Ser Pro Cys Asn Ser  
 435 440 445

Ser Ser Ser Asp Pro Ser Ser Ser Ile Ile Ser Glu Glu Asn Gly Val  
 450 455 460

Ala Cys Ile Gly Ser Gly Gln Leu Arg Leu Val Asp Gly Gly Gly Arg  
 465 470 475 480

Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile  
 485 490 495

Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Asn Asp Ala His Val Val Cys Lys Gln  
 500 505 510



ES 2 530 694 T3

Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Pro Ala Arg Ser Trp Gly His  
 755 760 765

Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala Ala Val Thr Cys Ser Glu Ile  
 770 775 780

Ala Lys Ser Arg Glu Ser Leu His Ala Thr Gly Arg Ser Ser Phe Val  
 785 790 795 800

Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val Ile Leu Leu Ala Cys Leu Ile Ala Phe  
 805 810 815

Leu Ile Trp Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ser Val Phe  
 820 825 830

Ser Gly Gly Glu Asn Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn  
 835 840 845

Ser Cys Leu Lys Ala Asp Glu Thr Asp Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp  
 850 855 860

His Ser Glu Val Gln  
 865

<210> 3  
 <211> 3400  
 <212> ADN

5 <213> Sus scrofa

<400> 3

ES 2 530 694 T3

atggtgctac	ttgaagactc	tggatctgca	gactttagaa	gatgttctgc	ccatttaagt	60
tccttcaett	ttgctgtagt	cgctgttctc	agtgcctgct	tggtcactag	ttctcttggg	120
ggaaaagaca	aggagctgag	gctaacgggt	ggtgaaaaca	agtgctctgg	aagagtggag	180
gtgaaagtgc	aggaggagtg	gggaactgtg	tgtaataatg	gctgggacat	ggatgtggtc	240
tctgttgttt	gtaggcagct	gggatgtcca	actgctatca	aagccactgg	atgggcta	300
tttagtgcag	gttctggacg	catttgatg	gatcatgttt	cttgtcgagg	gaatgagtca	360
gctctctggg	actgcaaaca	tgatggatgg	ggaaagcata	actgtactca	ccaacaggat	420
gctggagtaa	cctgctcaga	tggatctgat	ttagagatga	ggctggtgaa	tggaggaaac	480
cggtgcttag	gaagaataga	agtcaaattt	caagagcggg	ggggaacagt	gtgtgatgat	540
aacttcaaca	ttaatcatgc	ttctgtggtt	tgtaaacaac	ttgaatgtgg	aagtgctgtc	600
agtttctctg	gttcagctaa	ttttggagaa	ggttctggac	caatctgggt	tgatgatctt	660
gtatgcaatg	gaaatgagtc	agctctctgg	aactgcaaac	atgaaggatg	gggaaagcac	720

ES 2 530 694 T3

aattgcgatc atgctgagga tgctggagtg atttgcttaa atggagcaga cctgaaactg 780  
agagtggtag atggactcac tgaatgttca ggaagattgg aagtgaaatt ccaaggagaa 840  
tggggaacaa tctgtgatga tggctgggat agtgatgatg ccgctgtggc atgtaagcaa 900  
ctgggatgtc caactgctgt cactgccatt ggtcgagtta acgccagtga gggaaactgga 960  
cacatttggc ttgacagtgt ttcttgccat ggacacgagt ctgctctctg gcagtgtaga 1020  
caccatgaat ggggaaagca ttattgcaat cataatgaag atgctggtgt gacatgttct 1080  
gatggatcag atctggaact gagacttaaa ggtggaggca gccactgtgc tgggacagtg 1140  
gaggtggaaa ttcagaaact ggtaggaaaa gtgtgtgata gaagctgggg actgaaagaa 1200  
gctgatgtgg tttgcaggca gctgggatgt ggatctgcac tcaaacatc atatcaagtt 1260  
tattcaaaa ccaaggcaac aaacacatgg ctgtttgtaa gcagctgtaa tggaaatgaa 1320  
acttctcttt gggactgcaa gaattggcag tggggtggac ttagttgtga tcactatgac 1380  
gaagcaaaa ttacctgctc agcccacagg aaaccaggc tggttggagg ggacattccc 1440  
tgctctggtc gtgttgaagt acaacatgga gacacgtggg gcaccgtctg tgattctgac 1500  
ttctctctgg agggggccag cgtgctgtgc agggaactac agtgccgcac tgtggtttcc 1560  
ctcctggggg gagctcactt tggagaagga agtggacaga tctgggctga agaattccag 1620  
tgtgaggggc acgagtecca cctttcaete tgcccagtag cccccgccc tgacgggaca 1680  
tgtagccaca gcagggacgt cggcgtagtc tgctcaagat acacacaaat ccgcttgggtg 1740  
aatggcaaga ccccatgtga aggaagagtg gagctcaaca ttcttgggtc ctgggggtcc 1800  
ctctgcaact ctcactggga catggaagat gcccatgttt tatgccagca gcttaaagt 1860  
ggagttgccc tttctatccc gggaggagca ccttttggga aaggaagtga gcaggtctgg 1920  
aggcaatgt tcaactgcac tgggactgag aagcacatgg gagattgttc cgtcactgct 1980  
ctgggcgcat cactctgttc ttcagggcaa gtggcctctg taatctgctc agggaaccag 2040  
agtcagacac tatccccgtg caattcatca tcctcggacc catcaagctc tattatttca 2100  
gaagaaagtg gtgttgctg catagggagt ggtcaacttc gctggtcga tggaggtggt 2160  
cgttgtgctg ggagagtaga ggtctatcct ggggcatcct ggggcacat ctgtgatgac 2220  
agctgggacc tgaatgatgc ccatgtgggtg tgcaaacagc tgagctgtgg atgggccatt 2280  
aatgccactg gttctgctca ttttggggaa ggaacagggc ccatttggct ggatgagata 2340  
aactgtaatg gaaaagaatc tcatatttgg caatgccact cacatggttg ggggcgccac 2400  
aattgcagge ataaggagga tgcaggagtc atctgctcag agttcatgct totgagactg 2460  
atcagtgaaa acagcagaga gacctgtgca gggcgcttgg aagtttttta caacggagct 2520

ES 2 530 694 T3

tggggcagcg ttggcaggaa tagcatgtct ccagccacag tgggggtggt atgcaggcag 2580  
ctgggctgtg cagacagagg ggacatcagc cctgcatctt cagacaagac agtgtccagg 2640  
cacatgtggg tggacaatgt tcagtgtcct aaaggacctg acacactatg gcagtgcccc 2700  
tcattctccat ggaagaagag actggccagc ccctcagagg agacatggat cacatgtgcc 2760  
aacaaaataa gacttcaaga aggaaacact aattgttctg gacgtgtgga gatctgggtac 2820  
ggaggttcct ggggcactgt gtgtgacgac tcctgggacc ttgaagatgc tcagggtggtg 2880  
tgccgacagc tgggctgtgg ctcagctttg gaggcaggaa aagagcccgc atttggccag 2940  
gggactgggc ccatatggct caatgaagtg aagtgcaagg ggaatgaacc ctccttgtgg 3000  
gattgtcctg ccagatcctg gggccacagt gactgtggac acaaggagga tgctgctgtg 3060  
acgtgctcag aaattgcaaa gagccgagaa tcctacatg ccacaggtcg ctcattcttt 3120  
gttgcaactg caatctttgg ggtcattctg ttggcctgtc tcatcgcatt cctcatttgg 3180  
actcagaagc gaagacagag gcagcggctc tcagttttct caggaggaga gaattctgtc 3240  
catcaaattc aataccggga gatgaattct tgctgaaag cagatgaaac ggatatgcta 3300  
aatccctcag gagaccactc tgaagtacaa tgaaaaggaa aatgggaatt ataacctggt 3360  
gagttcagcc ttaagatac cttgatgaag acctggacta 3400

<210> 4  
<211> 1110  
<212> PRT  
5 <213> Sus scrofa  
<400> 4

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

ES 2 530 694 T3

Gly Trp Ala Asn Phe Ser Ala Gly Ser Gly Arg Ile Trp Met Asp His  
 100 105 110

Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp Cys Lys His Asp  
 115 120 125

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Gln Gln Asp Ala Gly Val Thr  
 130 135 140

Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg Leu Val Asn Gly Gly Asn  
 145 150 155 160

Arg Cys Leu Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln Glu Arg Trp Gly Thr  
 165 170 175

Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His Ala Ser Val Val Cys Lys  
 180 185 190

Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser Gly Ser Ala Asn Phe  
 195 200 205

Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp Leu Val Cys Asn Gly  
 210 215 220

Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu Gly Trp Gly Lys His  
 225 230 235 240

Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val Ile Cys Leu Asn Gly Ala  
 245 250 255

Asp Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Leu Thr Glu Cys Ser Gly Arg  
 260 265 270

Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Gly  
 275 280 285

Trp Asp Ser Asp Asp Ala Ala Val Ala Cys Lys Gln Leu Gly Cys Pro  
 290 295 300

Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala Ser Glu Gly Thr Gly  
 305 310 315 320

His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys His Gly His Glu Ser Ala Leu  
 325 330 335

ES 2 530 694 T3

Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His Tyr Cys Asn His Asn  
 340 345 350

Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Leu Arg  
 355 360 365

Leu Lys Gly Gly Gly Ser His Cys Ala Gly Thr Val Glu Val Glu Ile  
 370 375 380

Gln Lys Leu Val Gly Lys Val Cys Asp Arg Ser Trp Gly Leu Lys Glu  
 385 390 395 400

Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Lys Thr  
 405 410 415

Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Thr Lys Ala Thr Asn Thr Trp Leu Phe  
 420 425 430

Val Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Lys Asn  
 435 440 445

Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr Asp Glu Ala Lys Ile  
 450 455 460

Thr Cys Ser Ala His Arg Lys Pro Arg Leu Val Gly Gly Asp Ile Pro  
 465 470 475 480

Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Gln His Gly Asp Thr Trp Gly Thr Val  
 485 490 495

Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser Val Leu Cys Arg Glu  
 500 505 510

Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly Gly Ala His Phe Gly  
 515 520 525

Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe Gln Cys Glu Gly His  
 530 535 540

Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro Arg Pro Asp Gly Thr  
 545 550 555 560

Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys Ser Arg Tyr Thr Gln  
 565 570 575

Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu Gly Arg Val Glu Leu



ES 2 530 694 T3

Arg Leu Ser Val Phe Ser Gly Gly Glu Asn Ser Val His Gln Ile  
1070 1075 1080

Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Lys Ala Asp Glu Thr Asp  
1085 1090 1095

Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp His Ser Glu Val Gln  
1100 1105 1110

<210> 5

<211> 2930

<212> ADN

5 <213> Sus scrofa

<400> 5

ES 2 530 694 T3

gtaataatac	aagaagattt	aaatgggcat	aaaaccttgg	aatggacaaa	ctcagaatgg	60
tgctacatga	aaactctgga	tctgcagacc	tgaaactgag	agtggtagat	ggagtccactg	120
aatgttcagg	aagattggaa	gtgaaattcc	aaggagaatg	gggaacaatc	tgtgatgatg	180
gctgggatag	tgatgatgcc	gctgtggcat	gtaagcaact	gggatgtcca	actgctgtca	240
ctgccattgg	tcgagttaac	gccagtgagg	gaactggaca	catttggcct	gacagtgttt	300
cttgccatgg	acacgagtct	gctctctggc	agtgtagaca	ccatgaatgg	ggaaagcatt	360
attgcaatca	taatgaagat	gctgggtgga	catgttctga	tggatcagat	ctggaactga	420
gacttaaagg	tggaggcagc	cactgtgctg	ggacagtgga	ggtggaaatt	cagaaactgg	480
taggaaaagt	gtgtgataga	agctggggac	tgaaagaagc	tgatgtgggt	tgcaggcagc	540
tgggatgtgg	atctgcactc	aaaacatcat	atcaagtta	ttccaaaacc	aaggcaacaa	600
acacatggct	gtttgtaagc	agctgtaatg	gaaatgaaac	ttctctttgg	gactgcaaga	660
attggcagtg	gggtggactt	agttgtgatc	actatgacga	agccaaaatt	acctgctcag	720
cccacaggaa	accaggctg	gttggagggg	acattccctg	ctctggtcgt	gttgaagtac	780
aacatggaga	cacgtggggc	accgtctgtg	attctgactt	ctctctggag	gcggccagcg	840
tgctgtgcag	ggaactacag	tgcggcactg	tggtttccct	cctgggggga	gctcactttg	900
gagaaggaag	tggacagatc	tgggctgaag	aattccagtg	tgaggggac	gagtcccacc	960
tttactctg	cccagtagca	ccccgccctg	acgggacatg	tagccacagc	agggacgtcg	1020
gcgtagtctg	ctcaagatac	acacaaatcc	gcttggtgaa	tggcaagacc	ccatgtgaag	1080
gaagagtgga	gctcaacatt	cttgggtcct	gggggtccct	ctgcaactct	cactgggaca	1140
tggaagatgc	ccatgtttta	tgccagcagc	ttaaagtgg	agttgccctt	tctatcccgg	1200
gaggagcacc	ttttgggaaa	ggaagtgagc	aggtctggag	gcacatgttt	cactgcactg	1260

ES 2 530 694 T3

ggactgagaa gcacatggga gattgttccg tcaactgctct gggcgcacatca ctctgttctt 1320  
 cagggcaagt ggccctctgta atctgctcag ggaaccagag tcagacacta tccccgtgca 1380  
 atcatcatc ctccgacceca tcaagctcta ttatttcaga agaaaatggg gttgcctgca 1440  
 tagggagtgg tcaacttcgc ctggctgatg gaggtggctg ttgtgctggg agagtagagg 1500  
 tctatcatga gggctcctgg ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg aatgatgccc 1560  
 atgtggtgtg caaacagctg agctgtggat gggcattaa tgccactggg tctgctcatt 1620  
 ttggggaagg aacagggccc atttggctgg atgagataaa ctgtaatgga aaagaatctc 1680  
 atatttgga atgccactca catggttggg ggcggcacia ttgcaggcat aaggaggatg 1740  
 caggagtcat ctgctcggag ttcatgtctc tcagactgat cagtgaaaac agcagagaga 1800  
 cctgtgcagg gcgcctggaa gttttttaca acggagcttg gggcagcgtt ggcaagaata 1860  
 gcatgtctcc agccacagtg ggggtggtat gcaggcagct gggctgtgca gacagagggg 1920  
 acatcagccc tgcattctca gacaagacag tgtccaggca catgtgggtg gacaatgttc 1980  
 agtgcctaa aggacctgac accctatggc agtgcctatc atctccatgg aagaagagac 2040  
 tggccagccc ctccagaggag acatggatca catgtgcaa caaaataaga cttcaagaag 2100  
 gaaacactaa ttgttctgga cgtgtggaga tctggtacgg aggttcctgg ggactgtgt 2160  
 gtgacgactc ctgggacctt gaagatgctc aggtggtgtg ccgacagctg ggctgtggct 2220  
 cagctttgga ggcaggaaaa gaggccgcat ttggccaggg gactgggccc atatggctca 2280  
 atgaagtga gtgcaagggg aatgaaacct ccttgtggga ttgtcctgcc agatcctggg 2340  
 gccacagtga ctgtggacac aaggaggatg ctgctgtgac gtgttcagaa attgcaaaga 2400  
 gccgagaate cctacatgcc acaggctcct catcttttgt tgcacttgca atctttgggg 2460  
 tcattctgtt ggccctgtctc atcgcattcc tcatttggac tcagaagcga agacagaggc 2520  
 agcggctctc agttttctca ggaggagaga attctgtcca tcaaattcaa taccgggaga 2580  
 tgaattcttg cctgaaagca gatgaaacgg atatgctaaa tccctcagga gaccactctg 2640  
 aagtacaatg aaaaggaaaa tgggaattat aacctggtga gttcagcctt taagatacct 2700  
 tgatgaagac ctggactatt gaatgagcaa gaatctgctt cttacactga agattacaat 2760  
 acagtctctc gtctcctggg attccaaaga ctgctgttga atttctaaaa aatagattgg 2820  
 tgaatgtgac tactcaaagt tgtatgtaag actttcaagg gcattaaata aaaaagaata 2880  
 ttgctgaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2930

<210> 6  
 <211> 32  
 <212> ADN

	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador de PCR	
	<400> 6	
5	cggaattccg cggatgtaataacaagaa ga	32
	<210> 7	
	<211> 36	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
10	<220>	
	<223> Cebador de PCR	
	<400> 7	
	cgctcagat agtcaggat tcatcaagg tatctt	36
	<210> 8	
15	<211> 38	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador de PCR	
20	<400> 8	
	aactcgaca tgcgatgta cggccagat atacggt	38
	<210> 9	
	<211> 38	
	<212> ADN	
25	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador de PCR	
	<400> 9	
	ttcttacag agctcaggat gcacaccaat gtggtgaa	38
30	<210> 10	
	<211> 46	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
35	<223> Cebador de PCR	
	<400> 10	
	cgtccggag cggccgat gtaataatac aagaagattt aatgg	46
	<210> 11	
	<211> 38	
40	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador de PCR	
	<400> 11	
45	cgttggtac ccagcaatat tcttttat ttaatgcc	38
	<210> 12	
	<211> 3623	
	<212> ADN	
	<213> Sus scrofa	
50	<400> 12	

ES 2 530 694 T3

gtaataatac aagaagattt aaatggcata aaaccttggga atggacaaaac tcagaatggt 60  
 gctacatgaa aactctggat ctgcagactt tagaagatgt tctgcccatt taagttcctt 120  
 cacttttgct gtagtcgctg ttctcagtcg ctgcttggtc actagttctc ttggaggaaa 180  
 agacaaggag ctgaggctaa cgggtggtga aaacaagtgc tctggaagag tggaggtgaa 240  
 agtgcaggag gagtggggaa ctgtgtgtaa taatggctgg gacatggatg tggctctctg 300  
 tgtttgtagg cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc actggatggg ctaattttag 360  
 tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt cgaggggaatg agtcagctct 420  
 ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcataactgt actcaccaac aggatgctgg 480  
 agtaacctgc tcagatggat ctgatttaga gatggggctg gtgaatggag gaaaccggtg 540  
 cttaggaaga atagaagtca aatttcaagg acggtgggga acagtgtgtg atgataactt 600  
 caacataaat catgcttctg tggtttgtaa acaacttgaa tgtggaagtg ctgtcagttt 660  
 ctctggttca gctaattttg gagaaggttc tggaccaatc tggtttgatg atcttgtatg 720  
 caatggaaat gagtcagctc tctggaactg caaacatgaa ggatggggaa agcacaattg 780  
 cgatcatgct gaggatgctg gagtgatttg cttaaagga gcagacctga aactgagagt 840  
 ggtagatgga gtcactgaat gttcaggaag attggaagtg aaattccaag gagaatgggg 900  
 aacaatctgt gatgatggct gggatagtga tgatgccgct gtggcatgta agcaactggg 960  
 atgtccaact gctgtcactg ccattggtcg agttaacgcc agtgagggaa ctggacacat 1020  
 ttggcttgac agtgtttctt gccatggaca cgagtctgct ctctggcagt gtagacacca 1080  
 tgaatgggga aagcattatt gcaatcatga tgaagatgct ggtgtgacat gttctgatgg 1140  
 atcagatctg gaactgagac ttaaagggtg aggcagccac tgtgctggga cagtggaggt 1200  
 ggaaattcag aaactggtag gaaaagtgtg tgatagaagc tggggactga aagaagctga 1260  
 tgtggtttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaa acatcatatc aagtttatc 1320  
 caaaaccaag gcaacaaaca catggctgtt tgtaagcagc tgtaatggaa atgaaacttc 1380  
 tctttgggac tgcaagaatt ggcagtgggg tggacttagt tgtgatcact atgacgaagc 1440

ES 2 530 694 T3

caaaattacc tgctcagccc acaggaaacc caggctgggt ggaggggaca ttccctgctc 1500  
tggtcgtggt gaagtacaac atggagacac gtggggcacc gtctgtgatt ctgacttctc 1560  
tctggaggcg gccagcgtgc tgtgcaggga actacagtgc ggcactgtgg tttccctcct 1620  
ggggggagct cactttggag aaggaaagtgg acagatctgg gctgaagaat tccagtgtga 1680  
ggggcacgag tcccaccttt cactctgccc agtagcacc ccgccctgacg ggacatgtag 1740  
ccacagcagg gacgtcggcg tagtctgctc aagatacaca caaatccgct tggatgaatgg 1800  
caagacccca tgtgaaggaa gagtggagct caacattctt gggctcctggg ggtccctctg 1860  
caactctcac tgggacatgg aagatgcca tgttttatgc cagcagctta aatgtggagt 1920  
tgccctttct atcccgggag gagcaccttt tgggaaagga agtgagcagg tctggaggca 1980  
catgtttcac tgcaactgga ctgagaagca catgggagat tgttccgtca ctgctctggg 2040  
cgcatcactc tgttcttcag ggcaagtggc ctctgtaatc tgctcagga accagagtca 2100  
gacactatct ccgtgcaatt catcatctc ggaccatca agctctatta tttcagaaga 2160  
aaatgggtgtt gcttgcatag ggagtgttca acttcgctg gtcgatggag gtggctcgtt 2220  
tgctgggaga gtagaggtct atcatgaggg ctctggggc accatctgtg atgacagctg 2280  
ggacctgaat gatgoccatg tgggtgtgcaa acagctgagc tgtggatggg ccattaatgc 2340  
cactggttct gctcattttg gggaaggaac agggcccatt tggctggatg agataaactg 2400  
taatggaaaa gaatctcata tttggcaatg ccactccat ggttgggggc ggcacaattg 2460  
caggcataag gaggatgcag gagtcatctg ctccagagttc atgtctctga gactgatcag 2520  
tgaaaacagc agagagacct gtgcagggcg cctggaagtt ttttacaacg gagcttgggg 2580  
cagcgttggc aggaatagca tgtctccagc cacagtgggg gtggatgca ggcagctggg 2640  
ctgtgcagac agaggggaca tcagccctgc atcttcagac aagacagtgt ccaggccat 2700  
gtgggtggac aatgttcagt gtectaaagg acctgacaca ctatggcagt gccatcatc 2760  
tccatggaag aagagactgg ccagcccctc agaggagaca tggatccat gtgccaacia 2820  
aataagactt caagaaggaa aactaattg ttctggacgt gtggagatct ggtacggagg 2880  
ttcctggggc actgtgtgtg acgactctg ggacctgaa gatgctcagg tgggtgtccg 2940  
acagctgggc tgtggctcag ctttggaggc aggaaaagag gccgcatttg gccaggggac 3000  
tgggcccata tggctcaatg aagtgaagtg caaggggaat gaaacctcct tgtgggattg 3060  
tcttgccaga tctggggcc acagtgactg tggacacaag gaggatgctg ctgtgacgtg 3120  
ctcagaaatt gcaaagagcc gagaatccct acatgccaca ggtcgtcat cttttgttgc 3180  
acttgaatc tttggggca ttctgttggc ctgtctcacc gcattcctca tttggactca 3240  
gaagcgaaga cagaggcagc ggctctcagt tttctcagga ggagagaatt ctgtccatca 3300

ES 2 530 694 T3

```
aattcaatac cgggagatga attcttgcct gaaagcagat gaaacggata tgctaaatcc 3360
ctcaggagac cactctgaag tacaatgaaa aggaaaatgg gaattataac ctggtgagtt 3420
cagcctttaa gataccttga tgaagacctg gactattgaa tgagcaagaa tctgcctctt 3480
aactgaaga ttacaataca gtcctctgtc tcctggtatt ccaaagactg ctgctgaatt 3540
tctaaagaat agattggtga atgtgactac tcaaagttgt atgtaagact ttcaagggca 3600
ttaaataaaa aagaatattg ctg 3623
```

<210> 13

<211> 3345

<212> ADN

5 <213> Sus scrofa

<400> 13

ES 2 530 694 T3

atggacaaac tcagaatggt gctacatgaa aactctggat ctgcagactt tagaagatgt 60  
 tctgcccatt taagttcctt cacttttgct gtagtcgctg ttctcagtgc ctgcttggtc 120  
 actagttctc ttggaggaaa agacaaggag ctgaggctaa cgggtggtga aaacaagtgc 180  
 tctggaagag tggaggtgaa agtgcaggag gagtggggaa ctgtgtgtaa taatggctgg 240  
 gacatggatg tggctctctg tgtttgtagg cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattttag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgagggaatg agtcagctct ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcataactgt 420  
 actcaccaac aggatgctgg agtaacctgc tcagatggat ctgatttaga gatggggctg 480  
 gtgaatggag gaaaccggtg cttaggaaga atagaagtca aatttcaagg acggtgggga 540  
 acagtgtgtg atgataactt caacataaat catgcttctg tggtttgtaa acaacttgaa 600  
 tgtggaagtg ctgtcagttt ctctggttca gctaattttg gagaagggtt tggaccaatc 660  
 tggtttgatg atcttgatg caatggaaat gagtcagctc tctggaactg caaacatgaa 720  
 ggatggggaa agcacaattg cgatcatgct gaggatgctg gagtgatttg cttaaatgga 780  
 gcagacctga aactgagagt ggtagatgga gtcactgaat gttcaggaag attggaagtg 840  
 aaattccaag gagaatgggg aacaatctgt gatgatggct gggatagtga tgatgccgct 900  
 gtggcatgta agcaactggg atgtccaact gctgtcactg ccattggtcg agttaacgcc 960  
 agtgagggaa ctggacacat ttggcttgac agtgtttctt gccatggaca cgagtctgct 1020  
 ctctggcagt gtagacacca tgaatgggga aagcattatt gcaatcatga tgaagatgct 1080  
 ggtgtgacat gttctgatgg atcagatctg gaactgagac ttaaagggtg aggcagccac 1140  
 tgtgctggga cagtggaggt ggaaattcag aaactggtag gaaaagtgtg tgatagaagc 1200  
 tggggactga aagaagctga tgtggtttgc aggcagctgg gatgtggatc tgcactcaa 1260

ES 2 530 694 T3

acatcatatc aagttttattc caaaaccaag gcaacaaaca catggctggt tgtaagcagc 1320  
 tgtaatggaa atgaaacttc tctttgggac tgcaagaatt ggcagtgggg tggacttagt 1380  
 tgtgatcact atgacgaagc caaaattacc tgctcagccc acaggaaacc caggctgggt 1440  
 ggaggggaca ttccctgctc tggctggtt gaagtacaac atggagacac gtggggcacc 1500  
 gtctgtgatt ctgacttctc tctggaggcg gccagcgtgc tgtgcagga actacagtgc 1560  
 ggcactgtgg tttccctcct ggggggagct cactttggag aaggaagtgg acagatctgg 1620  
 gctgaagaat tccagtgtga ggggcacgag tcccacctt cactctgccc agtagcacc 1680  
 cgccctgacg ggacatgtag ccacagcagg gacgtcggcg tagtctgctc aagatacaca 1740  
 caaatccgct tggatgaatg caagacccca tgtgaaggaa gaggaggct caacattctt 1800  
 gggctctggg ggtccctctg caactctcac tgggacatgg aagatgccca tgttttatgc 1860  
 cagcagctta aatgtggagt tgccctttct atcccgggag gaggaccttt tgggaaagga 1920  
 agtgagcagg tctggaggca catgtttcac tgcactggga ctgagaagca catgggagat 1980  
 tgttccgca ctgctctggg cgcactctc tgttctcag ggcaagtggc ctctgtaatc 2040  
 tgctcagga accagagtca gacactatct ccgtgcaatt catcactctc ggacccatca 2100  
 agctctatta tttcagaaga aaatggtggt gcctgcatag ggagtggca acttcgctg 2160  
 gtcgatggag gtggtcgttg tgctgggaga gtagaggtct atcatgaggg ctctggggc 2220  
 accatctgtg atgacagctg ggacctgaat gatgcccctg tgggtgtgcaa acagctgagc 2280  
 tgtggatggg ccattaatgc cactggttct gctcattttg gggaaagAAC agggccatt 2340  
 tggtggatg agataaactg taatggaaaa gaatctcata tttggcaatg ccactcacat 2400  
 ggttgggggc ggcacaattg caggcataag gaggatgcag gagtcatctg ctgagagttc 2460  
 atgtctctga gactgatcag tgaaaacagc agagagacct gtgcagggcg cctggaagtt 2520  
 ttttacaacg gagcttgggg cagcgttggc aggaatagca tgtctccagc cacagtgggg 2580  
 gtggtatgca ggcagctggg ctgtgcagac agaggggaca tcagccctgc atcttcagac 2640  
 aagacagtgt ccaggcacat gtgggtggac aatgttcagt gtctaaagg acctgacaca 2700  
 ctatggcagt gcccatcctc tccatggaag aagagactgg ccagccctc agaggagaca 2760  
 tggatcacat gtgccaacaa aataagactt caagaaggaa acactaattg ttctggacgt 2820  
 gtggagatct ggtacggagg ttctggggc actgtgtgtg acgactcctg ggacctgaa 2880  
 gatgctcagg tgggtgtccg acagctgggc tgtggctcag ctttggaggc aggaaaagag 2940  
 gccgatttg gccaggggac tgggcccata tggctcaatg aagtgaagtg caaggggaat 3000  
 gaaacctcct tgtgggattg tctgcccaga tctggggcc acagtgactg tggacacaag 3060

ES 2 530 694 T3

gaggatgctg ctgtgacgtg ctcagaaatt gcaaagagcc gagaatccct acatgccaca 3120  
ggtcgctcat cttttgttgc acttgcaatc tttgggggtca ttctgttggc ctgtctcatc 3180  
gcattcctca tttggactca gaagcgaaga cagaggcagc ggctctcagt tttctcagga 3240  
ggagagaatt ctgtccatca aattcaatac cgggagatga attcttgcct gaaagcagat 3300  
gaaacggata tgctaaatcc ctcaggagac cactctgaag taaaa 3345

<210> 14  
<211> 1115  
5 <212> PRT  
<213> Sus scrofa  
  
<400> 14

ES 2 530 694 T3

Met Asp Lys Leu Arg Met Val Leu His Glu Asn Ser Gly Ser Ala Asp  
 1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Ser Ala His Leu Ser Ser Phe Thr Phe Ala Val Val  
 20 25 30

Ala Val Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Lys Asp  
 35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Thr Gly Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val  
 50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp  
 65 70 75 80

Asp Met Asp Val Val Ser Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr  
 85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Phe Ser Ala Gly Ser Gly Arg  
 100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
 115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Gln Gln  
 130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Gly Leu  
 145 150 155 160

Val Asn Gly Gly Asn Arg Cys Leu Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln  
 165 170 175

ES 2 530 694 T3

Gly Arg Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His Ala  
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser  
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp  
210 215 220

Leu Val Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu  
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val Ile  
245 250 255

Cys Leu Asn Gly Ala Asp Leu Lys Leu Arg Val Val Asp Gly Val Thr  
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr  
275 280 285

Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser Asp Asp Ala Ala Val Ala Cys Lys  
290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala  
305 310 315 320

Ser Glu Gly Thr Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys His Gly  
325 330 335

His Glu Ser Ala Leu Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His  
340 345 350

Tyr Cys Asn His Asp Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser  
355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Lys Gly Gly Gly Ser His Cys Ala Gly Thr  
370 375 380

Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Val Cys Asp Arg Ser  
385 390 395 400

Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly  
405 410 415

ES 2 530 694 T3

Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Thr Lys Ala Thr  
420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Val Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser Leu  
435 440 445

Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr  
450 455 460

Asp Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Lys Pro Arg Leu Val  
465 470 475 480

Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Gln His Gly Asp  
485 490 495

Thr Trp Gly Thr Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser  
500 505 510

Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Leu Leu Gly  
515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe  
530 535 540

Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala Pro  
545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys  
565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Gln Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys Glu  
580 585 590

Gly Arg Val Glu Leu Asn Ile Leu Gly Ser Trp Gly Ser Leu Cys Asn  
595 600 605

Ser His Trp Asp Met Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys  
610 615 620

Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala Pro Phe Gly Lys Gly  
625 630 635 640

Ser Glu Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Lys  
645 650 655

His Met Gly Asp Cys Ser Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys Ser



ES 2 530 694 T3

Leu Ala Ser Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile  
 915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Asn Thr Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile Trp  
 930 935 940

Tyr Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu  
 945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Leu Glu  
 965 970 975

Ala Gly Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu  
 980 985 990

Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Thr Ser Leu Trp Asp Cys Pro  
 995 1000 1005

Ala Arg Ser Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala  
 1010 1015 1020

Ala Val Thr Cys Ser Glu Ile Ala Lys Ser Arg Glu Ser Leu His  
 1025 1030 1035

Ala Thr Gly Arg Ser Ser Phe Val Ala Leu Ala Ile Phe Gly Val  
 1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Cys Leu Ile Ala Phe Leu Ile Trp Thr Gln Lys  
 1055 1060 1065

Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ser Val Phe Ser Gly Gly Glu Asn  
 1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Lys  
 1085 1090 1095

Ala Asp Glu Thr Asp Met Leu Asn Pro Ser Gly Asp His Ser Glu  
 1100 1105 1110

Val Gln  
 1115

- <210> 15
- <211> 50
- <212> ADN
- <213> Artificial

ES 2 530 694 T3

<220>

<223> Cebador de PCR

<400> 15

caccgcggcc gccaagttat aatcgccac catgagcaaa ctcagaatgg

5

<210> 16

<211> 40

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

10 <223> Cebador de PCR

<400> 16

tgctccggtg cctagtcag gtctcatca aggtatctta 40

<210> 17

<211> 3434

15 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 17

```

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgactt cagaagacat      60
tttgtcaacc tgagtcacct caccattact gtggtcttac ttctcagtgc ctgttttgtc      120
accagttctc ttggaggaac agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt      180
agcgggagag tggaaagtga agtccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg      240
agcatggaag cggctctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc      300
cctggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt      360
cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac      420
tgtactcacc aacaagatgc tggagtgacc tgctcagatg gatccaattt ggaaatgagg      480
ctgacgcgtg gagggaaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacggtgg      540
ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt      600
gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcatctaatt ttggagaagg ctctggacca      660
atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctotggaa ctgcaaacat      720
caaggatggg gaaagcataa ctgtgaccat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag      780
ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa      840
gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag ttacgatgct      900
gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgccgtca cagccattgg tcgagttaac      960
gccagtaagg gatttggaca catctggctt gacagcgttt cttgccaggg acatgaacct     1020

```

ES 2 530 694 T3

gctgtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
gctggcgtga catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
aaaacatctt atcaagtgtg ctccaaaatc caggcaacaa acacatggct gtttctaagt 1320  
agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt 1380  
acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagggg acccagactg 1440  
gttggagggg acattccctg ttctggacgt gttgaagtga agcatggtga cacgtggggc 1500  
tccatctgtg attcggactt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
tgtggcacag ttgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
tgggctgaag aattccagtg tgaggacat gagtccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
ccccgccag aaggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc ccgtgtgagg gcagagtgga gctcaaacg 1800  
cttggtgctt ggggatccct ctgtaactct cactgggaca tagaagatgc ccatgttctt 1860  
tgccagcagc ttaaagtgtg agttgccctt tctaccccag gaggagcacg ttttggaaaa 1920  
ggaaatggtc agatctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  
gattgtcctg taactgctct aggtgcttca ttatgtcctt cagagcaagt ggctctgtg 2040  
atctgctcag gaaaccagtc ccaaacactg tcctcgtgca attcatcgtc tttgggcca 2100  
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
ctggtaaattg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttagaga tctatcatga gggctcctgg 2220  
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agtgatgccc acgtggtttg cagacagctg 2280  
ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggggaagg aacagggccc 2340  
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400  
caoggctggg ggcagcaaaa ttgcaggcac aaggaggatg cgggagttat ctgctcagaa 2460  
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctggaa 2520  
gttttttaca atggagcttg gggcactggt ggcaagagta gcatgtctga aaccactgtg 2580  
ggctgtgggt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagggg aatcaacce tgcacttta 2640  
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
acgtgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggccagccc ctoggaggag 2760  
acctggatca catgtgacaa caagataaga cttcaggaag gaccacttc ctgttctgga 2820  
cgtgtggaga tctggcatgg aggttccctgg gggacagtgt gtgatgactc ttgggacttg 2880

ES 2 530 694 T3

gacgatgctc aggtggtgtg toaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccg atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccatagtga gtgtggggcac 3060  
 aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcagtgc agaaaacccc acaaaaagcc 3120  
 acaacaggtc gctcatcccc tcagtcatcc tttattgcag tcgggatcct tggggttgtt 3180  
 ctgttgccca ttttcgtcgc attattcttc ttgactaaaa agcgaagaca gagacagcgg 3240  
 cttgcagttt cctcaagagg agagaactta gtccaccaa ttcaataccg ggagatgaat 3300  
 tcttgctga atgcagatga tctggaccta atgaattcct caggaggcca ttctgagcca 3360  
 cactgaaaag gaaaatggga atttataacc cagtgagttc agcctttaag atacctgat 3420  
 gaagacctgg acta 3434

<210> 18  
 <211> 3363  
 <212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 18

atgagcaaac tcagaatggg gctacttgaa gactctggat ctgctgactt cagaagacat 60  
 ttgtcaacc tgagtcctt caccattact gtggctctac ttctcagtgc ctgttttgtc 120  
 accagttctc ttggaggaac agacaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180  
 agcgggagag tggaaagtga agtccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cggctctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 cctggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggattgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420  
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtgacc tgctcagatg gatccaattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgcgtg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacgggtg 540  
 ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacata gatcatgcat ctgtcatttg tagacaactt 600  
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcatctaatt ttggagaagg ctctggacca 660  
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgacat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggggaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag taacgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgccgtca cagccattgg tcgagttaac 960  
 gccagtaagg gatttggaac catctggctt gacagcgttt cttgccaggg acatgaacct 1020

ES 2 530 694 T3

gctgtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
gctggcgtga catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
aaaacatctt atcaagtgta ctccaaaatc caggcaacaa acacatggct gtttctaagt 1320  
agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg gggaggactt 1380  
acctgtgac cactatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagggg acccagactg 1440  
gttggagggg acattccctg ttctggacgt gttgaagtga agcatggtga cacgtggggc 1500  
tccatctgtg attcggactt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
tgtggcacag ttgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
ccccgccag aaggaacttg tagccacagc agggatggtg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
acagaaatc gcttggtgaa tggcaagacc ccgtgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  
cttgggtgcct ggggatccct ctgtaactct cactgggaca tagaagatgc ccatgttctt 1860  
tgccagcagc ttaaagtgtg agttgccctt tctacccag gaggagcacg ttttgaaaa 1920  
ggaaatggtc agatctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  
gattgtcctg taactgctct aggtgcttca ttatgtcctt cagagcaagt ggctctgta 2040  
atctgctcag gaaaccagtc ccaaactg tctctgtgca attcatctg tttgggcca 2100  
acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
ctggtaaattg gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tctatcatga gggctcctgg 2220  
ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agtgatgccc acgtggtttg cagacagctg 2280  
ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggggaagg aacagggccc 2340  
atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttgga gtgccattca 2400  
cacggctggg ggcagcaaaa ttgcaggcac aaggaggatg cgggagttat ctgctcagaa 2460  
ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctggaa 2520  
gttttttaca atggagcttg gggcactggt ggcaagagta gcatgtctga aaccactgtg 2580  
gggtgtggtg gcaggcagct gggctgtgca gacaaagggg aatcaacc tgcacttta 2640  
gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
acgctgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggccagccc ctcggaggag 2760  
acctggatca catgtgacaa caagataaga cttcaggaag gaccacttc ctgttctgga 2820

ES 2 530 694 T3

```

cgtgtggaga tctggcatgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ttgggacttg 2880
gacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940
gaagcagagt ttggtcaggg gactggaccg atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000
aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccatagtga gtgtgggcac 3060
aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcagtgc agaaaacccc acaaaaagcc 3120
acaacaggtc gctcatcccg tcagtcatcc tttattgcag tcgggatcct tggggttggt 3180
ctgttgGCCa ttttcgtcgc attattcttc ttgactaaaa agcgaagaca gagacagcgg 3240
cttgcagttt cctcaagagg agagaactta gtccaccaa ttcaataccg ggagatgaat 3300
tcttgectga atgcagatga tctggaccta atgaattcct caggaggcca ttctgagcca 3360
cac 3363

```

<210> 19  
 <211> 1121  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens  
 <400> 19



ES 2 530 694 T3

130						135						140					
Gln	Asp	Ala	Gly	Val	Thr	Cys	Ser	Asp	Gly	Ser	Asn	Leu	Glu	Met	Arg		
145						150				155					160		
Leu	Thr	Arg	Gly	Gly	Asn	Met	Cys	Ser	Gly	Arg	Ile	Glu	Ile	Lys	Phe		
				165					170					175			
Gln	Gly	Arg	Trp	Gly	Thr	Val	Cys	Asp	Asp	Asn	Phe	Asn	Ile	Asp	His		
			180					185					190				
Ala	Ser	Val	Ile	Cys	Arg	Gln	Leu	Glu	Cys	Gly	Ser	Ala	Val	Ser	Phe		
		195					200					205					
Ser	Gly	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Pro	Ile	Trp	Phe	Asp		
	210					215					220						
Asp	Leu	Ile	Cys	Asn	Gly	Asn	Glu	Ser	Ala	Leu	Trp	Asn	Cys	Lys	His		
225					230					235					240		
Gln	Gly	Trp	Gly	Lys	His	Asn	Cys	Asp	His	Ala	Glu	Asp	Ala	Gly	Val		
				245					250					255			
Ile	Cys	Ser	Lys	Gly	Ala	Asp	Leu	Ser	Leu	Arg	Leu	Val	Asp	Gly	Val		
			260					265					270				
Thr	Glu	Cys	Ser	Gly	Arg	Leu	Glu	Val	Arg	Phe	Gln	Gly	Glu	Trp	Gly		
		275					280					285					
Thr	Ile	Cys	Asp	Asp	Gly	Trp	Asp	Ser	Tyr	Asp	Ala	Ala	Val	Ala	Cys		
	290					295					300						
Lys	Gln	Leu	Gly	Cys	Pro	Thr	Ala	Val	Thr	Ala	Ile	Gly	Arg	Val	Asn		
305					310					315					320		
Ala	Ser	Lys	Gly	Phe	Gly	His	Ile	Trp	Leu	Asp	Ser	Val	Ser	Cys	Gln		
				325					330					335			
Gly	His	Glu	Pro	Ala	Val	Trp	Gln	Cys	Lys	His	His	Glu	Trp	Gly	Lys		
			340					345					350				
His	Tyr	Cys	Asn	His	Asn	Glu	Asp	Ala	Gly	Val	Thr	Cys	Ser	Asp	Gly		
		355					360					365					
Ser	Asp	Leu	Glu	Leu	Arg	Leu	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Cys	Ala	Gly		
	370					375					380						

ES 2 530 694 T3

Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg  
 385 390 395 400

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys  
 405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala  
 420 425 430

Thr Asn Thr Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser  
 435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His  
 450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu  
 465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly  
 485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Ile Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala  
 500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu  
 515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu  
 530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala  
 545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val  
 565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys  
 580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Gly Ala Trp Gly Ser Leu Cys  
 595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu  
 610 615 620

ES 2 530 694 T3

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala Arg Phe Gly Lys  
625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu  
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys  
660 665 670

Pro Ser Glu Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln  
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr  
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg  
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His  
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp  
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala  
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp  
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser  
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val  
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg  
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly  
835 840 845

Thr Val Gly Lys Ser Ser Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys  
850 855 860

ES 2 530 694 T3

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Pro Ala Ser Leu  
 865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro  
 885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys  
 900 905 910

Arg Leu Ala Ser Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys  
 915 920 925

Ile Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile  
 930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu  
 945 950 955 960

Asp Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu  
 965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp  
 980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys  
 995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp  
 1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Val Gln Lys Thr Pro Gln  
 1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Arg Ser Ser Arg Gln Ser Ser Phe Ile Ala  
 1040 1045 1050

Val Gly Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu  
 1055 1060 1065

Phe Phe Leu Thr Lys Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Ala Val  
 1070 1075 1080

Ser Ser Arg Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu  
 1085 1090 1095

Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser

ES 2 530 694 T3

1100

1105

1110

Ser Gly Gly His Ser Glu Pro His  
1115 1120

<210> 20  
 <211> 37  
 <212> ADN  
 5 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador de PCR  
  
 <400> 20  
 caccgcggcc gccacacgga gccatcaaaa tcatcaa 37  
  
 10 <210> 21  
 <211> 46  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 15 <223> Cebador de PCR  
  
 <400> 21  
 ggtaccgcga acaagcaaac caatagcaat atgtttaat tccctc 46  
  
 <210> 22  
 <211> 3556  
 20 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 22  
  
 gctttggaat ggggtggacac agaatggttc ttcttggagg tgctggatct cctggttgta 60  
 aaaggtttgt ccatctaggt ttctttgttg tggctgtgag ctcacttctc agtgcctctg 120  
 ctgtcactaa cgctcctgga gaaatgaaga aggaactgag actggcgggt ggtgaaaaca 180  
 actgtagtgg gagagtggaa cttaagatcc atgacaagtg gggcacagtg tgcagtaacg 240  
 gctggagcat gaatgaagtg tccgtggttt gccagcagct gggatgcccc acttctatta 300  
 aagcccttgg atgggctaac tccagcgcgg gctctggata tatctggatg gacaaagttt 360  
 cttgtacagg gaatgagtca gctctttggg actgcaaaca tgatgggtgg ggaaagcata 420  
 actgtaccca tgaaaaagat gctggagtga cctgctcaga tggatctaata ttggagatga 480  
 gactggtgaa cagtgcgggc caccgatgct taggaagagt agaaataaag ttccagggaa 540  
 agtgggggac ggtgtgtgac gacaacttca gcaaagatca cgcttctgtg atttgtaaac 600  
 agcttggatg tggaagtgcc attagtttct ctggctcagc taaattggga gctggttctg 660  
 gaccaatctg gctcagatgac ctggcatgca atggaaatga gtcagctctc tgggactgca 720

ES 2 530 694 T3

aacaccgggg atggggcaag cataactgtg accatgctga ggatgtcggg gtgatttgcg 780  
tagagggagc agatctgagc ctgagactag tggatggagt gtccagatgt tcaggaagat 840  
tggaaagtgag attccaagga gaatggggga ccgtgtgtga tgataactgg gatctccggg 900  
atgcttctgt ggtgtgcaag caactgggat gtccaactgc catcagtgcc attggtcgag 960  
ttaatgccag tgagggatct ggacagattt ggcttgacaa catttcatgc gaaggacatg 1020  
aggcaactct ttgggagtgt aaacaccaag agtggggaaa gcattactgt catcatagag 1080  
aagacgctgg cgtgacatgt tctgatggag cagatctgga acttagactt gtaggtggag 1140  
gcagtcgctg tgetggcatt gtggaggtgg agattcagaa gctgactggg aagatgtgta 1200  
gccgaggctg gacactggca gatgcggatg tggtttgacg acagcttggg tgtggatctg 1260  
cgcttcaaac ccaggctaag atctactcta aaactggggc aacaaatacg tggctctttc 1320  
ctggatcttg taatggaaat gaaactactt ttggcaatg caaaaaactgg cagtggggcg 1380  
gcctttcctg tgataattc gaagaagcca aagttacctg ctcaggccac agggaaccca 1440  
gactggttgg aggagaaatc ccatgctctg gtctgtgtga agtgaaacac ggagacgtgt 1500  
ggggctccgt ctgtgattht gacttgtctc tggaagctgc cagtgtggtg tgcagggaat 1560  
tacaatgtgg aacagtcgtc tctatcctag ggggagcaca ttttgagaa ggaagtggac 1620  
agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccatctttca ctatgctcag 1680  
tggcgcccc gctagacaga acttgtacc acagcaggga tgtcagcgta gtctgctcac 1740  
gatacataga tattegtctg gcaggcggcg agtctctctg tgaggggaaga gtggagctca 1800  
agacactcgg agcctggggc cccctctgca gttctcattg ggacatggaa gatgctcatg 1860  
tcttatgtca gcagctgaag tgtggggttg cccaatctat tccagaagga gcacattttg 1920  
ggaaaggagc tggtcaggtc tggagtcaca tgttccactg cactggaact gaggaacata 1980  
taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgcgacgtg ttccgaagga caggtggcct 2040  
ctgtcatctg ctcaggaaac caatcccaga cactattgcc atgtagttca ttgtctccag 2100  
tccaaacaac aagctctaca attccaaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggcc 2160  
agcttcgctt ggtaggtgga ggtggtcgct gcgctggaag agtggaggtc taccacgagg 2220  
gctcttgggg caccgtctgt gatgacaatt gggatatgac tgatgccaat gtggtgtgca 2280  
agcagctgga ctgtggcgtg gcaattaacg ccactggctc tgcttacttc ggggaaggag 2340  
caggagetat ctggctagac gaagtcatct gcaactggga agagtctcat atttggcagt 2400  
gccattcaca tggctgggga cgcataact gcaggcacia agaagatgca ggtgttatct 2460  
gctccgagtt catgtctctg aggctgacca acgaagccca caaagaaaac tgcacaggtc 2520  
gccttgaagt gttttacaat ggtacatggg gcagtattgg cagtagcaat atgtctccaa 2580

ES 2 530 694 T3

ccaactgtggg ggtggtgtgc cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaaaccca 2640  
 taccttcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga tegtgtgcag tgcctaaaag 2700  
 gagttgacac tttgtggcag tgccccctcgt caccttggaa acagagacag gccagcccct 2760  
 cctcccagga gtccctggatc atctgtgaca acaaaataag actccaggaa gggcatacag 2820  
 actgtttctgg acgtgtggag atctggcaca aaggttcctg gggaacagtg tgtgatgact 2880  
 cctgggatct taatgatgct aaggttgtat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga 2940  
 aggcactaaa agaagcagca tttggtccag gaactgggcc catatggctc aatgaaatta 3000  
 agtgtagagg gaatgagtct tccctgtggg attgtcctgc caaacctgg agtcacagcg 3060  
 actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgcctccc aaaaatgact tcagaatcac 3120  
 atcatggcac aggtcacccc accctcacgg cactcttggg ttgtggagcc attctattgg 3180  
 tcctcctcat tgtcttcctc ctgtggactc tgaagcgacg acagattcag cgacttacag 3240  
 tttcctcaag aggagaggtc ttgatacate aagttcagta ccaagagatg gattcaaagg 3300  
 cggatgatct ggacttgctg aaatcctcgg gggtcattca gaggcacact gagaaggaaa 3360  
 atgataatth ataatccact gaggttggag ttttaagaagc cttgacagga cagccagcta 3420  
 aatggaacaa gagcccaggc aacgcacgga tgaccacagc tgcattctca tgcagtcctt 3480  
 tgtttcctgg aactctgctg aacctgcaaa aacctatth gtgaatgtga ccacttaata 3540  
 gagatgggag acttht 3556

<210> 23  
 <211> 3363  
 <212> ADN  
 5 <213> Mus musculus  
 <400> 23

ES 2 530 694 T3

atgggtggac	acagaatggt	tcttcttggg	ggtgctggat	ctcctggttg	taaaaggttt	60
gtccatctag	gtttctttgt	tgtggctgtg	agctcacttc	tcagtgcctc	tgetgtcact	120
aacgctcctg	gagaaatgaa	gaaggaactg	agactggcgg	gtggtgaaaa	caactgtagt	180
gggagagtgg	aacttaagat	ccatgacaag	tggggcacag	tgtgcagtaa	cggctggagc	240
atgaatgaag	tgtccgtggt	ttgccagcag	ctgggatgcc	caacttctat	taaagccctt	300
ggatgggcta	actccagcgc	cggctctgga	tatatctgga	tggacaaagt	ttcttgta	360
gggaatgagt	cagctctttg	ggactgcaaa	catgatgggt	ggggaaagca	taactgtacc	420
catgaaaaag	atgctggagt	gacctgctca	gatggatcta	atctggagat	gagactggtg	480
aacagtgcgg	gccaccgatg	cttaggaaga	gtagaaataa	agttccaggg	aaagtggggg	540
acggtgtgtg	acgacaactt	cagcaaagat	cacgcttctg	tgatttgtaa	acagcttggg	600

ES 2 530 694 T3

tgtggaagtg ccattagttt ctctggctca gctaaattgg gagctggttc tggaccaatc 660  
 tggctcgatg acctggcatg caatggaaat gagtcagctc tctgggactg caaacaccgg 720  
 ggatggggca agcataactg tgaccatgct gaggatgtcg gtgtgatttg cttagagggga 780  
 gcagatctga gcctgagact agtggatgga gtgtccagat gttcaggaag attggaagtg 840  
 agattccaag gagaatgggg gaccgtgtgt gatgataact gggatctccg ggatgcttct 900  
 gtgggtgtgca agcaactggg atgtccaact gccatcagtg ccattggctcg agttaatgcc 960  
 agtgagggat ctggacagat ttggcttgac aacatttcat gcgaaggaca tgaggcaact 1020  
 ctttgggagt gtaaacacca agagtgggga aagcattact gtcatcatag agaagacgct 1080  
 ggcgtgacat gttctgatgg agcagatctg gaacttagac ttgtaggtgg aggcagtcgc 1140  
 tgtgctggca ttgtggaggt ggagattcag aagctgactg ggaagatgtg tagccgaggc 1200  
 tggacactgg cagatgcgga tgtggtttgc agacagcttg gatgtggatc tgcgcttcaa 1260  
 acccaggcta agatctactc taaaactggg gcaacaaata cgtggctctt tcctggatct 1320  
 tgtaatggaa atgaaactac tttttggcaa tgcaaaaact ggcagtgggg cggcctttcc 1380  
 tgtgataatt tcgaagaagc caaagttacc tgctcagggc acaggaacc cagactgggt 1440  
 ggaggagaaa tcccatgctc tggctgtgtg gaagtgaac acggagacgt gtggggctcc 1500  
 gtctgtgatt ttgacttgtc tctggaagct gccagtgtgg tgtgcagga attacaatgt 1560  
 ggaacagtcg tctctatcct agggggagca cattttggag aaggaagtgg acagatctgg 1620  
 ggtgaagaat tccagtgtag tggggatgag tcccatcttt cactatgctc agtggcgccc 1680  
 ccgctagaca gaacttgtac ccacagcagg gatgtcagcg tagtctgctc acgatacata 1740  
 gatattcgtc tggcaggcgg cgagtcctcc tgtgagggaa gagtggagct caagacactc 1800  
 ggagcctggg gtccccctcg cagttctcat tgggacatgg aagatgctca tgtcttatgt 1860  
 cagcagctga agtgtggggt tgcccaatct attccagaag gagcacattt tgggaaagga 1920  
 gctggtcagg tctggagtca catgttccac tgcactggaa ctgaggaaca tataggagat 1980  
 tgccatcatga ctgctctggg tgcgcccagc tgttccgaag gacaggtggc ctctgtcatc 2040  
 tgctcaggaa accaatccca gacactattg ccatgtagtt cattgtctcc agtccaaaca 2100  
 acaagctcta caattccaaa ggagagtga gttccctgca tagcaagtgg ccagcttcgc 2160  
 ttggtaggtg gaggtggtcg ctgcgctgga agagtggagg tctaccacga gggctcttgg 2220  
 ggcaccgtct gtgatgacaa ttgggatatg actgatgcca atgtgggtgtg caagcagctg 2280  
 gactgtggcg tggcaattaa cgccactggc tctgcttact tcggggaagg agcaggagct 2340  
 atctggctag acgaagtcac ctgcactggg aaagagtctc atatttggca gtgccattca 2400

ES 2 530 694 T3

```

catggctggg gacgccataa ctgcaggcac aaagaagatg caggtggtat ctgctccgag 2460
ttcatgtctc tgaggctgac caacgaagcc cacaaagaaa actgcacagg tgccttgaa 2520
gtgttttaca atggtacatg gggcagtatt ggcagtagca atatgtctcc aaccactgtg 2580
ggggtggtgt gccgtcagct gggctgtgca gacaacggga ctgtgaaacc cataccttca 2640
gacaagacac catccaggcc catgtgggta gatcgtgtgc agtgtccaaa aggagttgac 2700
actttgtggc agtgeccctc gtcaccttgg aacagagac aggccagccc ctctcccag 2760
gagtcttgga tcatctgtga caacaaaata agactccagg aagggcatac agactgttct 2820
ggacgtgtgg agatctggca caaaggttcc tggggaacag tgtgtgatga ctctgggat 2880
cttaatgatg ctaaggttgt atgtaagcag ttgggctgtg gccaagctgt gaaggcacta 2940
aaagaagcag catttgggcc aggaactggg cccatatggc tcaatgaaat taagtgtaga 3000
gggaatgagt ctccctgtg ggattgtcct gccaaaccgt ggagtcacag cgactgtggg 3060
cacaagaag atgcttccat ccagtgctc ccaaaaatga cttcagaatc acatcatggc 3120
acaggtcacc ccaccctcac ggcactcttg gtttgtggag ccattctatt ggtcctctc 3180
attgtcttcc tcctgtggac tctgaagcga cgacagattc agcgacttac agtttctca 3240
agaggagagg tcttgataca tcaagttcag taccaagaga tggattcaaa ggcggatgat 3300
ctggacttgc tgaaatcctc gggggtcatt cagaggcaca ctgagaagga aatgataat 3360
tta 3363

```

<210> 24  
 <211> 1121  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 24

5

ES 2 530 694 T3

Met Gly Gly His Arg Met Val Leu Leu Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Cys Lys Arg Phe Val His Leu Gly Phe Phe Val Val Ala Val Ser Ser  
 20 25 30

Leu Leu Ser Ala Ser Ala Val Thr Asn Ala Pro Gly Glu Met Lys Lys  
 35 40 45

Glu Leu Arg Leu Ala Gly Gly Glu Asn Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu  
 50 55 60

Leu Lys Ile His Asp Lys Trp Gly Thr Val Cys Ser Asn Gly Trp Ser  
 65 70 75 80

ES 2 530 694 T3

Met Asn Glu Val Ser Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ser  
85 90 95

Ile Lys Ala Leu Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Tyr Ile  
100 105 110

Trp Met Asp Lys Val Ser Cys Thr Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp  
115 120 125

Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Thr His Glu Lys Asp  
130 135 140

Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asn Leu Glu Met Arg Leu Val  
145 150 155 160

Asn Ser Ala Gly His Arg Cys Leu Gly Arg Val Glu Ile Lys Phe Gln  
165 170 175

Gly Lys Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Ser Lys Asp His Ala  
180 185 190

Ser Val Ile Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Ser Ala Ile Ser Phe Ser  
195 200 205

Gly Ser Ala Lys Leu Gly Ala Gly Ser Gly Pro Ile Trp Leu Asp Asp  
210 215 220

Leu Ala Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asp Cys Lys His Arg  
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile  
245 250 255

Cys Leu Glu Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Ser  
260 265 270

Arg Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr  
275 280 285

Val Cys Asp Asp Asn Trp Asp Leu Arg Asp Ala Ser Val Val Cys Lys  
290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Ser Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala  
305 310 315 320

ES 2 530 694 T3

Ser Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Leu Asp Asn Ile Ser Cys Glu Gly  
 325 330 335

His Glu Ala Thr Leu Trp Glu Cys Lys His Gln Glu Trp Gly Lys His  
 340 345 350

Tyr Cys His His Arg Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ala  
 355 360 365

Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Ile  
 370 375 380

Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Thr Gly Lys Met Cys Ser Arg Gly  
 385 390 395 400

Trp Thr Leu Ala Asp Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly  
 405 410 415

Ser Ala Leu Gln Thr Gln Ala Lys Ile Tyr Ser Lys Thr Gly Ala Thr  
 420 425 430

Asn Thr Trp Leu Phe Pro Gly Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Thr Phe  
 435 440 445

Trp Gln Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp Asn Phe  
 450 455 460

Glu Glu Ala Lys Val Thr Cys Ser Gly His Arg Glu Pro Arg Leu Val  
 465 470 475 480

Gly Gly Glu Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly Asp  
 485 490 495

Val Trp Gly Ser Val Cys Asp Phe Asp Leu Ser Leu Glu Ala Ala Ser  
 500 505 510

Val Val Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu Gly  
 515 520 525

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Gly Glu Glu Phe  
 530 535 540

Gln Cys Ser Gly Asp Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Pro  
 545 550 555 560

Pro Leu Asp Arg Thr Cys Thr His Ser Arg Asp Val Ser Val Val Cys

ES 2 530 694 T3

				565						570						575
Ser	Arg	Tyr	Ile	Asp	Ile	Arg	Leu	Ala	Gly	Gly	Glu	Ser	Ser	Cys	Glu	
			580					585						590		
Gly	Arg	Val	Glu	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Ala	Trp	Gly	Pro	Leu	Cys	Ser	
		595					600					605				
Ser	His	Trp	Asp	Met	Glu	Asp	Ala	His	Val	Leu	Cys	Gln	Gln	Leu	Lys	
	610					615					620					
Cys	Gly	Val	Ala	Gln	Ser	Ile	Pro	Glu	Gly	Ala	His	Phe	Gly	Lys	Gly	
625					630					635					640	
Ala	Gly	Gln	Val	Trp	Ser	His	Met	Phe	His	Cys	Thr	Gly	Thr	Glu	Glu	
				645					650					655		
His	Ile	Gly	Asp	Cys	Leu	Met	Thr	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Thr	Cys	Ser	
			660					665					670			
Glu	Gly	Gln	Val	Ala	Ser	Val	Ile	Cys	Ser	Gly	Asn	Gln	Ser	Gln	Thr	
		675					680					685				
Leu	Leu	Pro	Cys	Ser	Ser	Leu	Ser	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Ser	Ser	Thr	
	690					695					700					
Ile	Pro	Lys	Glu	Ser	Glu	Val	Pro	Cys	Ile	Ala	Ser	Gly	Gln	Leu	Arg	
705					710					715					720	
Leu	Val	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Cys	Ala	Gly	Arg	Val	Glu	Val	Tyr	His	
				725					730					735		
Glu	Gly	Ser	Trp	Gly	Thr	Val	Cys	Asp	Asp	Asn	Trp	Asp	Met	Thr	Asp	
			740					745					750			
Ala	Asn	Val	Val	Cys	Lys	Gln	Leu	Asp	Cys	Gly	Val	Ala	Ile	Asn	Ala	
		755					760					765				
Thr	Gly	Ser	Ala	Tyr	Phe	Gly	Glu	Gly	Ala	Gly	Ala	Ile	Trp	Leu	Asp	
	770					775					780					
Glu	Val	Ile	Cys	Thr	Gly	Lys	Glu	Ser	His	Ile	Trp	Gln	Cys	His	Ser	
785					790					795					800	
His	Gly	Trp	Gly	Arg	His	Asn	Cys	Arg	His	Lys	Glu	Asp	Ala	Gly	Val	
				805					810					815		

ES 2 530 694 T3

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Asn Glu Ala His Lys  
820 825 830

Glu Asn Cys Thr Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Thr Trp Gly  
835 840 845

Ser Ile Gly Ser Ser Asn Met Ser Pro Thr Thr Val Gly Val Val Cys  
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Asn Gly Thr Val Lys Pro Ile Pro Ser  
865 870 875 880

Asp Lys Thr Pro Ser Arg Pro Met Trp Val Asp Arg Val Gln Cys Pro  
885 890 895

Lys Gly Val Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln  
900 905 910

Arg Gln Ala Ser Pro Ser Ser Gln Glu Ser Trp Ile Ile Cys Asp Asn  
915 920 925

Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly His Thr Asp Cys Ser Gly Arg Val Glu  
930 935 940

Ile Trp His Lys Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp  
945 950 955 960

Leu Asn Asp Ala Lys Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Gln Ala  
965 970 975

Val Lys Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Pro Gly Thr Gly Pro Ile  
980 985 990

Trp Leu Asn Glu Ile Lys Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp  
995 1000 1005

Cys Pro Ala Lys Pro Trp Ser His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu  
1010 1015 1020

Asp Ala Ser Ile Gln Cys Leu Pro Lys Met Thr Ser Glu Ser His  
1025 1030 1035

His Gly Thr Gly His Pro Thr Leu Thr Ala Leu Leu Val Cys Gly  
1040 1045 1050

ES 2 530 694 T3

Ala Ile Leu Leu Val Leu Leu Ile Val Phe Leu Leu Trp Thr Leu  
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Ile Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu  
1070 1075 1080

Val Leu Ile His Gln Val Gln Tyr Gln Glu Met Asp Ser Lys Ala  
1085 1090 1095

Asp Asp Leu Asp Leu Leu Lys Ser Ser Gly Val Ile Gln Arg His  
1100 1105 1110

Thr Glu Lys Glu Asn Asp Asn Leu  
1115 1120

<210> 25

<211> 3639

<212> ADN

5 <213> Mus musculus

<400> 25

ES 2 530 694 T3

gctttggaat	gggtggacac	agaatggttc	ttcttgagg	tgctggatct	cctggttgta	60
aaaggtttgt	ccatctaggt	ttctttggtg	tggctgtgag	ctcacttctc	agtgcctctg	120
ctgtcactaa	cgctcctgga	gaaatgaaga	aggaactgag	actggcgggt	ggtgaaaaca	180
actgtagtgg	gagagtggaa	cttaagatcc	atgacaagtg	gggcacagtg	tgcaagtaacg	240
gctggagcat	gaatgaagtg	tccgtggttt	gccagcagct	gggatgocca	acttctatta	300
aagcccttgg	atgggctaac	tccagcgccg	gctctggata	tatctggatg	gacaaagttt	360
cttgtacagg	gaatgagtca	gctctttggg	actgcaaaca	tgatgggtgg	ggaaagcata	420
actgtacca	tgaaaaagat	gctggagtga	cctgctcaga	tggatctaata	ttggagatga	480
gactggtgaa	cagtgcgggc	caccgatgct	taggaagagt	agaaataaag	ttccagggaa	540
agtgggggac	ggtgtgtgac	gacaaactca	gcaaagatca	cgcttctgtg	atttgtaaac	600
agcttggatg	tggaagtgcc	attagtttct	ctggctcagc	taaattggga	gctggttctg	660
gaccaatctg	gctcgatgac	ctggcatgca	atggaaatga	gtcagctctc	tgggactgca	720
aacaccgggg	atggggcaag	cataactgtg	accatgctga	ggatgtcggg	gtgatttgct	780
tagagggagc	agatctgagc	ctgagactag	tggatggagt	gtccagatgt	tcaggaagat	840
tggaagtgag	attccaagga	gaatggggga	ccgtgtgtga	tgataactgg	gatctccggg	900
atgcttctgt	ggtgtgcaag	caactgggat	gtccaactgc	catcagtgcc	attggtcgag	960
ttaatgccag	tgagggatct	ggacagattt	ggcttgacaa	catttcatgc	gaaggacatg	1020

aggcaactct ttgggagtggt aaacaccaag agtggggaaa gcattactgt catcatagag 1080  
 aagacgctgg cgtgacatgt tctgatggag cagatctgga acttagactt gtaggtggag 1140  
 gcagtcgctg tgctggcatt gtggaggtgg agattcagaa gctgactggg aagatgtgta 1200  
 gccgaggctg gacactggca gatgcggatg tggtttgag acagcttggga tgtggatctg 1260  
 cgcttcaaac ccaggctaag atctacteta aaactggggc aacaaatagc tggetcttctc 1320  
 ctggatcttg taatggaaat gaaactactt tttggcaatg caaaaactgg cagtggggcg 1380  
 gcctttcctg tgataatttc gaagaagcca aagttacctg ctcaggccac agggaaccca 1440  
 gactggttgg aggagaaatc ccatgctctg gtcgtgtgga aatgaaacac ggagacgtgt 1500  
 ggggctccgt ctgtgatttt gacttgtctc tggaaactgc cagtgtggtg tgcagggaat 1560  
 tacaatgtgg aacagtcgct tctatcctag ggggagcaca ttttgagaa ggaagtggac 1620  
 agatctgggg tgaagaattc cagtgtagtg gggatgagtc ccatctttca ctatgctcag 1680  
 tggcgcccc gctagacaga acttgtacct acagcagggg tgcagcgta gtctgctcac 1740  
 gatacataga tattcgtctg gcaggcggcg agtctctctg tgagggaaga gtggagetca 1800  
 agacactcgg agcctggggg cccctctgca gttctcattg ggacatggaa gatgctcatg 1860  
 tcttatgtca gcagctgaag tgtgggggtg cccaatctat tccagaagga gcacattttg 1920  
 ggaaaggagc tggtcaggtc tggagtcaca tgttccactg cactggaact gaggaacata 1980  
 taggagattg cctcatgact gctctgggtg cgccgacgtg ttccgaagga cagggtggcct 2040  
 ctgtcatctg ctcaggaaac caatcccaga cactattgcc atgtagttca ttgtctccag 2100  
 tccaaacaac aagctctaca attccaaagg agagtgaagt tccctgcata gcaagtggcc 2160  
 agcttcgctt ggtaggtgga ggtggctcgt gcgctggaag agtggaggtc taccacgagg 2220  
 gctcttgggg caccgtctgt gatgacaatt gggatatgac tgatgccaat gtgggtgtgca 2280  
 agcagctgga ctgtggcgtg gcaattaacg ccactggctc tgcttacttc ggggaaggag 2340  
 caggagctat ctggctagac gaagtcactc gcaactggga agagtctcat atttggcagt 2400  
 gccattcaca tggctgggga cgccataact gcaggcaca agaagatgca ggtgttatct 2460  
 gotccagatt catgtctctg aggetgacca acgaagccca caaagaaaac tgcacaggtc 2520  
 gccttgaagt gttttacaat ggtacatggg gcagtattgg cagtagcaat atgtctccaa 2580  
 ccactgtggg ggtgggtgtc cgtcagctgg gctgtgcaga caacgggact gtgaaaccca 2640  
 taccttcaga caagacacca tccaggccca tgtgggtaga tegtgtgcag tgtccaaaag 2700  
 gagttgacac tttgtggcag tgcccctcgt caccttggaa acagagacag gccagcccct 2760  
 cctcccagga gtcctggatc atctgtgaca acaaaaataag actccaggaa gggcatacag 2820  
 actgttctgg acgtgtggag atctggcaca aaggttctctg gggaacagtg tgtgatgact 2880

ES 2 530 694 T3

cctgggatct taatgatgct aaggttgtat gtaagcagtt gggctgtggc caagctgtga 2940  
 aggcactaaa agaagcagca ttggtccag gaactgggcc catatggctc aatgaaatta 3000  
 agtgtagagg gaatgagtct tccctgtggg attgtcctgc caaacctggg agtcacagcg 3060  
 actgtgggca caaagaagat gcttccatcc agtgcctccc caaaatgact tcagaatcac 3120  
 atcatggcac aggtcacccc accctcacgg cactcttggg ttgtggagcc attctattgg 3180  
 tctcctcat tgtcttctc ctgtggactc tgaagcgagc acagattcag cgacttacag 3240  
 tttcctcaag aggagaggtc ttgatacatc aagttcagta ccaagagatg gattcaaagg 3300  
 cggatgatct ggacttgctg aaatcctcgg aaaattccaa caattcatat gattttaatg 3360  
 atgatggact gacatctttg tctaaatata ttctatttc tggaaataaa aaggggtcat 3420  
 tcagaggcac actgagaagg aaaatgataa ttataatcc actgaggttg gagtttaaga 3480  
 agccttgaca ggacagccag ctaaatggaa caagagccca ggcaacgcac ggatgaccac 3540  
 agctgcatct tcatgcagtc ctttgtttcc tggaaactctg ctgaacctgc aaaaaccata 3600  
 tttgtgaatg tgaccactta atagagatgg gagactttt 3639

<210> 26  
 <211> 3477  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 26

5

atgggtggac acagaatggt tcttcttga ggtgctggat ctcttggtt taaaaggttt 60  
 gtccatctag gtttctttgt tgtggctgtg agctcacttc tcagtgcctc tgctgtcact 120  
 aacgctcctg gagaaatgaa gaaggaactg agactggcgg gtggtgaaaa caactgtagt 180  
 gggagagtgg aacttaagat ccatgacaag tggggcacag tgtgcagtaa cggctggagc 240  
 atgaatgaag tgtccgtggg ttgccagcag ctgggatgcc caacttctat taaagcctt 300  
 ggatgggcta actccagcgc cggctctgga tatatctgga tggacaaagt ttcttgtaca 360  
 gggaaatgagt cagctctttg ggactgcaaa catgatgggt ggggaaagca taactgtacc 420  
 catgaaaaag atgctggagt gacctgctca gatggatcta atttggagat gagactggtg 480  
 aacagtgcgg gccaccgatg cttaggaaga gtagaaataa agttccaggg aaagtggggg 540  
 acggtgtgtg acgacaactt cagcaaagat cacgcttctg tgattttaa acagcttggg 600  
 tgtggaagtg ccattagttt ctctggctca gctaaattgg gagctggttc tggaccaatc 660  
 tggctcgatg acctggcatg caatggaaat gagtcagctc tctgggactg caaacaccgg 720  
 ggatggggca agcataactg tgaccatgct gaggatgtcg gtgtgatttg cttagagggg 780  
 gcagatctga gctgagact agtggatgga gtgtccagat gttcaggaag attggaagtg 840

ES 2 530 694 T3

agattccaag gagaatgggg gaccgtgtgt gatgataact gggatctccg ggatgcttct 900  
 gtgggtgtgca agcaactggg atgtccaact gccatcagtg ccattggteg agttaatgcc 960  
 agtgagggat ctggacagat ttggcttgac aacatttcat gcgaaggaca tgaggcaact 1020  
 ctttgggagt gtaaacacca agagtgggga aagcattact gtcacatag agaagacgct 1080  
 ggcgtgacat gttctgatgg agcagatctg gaacttagac ttgtagggtg aggcagtcgc 1140  
 tgtgctggca ttgtggaggt ggagattcag aagctgactg ggaagatgtg tagccgaggc 1200  
 tggacactgg cagatgcgga tgtggttgc agacagcttg gatgtggatc tgogcttcaa 1260  
 acccaggcta agatctactc taaaactggg gcaacaaata cgtggctctt tcttggatct 1320  
 tgtaatggaa atgaaactac tttttggcaa tgcaaaaact ggcagtgggg cggcctttcc 1380  
 tgtgataatt tcgaagaagc caaagttacc tgctcagggc acaggggaacc cagactgggt 1440  
 ggaggagaaa tcccatgctc tggtcgtgtg gaaatgaaac acggagacgt gtggggctcc 1500  
 gtctgtgatt ttgacttgc tctggaagct gccagtgtgg tgtgcaggga attacaatgt 1560  
 ggaacagteg tctctatcct agggggagca cattttggag aaggaagtgg acagatctgg 1620  
 ggtgaagaat tccagtgtag tggggatgag tcccatcttt cactatgctc agtggcgccc 1680  
 ccgctagaca gaacttgtac ccacagcagg gatgtcagcg tagtctgctc acgatacata 1740  
 gatattcgtc tggcaggcgg cgagtcctcc tgtgagggaa gagtggagct caagacactc 1800  
 ggagcctggg gtcccctctg cagttctcat tgggacatgg aagatgctca tgtcttatgt 1860  
 cagcagctga agtgtggggt tgcccaatct attccagaag gagcacattt tgggaaagga 1920  
 gctggtcagg tctggagtca catgttccac tgcaactggaa ctgaggaaca tataggagat 1980  
 tgccctcatga ctgctctggg tgcgccgacg tgttccgaag gacaggtggc ctctgtcatc 2040  
 tgctcaggaa accaatccca gacactattg ccatgtagtt cattgtctcc agtccaaaca 2100  
 acaagctcta caattccaaa ggagagtga gttccctgca tagcaagtgg ccagcttctc 2160  
 ttggtaggtg gaggtggtcg ctgcgctgga agagtggagg tctaccaaga gggctcttgg 2220  
 ggcaccgtct gtgatgaaa ttgggatatg actgatgcca atgtggtgtg caagcagctg 2280  
 gactgtggcg tggcaattaa cgccactggc tctgcttact tcggggaagg agcaggagct 2340  
 atctggctag acgaagtcac ctgcactggg aaagagtctc atatttggca gtgccattca 2400  
 catggctggg gacgccataa ctgcaggcac aaagaagatg cagggtttat ctgctccgag 2460  
 ttcattgtctc tgaggctgac caacgaagcc cacaagaaa actgcacagg tcgccttgaa 2520  
 gtgttttaca atggtacatg gggcagtatt ggcagtagca atatgtctcc aaccactgtg 2580  
 ggggtggtgt gccgtcagct gggctgtgca gacaacggga ctgtgaaacc cataccttca 2640

ES 2 530 694 T3

gacaagacac catccaggcc catgtgggta gatcgtgtgc agtgtccaaa aggagttgac 2700  
actttgtggc agtgcccctc gtcaccttgg aaacagagac aggccagecc ctccctccag 2760  
gagtcctgga tcatctgtga caacaaaata agactccagg aagggcatac agactgttct 2820  
ggacgtgtgg agatctggca caaaggttcc tggggaacag tgtgtgatga ctccctgggat 2880  
cttaatgatg ctaaggttgt atgtaagcag ttgggctgtg gccaaagtgt gaaggcacta 2940  
aaagaagcag catttgggcc aggaactggg cccatatggc tcaatgaaat taagtgtaga 3000  
gggaatgagt ctccctgtg ggattgtcct gccaaaaccgt ggagtcacag cgactgtggg 3060  
caciaagaag atgcttccat ccagtgcctc cccaaaatga cttcagaatc acatcatggc 3120  
acaggtcacc ccaccctcac ggcactcttg gtttgtggag ccattctatt ggtcctcctc 3180  
attgtcttcc tcctgtggac tctgaagcga cgacagattc agcgacttac agtttcctca 3240  
agaggagagg tcttgataca tcaagttcag taccaagaga tggattcaaa ggcggatgat 3300  
ctggacttgc tgaaatectc ggaaaattcc aacaattcat atgattttaa tgatgatgga 3360  
ctgacatctt tgtctaaata tcttcctatt tctggaatta aaaaggggtc attcagaggc 3420  
aactgagaa ggaaaatgat aatttataat ccactgaggt tggagttaa gaagcct 3477

<210> 27

<211> 1159

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 27

ES 2 530 694 T3

Met Gly Gly His Arg Met Val Leu Leu Gly Gly Ala Gly Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Cys Lys Arg Phe Val His Leu Gly Phe Phe Val Val Ala Val Ser Ser  
 20 25 30

Leu Leu Ser Ala Ser Ala Val Thr Asn Ala Pro Gly Glu Met Lys Lys  
 35 40 45

Glu Leu Arg Leu Ala Gly Gly Glu Asn Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu  
 50 55 60

Leu Lys Ile His Asp Lys Trp Gly Thr Val Cys Ser Asn Gly Trp Ser  
 65 70 75 80

Met Asn Glu Val Ser Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ser  
 85 90 95

Ile Lys Ala Leu Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Tyr Ile



ES 2 530 694 T3

Tyr Cys His His Arg Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ala  
 355 360 365  
 Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Ile  
 370 375 380  
 Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Thr Gly Lys Met Cys Ser Arg Gly  
 385 390 395 400  
 Trp Thr Leu Ala Asp Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly  
 405 410 415  
 Ser Ala Leu Gln Thr Gln Ala Lys Ile Tyr Ser Lys Thr Gly Ala Thr  
 420 425 430  
 Asn Thr Trp Leu Phe Pro Gly Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Thr Phe  
 435 440 445  
 Trp Gln Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp Asn Phe  
 450 455 460  
 Glu Glu Ala Lys Val Thr Cys Ser Gly His Arg Glu Pro Arg Leu Val  
 465 470 475 480  
 Gly Gly Glu Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Met Lys His Gly Asp  
 485 490 495  
 Val Trp Gly Ser Val Cys Asp Phe Asp Leu Ser Leu Glu Ala Ala Ser  
 500 505 510  
 Val Val Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu Gly  
 515 520 525  
 Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Ser Gly Gln Ile Trp Gly Glu Glu Phe  
 530 535 540  
 Gln Cys Ser Gly Asp Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Pro  
 545 550 555 560  
 Pro Leu Asp Arg Thr Cys Thr His Ser Arg Asp Val Ser Val Val Cys  
 565 570 575  
 Ser Arg Tyr Ile Asp Ile Arg Leu Ala Gly Gly Glu Ser Ser Cys Glu  
 580 585 590

ES 2 530 694 T3

Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Gly Ala Trp Gly Pro Leu Cys Ser  
595 600 605

Ser His Trp Asp Met Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu Lys  
610 615 620

Cys Gly Val Ala Gln Ser Ile Pro Glu Gly Ala His Phe Gly Lys Gly  
625 630 635 640

Ala Gly Gln Val Trp Ser His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Glu  
645 650 655

His Ile Gly Asp Cys Leu Met Thr Ala Leu Gly Ala Pro Thr Cys Ser  
660 665 670

Glu Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr  
675 680 685

Leu Leu Pro Cys Ser Ser Leu Ser Pro Val Gln Thr Thr Ser Ser Thr  
690 695 700

Ile Pro Lys Glu Ser Glu Val Pro Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg  
705 710 715 720

Leu Val Gly Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Val Tyr His  
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Trp Asp Met Thr Asp  
740 745 750

Ala Asn Val Val Cys Lys Gln Leu Asp Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala  
755 760 765

Thr Gly Ser Ala Tyr Phe Gly Glu Gly Ala Gly Ala Ile Trp Leu Asp  
770 775 780

Glu Val Ile Cys Thr Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys His Ser  
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Arg His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val  
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Asn Glu Ala His Lys  
820 825 830

ES 2 530 694 T3

Glu Asn Cys Thr Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Thr Trp Gly  
 835 840 845

Ser Ile Gly Ser Ser Asn Met Ser Pro Thr Thr Val Gly Val Val Cys  
 850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Asn Gly Thr Val Lys Pro Ile Pro Ser  
 865 870 875 880

Asp Lys Thr Pro Ser Arg Pro Met Trp Val Asp Arg Val Gln Cys Pro  
 885 890 895

Lys Gly Val Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln  
 900 905 910

Arg Gln Ala Ser Pro Ser Ser Gln Glu Ser Trp Ile Ile Cys Asp Asn  
 915 920 925

Lys Ile Arg Leu Gln Glu Gly His Thr Asp Cys Ser Gly Arg Val Glu  
 930 935 940

Ile Trp His Lys Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp  
 945 950 955 960

Leu Asn Asp Ala Lys Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly Gln Ala  
 965 970 975

Val Lys Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Pro Gly Thr Gly Pro Ile  
 980 985 990

Trp Leu Asn Glu Ile Lys Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp  
 995 1000 1005

Cys Pro Ala Lys Pro Trp Ser His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu  
 1010 1015 1020

Asp Ala Ser Ile Gln Cys Leu Pro Lys Met Thr Ser Glu Ser His  
 1025 1030 1035

His Gly Thr Gly His Pro Thr Leu Thr Ala Leu Leu Val Cys Gly  
 1040 1045 1050

Ala Ile Leu Leu Val Leu Leu Ile Val Phe Leu Leu Trp Thr Leu  
 1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Ile Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu

ES 2 530 694 T3

	1070					1075						1080			
	Val	Leu	Ile	His	Gln	Val	Gln	Tyr	Gln	Glu	Met	Asp	Ser	Lys	Ala
		1085					1090					1095			
	Asp	Asp	Leu	Asp	Leu	Leu	Lys	Ser	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn	Asn	Ser
		1100					1105					1110			
	Tyr	Asp	Phe	Asn	Asp	Asp	Gly	Leu	Thr	Ser	Leu	Ser	Lys	Tyr	Leu
		1115					1120					1125			
	Pro	Ile	Ser	Gly	Ile	Lys	Lys	Gly	Ser	Phe	Arg	Gly	Thr	Leu	Arg
		1130					1135					1140			
	Arg	Lys	Met	Ile	Ile	Tyr	Asn	Pro	Leu	Arg	Leu	Glu	Phe	Lys	Lys
		1145					1150					1155			

Pro

5 <210> 28  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> Cebador de PCR

<400> 28  
 caccggaatg agcaaactca gaatgg 26

10 <210> 29  
 <211> 40  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

15 <220>  
 <223> Cebador de PCR

<400> 29  
 tgctccgga cctagtccag gcttcatca aggtatcta 40

20 <210> 30  
 <211> 3414  
 <212> ADN  
 <213> Mono verde africano

<400> 30

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60  
 tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggctttac ttctccgtgc ctgttttgc 120

ES 2 530 694 T3

accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtg 180  
 agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420  
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540  
 ggaacagtggt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600  
 gaatgtgga gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660  
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960  
 gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020  
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
 ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaaca acatgtggct gtttctaagt 1320  
 agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt 1380  
 acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagga acccagactg 1440  
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tgggctgaag aattccagtg tgagggacat ggtcccatc tttcactctg ccagtagca 1680  
 cccgccccag aaggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaacg 1800  
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860  
 tgccaacaac ttaaatgtgg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980

ES 2 530 694 T3

gattgtcctg taactgctct ggggtgettca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040  
 atttgcctcag gaaaccagtc ccaaacactg tctctcgtgca attcatcatc tctgggcccc 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgct gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
 ttggtaaagt gaggaggctg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgccc acgtgggtgag cagacagctg 2280  
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400  
 catggctggg ggacagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagttat ctgctcagag 2460  
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520  
 gttttttaca acggagcttg gggcagtggt ggcaggagta acatgtctga aacctctgtg 2580  
 ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aaatcaacc tgcattctta 2640  
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgctgtggc agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gacctcttc ctgttctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtgggtgt tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacct atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
 aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcaacga acaaaaacccc acaaaaagcc 3120  
 acaacaggtc agtcatcctt tattgcagtc ggaatccttg gaggttgtct ctgggtcatt 3180  
 ttcgtcgcac tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttctca 3240  
 agaggagaga acttagtcca ccaaattcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300  
 gatgatctgg acctaatgaa ttctcagga ggccattctg aggcacactg aaaaggaaaa 3360  
 tgggaattta taaccagtg agccttgaag ataccttgat gaagacctgg acta 3414

<210> 31

<211> 3348

<212> ADN

5 <213> Mono verde africano

<400> 31

ES 2 530 694 T3

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60  
tttgtcaact tgagtcacct cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120  
accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180

ES 2 530 694 T3

agtgggagag tggaaagtgaa aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420  
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtgaact tgcctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgaatg gagggaaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540  
 ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600  
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggg tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660  
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960  
 gccagtgagg gatttggaaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020  
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
 ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320  
 agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt 1380  
 acctgtgac actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagggg acccagactg 1440  
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag togtctctat cctgggggga gctcaacttt gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccate tttcactctg cccagtagca 1680  
 ccccgcccag aaggaacttg tagccacagc agggatggtg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaatc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860  
 tgccaacaac ttaaatgtgg agttgccctt totaccccag gaggagcaca ttttgaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980

ES 2 530 694 T3

gattgtcctg taactgetct ggggtcctca ctatgtcctt cagggcaagt ggctctgtga 2040  
 atttgctcag gaaaccagtc ccaaactctg tctctgtgca attcatcctc tctgggcccc 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgct gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
 ttggtaaattg gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgccc acgtggtgtg cagacagctg 2280  
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggg tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400  
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460  
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520  
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580  
 ggtgtgggtg gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aatcaacc tgcattctta 2640  
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgctgtggc agtgccctc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtgggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggctcagg gactggacct atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
 aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcaacga acaaaacccc acaaaaagcc 3120  
 acaacaggtc agtcatcctt tattgcagtc ggaatccttg gagttgttct cttggctcatt 3180  
 ttcgtcgcct tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttctca 3240  
 agaggagaga acttagtcca ccaaattcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300  
 gatgatctgg acctaatgaa ttctcagga ggccattctg aggcacac 3348

<210> 32  
 <211> 1116  
 <212> PRT  
 5 <213> Mono verde africano

<400> 32

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp  
 1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val  
 20 25 30

ES 2 530 694 T3

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

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly  
 275 280 285  
 Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys  
 290 295 300  
 Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn  
 305 310 315 320  
 Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln  
 325 330 335  
 Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys  
 340 345 350  
 His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly  
 355 360 365  
 Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly  
 370 375 380  
 Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg  
 385 390 395 400  
 Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys  
 405 410 415  
 Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala  
 420 425 430  
 Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser  
 435 440 445  
 Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His  
 450 455 460  
 Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu  
 465 470 475 480  
 Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly  
 485 490 495  
 Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala  
 500 505 510  
 Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu



ES 2 530 694 T3

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp  
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser  
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val  
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg  
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly  
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys  
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Pro Ala Ser Leu  
865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro  
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys  
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys  
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile  
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu  
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu  
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp  
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys  
995 1000 1005

ES 2 530 694 T3

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp  
 1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Asn Lys Thr Pro Gln  
 1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu  
 1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Val Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln  
 1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu  
 1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu  
 1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser  
 1100 1105 1110

Glu Ala His  
 1115

<210> 33

<211> 3348

<212> ADN

5 <213> Mono verde africano

<400> 33

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60  
 tttgtcaact tgagtcacct cactattgct gtggctttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120  
 accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180  
 agtgggagag tggaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420  
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtaact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540  
 ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600  
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660

ES 2 530 694 T3

atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960  
 gccagtgagg gatttggaaca catctggcct gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020  
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
 gctggcgtaa catgttctga tggatcaggt ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
 ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320  
 agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt 1380  
 acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagggg acccagactg 1440  
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag togtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tggactgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
 ccccgcccag aaggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860  
 tgccaacaac ttaaattgtg agttgcctt tctaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  
 gattgtcctg taactgctct ggggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040  
 atttgctcag gaaac'cagtc ccaaactcag tctctcgca attcatcctc tctgggccc 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgct gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
 ttggtaaattg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgccc acgtgggtgtg cagacagctg 2280  
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggg tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400  
 catggtctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460  
 ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520

ES 2 530 694 T3

gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccaactgtg 2580  
 ggtgtagtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aatcaactc tgcattctta 2640  
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgctgtggc agtgcaccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcggaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gacccacttc ctggtctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacc atatggctca atgaagtgaa gtgcgaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
 aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagat atttcaacgc gcaaaacccc acaaaaagcc 3120  
 acaacaggtc agtcatccct tattgcagtc ggaatccttg gagttgttct cttggccatt 3180  
 ttctgcat tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttcctca 3240  
 agaggagaga acttagtcca ccaaattcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300  
 gatgatctgg acctaataa ttctcagga ggccattctg aggcacac 3348

<210> 34

<211> 1116

<212> PRT

5 <213> Mono verde africano

<400> 34

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

ES 2 530 694 T3

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg  
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln  
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg  
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe  
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His  
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe  
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp  
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His  
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val  
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val  
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly  
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys  
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn  
305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln  
325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys



ES 2 530 694 T3

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys  
 595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu  
 610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys  
 625 630 635 640

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu  
 645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys  
 660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln  
 675 680 685

Thr Leu Ser Ser Arg Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr  
 690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg  
 705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His  
 725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp  
 740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala  
 755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp  
 770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser  
 785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val  
 805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg  
 820 825 830

ES 2 530 694 T3

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly  
 835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys  
 850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu  
 865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro  
 885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys  
 900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys  
 915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile  
 930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu  
 945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu  
 965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp  
 980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Glu Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys  
 995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp  
 1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln  
 1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu  
 1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln  
 1055 1060 1065

ES 2 530 694 T3

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu  
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu  
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser  
1100 1105 1110

Glu Ala His  
1115

<210> 35  
<211> 3453  
<212> ADN

5 <213> Mono verde africano

<400> 35

ES 2 530 694 T3

atgagcaaac	tcagaatggt	gctacttgaa	gactctggat	ctgctgacgt	cagaagacat	60
tttgtcaact	tgagtcacct	cactattgct	gtggtcttac	ttctccgtgc	ctgttttgtc	120
accagttctc	ttggaggaac	aaccaaggag	ctgaggctag	tggatggtga	aaacaagtgt	180
agtgggagag	tggaagtgaa	aatccaggag	gagtggggaa	cggtgtgtaa	taatggctgg	240
agcatggaag	cagtctctgt	gatttgtaac	cagctgggat	gtccaactgc	tatcaaagcc	300
actggatggg	ctaattccag	tgcaggttct	ggacgcattt	ggatggatca	tgtttcttgt	360
cgtgggaatg	agtcagctct	ttgggactgc	aaacatgatg	gatggggaaa	gcatagtaac	420
tgtactcacc	aacaagatgc	tggagtaact	tgctcagatg	gatccgattt	ggaaatgagg	480
ctgacgaatg	gagggaaat	gtgttctgga	agaatagaga	tcaaattcca	aggacagtgg	540
ggaacagtgt	gtgatgataa	cttcaacatc	aatcatgcat	ctgtggtttg	taaacaactt	600
gaatgtggaa	gtgctgtcag	tttctctggt	tcagctaatt	ttggagaagg	ctctggacca	660
atctggtttg	atgatcttat	atgcaacgga	aatgagtcag	ctctctggaa	ctgcaaacat	720
caaggatggg	gaaagcataa	ctgtgatcat	gctgaggatg	ctggagtgat	ttgctcaaag	780
ggagcagatc	tgagcctgag	actggtagat	ggagtcaactg	aatgttcagg	aagattagaa	840
gtgagattcc	aaggagaatg	gggacaata	tgtgatgacg	gctgggacag	tcatgatgct	900
gctgtggcat	gcaagcaact	gggatgtcca	actgctatca	cggccattgg	tcgagttaac	960
gccagtgagg	gatttggaca	catctggcct	gacagtgttt	cttgccaggg	acatgaacct	1020
gcggtctggc	aatgtaaaca	ccatgaatgg	ggaaagcatt	attgcaatca	caatgaagat	1080
gctggcgtaa	catgttctga	tggatcagat	ctggagctaa	gacttagagg	tggaggcagc	1140
cgctgtgctg	ggacagttga	ggtggagatt	cagagactgt	tagggaaggt	gtgtgacaga	1200

ES 2 530 694 T3

ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320  
 agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg gggaggactt 1380  
 acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagggg acccagactg 1440  
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatgggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tggactgaag aattccagtg tgagggacat gaggccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
 ccccgcccag aaggaacttg tagccacagc agggatggtg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaattc gcttgggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaàgatgc ccacgttctt 1860  
 tgccaacaac ttaaatgtgg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatggtt cactgcaactg ggactgagca gcacatggga 1980  
 gattgtcctg taactgctct ggggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggctctgtga 2040  
 atttgctcag gaaaccagt ccaaacactg tctctgtgca attcatcctc tctgggccc 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgtg gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
 ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgccc acgtgggtgtg cagacagctg 2280  
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400  
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagttat ctgctcagag 2460  
 ttcattgctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520  
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580  
 ggtgtagtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaaggga aatcaactc tgcattctta 2640  
 gacaaggcca tgccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgctgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttccctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtgggtgt tcaacaactt ggctgtggtc cagcttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacc atatggetca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000

ES 2 530 694 T3

aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
aaggaagacy ctgcagtgaa ttgcacagat atttcaacgc gcaaaaacccc acaaaaagcc 3120  
acaacaggtc agtcatcctt tattgcagtc ggaatccttg gagttgttct cttggccatt 3180  
ttcgtcgcac tattcttgac tcaaaagcga agacagagac agcggcttac agtttcctca 3240  
agaggagaga acttagteca ccaaattcaa taccgggaga tgaattcttg cctgaatgca 3300  
gatgatctgg acctaatgaa ttcttcagaa aattccaatg agtcagctga tttcaatgct 3360  
gctgaactaa tttctgtgtc taaatttctt cctatttctg gaatggaaaa ggaggccatt 3420  
ctgaggcaca ctgaaaagga aaatgggaat tta 3453

<210> 36

<211> 1151

<212> PRT

5 <213> Mono verde africano

<400> 36

ES 2 530 694 T3

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp  
 1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val  
 20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr  
 35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val  
 50 55 60

Glu Val Lys Ile Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp  
 65 70 75 80

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr  
 85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg  
 100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
 115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln  
 130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg



ES 2 530 694 T3

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys  
 405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala  
 420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser  
 435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His  
 450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu  
 465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly  
 485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala  
 500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu  
 515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Thr Glu Glu  
 530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala  
 545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val  
 565 570 575

Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys  
 580 585 590

Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys  
 595 600 605

Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu  
 610 615 620

Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys  
 625 630 635 640

ES 2 530 694 T3

Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu  
645 650 655

Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys  
660 665 670

Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln  
675 680 685

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr  
690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg  
705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His  
725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp  
740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala  
755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp  
770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser  
785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val  
805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg  
820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly  
835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys  
850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu  
865 870 875 880

ES 2 530 694 T3

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro  
885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys  
900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys  
915 920 925

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile  
930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu  
945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu  
965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp  
980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys  
995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp  
1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln  
1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Ser Leu Ile Ala Val Gly Ile Leu  
1040 1045 1050

Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu Thr Gln  
1055 1060 1065

Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu  
1070 1075 1080

Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu  
1085 1090 1095

Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Glu Asn Ser Asn  
1100 1105 1110

Glu Ser Ala Asp Phe Asn Ala Ala Glu Leu Ile Ser Val Ser Lys

ES 2 530 694 T3

<b>1115</b>						<b>1120</b>						<b>1125</b>							
<b>Phe</b>	<b>Leu</b>	<b>Pro</b>	<b>Ile</b>	<b>Ser</b>	<b>Gly</b>	<b>Met</b>	<b>Glu</b>	<b>Lys</b>	<b>Glu</b>	<b>Ala</b>	<b>Ile</b>	<b>Leu</b>	<b>Arg</b>	<b>His</b>					
<b>1130</b>						<b>1135</b>					<b>1140</b>								
<b>Thr</b>	<b>Glu</b>	<b>Lys</b>	<b>Glu</b>	<b>Asn</b>	<b>Gly</b>	<b>Asn</b>	<b>Leu</b>												
<b>1145</b>						<b>1150</b>													

<210> 37

<211> 3273

<212> ADN

5 <213> Mono verde africano

<400> 37

ES 2 530 694 T3

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60  
 tttgtcaact tgagtccectt cactattgct gtggctcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120  
 accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatgggtga aaacaagtgt 180  
 agtgggagag tggaagtgaa aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420  
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtaact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgaatg gagggaaatg gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540  
 ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taacaactt 600  
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660  
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960  
 gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020  
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
 ggctggggac tgaaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320

ES 2 530 694 T3

agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtggaactt 1380  
 acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagga acccagactg 1440  
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tggactgaag aattccagtg tgaggacat gagtccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
 cccgccag aaggaactg tagccacagc agggatggtg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaatc gcttgggtaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtga gctcaaacg 1800  
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860  
 tgccaacaac ttaaatgtgg agttgcctt tctaccccag gaggagcaca ttttgaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  
 gattgtcctg taactgctct ggggtcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040  
 atttgcctcag gaaaccagtc ccaaactctg tctctgtgca attcatcctc tctgggccc 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttgc 2160  
 ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagttagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtgggtgtg cagacagctg 2280  
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gcatttggca gtgccattca 2400  
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460  
 ttcatgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520  
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580  
 ggtgtagtgt gcaggcagct gggtgtgca gacaaagga aatcaactc tgcacttta 2640  
 gacaaggcca tgteccattc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgtgtggc agtgcccac atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctggtctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtgggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacct atatggctca atgaagtga gtgcaaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgtggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
 aaggaagacg ctgcggtgaa ttgcacagat atttcaacgc gcaaaacccc acaaaaagcc 3120  
 acaacggtt cctcaagagg agagaactta gtccacaaa ttcaataccg ggagatgaat 3180

ES 2 530 694 T3

tcttgectga atgcagatga tctgaacctg atgaattcct caggaggcca ttctgaggca 3240  
 cactgaaaag gaaaatggga atttataacc cag 3273

<210> 38  
 <211> 1081  
 <212> PRT  
 5 <213> Mono verde africano  
 <400> 38

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

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe  
 195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp  
 210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His  
 225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val  
 245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val  
 260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly  
 275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys  
 290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn  
 305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln  
 325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys  
 340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly  
 355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly  
 370 375 380

Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg  
 385 390 395 400

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys  
 405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala  
 420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser

ES 2 530 694 T3

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

ES 2 530 694 T3

Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr  
 690 695 700

Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg  
 705 710 715 720

Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His  
 725 730 735

Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp  
 740 745 750

Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala  
 755 760 765

Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp  
 770 775 780

Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser  
 785 790 795 800

His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val  
 805 810 815

Ile Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Thr Ser Glu Ala Ser Arg  
 820 825 830

Glu Ala Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly  
 835 840 845

Ser Val Gly Arg Ser Asn Met Ser Glu Thr Thr Val Gly Val Val Cys  
 850 855 860

Arg Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Lys Ile Asn Ser Ala Ser Leu  
 865 870 875 880

Asp Lys Ala Met Ser Ile Pro Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro  
 885 890 895

Lys Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Glu Lys  
 900 905 910

Arg Leu Ala Arg Pro Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Asp Asn Lys  
 915 920 925

ES 2 530 694 T3

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile  
 930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu  
 945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu  
 965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp  
 980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys  
 995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp  
 1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Asp Ile Ser Thr Arg Lys Thr Pro Gln  
 1025 1030 1035

Lys Ala Thr Thr Val Ser Ser Arg Gly Glu Asn Leu Val His Gln  
 1040 1045 1050

Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu  
 1055 1060 1065

Asn Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser Glu Ala His  
 1070 1075 1080

<210> 39

<211> 3279

<212> ADN

5 <213> Mono verde africano

<400> 39

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60  
 ttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggctcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120  
 accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtggt 180  
 agtgggagag tggaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420

ES 2 530 694 T3

tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540  
 ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacgtc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600  
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggg tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660  
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca cgcatttg togagttaac 960  
 gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgtt cttgccaggg acatgaacct 1020  
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaagggt gtgtgacaga 1200  
 ggctggggac tgaaagaagc tgatgtgggt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320  
 agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt 1380  
 acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacaggga acccagactg 1440  
 gttggaggag acattcctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
 ccccgcccag aaggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaatc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860  
 tgccaacaac ttaaattgtg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttgaaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  
 gattgtcctg taactgctct ggggtgettca ctatgtcctt cagggaaggt ggcctctgta 2040  
 atttgctcag gaaaccagtc ccaaactctg tcctctgca attcctcctc tctgggcccc 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgtc gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
 ttggtaaagt gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgccc acgtgggtgtg cagacagctg 2280

ES 2 530 694 T3

ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gtatttgcca gtgccattca 2400  
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagttat ctgctcagag 2460  
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520  
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580  
 ggtgtgggtg gcaggcagct gggctgtgca gacaaagggg aatcaactc tgcattctta 2640  
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgctgtggc agtgccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctgaggaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttcctgg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtgggtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacce atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
 aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagca caaaaaattt caacgcacaa aaccccacaa 3120  
 aaagccacaa cagtttcctc aagaggagag aacttagtcc accaaaattca ataccggggag 3180  
 atgaattctt gcctgaatgc agatgatctg gacctaatga attcctcagg aggccattct 3240  
 gaggcacact gaaaaggaaa atgggaattt ataaccag 3279

<210> 40

<211> 1083

<212> PRT

5 <213> Mono verde africano

<400> 40



Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr  
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg  
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln  
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg  
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe  
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Val Asn His  
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe  
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp  
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His  
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val  
245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val  
260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly  
275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys  
290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn  
305 310 315 320

ES 2 530 694 T3

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln  
 325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys  
 340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly  
 355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly  
 370 375 380

Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg  
 385 390 395 400

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys  
 405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala  
 420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser  
 435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His  
 450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu  
 465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly  
 485 490 495

Asp Thr Trp Gly Ser Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala  
 500 505 510

Ser Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Val Ser Ile Leu  
 515 520 525

Gly Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu  
 530 535 540

Phe Gln Cys Glu Gly His Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Pro Val Ala  
 545 550 555 560

Pro Arg Pro Glu Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val  
 565 570 575  
 Cys Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Lys Thr Pro Cys  
 580 585 590  
 Glu Gly Arg Val Glu Leu Lys Thr Leu Asn Ala Trp Gly Ser Leu Cys  
 595 600 605  
 Asn Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Leu Cys Gln Gln Leu  
 610 615 620  
 Lys Cys Gly Val Ala Leu Ser Thr Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys  
 625 630 635 640  
 Gly Asn Gly Gln Val Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu  
 645 650 655  
 Gln His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Ser Leu Cys  
 660 665 670  
 Pro Ser Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln  
 675 680 685  
 Thr Leu Ser Ser Cys Asn Ser Ser Ser Leu Gly Pro Thr Arg Pro Thr  
 690 695 700  
 Ile Pro Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Glu Ser Gly Gln Leu Arg  
 705 710 715 720  
 Leu Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Val Glu Ile Tyr His  
 725 730 735  
 Glu Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp  
 740 745 750  
 Ala His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Glu Ala Ile Asn Ala  
 755 760 765  
 Thr Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp  
 770 775 780  
 Glu Met Lys Cys Asn Gly Lys Glu Ser Arg Ile Trp Gln Cys His Ser  
 785 790 795 800  
 His Gly Trp Gly Gln Gln Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val



ES 2 530 694 T3

His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Cys Leu Asn-Ala Asp  
1055 1060 1065

Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly His Ser Glu Ala His  
1070 1075 1080

<210> 41

<211> 3354

<212> ADN

5 <213> Mono verde africano

<400> 41

ES 2 530 694 T3

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60  
 tttgtcaact tgagtccctt cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120  
 accagttctc ttggagggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180  
 agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggaegcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420  
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgotcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgaatg gaggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540  
 ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taacaactt 600  
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggt tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660  
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960  
 gccagtgagg gatttggaca catctggctt gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020  
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
 ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320  
 agctgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg ggggtggactt 1380

ES 2 530 694 T3

acctgtgatc actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagggga acccagactg 1440  
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtcccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
 ccccgcccag aaggaacttg tagccacagc agggatggtg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaattc gcttggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  
 cttaatgcct ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860  
 tgccaacaac ttaaattgtg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  
 gattgtcctg taactgctct gggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggctctgta 2040  
 atttgctcag gaaaccagt ccaaactctg tctcgtgca attcatcatc tctgggecca 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgct gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
 ttggtaaatg gaggaggtcg ctgtgctggg agagtagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtggtgtg cagacagctg 2280  
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gtatttggca gtgccattca 2400  
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460  
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520  
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580  
 ggtgtgggtg gcaggcagct gggctgtgca gacaaagga aatcaactc tgcattctta 2640  
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgctgtggc agtgcccatc atctccatgg gagaagagac tggccaggcc ctcgaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctgttctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacct atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
 aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagca caaaaaattt caacgcacaa aaccacaaa 3120  
 aaagccacaa caggtcggtc attccttatt gcattcggaa tccttggagt tgttctcttg 3180

ES 2 530 694 T3

```
gccattttcg tcgcattatt cttgactcaa aagcgaagac agagacagcg gcttacagtt 3240
tccccaagag gagagaactt agtccaccaa attcaatacc gggagatgaa ttcttgccctg 3300
aatgcagatg atctggacct aatgaattcc tcaggaggcc attctgaggc acac 3354
```

<210> 42

<211> 1118

<212> PRT

5 <213> Mono verde africano

<400> 42

ES 2 530 694 T3

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp  
1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val  
20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr  
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val  
50 55 60

Glu Val Lys Ile Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp  
65 70 75 80

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr  
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg  
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln  
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg  
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe  
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His  
180 185 190

ES 2 530 694 T3

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe  
 195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp  
 210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His  
 225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val  
 245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val  
 260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly  
 275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys  
 290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn  
 305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln  
 325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys  
 340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly  
 355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly  
 370 375 380

Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg  
 385 390 395 400

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys  
 405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala  
 420 425 430

ES 2 530 694 T3

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



ES 2 530 694 T3

Met Arg Leu Gln Glu Gly Pro Thr Ser Cys Ser Gly Arg Val Glu Ile  
 930 935 940

Trp His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu  
 945 950 955 960

Asn Asp Ala Gln Val Val Cys Gln Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu  
 965 970 975

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp  
 980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys  
 995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp  
 1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Ala Gln Lys Ile Ser Thr His Lys Thr  
 1025 1030 1035

Pro Gln Lys Ala Thr Thr Gly Arg Ser Phe Leu Ile Ala Phe Gly  
 1040 1045 1050

Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu  
 1055 1060 1065

Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg  
 1070 1075 1080

Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser  
 1085 1090 1095

Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Gly Gly  
 1100 1105 1110

His Ser Glu Ala His  
 1115

- <210> 43
- <211> 3459
- <212> ADN
- <213> Mono verde africano
- <400> 43

5

atgagcaaac tcagaatggt gctacttgaa gactctggat ctgctgacgt cagaagacat 60

ES 2 530 694 T3

tttgtcaact tgagtccect cactattgct gtggtcttac ttctccgtgc ctgttttgtc 120  
 accagttctc ttggaggaac aaccaaggag ctgaggctag tggatggtga aaacaagtgt 180  
 agtgggagag tggaaagtga aatccaggag gagtgggaa cgggtgtgaa taatggctgg 240  
 agcatggaag cagtctctgt gatttgtaac cagctgggat gtccaactgc tatcaaagcc 300  
 actggatggg ctaattccag tgcaggttct ggacgcattt ggatggatca tgtttcttgt 360  
 cgtgggaatg agtcagctct ttgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcatagtaac 420  
 tgtactcacc aacaagatgc tggagtgact tgctcagatg gatccgattt ggaaatgagg 480  
 ctgacgaatg gagggaatat gtgttctgga agaatagaga tcaaattcca aggacagtgg 540  
 ggaacagtgt gtgatgataa cttcaacatc aatcatgcat ctgtggtttg taaacaactt 600  
 gaatgtggaa gtgctgtcag tttctctggg tcagctaatt ttggagaagg ctctggacca 660  
 atctggtttg atgatcttat atgcaacgga aatgagtcag ctctctggaa ctgcaaacat 720  
 caaggatggg gaaagcataa ctgtgatcat gctgaggatg ctggagtgat ttgctcaaag 780  
 ggagcagatc tgagcctgag actggtagat ggagtcactg aatgttcagg aagattagaa 840  
 gtgagattcc aaggagaatg ggggacaata tgtgatgacg gctgggacag tcatgatgct 900  
 gctgtggcat gcaagcaact gggatgtcca actgctatca ccgccattgg tcgagttaac 960  
 gccagtgagg gatttggaca catctggott gacagtgttt cttgccaggg acatgaacct 1020  
 gcggtctggc aatgtaaaca ccatgaatgg ggaagcatt attgcaatca caatgaagat 1080  
 gctggcgtaa catgttctga tggatcagat ctggagctaa gacttagagg tggaggcagc 1140  
 cgctgtgctg ggacagttga ggtggagatt cagagactgt tagggaaggt gtgtgacaga 1200  
 ggctggggac tgaagaagc tgatgtggtt tgcaggcagc tgggatgtgg atctgcactc 1260  
 aaaacatcct atcaagtata ctccaaaatc caggcaacaa acatgtggct gtttctaagt 1320  
 agetgtaacg gaaatgaaac ttctctttgg gactgcaaga actggcaatg gggaggactt 1380  
 acctgtgac actatgaaga agccaaaatt acctgctcag cccacagggg acccagactg 1440  
 gttggaggag acattccctg ttctggacgc gttgaagtga agcatggtga cacatggggc 1500  
 tccgtctgtg attcggattt ctctctggaa gctgccagcg ttctatgcag ggaattacag 1560  
 tgtggcacag tcgtctctat cctgggggga gctcactttg gagagggaaa tggacagatc 1620  
 tgggctgaag aattccagtg tgagggacat gagtccatc tttcactctg cccagtagca 1680  
 ccccgccag aaggaacttg tagccacagc agggatgttg gagtagtctg ctcaagatac 1740  
 acagaaattc gcttgggtgaa tggcaagacc ccatgtgagg gcagagtgga gctcaaaacg 1800  
 cttaatgect ggggatccct ctgcaactct cactgggaca tagaagatgc ccacgttctt 1860

ES 2 530 694 T3

tgccaacaac ttaaagtgtg agttgccctt tctaccccag gaggagcaca ttttggaaaa 1920  
 ggaaatggtc aggtctggag gcatatgttt cactgcactg ggactgagca gcacatggga 1980  
 gattgtcctg taactgctct gggtgcttca ctatgtcctt cagggcaagt ggcctctgta 2040  
 atttgctcag gaaaccagtc ccaaacactg tctctgtgca attcatcctc tctgggceca 2100  
 acaaggccta ccattccaga agaaagtgtt gtggcctgca tagagagtgg tcaacttcgc 2160  
 ttggtaaagt gaggaggtcg ctgtgctggg agagttagaga tttatcatga gggctcctgg 2220  
 ggcaccatct gtgatgacag ctgggacctg agcgatgcc acgtggtgtg cagacagctg 2280  
 ggctgtggag aggccattaa tgccactggt tctgctcatt ttggagaagg aacagggccc 2340  
 atctggctgg atgagatgaa atgcaatgga aaagaatccc gtatttggca gtgccattca 2400  
 catggctggg ggcagcaaaa ctgcaggcac aaggaggatg caggagtat ctgctcagag 2460  
 ttcattgtctc tgagactgac cagtgaagcc agcagagagg cctgtgcagg gcgtctagaa 2520  
 gttttttaca acggagcttg gggcagtgtt ggcaggagta acatgtctga aaccactgtg 2580  
 ggtgtggtgt gcaggcagct gggctgtgca gacaaagggg aatcaactc tgcattctta 2640  
 gacaaggcca tgtccattcc catgtgggtg gacaatgttc agtgtccaaa aggacctgac 2700  
 acgctgtggc agtgccctc atctccatgg gagaagagac tggccagggc ctggaggag 2760  
 acctggatca catgtgacaa caagatgaga ctacaagaag gaccacttc ctggtctgga 2820  
 cgtgtggaga tctggcacgg aggttctctg gggacagtgt gtgatgactc ctgggacttg 2880  
 aacgatgctc aggtggtgtg tcaacaactt ggctgtggtc cagctttgaa agcattcaaa 2940  
 gaagcagagt ttggtcaggg gactggacce atatggctca atgaagtgaa gtgcaaaggg 3000  
 aatgagtctt ccttgtggga ttgtcctgcc agacgctggg gccacagtga gtgtggacac 3060  
 aaggaagacg ctgcagtgaa ttgcacagca caaaaaattt caacgcacaa aaccccacaa 3120  
 aaagccacaa caggtcagtc attccttatt gcattcggaa tcttggagt tgttctcttg 3180  
 gccattttcg tgcattatt cttgactcaa aagcgaagac agagacagcg gcttacagtt 3240  
 tctcaagag gagagaactt agtcaccaa attcaatacc gggagatgaa ttcttgctg 3300  
 aatgcagatg atctggacct aatgaattcc tcagaaaatt ccaatgagtc agctgatttc 3360  
 aatgctgctg aactaatttc tgtgtctaaa tttcttcta tttctggaat ggaaaaggag 3420  
 gccattctga ggcacactga aaaggaaaat ggggaattta 3459

<210> 44  
 <211> 1153  
 <212> PRT

5 <213> Mono verde africano

<400> 44

ES 2 530 694 T3

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Leu Leu Glu Asp Ser Gly Ser Ala Asp  
1 5 10 15

Val Arg Arg His Phe Val Asn Leu Ser Pro Phe Thr Ile Ala Val Val  
20 25 30

Leu Leu Leu Arg Ala Cys Phe Val Thr Ser Ser Leu Gly Gly Thr Thr  
35 40 45

Lys Glu Leu Arg Leu Val Asp Gly Glu Asn Lys Cys Ser Gly Arg Val  
50 55 60

Glu Val Lys Ile Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp  
65 70 75 80

Ser Met Glu Ala Val Ser Val Ile Cys Asn Gln Leu Gly Cys Pro Thr  
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Thr Gly Trp Ala Asn Ser Ser Ala Gly Ser Gly Arg  
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Ser Asn Cys Thr His Gln  
130 135 140

Gln Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Asp Leu Glu Met Arg  
145 150 155 160

Leu Thr Asn Gly Gly Asn Met Cys Ser Gly Arg Ile Glu Ile Lys Phe  
165 170 175

Gln Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asn His  
180 185 190

Ala Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe  
195 200 205

Ser Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp  
210 215 220

Asp Leu Ile Cys Asn Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His  
225 230 235 240

Gln Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Ala Gly Val  
 245 250 255

Ile Cys Ser Lys Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val  
 260 265 270

Thr Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Arg Phe Gln Gly Glu Trp Gly  
 275 280 285

Thr Ile Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser His Asp Ala Ala Val Ala Cys  
 290 295 300

Lys Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Ile Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn  
 305 310 315 320

Ala Ser Glu Gly Phe Gly His Ile Trp Leu Asp Ser Val Ser Cys Gln  
 325 330 335

Gly His Glu Pro Ala Val Trp Gln Cys Lys His His Glu Trp Gly Lys  
 340 345 350

His Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly  
 355 360 365

Ser Asp Leu Glu Leu Arg Leu Arg Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly  
 370 375 380

Thr Val Glu Val Glu Ile Gln Arg Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg  
 385 390 395 400

Gly Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys  
 405 410 415

Gly Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Val Tyr Ser Lys Ile Gln Ala  
 420 425 430

Thr Asn Met Trp Leu Phe Leu Ser Ser Cys Asn Gly Asn Glu Thr Ser  
 435 440 445

Leu Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Thr Cys Asp His  
 450 455 460

Tyr Glu Glu Ala Lys Ile Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu  
 465 470 475 480

Val Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly

ES 2 530 694 T3

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

ES 2 530 694 T3

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

ES 2 530 694 T3

Lys Ala Phe Lys Glu Ala Glu Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp  
 980 985 990

Leu Asn Glu Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys  
 995 1000 1005

Pro Ala Arg Arg Trp Gly His Ser Glu Cys Gly His Lys Glu Asp  
 1010 1015 1020

Ala Ala Val Asn Cys Thr Ala Gln Lys Ile Ser Thr His Lys Thr  
 1025 1030 1035

Pro Gln Lys Ala Thr Thr Gly Gln Ser Phe Leu Ile Ala Phe Gly  
 1040 1045 1050

Ile Leu Gly Val Val Leu Leu Ala Ile Phe Val Ala Leu Phe Leu  
 1055 1060 1065

Thr Gln Lys Arg Arg Gln Arg Gln Arg Leu Thr Val Ser Ser Arg  
 1070 1075 1080

Gly Glu Asn Leu Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser  
 1085 1090 1095

Cys Leu Asn Ala Asp Asp Leu Asp Leu Met Asn Ser Ser Glu Asn  
 1100 1105 1110

Ser Asn Glu Ser Ala Asp Phe Asn Ala Ala Glu Leu Ile Ser Val  
 1115 1120 1125

Ser Lys Phe Leu Pro Ile Ser Gly Met Glu Lys Glu Ala Ile Leu  
 1130 1135 1140

Arg His Thr Glu Lys Glu Asn Gly Asn Leu  
 1145 1150

<210> 45

<211> 3345

<212> ADN

5 <213> Canis familiaris

<400> 45

ES 2 530 694 T3

```
atgagcaaac tcagaatggt cccacatgga aactctggat ctgctgactt tagaagatgt    60
tttgcctctt tgtgtccctc tgctgtggct gtggtctcca ttctcagtac ctgtttgatg    120
accaattctc ttgggagagc agataaagag atgaggctaa cggatggatga agacaattgc    180
```

ES 2 530 694 T3

tccgggagag tggaaagtga agtccaggag gagtggggaa cgggtgtgtaa taatggctgg 240  
ggcatggatg aagtctctgt gatttgcagg cagctgggat gtcccactgc tatcaaagcc 300  
gctggatggg ccaattccag ggcaggtctt ggacgaatct ggatggatca tgtttcttgt 360  
cgagggaaatg aatctgctct ctgggactgc aaacatgatg gatggggaaa gcacaactgc 420  
agtcatcaac aggatgctgg agtaacctgt tcagatggat ccagtttggga gatgaggttg 480  
atgaacggcg gaaaccagtg ttctggcaga atagaagtca agttccaggg acagtgggga 540  
acagtgtgtg atgacaactt caacatagat catgcttctg tggtttgtaa acagctcgaa 600  
tgtggaagtg ctgtcagttt ctctggttca gctaattttg gagaaggttc tgggccaatc 660  
tggtttgatg atcttgtgtg cagtggaaat gagtcagctc tctggaactg caagcatgaa 720  
ggatggggaa agcataactg tgatcacgct gaggatggtg gagtgatttg cttggatgga 780  
gcagatctga gcctgagact ggtagatgga gtcactgaat gttcaggaag attagaagta 840  
aaattccaag gggaaatgggg gacagtgtgt gatgatggct gggatagtaa tgatgctgct 900  
gtggtatgta aacaactggg atgcccaact gctgtcaccg ccattggteg agttaacgcc 960  
agtgagggaa gtggacacat ttggcttgac aatctttcct gccaaaggaga cgaatctgct 1020  
ctctggcagt gtagacacca tgaatgggga aagcattatt gcaatcataa tgaagatgct 1080  
ggtgtgacat gttctgatgg atcagacctg gagctgagac ttgtcgggtg aggcagccgc 1140  
tgtgctggga cagtggaggt taaaattcag aaactgctag ggaaagtatg tgatagaggc 1200  
tggggactga aagaagccga tgtggtttgc aagcagttgg gatgtggatc tgctctcaaa 1260  
acgtcctatc agcgttatte caaagttaag gcaacaaaaca catggctggt ttaagccgc 1320  
tgtagtggca atgaaacttc cctttgggac tgcaagaact ggcagtgggg tggactgagc 1380  
tgtgatcact atgaagaagc taaagttacc tgctcagccc acaggggaacc cagactagtt 1440  
ggaggagata ttccctgctc tggctgtgtt gaagtgaac atggtgacac atggggcacc 1500  
gtctgtgatt ccgacttctc tttggaagct gccagtgtgc tgtgcagaga gttacagtgt 1560  
ggcacagtca tctccatcct agggggagct cactttggag aaggaaatgg acagatctgg 1620  
gctgaagaat tccagtgtga ggggcaggag tccatcttt cactctgttc agtagcctct 1680  
cgcccagatg ggacctgtag ccacagcagg gatgttgagg tcgtctgctc aagatacacg 1740  
gaaatccgct tggatgaatgg ccagtcccg tgtgaaggaa gagtggagct caagatactt 1800  
gggaaactgg gatccctctg caactctcac tgggacatag aagatgccc tgtttctgt 1860  
cagcagctca aatgtggagt tgcctttctc attccgggag gagcacattt tgggaaagga 1920  
agtggtcaga tctggaggca catgtttcac tgcactggga ctgagcagca catgggagat 1980  
tgccctgtaa ctgctctggg cgcgacgctg tgttctgctg ggcaagtggc ctctgtaatc 2040

ES 2 530 694 T3

tgctcaggaa atcagagcca gacgctatcc ccatgcaatt caacatctct ggacccaaca 2100  
 agatctacca cttcggaaga aagtgctggt gcttgtattg cgagtgggca acttcgcctg 2160  
 gtaaagtggag gcggtcgctg tgctgggaga atagaggtct accatgaggg ctcttggggc 2220  
 accatctgtg atgacagctg ggacctgagt gatgcccattg tgggtgtgcag acagctgggc 2280  
 tgtggagtgg ccattaatgc cactggctct gctcattttg gggaaggaac agggcccatc 2340  
 tggttgacg aggtgaactg taatggaaag gaatctcata tctggcaatg ccgctcacac 2400  
 ggctgggggc aacacaactg cagacataag gaggatgcag gagttatctg ctccagagttc 2460  
 atgtctctca gactgattga tgaaccagc agagacatct gtgcagggcg tcttgaagtt 2520  
 ttttacaatg gagcttgggg cagcgttggc aagagtaata tgtctgcaac cactgtggag 2580  
 gtggtatgca ggcaactggg ttgtgcagac aaggggagca tcaaccctgc atcttcagac 2640  
 aagcccatgt ccaggcacat gtgggtggac aatgtccagt gtccaaaagg acctgacacc 2700  
 ttatggcagt gcccatcttc tccatggaaa cagagagtgg ccagttcttc agaggagacc 2760  
 tggatcacat gtgccaacaa gataagactt caagaaggaa cctctaattg ttctggacgt 2820  
 gtggagctct ggacacggagg ttcttggggg acagtgtgag atgactcctg ggaccttgaa 2880  
 gatgcacaag tgggtgtgctg acagctgggc tgtggcccag cattagaagc actaaaagag 2940  
 gcagcatttg gtcaggggac tgggcctata tggctcaatg acgtgaagtg caaaggggat 3000  
 gagtcttctt tgtgggattg tctgctaga ccttgggggc acagtgactg tggccacaag 3060  
 gaagatgctg ctgtgaggtg ctccagaaatt gcaatggccc aaagatcctc aaatcctaga 3120  
 ggtcactcat cccttgttgc attggggatc tttgggtgca ttcttctggc ctttctcctc 3180  
 gctctcctct tgtggactca aaggcgaaga cagcaacagc ggcttacagt ttccttgaga 3240  
 ggagagaatt ctgtccacca aattcaatac cgggaaatga attcttccct gaaagcagat 3300  
 gatctggacg tgctgacttc ctccagaagac cattttgagg tacac 3345

<210> 46  
 <211> 1115  
 <212> PRT  
 5 <213> Canis familiaris

<400> 46

Met Ser Lys Leu Arg Met Val Pro His Gly Asn Ser Gly Ser Ala Asp  
 1 5 10 15

Phe Arg Arg Cys Phe Ala Leu Leu Cys Pro Ser Ala Val Ala Val Val  
 20 25 30

ES 2 530 694 T3

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

Lys Glu Met Arg Leu Thr Asp Gly Glu Asp Asn Cys Ser Gly Arg Val  
50 55 60

Glu Val Lys Val Gln Glu Glu Trp Gly Thr Val Cys Asn Asn Gly Trp  
65 70 75 80

Gly Met Asp Glu Val Ser Val Ile Cys Arg Gln Leu Gly Cys Pro Thr  
85 90 95

Ala Ile Lys Ala Ala Gly Trp Ala Asn Ser Arg Ala Gly Ser Gly Arg  
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Ser His Gln Gln  
130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Ser Leu Glu Met Arg Leu  
145 150 155 160

Met Asn Gly Gly Asn Gln Cys Ser Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln  
165 170 175

Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asp His Ala  
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser  
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp  
210 215 220

Leu Val Cys Ser Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu  
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile  
245 250 255

Cys Leu Asp Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Thr  
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr

ES 2 530 694 T3

	275		280		285														
Val	Cys	Asp	Asp	Gly	Trp	Asp	Ser	Asn	Asp	Ala	Ala	Val	Val	Cys	Lys				
	290					295						300							
Gln	Leu	Gly	Cys	Pro	Thr	Ala	Val	Thr	Ala	Ile	Gly	Arg	Val	Asn	Ala				
305					310					315					320				
Ser	Glu	Gly	Ser	Gly	His	Ile	Trp	Leu	Asp	Asn	Leu	Ser	Cys	Gln	Gly				
				325					330					335					
Asp	Glu	Ser	Ala	Leu	Trp	Gln	Cys	Arg	His	His	Glu	Trp	Gly	Lys	His				
			340					345						350					
Tyr	Cys	Asn	His	Asn	Glu	Asp	Ala	Gly	Val	Thr	Cys	Ser	Asp	Gly	Ser				
		355					360						365						
Asp	Leu	Glu	Leu	Arg	Leu	Val	Gly	Gly	Gly	Ser	Arg	Cys	Ala	Gly	Thr				
	370					375						380							
Val	Glu	Val	Glu	Ile	Gln	Lys	Leu	Leu	Gly	Lys	Val	Cys	Asp	Arg	Gly				
385					390					395					400				
Trp	Gly	Leu	Lys	Glu	Ala	Asp	Val	Val	Cys	Lys	Gln	Leu	Gly	Cys	Gly				
				405					410					415					
Ser	Ala	Leu	Lys	Thr	Ser	Tyr	Gln	Arg	Tyr	Ser	Lys	Val	Lys	Ala	Thr				
			420					425						430					
Asn	Thr	Trp	Leu	Phe	Leu	Ser	Arg	Cys	Ser	Gly	Asn	Glu	Thr	Ser	Leu				
		435					440						445						
Trp	Asp	Cys	Lys	Asn	Trp	Gln	Trp	Gly	Gly	Leu	Ser	Cys	Asp	His	Tyr				
	450					455						460							
Glu	Glu	Ala	Lys	Val	Thr	Cys	Ser	Ala	His	Arg	Glu	Pro	Arg	Leu	Val				
465					470					475					480				
Gly	Gly	Asp	Ile	Pro	Cys	Ser	Gly	Arg	Val	Glu	Val	Lys	His	Gly	Asp				
				485					490					495					
Thr	Trp	Gly	Thr	Val	Cys	Asp	Ser	Asp	Phe	Ser	Leu	Glu	Ala	Ala	Ser				
			500					505						510					
Val	Leu	Cys	Arg	Glu	Leu	Gln	Cys	Gly	Thr	Val	Ile	Ser	Ile	Leu	Gly				
		515					520						525						

ES 2 530 694 T3

Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe  
530 535 540

Gln Cys Glu Gly Gln Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Ser  
545 550 555 560

Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys  
565 570 575

Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Gln Ser Pro Cys Glu  
580 585 590

Gly Arg Val Glu Leu Lys Ile Leu Gly Asn Trp Gly Ser Leu Cys Asn  
595 600 605

Ser His Trp Asp Ile Glu Asp Ala His Val Phe Cys Gln Gln Leu Lys  
610 615 620

Cys Gly Val Ala Leu Ser Ile Pro Gly Gly Ala His Phe Gly Lys Gly  
625 630 635 640

Ser Gly Gln Ile Trp Arg His Met Phe His Cys Thr Gly Thr Glu Gln  
645 650 655

His Met Gly Asp Cys Pro Val Thr Ala Leu Gly Ala Thr Leu Cys Ser  
660 665 670

Ala Gly Gln Val Ala Ser Val Ile Cys Ser Gly Asn Gln Ser Gln Thr  
675 680 685

Leu Ser Pro Cys Asn Ser Thr Ser Leu Asp Pro Thr Arg Ser Thr Thr  
690 695 700

Ser Glu Glu Ser Ala Val Ala Cys Ile Ala Ser Gly Gln Leu Arg Leu  
705 710 715 720

Val Asn Gly Gly Gly Arg Cys Ala Gly Arg Ile Glu Val Tyr His Glu  
725 730 735

Gly Ser Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Ser Asp Ala  
740 745 750

His Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Val Ala Ile Asn Ala Thr  
755 760 765

ES 2 530 694 T3

Gly Ser Ala His Phe Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asp Glu  
770 775 780

Val Asn Cys Asn Gly Lys Glu Ser His Ile Trp Gln Cys Arg Ser His  
785 790 795 800

Gly Trp Gly Gln His Asn Cys Arg His Lys Glu Asp Ala Gly Val Ile  
805 810 815

Cys Ser Glu Phe Met Ser Leu Arg Leu Ile Asp Glu Thr Ser Arg Asp  
820 825 830

Ile Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser  
835 840 845

Val Gly Lys Ser Asn Met Ser Ala Thr Thr Val Glu Val Val Cys Arg  
850 855 860

Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Ser Ile Asn Pro Ala Ser Ser Asp  
865 870 875 880

Lys Pro Met Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys  
885 890 895

Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln Arg  
900 905 910

Val Ala Ser Ser Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile  
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Thr Ser Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Leu Trp  
930 935 940

His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu  
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu Glu  
965 970 975

Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu  
980 985 990

Asn Asp Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys Pro  
995 1000 1005

ES 2 530 694 T3

Ala Arg Pro Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala  
 1010 1015 1020

Ala Val Arg Cys Ser Glu Ile Ala Met Ala Gln Arg Ser Ser Asn  
 1025 1030 1035

Pro Arg Gly His Ser Ser Leu Val Ala Leu Gly Ile Phe Gly Val  
 1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Phe Leu Ile Ala Leu Leu Leu Trp Thr Gln Arg  
 1055 1060 1065

Arg Arg Gln Gln Gln Arg Leu Thr Val Ser Leu Arg Gly Glu Asn  
 1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Ser Leu Lys  
 1085 1090 1095

Ala Asp Asp Leu Asp Val Leu Thr Ser Ser Glu Asp His Phe Glu  
 1100 1105 1110

Val His  
 1115

<210> 47  
 <211> 3399  
 <212> ADN

5 <213> Canis familiaris

<400> 47

ES 2 530 694 T3

atgagcaaac	tcagaatggt	cccacatgga	aactctggat	ctgctgactt	tagaagatgt	60
tttgcctct	tgtgtccctc	tgctgtggct	gtggtctcca	ttctcagtac	ctgtttgatg	120
accaattctc	ttgggagagc	agataaagag	atgaggctaa	cggatggtga	agacaattgc	180
tccgggagag	tggaagtgaa	agtccaggag	gagtggggaa	cggtgtgtaa	taatggctgg	240
ggcatggatg	aagtctctgt	gatttgcagg	cagctgggat	gtcccactgc	tatcaaagcc	300
gctggatggg	ccaattccag	ggcaggctct	ggacgaatct	ggatggatca	tgtttcttgt	360
cgagggaatg	aatctgctct	ctgggactgc	aaacatgatg	gatggggaaa	gcacaactgc	420
agtcatcaac	aggatgctgg	agtaacctgt	tcagatggat	ccagtttgga	gatgaggttg	480
atgaacggcg	gaaaccagtg	ttctggcaga	atagaagtca	agttccaggg	acagtgggga	540
acagtgtgtg	atgacaactt	caacatagat	catgcttctg	tggtttgtaa	acagctcgaa	600
tgtggaagtg	ctgtcagttt	ctctggttca	gctaattttg	gagaaggttc	tgggccaatc	660
tggtttgatg	atcttgtgtg	cagtggaaat	gagtcagctc	tctggaactg	caagcatgaa	720

ES 2 530 694 T3

ggatggggaa agcataactg tgatcacgct gaggatggtg gagtgatttg cttggatgga 780  
 gcagatctga gcttgagact ggtagatgga gtcaactgaat gttcaggaag attagaagta 840  
 aaattccaag gggaaatgggg gacagtgtgt gatgatggct gggatagtaa tgatgctgct 900  
 gtggtatgta aacaactggg atgcccact gctgtcaccg ccattggtcg agttaacgcc 960  
 agtgagggaa gtggacacat ttggcttgac aatctttcct gccaaaggaga cgaatctgct 1020  
 ctctggcagt gtagacacca tgaatgggga aagcattatt gcaatcataa tgaagatgct 1080  
 ggtgtgacat gttctgatgg atcagacctg gagctgagac ttgtcggtag aggcagccgc 1140  
 tgtgctggga cagtggaggt tgaattcag aaactgctag ggaaagtatg tgatagaggc 1200  
 tggggactga aagaagccga tgtggtttgc aagcagttgg gatgtggatc tgctctcaa 1260  
 acgtcctatc agcgttattc caaagttaag gcaacaaaca catggctggt ttaagccgc 1320  
 tgtagtggca atgaaacttc cctttgggac tgcaagaact ggcagtgggg tggactgagc 1380  
 tgtgatcact atgaagaagc taaagttacc tgctcagccc acaggaacc cagactagtt 1440  
 ggaggagata ttccctgctc tggctcgtgtt gaagtgaaac atggtgacac atggggcacc 1500  
 gtctgtgatt ccgacttctc tttggaagct gccagtgtgc tgtgcagaga gttacagtgt 1560  
 ggcacagtca tctccatcct agggggagct cactttggag aaggaaatgg acagatctgg 1620  
 gctgaagaat tccagtgtga ggggcaggag tcccatcttt cactctgttc agtagcctct 1680  
 cccccagatg ggacctgtag ccacagcagg gatgttggag tcgtctgctc aagatacacg 1740  
 gaaatccgct tggatgaatgg ccagtccccg tgtgaaggaa gagtggagct caagatactt 1800  
 gggaaactggg gatccctctg caactctcac tgggacatag aagatgcca tgtttctctgt 1860  
 cagcagctca aatgtggagt tgccctttct attccgggag gagcacattt tgggaaagga 1920  
 agtggtcaga tctggaggca catgtttcac tgcaactggga ctgagcagca catgggagat 1980  
 tgccctgtaa ctgctctggg cgcgacgctg tgttctgctg ggcaagtggc ctctgtaate 2040  
 tgctcaggaa atcagagcca gacgctatcc ccatgcaatt caacatctct ggacccaaca 2100  
 agatctacca cttegggaaga aagtgtgtgt gcttgtattg cgagtgggca acttcgctctg 2160  
 gtaaatggag gcggtcgctg tgctgggaga atagaggtct accatgaggg ctctggggc 2220  
 accatctgtg atgacagctg ggacctgagt gatgccatg tgggtgtgcag acagctgggc 2280  
 tgtggagtgg ccattaatgc cactggctct gctcattttg gggaaaggaac agggccatc 2340  
 tggctggagc aggtgaactg taatggaaag gaatctcata tctggcaatg ccgctcacac 2400  
 ggctgggggc aacacaactg cagacataag gaggatgcag gagttatctg ctgagagttc 2460  
 atgtctctca gactgattga tgaaccagc agagacatct gtgcagggcg tcttgaagtt 2520

ES 2 530 694 T3

ttttacaatg gagcttgggg cagcgttggc aagagtaata tgtctgcaac cactgtggag 2580  
 gtggatatgca ggcaactggg ttgtgcagac aaggggagca tcaaccctgc atcttcagac 2640  
 aagcccatgt ccaggcacat gtgggtggac aatgtccagt gtccaaaagg acctgacacc 2700  
 ttatggcagt gcccatcttc tccatggaaa cagagagtgg ccagttcttc agaggagacc 2760  
 tggatcacat gtgccaacaa gataagactt caagaaggaa cctctaattg ttctggacgt 2820  
 gtggagctct ggcacggagg ttcttggggg acagtgtgcg atgactcctg ggaccttgaa 2880  
 gatgcacaag tgggtgtgctg acagctgggc tgtggcccag cattagaagc actaaaagag 2940  
 gcagcatttg gtcaggggac tgggcctata tggctcaatg acgtgaagtg caaaggggat 3000  
 gagtcttctt tgtgggattg tctgtctaga ccctggggggc acagtgactg tggccacaag 3060  
 gaagatgctg ctgtgaggtg ctcaaaaatt gcaatggccc aaagatcatc aatcctaga 3120  
 ggteactcat cccttgttgc attggggatc tttgggtgca ttcttctggc ctttctcatc 3180  
 gctctcctct tgtggactca aaggcgaaga cagcaacagc ggcttacagt ttcttggaga 3240  
 ggagagaatt ctgtccacca aattcaatac cgggaaatga attcttcctt gaaagcagat 3300  
 gatctggacg tgetgacttc ctcaaatat cccaatgagt cagatgattt taatgatgct 3360  
 gggctaattt ctgtgtctaa atctcttctt atttctgga 3399

<210> 48  
 <211> 1133  
 <212> PRT  
 5 <213> Canis familiaris  
 <400> 48

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

ES 2 530 694 T3

Ala Ile Lys Ala Ala Gly Trp Ala Asn Ser Arg Ala Gly Ser Gly Arg  
100 105 110

Ile Trp Met Asp His Val Ser Cys Arg Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp  
115 120 125

Asp Cys Lys His Asp Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Ser His Gln Gln  
130 135 140

Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser Ser Leu Glu Met Arg Leu  
145 150 155 160

Met Asn Gly Gly Asn Gln Cys Ser Gly Arg Ile Glu Val Lys Phe Gln  
165 170 175

Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Asn Phe Asn Ile Asp His Ala  
180 185 190

Ser Val Val Cys Lys Gln Leu Glu Cys Gly Ser Ala Val Ser Phe Ser  
195 200 205

Gly Ser Ala Asn Phe Gly Glu Gly Ser Gly Pro Ile Trp Phe Asp Asp  
210 215 220

Leu Val Cys Ser Gly Asn Glu Ser Ala Leu Trp Asn Cys Lys His Glu  
225 230 235 240

Gly Trp Gly Lys His Asn Cys Asp His Ala Glu Asp Val Gly Val Ile  
245 250 255

Cys Leu Asp Gly Ala Asp Leu Ser Leu Arg Leu Val Asp Gly Val Thr  
260 265 270

Glu Cys Ser Gly Arg Leu Glu Val Lys Phe Gln Gly Glu Trp Gly Thr  
275 280 285

Val Cys Asp Asp Gly Trp Asp Ser Asn Asp Ala Ala Val Val Cys Lys  
290 295 300

Gln Leu Gly Cys Pro Thr Ala Val Thr Ala Ile Gly Arg Val Asn Ala  
305 310 315 320

Ser Glu Gly Ser Gly His Ile Trp Leu Asp Asn Leu Ser Cys Gln Gly  
325 330 335

ES 2 530 694 T3

Asp Glu Ser Ala Leu Trp Gln Cys Arg His His Glu Trp Gly Lys His  
 340 345 350  
 Tyr Cys Asn His Asn Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Ser Asp Gly Ser  
 355 360 365  
 Asp Leu Glu Leu Arg Leu Val Gly Gly Gly Ser Arg Cys Ala Gly Thr  
 370 375 380  
 Val Glu Val Glu Ile Gln Lys Leu Leu Gly Lys Val Cys Asp Arg Gly  
 385 390 395 400  
 Trp Gly Leu Lys Glu Ala Asp Val Val Cys Lys Gln Leu Gly Cys Gly  
 405 410 415  
 Ser Ala Leu Lys Thr Ser Tyr Gln Arg Tyr Ser Lys Val Lys Ala Thr  
 420 425 430  
 Asn Thr Trp Leu Phe Leu Ser Arg Cys Ser Gly Asn Glu Thr Ser Leu  
 435 440 445  
 Trp Asp Cys Lys Asn Trp Gln Trp Gly Gly Leu Ser Cys Asp His Tyr  
 450 455 460  
 Glu Glu Ala Lys Val Thr Cys Ser Ala His Arg Glu Pro Arg Leu Val  
 465 470 475 480  
 Gly Gly Asp Ile Pro Cys Ser Gly Arg Val Glu Val Lys His Gly Asp  
 485 490 495  
 Thr Trp Gly Thr Val Cys Asp Ser Asp Phe Ser Leu Glu Ala Ala Ser  
 500 505 510  
 Val Leu Cys Arg Glu Leu Gln Cys Gly Thr Val Ile Ser Ile Leu Gly  
 515 520 525  
 Gly Ala His Phe Gly Glu Gly Asn Gly Gln Ile Trp Ala Glu Glu Phe  
 530 535 540  
 Gln Cys Glu Gly Gln Glu Ser His Leu Ser Leu Cys Ser Val Ala Ser  
 545 550 555 560  
 Arg Pro Asp Gly Thr Cys Ser His Ser Arg Asp Val Gly Val Val Cys  
 565 570 575  
 Ser Arg Tyr Thr Glu Ile Arg Leu Val Asn Gly Gln Ser Pro Cys Glu



ES 2 530 694 T3

Ile Cys Ala Gly Arg Leu Glu Val Phe Tyr Asn Gly Ala Trp Gly Ser  
835 840 845

Val Gly Lys Ser Asn Met Ser Ala Thr Thr Val Glu Val Val Cys Arg  
850 855 860

Gln Leu Gly Cys Ala Asp Lys Gly Ser Ile Asn Pro Ala Ser Ser Asp  
865 870 875 880

Lys Pro Met Ser Arg His Met Trp Val Asp Asn Val Gln Cys Pro Lys  
885 890 895

Gly Pro Asp Thr Leu Trp Gln Cys Pro Ser Ser Pro Trp Lys Gln Arg  
900 905 910

Val Ala Ser Ser Ser Glu Glu Thr Trp Ile Thr Cys Ala Asn Lys Ile  
915 920 925

Arg Leu Gln Glu Gly Thr Ser Asn Cys Ser Gly Arg Val Glu Leu Trp  
930 935 940

His Gly Gly Ser Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Ser Trp Asp Leu Glu  
945 950 955 960

Asp Ala Gln Val Val Cys Arg Gln Leu Gly Cys Gly Pro Ala Leu Glu  
965 970 975

Ala Leu Lys Glu Ala Ala Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu  
980 985 990

Asn Asp Val Lys Cys Lys Gly Asn Glu Ser Ser Leu Trp Asp Cys Pro  
995 1000 1005

Ala Arg Pro Trp Gly His Ser Asp Cys Gly His Lys Glu Asp Ala  
1010 1015 1020

Ala Val Arg Cys Ser Glu Ile Ala Met Ala Gln Arg Ser Ser Asn  
1025 1030 1035

Pro Arg Gly His Ser Ser Leu Val Ala Leu Gly Ile Phe Gly Val  
1040 1045 1050

Ile Leu Leu Ala Phe Leu Ile Ala Leu Leu Leu Trp Thr Gln Arg  
1055 1060 1065

ES 2 530 694 T3

Arg Arg Gln Gln Gln Arg Leu Thr Val Ser Leu Arg Gly Glu Asn  
1070 1075 1080

Ser Val His Gln Ile Gln Tyr Arg Glu Met Asn Ser Ser Leu Lys  
1085 1090 1095

Ala Asp Asp Leu Asp Val Leu Thr Ser Ser Glu Tyr Pro Asn Glu  
1100 1105 1110

Ser Asp Asp Phe Asn Asp Ala Gly Leu Ile Ser Val Ser Lys Ser  
1115 1120 1125

Leu Pro Ile Ser Gly  
1130

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento *in vitro* para facilitar la infección de una célula de vertebrado por el VSRRP que comprende las etapas de
  - (a) dirigir la expresión aumentada de un polipéptido de CD163 por dicha célula de vertebrado en la que dicho polipéptido de CD163 comprende un dominio transmembrana, y en la que dicha expresión aumentada se logra mediante la introducción de ácido nucleico exógeno.
2. El procedimiento de la reivindicación 1 que además comprende infectar a dicha célula con el VSRRP.
3. EL procedimiento de la reivindicación 1 que además comprende producir un cultivo de VSRRP.
4. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que dicha célula es de mamífero.
5. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que dicha célula era no permisiva al VSRRP y se hace permisiva al VSRRP mediante la etapa (a).
6. El procedimiento de la reivindicación 2 en el que el VSRRP es del genotipo europeo.
7. El procedimiento de la reivindicación 2 en el que el VSRRP es del genotipo americano del norte.
8. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 2-7 que además comprende la etapa de producir una vacuna para el VSRRP.
9. El procedimiento de la reivindicación 8 en el que la vacuna está inactivada.
10. El procedimiento de la reivindicación 8 en el que la vacuna está viva atenuada.
11. Un procedimiento para medir la propensión de una línea celular de ensayo a permitir la infección por VSRRP que comprende:
  - a) proporcionar una muestra que contiene ácidos nucleicos de la línea celular de ensayo;
  - b) determinar la cantidad de polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 o su complemento en dicha muestra; en el que una cantidad aumentada del polinucleótido que codifica un polipéptido de CD163 en relación a una muestra de control derivada de una línea celular de control que se sabe que no soporta el crecimiento de dicho VSRRP indica una propensión de la línea celular de ensayo a soportar la replicación de dicho VSRRP.
12. Un procedimiento para medir la propensión de una línea celular de ensayo a permitir la infección por VSRRP que comprende:
  - (a) proporcionar una muestra que contiene polinucleótidos de la línea celular de ensayo;
  - (b) determinar la cantidad de polipéptido de CD163 en dicha muestra;en el que una cantidad aumentada de un polipéptido de CD163 en relación a una muestra de control derivada de una línea celular de control que se sabe que no soporta el crecimiento de dicho VSRRP indica una propensión de la línea celular de ensayo a soportar la replicación de dicho VSRRP.

Figura 1

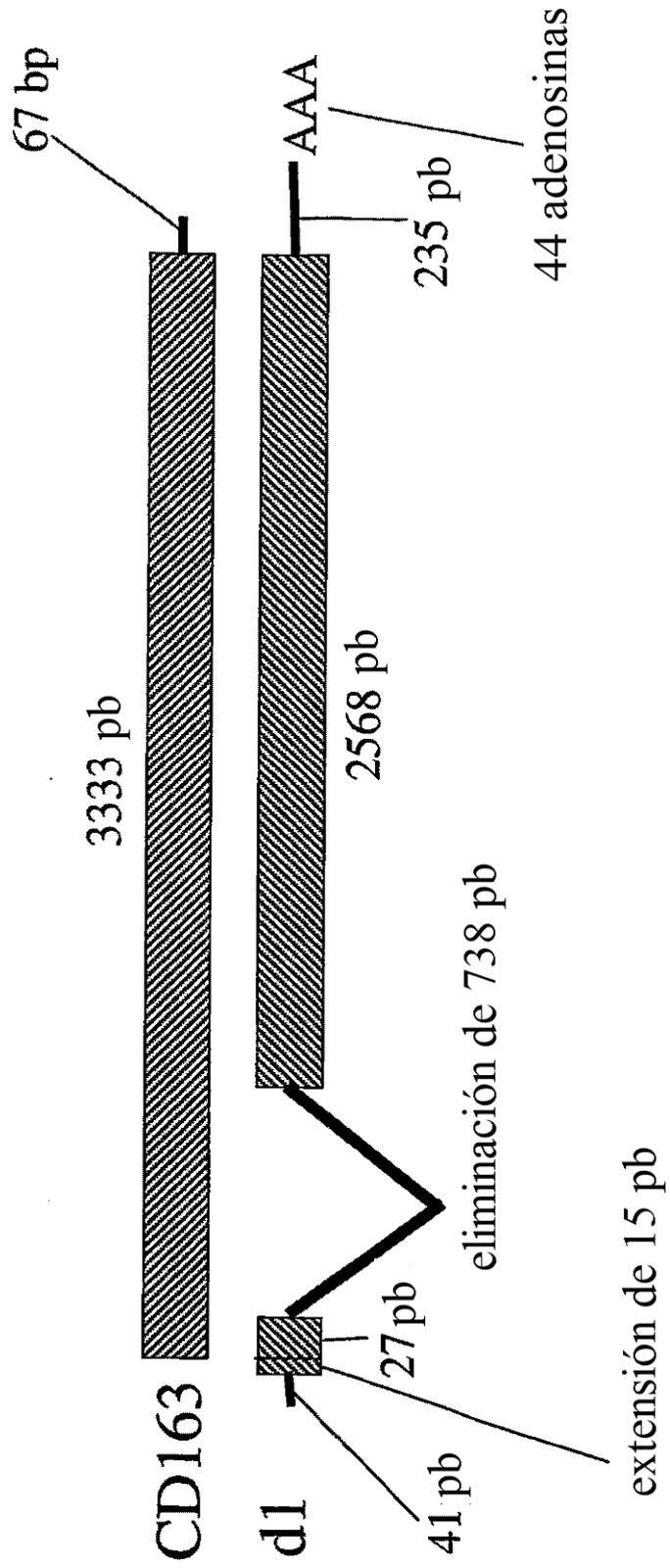


Figura 2A

AJ311716 (porcino)	1	.....MVLLEDSGSA	60
Pfizer_susCD163v1		FRRCSAHLSSFTFAVAVL	
		SACLVTSSLGGKDKELRL	
		TGGENKC	
		MDKLRVYLHENSAD	
AJ311716 (porcino)	61	SGRVEVKQEWGIVC	120
Pfizer_susCD163v1		NNGWDMDVVVCRLG	
		CPATAIKATGANFSA	
		SGSRIWMDHVSC	
		RGNESALWDCKHDG	
AJ311716 (porcino)	121	WKHNTHQDAGVTC	180
Pfizer_susCD163v1		SDGSDLEMRLVNG	
		GNRCLGRIEVK	
		FQERWG	
AJ311716 (porcino)	181	TVCDNFNINHAS	240
Pfizer_susCD163v1		VVCKLECGSAVFS	
		GSANFGE	
		GGPIWFDDLV	
		CNGENESALW	
		NCKHE	
AJ311716 (porcino)	241	GWGKHCDAE	300
Pfizer_susCD163v1		DAGVICLNGADL	
		KLRVVDGLTE	
		CSGRLEVK	
		FQEWGTIC	
		DDGWDSD	
		DAAL	
		.....LKL	
		RVVDGVT	
		EC	
		SGRLEVK	
		FQEWGTIC	
		DDGWDSD	
		DAAL	
AJ311716 (porcino)	301	VACKQLG	360
Pfizer_susCD163v1		CPATAVTAIG	
		RNVASEGT	
		GHIWLD	
		SVSCH	
		GHE	
		SALW	
		QCR	
		RRH	
		EW	
		GK	
		HY	
		C	
		N	
		H	
		N	
		E	
		D	
AJ311716 (porcino)	361	GVTCSD	420
Pfizer_susCD163v1		GSDLELRLK	
		GGGSHC	
		AGTVE	
		VEIQ	
		KL	
		VG	
		K	
		CD	
		R	
		SV	
		W	
		GL	
		KE	
		AD	
		V	
		V	
		C	
		R	
		Q	
		L	
		G	
		C	
		G	
		S	
		A	
		L	
		K	
		Q	
		W	
		Q	
		W	
		G	
		L	
		S	
		C	
		D	
		K	
		N	
		Q	
		W	
		G	
		L	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	
		D	
		E	
		A	
		K	
		I	
		T	
		S	
		A	
		H	
		R	
		K	
		P	
		R	
		L	
		V	
		S	
		C	
		H	

**Figura 2B**

541	AJ311716 (porcino)	600
	Pfizer_susCD163v1	
	AEEFQCEGHESHLSLCPVAPRPDGTCSHSRDVGVVCSRYTQIRLVNGKTPCEGRVELNIL	
	AEEFQCEGHESHLSLCPVAPRPDGTCSHSRDVGVVCSRYTQIRLVNGKTPCEGRVELNIL	
601	AJ311716 (porcino)	660
	Pfizer_susCD163v1	
	GSWGS <sup>60</sup> LCNSHWDMEHAHVLCOQLKCGVALSIPGGAPFGKSEQVWRHMFHCTGTERKMGD	
	GSWGS <sup>60</sup> LCNSHWDMEHAHVLCOQLKCGVALSIPGGAPFGKSEQVWRHMFHCTGTERKMGD	
661	AJ311716 (porcino)	720
	Pfizer_susCD163v1	
	CSVTALGASLCSGQVAVSICSGNQSTLSPCNSSSDPSSIISEEGVACIGSQQLRL	
	CSVTALGASLCSGQVAVSICSGNQSTLSPCNSSSDPSSIISEEGVACIGSQQLRL	
721	AJ311716 (porcino)	780
	Pfizer_susCD163v1	
	VDGGRCAGRVEVYPGASWGTICDDSDLDNDAHVVCKQLSCGWAINATGSAHFEGTGPI	
	VDGGRCAGRVEVYH <u>EG</u> SWGTCICDDSDLDNDAHVVCKQLSCGWAINATGSAHFEGTGPI	
781	AJ311716 (porcino)	840
	Pfizer_susCD163v1	
	WLDEINCGKESHVQCHSHGWRHNCRHKEDAGVICSEFMSLRLISENSRETCAGRLEV	
	WLDEINCGKESHVQCHSHGWRHNCRHKEDAGVICSEFMSLRLISENSRETCAGRLEV	
841	AJ311716 (porcino)	900
	Pfizer_susCD163v1	
	FYNGAWGSVGRNSMPATVGVVCRQLGCADRGDISPASSDKTVSRHMVVDNVQCPKGPDT	
	FYNGAWGSVGVKNSMPATVGVVCRQLGCADRGDISPASSDKTVSRHMVVDNVQCPKGPDT	
901	AJ311716 (porcino)	960
	Pfizer_susCD163v1	
	LWQCPSSPWKKRLASPSEETWITCANKIRLQEGNTNCSGRVEIWWYGGSWGTVCDSDWLE	
	LWQCPSSPWKKRLASPSEETWITCANKIRLQEGNTNCSGRVEIWWYGGSWGTVCDSDWLE	
961	AJ311716 (porcino)	1020
	Pfizer_susCD163v1	
	DAQVVCRLGCCSALEAGKEPAFGQGTGPIWLNEVKCKGNETSLWDCPARSWGHSDDCGHK	
	DAQVVCRLGCCSALEAGKEA <u>AF</u> FGQGTGPIWLNEVKCKGNETSLWDCPARSWGHSDDCGHK	
1021	AJ311716 (porcino)	1080
	Pfizer_susCD163v1	
	EDAAVTCSEIAKSRESLHATGRSSFVALAIFGVILLACLIAFLIWTQRRQRRLSVFSG	
	EDAAVTCSEIAKSRESLHATGRSSFVALAIFGVILLACLIAFLIWTQRRQRRLSVFSG	
1081	AJ311716 (porcino)	1116
	Pfizer_susCD163v1	
	GENSVHQIQYREVMNSCLKAETDMLNPSGDHSEVQ.	
	GENSVHQIQYREVMNSCLKAETDMLNPSGDHSEVQ.	

Figura 3A

Alineamiento de ADN Martinez/Needleman-Wunsch  
 Coincidencia mínima: 9; Penalización por espacio: 1,10; Penalización por longitud de espacio: 0,33.

ADNc CD163 porcino AJ3111716 de Genbank -----  
 Inserción del plásmido pSport-susCD163dl GTAATAATACAAAGAATTTAAATGGCATAAAACCTTGGATGGACAAACTCAGA  
 ATGGTACTTGAAGACTCTGGATCTGCAGACTTTAGAGATGTTCTGCCATTTAAGTTCCTTCACTTTGCTGTAGTCGCTGTTCTCAGTGCCTGCT  
 ATGGTGTACATGAAACTCTGGATCT-----  
 TGGTCACTAGTTCCTTGGAGGNAAGACAAGAGCTGAGGCTAACGGGTGTTGAAACAAGTGTCTGGAAAGTGGAGGTGAAAGTGCAGGGAGGATG  
 GGGAACTGTGTATAATAATGGCTGGGACATGGATGGTCTCTGTCTTGTAGGSCAGCTGGATCTCCAACTGCTATCAAAGCCACTGATGGGCTAAT  
 TTTAGTGCAGGTTCTGGACGCCATTTGGATGGATCATGTTTCTGTGTCGAGGAAATGACTCAGCTCTCTGGACTGCAAAACATGATGGATGGGAAAGCATA  
 ACTGTACTCACCAACAGGATGCTGGATACCTGCTCAGATGGATCTGATTTAGATGACGCTGGTGAATGGAGAAACCGGTGCTTAGGAAGATAGA  
 AGTCMAATTC AAGAGCGGTGGGACACAGTGTGTGATGATAACTTCAAATAATCATGCTTCTGTGTTTGTAAACAACCTTGAATGTGGAAGTCTGTC  
 AGTTTCTCTGGTTCAGCTAATTTGGAGAGGTTCTGGACCAATCTGGTTTGTATGATCTTGTATGCAATGGAAATGAGTCAGCTCTCTGGAACTGCCAAC  
 ATGAGGATGGGAAAGCACAATTCCGATCATGCTGAGGATGCTGGAGTGAATTTGCTTAAATGGAGCAGACCTGAAACTGAGAGTGGTAGATGCACTCAC  
 TGAATCTTCAGGAGATTTGGAAGTGAATTC AAGGAGATGGGAAACAATCTGTGATGATGGCTGGGATAGTATGATGTCGCCGTGTGSCATGTAAGCAA  
 TGAATGTTTCAGGAGATTTGGAAGTGAATTC AAGGAGATTTGGAAACAATCTGTGATGATGGCTGGGATAGTATGATGATGCCGTGTGSCATGTAAGCAA  
 CTGGGATGTC AACTGCTGTCACTGCCATTTGGTCCAGTTAACCCAGTGAAGGAACTGGACACAATTTGGCTTGACAGTGTTCCTTGCCATGGACACGAGT  
 CTGGGATGTC AACTGCTGTCACTGCCATTTGGTCCAGTTAACCCAGTGAAGGAACTGGACACAATTTGGCTTGACAGTGTTCCTTGCCATGGACACGAGT  
 CTGCTCTCTGGCAGTGTAGACCAATGAAATGGGAAAGCAATTTGCAATCAATAATGAAGATGCTGGTGTGACATGTTCTGTGATGGATCAGATCTGGAACT  
 CTGCTCTCTGGCAGTGTAGACCAATGAAATGGGAAAGCAATTTGCAATCAATAATGAAGATGCTGGTGTGACATGTTCTGTGATGGATCAGATCTGGAACT

Figura 3B

GAGACTTAAAGGTGGAGGCAGCCACTGTGCTGGGACAGTGGAGGTGGAAATTCAGAAACTGGTAGGAAAGTGTGTATAGAAAGCTGGGACCTGAAAGAA  
 GAGACTTAAAGGTGGAGGCAGCCACTGTGCTGGGACAGTGGAGGTGGAAATTCAGAAACTGGTAGGAAAGTGTGTATAGAAAGCTGGGACCTGAAAGAA  
 GCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACCTCAAACAATCATATCAAGTTTATTCCAAACCAGGCAACAAACACATGGCTGTTTGTAA  
 GCTGATGTGGTTTGCAGGCAGCTGGGATGTGGATCTGCACCTCAAACAATCATATCAAGTTTATTCCAAACCAGGCAACAAACACATGGCTGTTTGTAA  
 GCAGCTGTAATGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAATGGCAGTGGGTGGACTTAGTGTGATCACTATGACGAAGCCAAAATTACCTGCTC  
 GCAGCTGTAATGGAAATGAAACTTCTCTTTGGGACTGCAAGAAATGGCAGTGGGTGGACTTAGTGTGATCACTATGACGAAGCCAAAATTACCTGCTC  
 AGCCACAGGNAACCCAGGCTGGTTGGAGGGACATCCCTGCTGTCGFTGAACTAACAATGGAGACACGTTGGGGCACCGTCTGTGATTTCTGAC  
 AGCCACAGGNAACCCAGGCTGGTTGGAGGGACATCCCTGCTGTCGFTGAACTAACAATGGAGACACGTTGGGGCACCGTCTGTGATTTCTGAC  
 TTCTCTTGGAGGCGGCCAGCGTGTGTCAGGGAACTACAGTGGGCACTGTGTTCCCTCTGGGGGAGCTCACITTTGGAGAAGGAAGTGGACAGA  
 TTCTCTTGGAGGCGGCCAGCGTGTGTCAGGGAACTACAGTGGGCACTGTGTTCCCTCTGGGGGAGCTCACITTTGGAGAAGGAAGTGGACAGA  
 TCTGGCTGAAAGAAATTCAGTGTGAGGGGCGACGAGTCCCACTTTCATCTGTGCCAGTAGCACCCGCCCTGACGGGACATGTAAGCCACAGGAGCGT  
 TCTGGCTGAAAGAAATTCAGTGTGAGGGGCGACGAGTCCCACTTTCATCTGTGCCAGTAGCACCCGCCCTGACGGGACATGTAAGCCACAGGAGCGT  
 CGGCGTAGTCTGCTCAAGATACACAAATCCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAAGGAAGTAGGAGCTCAACATTTCTTGGTCTCTGGGGTTC  
 CGGCGTAGTCTGCTCAAGATACACAAATCCGCTTGGTGAATGGCAAGACCCCATGTGAAGGAAGTAGGAGCTCAACATTTCTTGGTCTCTGGGGTTC  
 CTCTGCAACTCTCACTGGGACATGGAAGATGCCCATGTTTTAATGACAGCAGCTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTATCCCGGAGGAGCACCTTTTGGGA  
 CTCTGCAACTCTCACTGGGACATGGAAGATGCCCATGTTTTAATGACAGCAGCTTAAATGTGGAGTTGCCCTTTCTATCCCGGAGGAGCACCTTTTGGGA  
 AAGGAAGTAGCAGGCTGGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGACTGAGAGACACATGGGAGATTGTTCCGTCACCTGCTTGGGCGCATCACTCTGTT  
 AAGGAAGTAGCAGGCTGGAGGCACATGTTTCACTGCACTGGACTGAGAGACACATGGGAGATTGTTCCGTCACCTGCTTGGGCGCATCACTCTGTT  
 TTCAGGGCAAGTGGCTCTGTAATCTGCTCAGGNAACCCAGATCAGACACTATCCCGTGCATTCATCCTCGGACCCCATCAAGCTCTATATTCA  
 TTCAGGGCAAGTGGCTCTGTAATCTGCTCAGGNAACCCAGATCAGACACTATCCCGTGCATTCATCCTCGGACCCCATCAAGCTCTATATTCA  
 GAAGAAATGGTGTGCTGCAATAGGAGTGGTCAAATTCGCTGGTGCATGGAGTGGTCTGTTGCTGGAGAGTAGAGGCTATCTCTGGGGCACTCT  
 GAAGAAATGGTGTGCTGCAATAGGAGTGGTCAAATTCGCTGGTGCATGGAGTGGTCTGTTGCTGGAGAGTAGAGGCTATCTAGGGTCTCT  
 GGGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAATGATGCCCCATGTGTGTCGCAACACAGCTGAGCTGTGGATGGGCCAATTAATGCCACTGTTCTGCTCA  
 GGGCACCATCTGTGATGACAGCTGGGACCTGAATGATGCCCCATGTGTGTCGCAACACAGCTGAGCTGTGGATGGGCCAATTAATGCCACTGTTCTGCTCA  
 TTTTGGGGAGGAACAGGGCCCAATTTGGCTGGATGAGATAACTGTAATGGAAAGAAATCTCAATTTGGCAATGCCACTCACTCATGTTGGGGCGGCAC  
 TTTTGGGGAGGAACAGGGCCCAATTTGGCTGGATGAGATAACTGTAATGGAAAGAAATCTCAATTTGGCAATGCCACTCACTCATGTTGGGGCGGCAC

Figura 3C

AATTGCAGGCATAAGGAGGNTGAGGAGTCACTGTCTCTGAGACTGATCAGTGAATAACAGCAGAGAGACCTGTGCAGGGCGCCTGG  
 AATTGCAGGCATAAGGAGGATGCAAGGAGTCACTGTCTCTGAGTTCATGTCTCTCAGACTGATCAGTGAATAACAGCAGAGAGACCTGTGCAGGGCGCCTGG  
 AAGTTTTTAAACGGAGCTTGGGCGACGGTTGGCAGGAATAGCATGTCTCCAGCCACAGTGGGGTGGTATGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAGAGG  
 AAGTTTTTAAACGGAGCTTGGGCGACGGTTGGCAGGAATAGCATGTCTCCAGCCACAGTGGGGTGGTATGCAGGCAGCTGGGCTGTGCAGACAGAGG  
 GGACATCAGCCCTGCACTTTCAGACAAGACAGTGTCCAGGCCACATGTGGTGGACAATGTTCAGTGTCTTAAAGGACCTGACACACTATGGCAGTGCCTCC  
 GGACATCAGCCCTGCACTTTCAGACAAGACAGTGTCCAGGCCACATGTGGTGGACAATGTTCAGTGTCTTAAAGGACCTGACACACTATGGCAGTGCCTCC  
 TCATCTCCATGGAAGAAGAGACTGGCCAGCCCTCAGAGGAGACATGGATCACATGTGCCAACAAATAAGACTTCAAGAAGGAAACACTAATTTGTTCTG  
 TCATCTCCATGGAAGAAGAGACTGGCCAGCCCTCAGAGGAGACATGGATCACATGTGCCAACAAATAAGACTTCAAGAAGGAAACACTAATTTGTTCTG  
 GACGTGTGGAGATCTGTTACGGAGGTTCTGGGGCACTGTGTGACGACTCTCTGGGCACTTGAAGATGCTCAGGTGGTGTGCCGACAGCTGGGCTGTGG  
 GACGTGTGGAGATCTGTTACGGAGGTTCTGGGGCACTGTGTGACGACTCTCTGGGCACTTGAAGATGCTCAGGTGGTGTGCCGACAGCTGGGCTGTGG  
 CTCAGCTTTGGAGGCAGGAAAGAGCCCGCATTTGGCCAGGGACTGGGGCCATATGGCTCAATGAAATGAAAGTCAAGGGGAAATGAACTCTCTCTGTGG  
 CTCAGCTTTGGAGGCAGGAAAGAGCCCGCATTTGGCCAGGGACTGGGGCCATATGGCTCAATGAAATGAAAGTCAAGGGGAAATGAACTCTCTCTGTGG  
 GAATGCTCTGCCAGATCCTGGGGCCACAGTACTGTGGACACAAGGAGGATGCTGTGTGACGTCTCAGAAATTCGAAAGGCCGAGAAATCCCTACATG  
 GAATGCTCTGCCAGATCCTGGGGCCACAGTACTGTGGACACAAGGAGGATGCTGTGTGACGTCTCAGAAATTCGAAAGGCCGAGAAATCCCTACATG  
 CCACAGTCCGCTCATCTTTTGTGCACTTGGCAATCTTTGGGTCATCTGTGGCTGTCTCATCGCATTCCTCAITTTGGACTCAGAGCGGAAGACAGAG  
 CCACAGTCCGCTCATCTTTTGTGCACTTGGCAATCTTTGGGTCATCTGTGGCTGTCTCATCGCATTCCTCAITTTGGACTCAGAGCGGAAGACAGAG  
 GCAGCGGCTCAGTTCAGGAGGAGAAATCTGTCCATCAAATTCGAAATACGGGAGATGAAATCTTCCCTGAAAGCAGATGAAACGGATATGCTA  
 GCAGCGGCTCAGTTCAGGAGGAGAAATCTGTCCATCAAATTCGAAATACGGGAGATGAAATCTTCCCTGAAAGCAGATGAAACGGATATGCTA  
 AATCCCTCAGGAGACCACTCTGAAGTACAATGAAAGGAAATGGGAATATACTGTGGTGGTTCAGCCCTTAAAGATACCTTGAATGAAAGACCTGGACTA  
 AATCCCTCAGGAGACCACTCTGAAGTACAATGAAAGGAAATGGGAATATACTGTGGTGGTTCAGCCCTTAAAGATACCTTGAATGAAAGACCTGGACTA  
 -----  
 TTGAATGAGCAAGAAATCTGCCTCTTACACTGAAGATTAACAATACAGTCCCTGTCTCTGGTATTAACAAGACTGCTGTGTAATTTCTAAATAATAGATT  
 -----  
 GGTGAATGTGACTACTCAAAGTTGTATGTAAGACTTCAAGGGCAATTAATAAAGAAATATGTCTGAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA  
 -----  
 AAAAAAAAAA

Figura 4

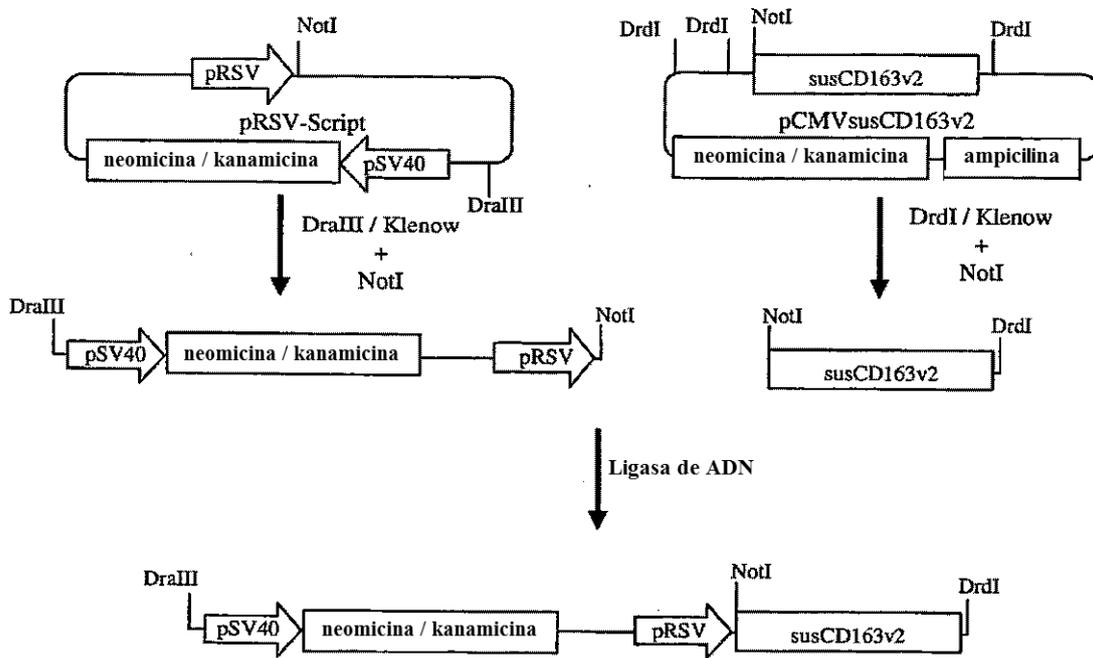
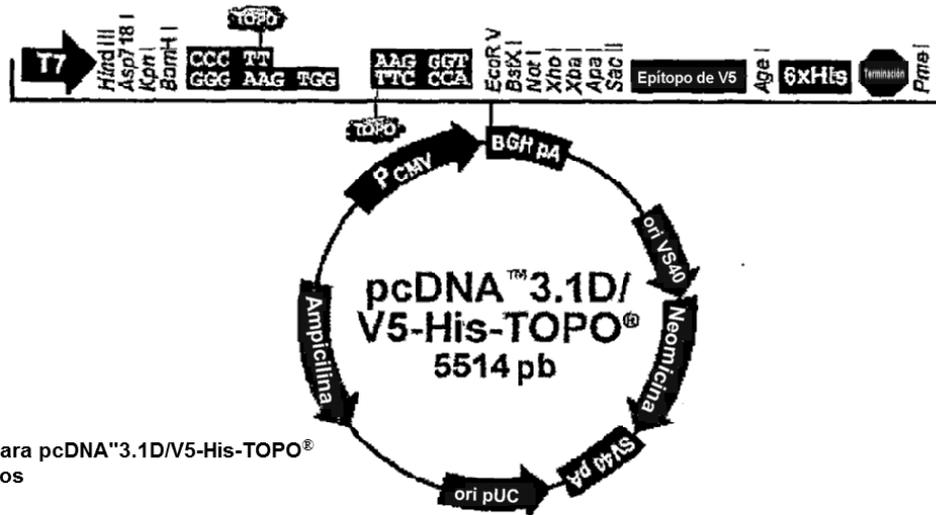


Figura 5



Comentarios para pcDNA™3.1D/V5-His-TOPO®  
5514 nucleótidos

- Promotor de CMV: bases 232-819
- Sitio de promotor/cebador de T7: bases 863-882
- Sitio de reconocimiento 1 de TOPO®: bases 930-934
- Secuencias de saliente (hebra complementaria): bases 935-938
- Sitio de reconocimiento 2 de TOPO® : bases 939-943
- Epitopo de V5: bases 1011-1052
- Marcador de polihistidina (6xHis): bases 1062-1079
- Sitio de cebado inverso de BGH: bases 1102-1119
- Señal de poliadenilación de BGH: bases 1108-1332
- Promotor temprano y origen de VS40: bases 1833-2142
- Gen de resistencia a neomicina: bases 2217-3011
- Señal de poliadenilación temprana de VS40: bases 3189-3319
- origen de pUC: bases 3700-4373 (hebra complementaria)
- Gen de resistencia a ampicilina (bla): bases 4518-5378 (hebra complementaria)
- Promotor de bla: bases 5379-5477 (hebra complementaria)

Figura 6

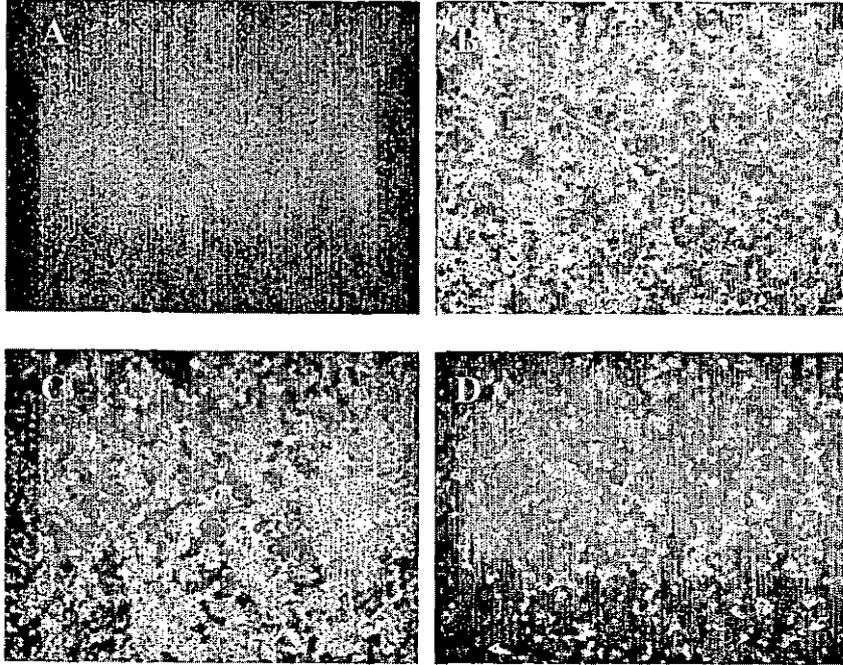


Figura 7

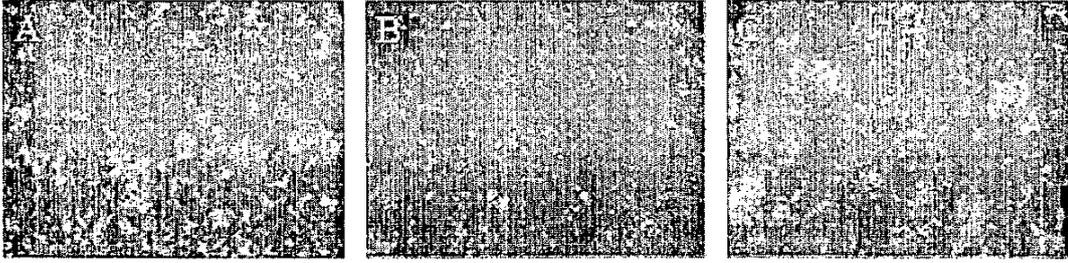


Figura 8

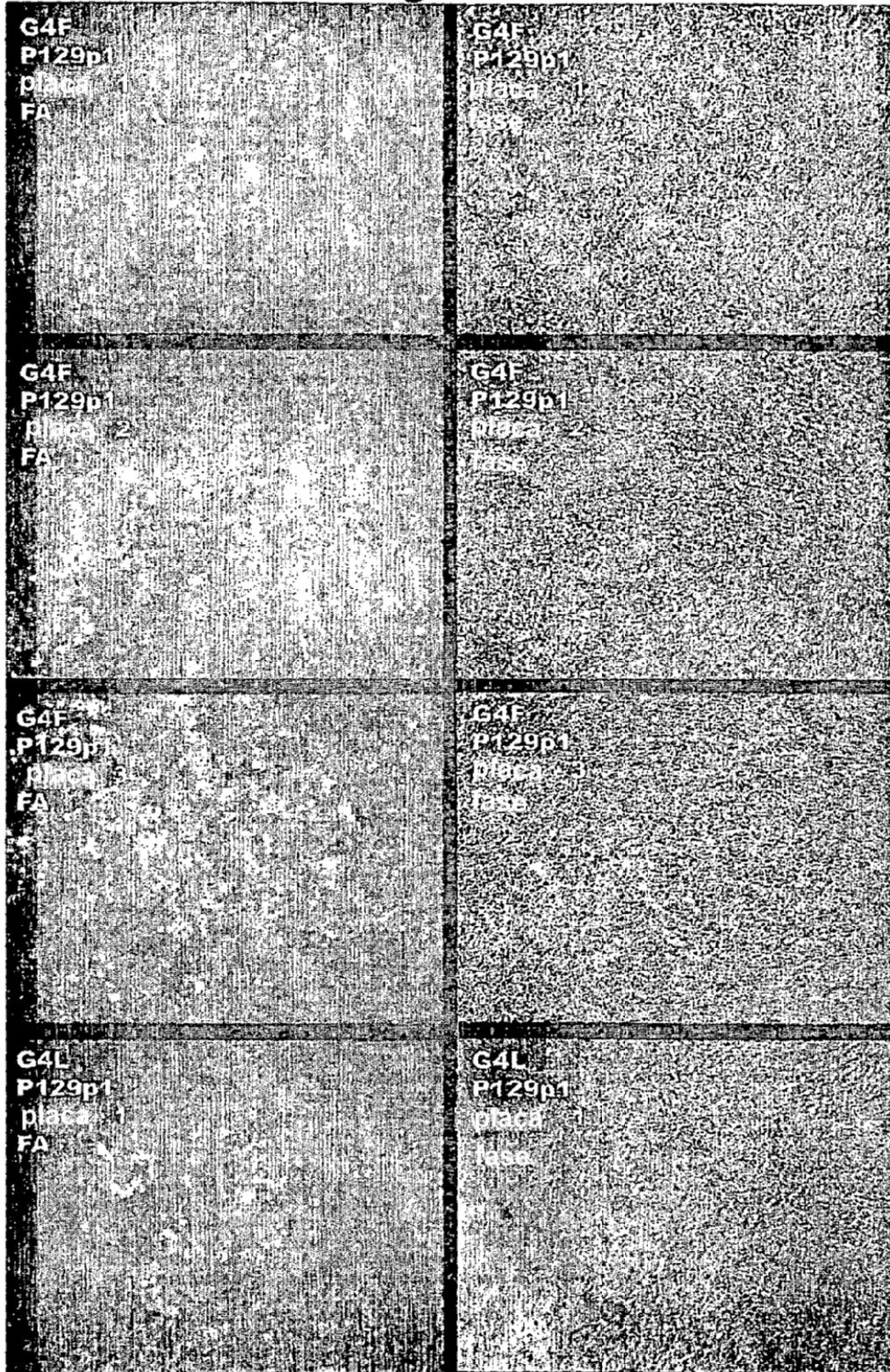


Figura 9

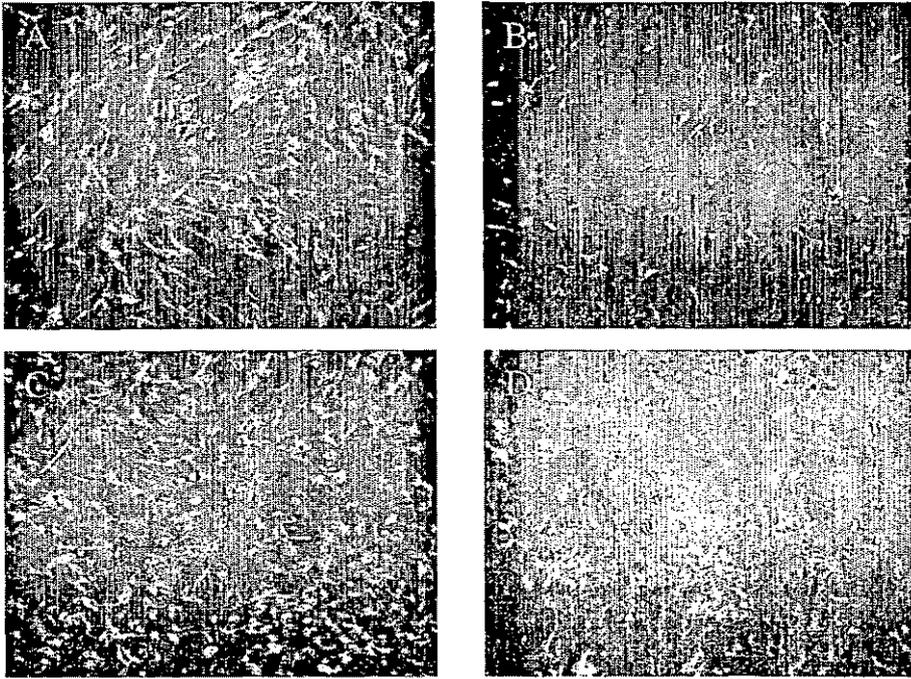


Figura 10

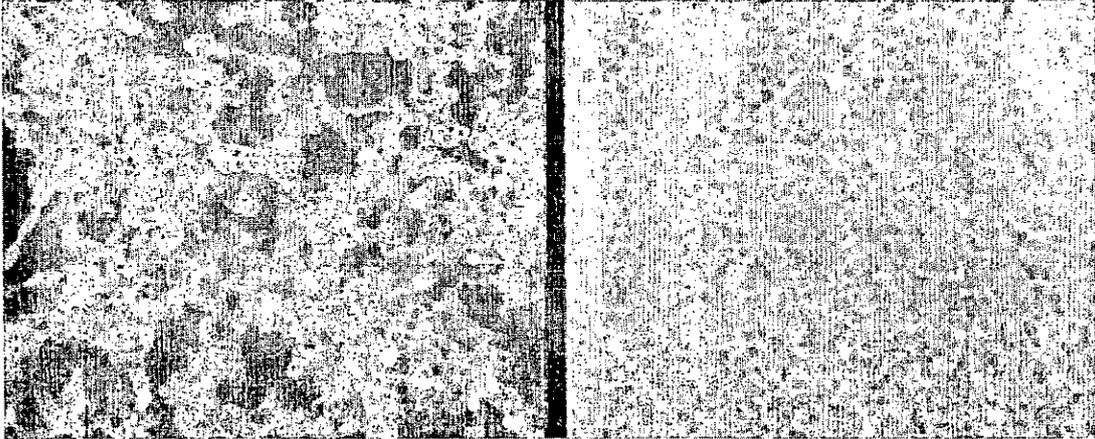


Figura 11

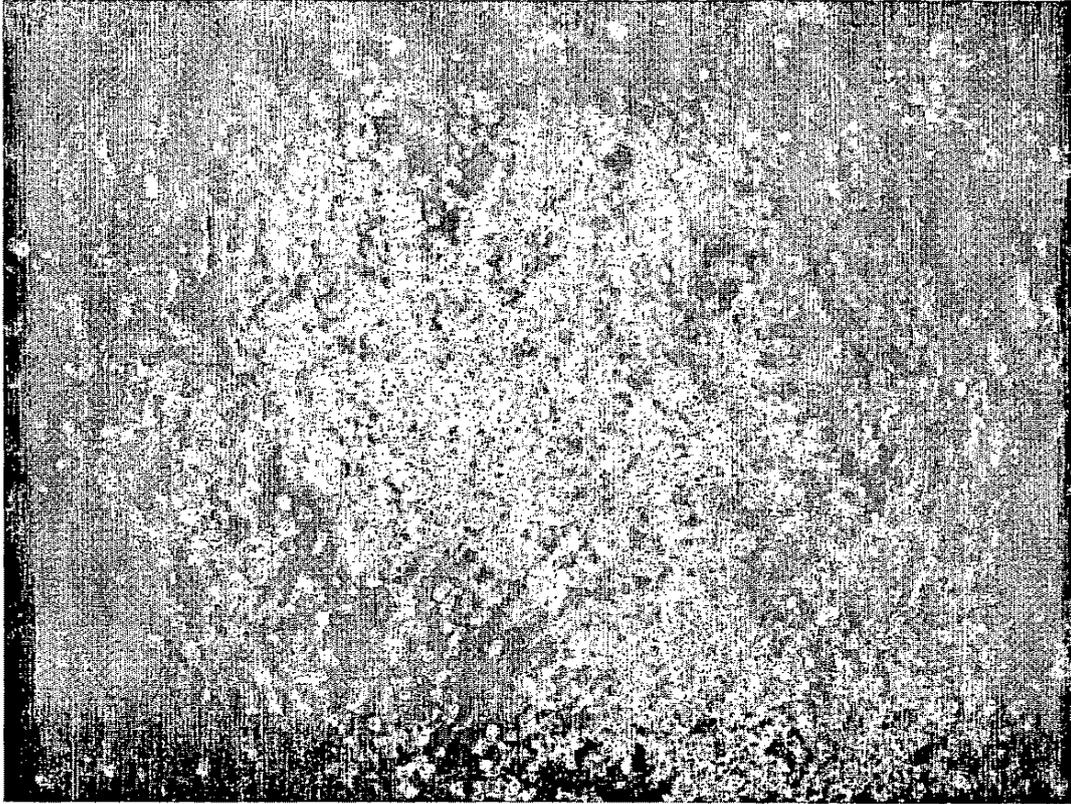


Figura 12

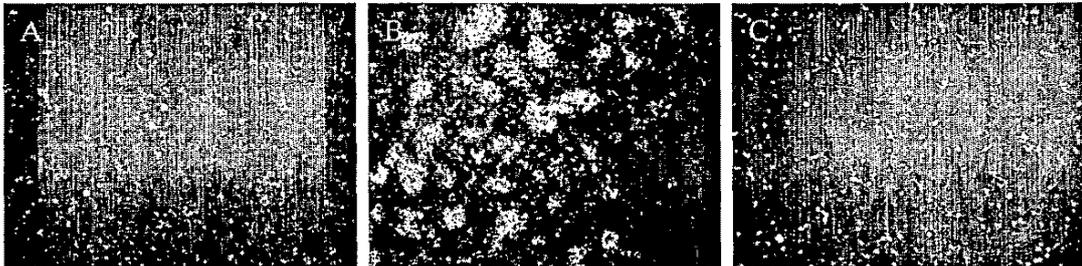


Figura 13

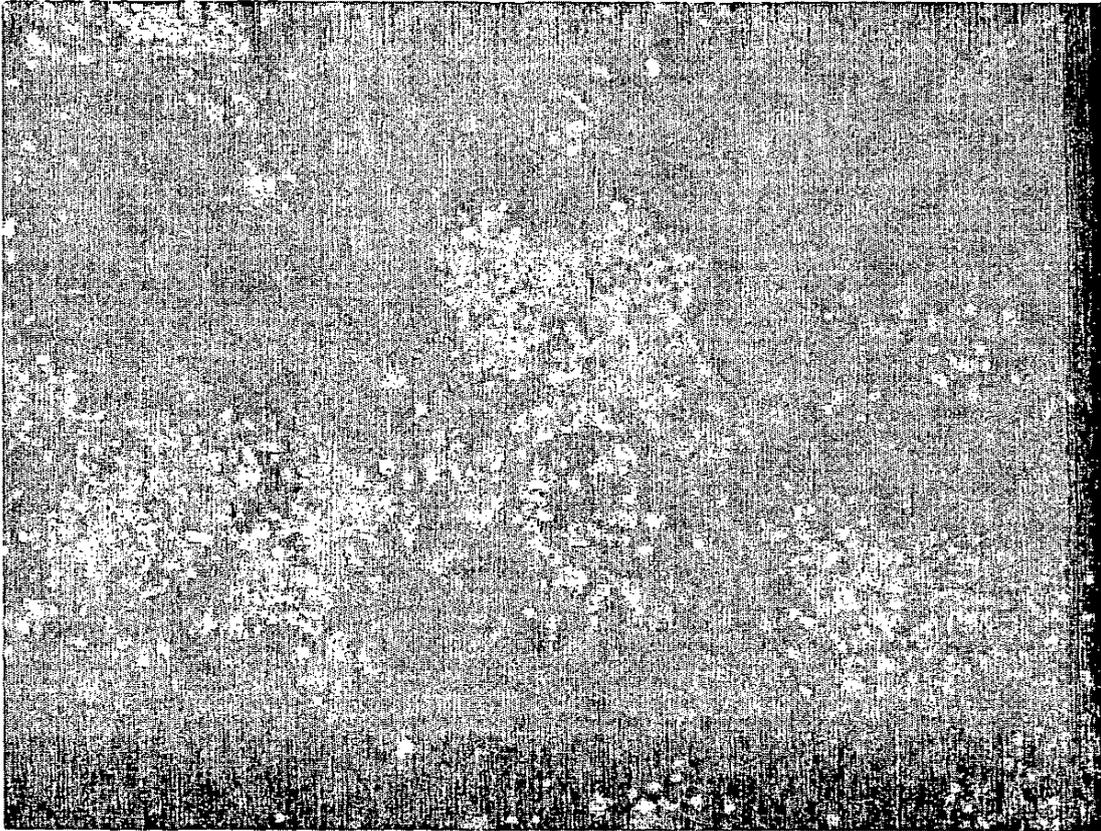


Figura 14

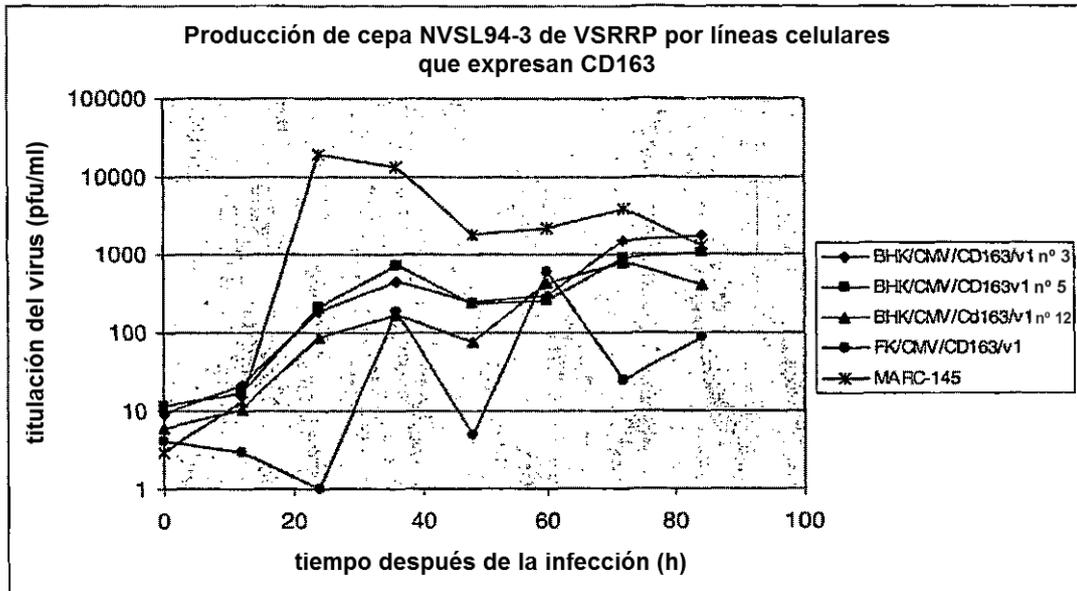


Figura 15

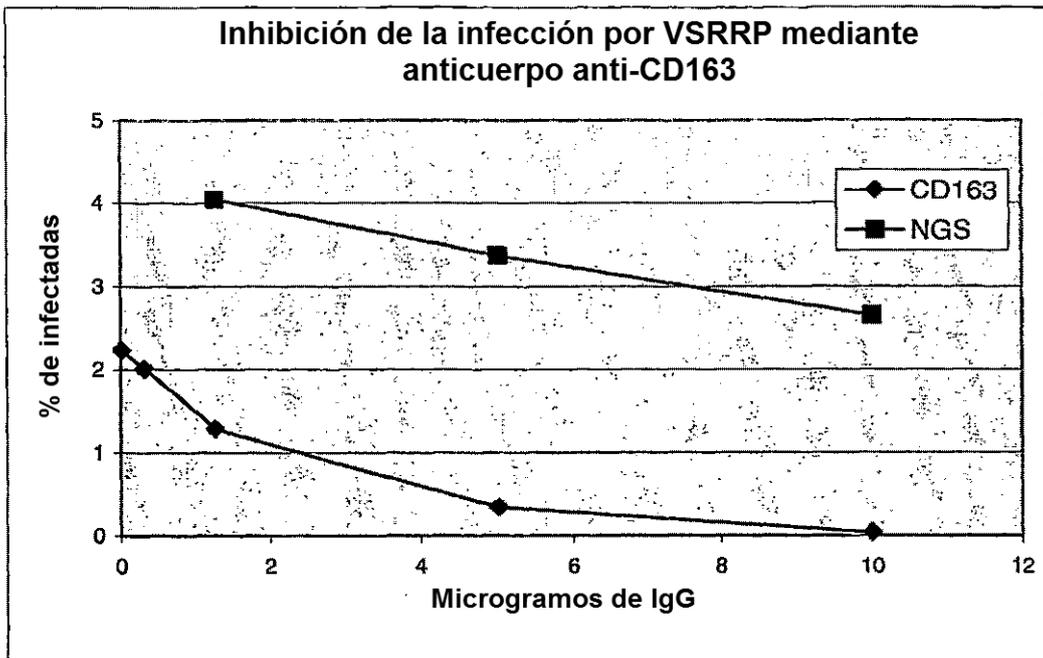


Figura 16

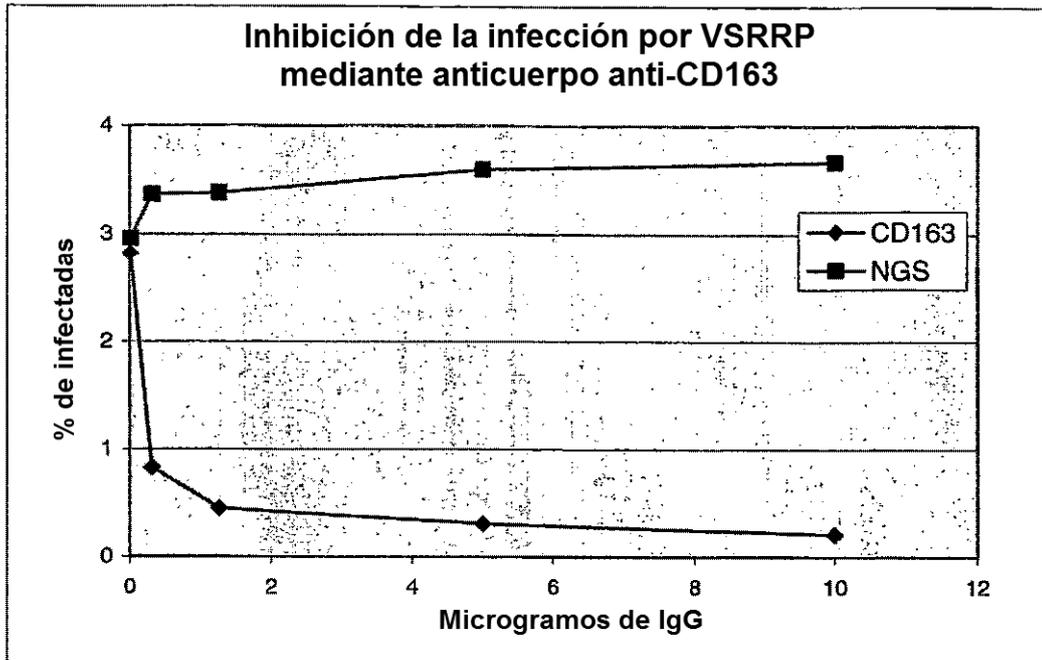


Figura 17

Variantes de corte y empalme alternativo de CD163 de células Vero

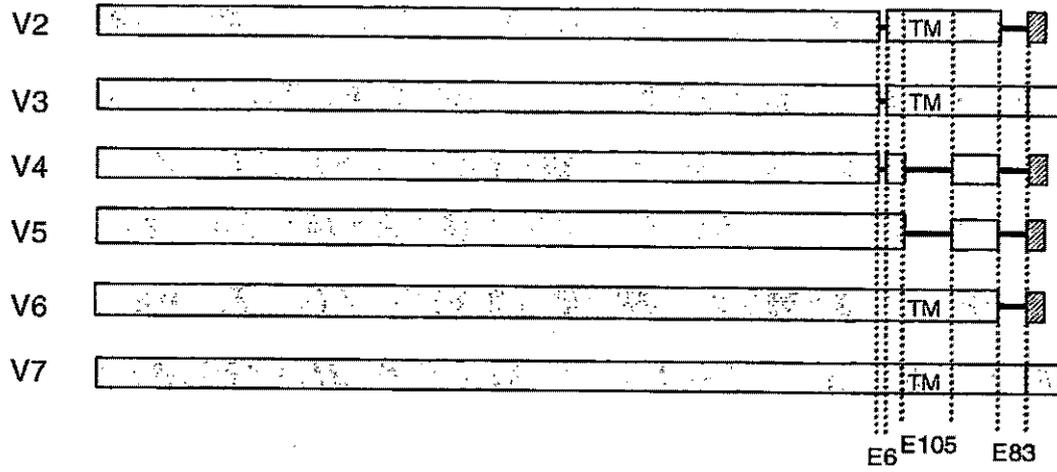


Figura 18

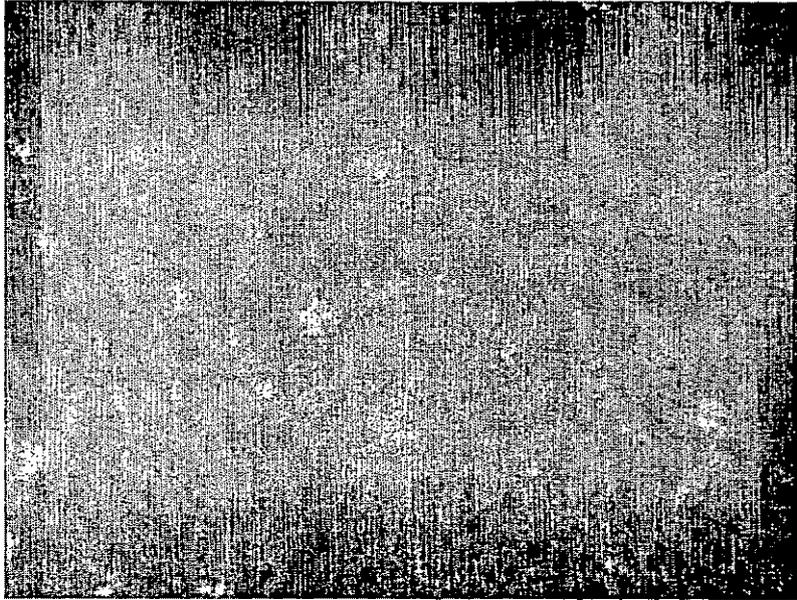


Figura 19

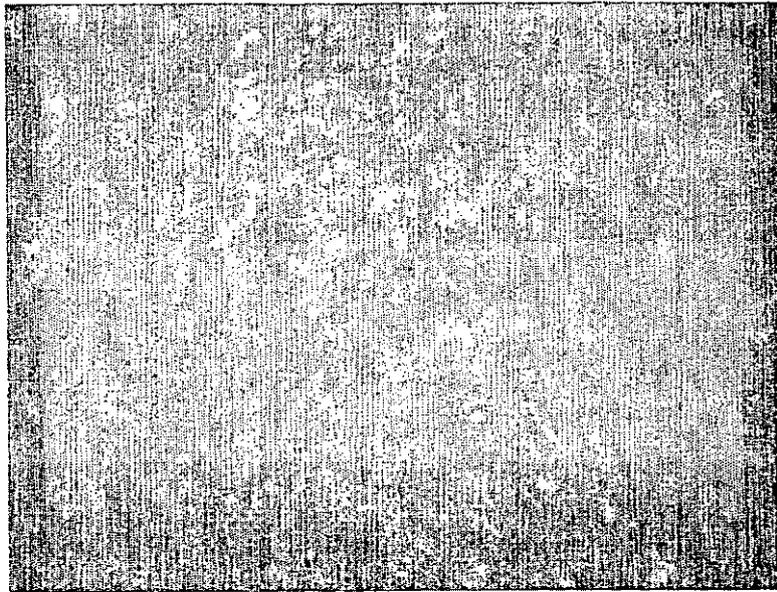


Figura 20A

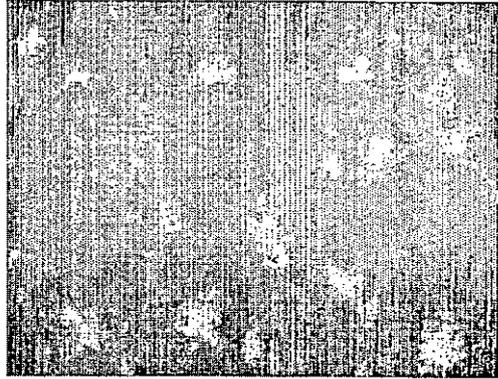


Figura 20B

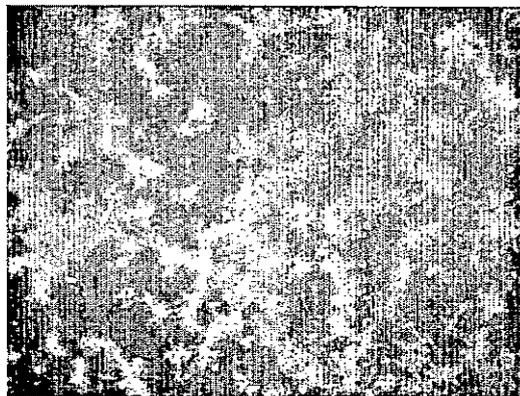


Figura 21A

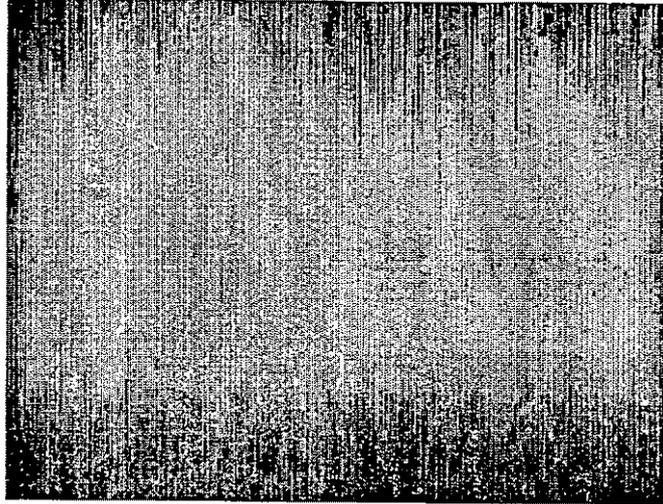


Figura 21B

