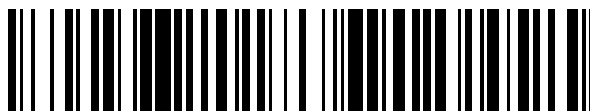


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 539 751**

51 Int. Cl.:

| | | |
|--------------------|-----------------------------|-----------|
| C07K 16/08 | (2006.01) A61P 31/22 | (2006.01) |
| A61K 39/395 | (2006.01) C12N 1/15 | (2006.01) |
| A61P 1/16 | (2006.01) C12N 1/19 | (2006.01) |
| A61P 7/00 | (2006.01) C12N 1/21 | (2006.01) |
| A61P 11/00 | (2006.01) C12N 5/10 | (2006.01) |
| A61P 15/06 | (2006.01) C12P 21/08 | (2006.01) |
| A61P 25/00 | (2006.01) | |
| A61P 25/18 | (2006.01) | |
| A61P 25/28 | (2006.01) | |
| A61P 27/02 | (2006.01) | |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2010 E 10758877 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2015 EP 2420572**

54 Título: **Anticuerpo monoclonal capaz de unirse con epítipo discontinuo específico que aparece en la región AD1 de la glucoproteína gB de citomegalovirus humano, y fragmento de unión a antígeno del mismo**

30 Prioridad:

01.04.2009 JP 2009089442

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

03.07.2015

73 Titular/es:

**EVEC INCORPORATED (100.0%)
2-6, Odori-Nishi 6-chome, Chuo-ku, Sapporo-shi
Hokkaido 0600042, JP**

72 Inventor/es:

**TAKADA, KENZO;
KURINO, RIKA y
TORASHIMA, TAKASHI**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 539 751 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

Anticuerpo monoclonal capaz de unirse con epítipo discontinuo específico que aparece en la región AD1 de la glucoproteína gB de citomegalovirus humano, y fragmento de unión a antígeno del mismo

5

Campo técnico

La presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une con citomegalovirus humano (en lo sucesivo en el presente documento, denominado en ocasiones "HCMV"), y un fragmento de unión a antígeno del mismo. Más particularmente, la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal humano que se une con la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV y un fragmento de unión a antígeno del mismo.

10

Antecedentes de la técnica

Junto con el herpesvirus humano 6 (HHV-6) y el herpesvirus humano 7 (HHV-7), el citomegalovirus humano (HCMV) pertenece a beta herpesvirus de *Herpesviridae*. El HCMV es un virus de ADN bicatenario que es el mayor entre los *Herpesviridae* con un diámetro de aproximadamente 180 nm, cuya cepa silvestre codifica 165 genes con un tamaño de genoma de aproximadamente 235 kpb (Documentos No de Patente 1 y 2).

15

El HCMV es altamente específico de especie y no infecta a animales distintos del ser humano pero infecta ampliamente al ser humano y tiene afinidad por tipos generales de tejidos en el cuerpo humano.

20

Además, una vez infectado, el HCMV no se elimina incluso después del establecimiento de inmunidad en el hospedador y permanece durante toda la vida.

25

Una vez infectado, el HCMV permanece latente durante toda la vida. Más del 90 % de los adultos Japoneses ya se han infectado y portan el virus, aunque el virus está pocas veces activado y pocas veces produce enfermedades en personas sanas.

Sin embargo, un estado de inmunodeficiencia debido al SIDA, debido al cáncer, después de trasplante de órganos, después de trasplante de médula ósea, después de hemodiálisis o similares podría provocar la reactivación del HCMV latente, lo que puede provocar una grave infección por HCMV que puede ser letal tal como neumonía intersticial, retinitis, gastroenteritis, encefalitis o similares (Documentos No de Patente 3 y 4).

30

Además, cuando una mujer embarazada experimenta infección primaria por HCMV durante el periodo fetal, la infección por HCMV puede transmitirse al feto de la mujer embarazada a través de la placenta, en cuyo caso el feto puede desarrollar infección por CMV congénita (enfermedad de citomegalovirus congénita; también denominada enfermedad de inclusión citomegálica o enfermedad de inclusión citomegálica congénita), y puede dar como resultado aborto, mortinato o muerte poco después del nacimiento. Incluso en el caso de supervivencia, puede dar como resultado bajo peso al nacer, hepatoesplenomegalia, ictericia, púrpura trombocitopénica, microcefalia, trastorno del desarrollo mental, retardo del desarrollo intelectual, coriorretinitis, alteración de la audición o similares. Además, incluso durante el periodo neonatal o la infancia, si el anticuerpo de HCMV transmitido de la madre es insuficiente, la infección por HCMV a través del canal de parto, leche materna, orina, saliva o similares puede desarrollar anomalía de la función hepática, neumonía intersticial, mononucleosis o similares (Documentos no de Patente 3, 4 y 5).

35

40

45

La infección por HCMV se ha convertido en un problema mundial y se están desarrollando en la actualidad fármacos profilácticos y terapéuticos que son capaces de suprimir la aparición de diversas afecciones patológicas debidas al HCMV anteriormente descrito, o que son capaces de aliviar dichas afecciones patológicas. Recientemente, se han desarrollado ganciclovir (Documentos No de Patente 6 y 7), foscarnet (Documento No de Patente 8), valganciclovir (Documento No de Patente 9) y similares como fármacos antivirales para suprimir la proliferación de HCMV.

50

El ganciclovir es un fármaco antiviral que bloquea la síntesis de ADN viral, que se activa a ganciclovir trifosfato en células y antagoniza de forma competitiva el desoxiguanosin trifosfato (dGTP), es decir, un sustrato de ADN polimerasa, inhibiendo de esta manera la ADN polimerasa. Por lo tanto, se usa para tratar la retinitis por citomegalovirus en un estado de inmunodeficiencia, principalmente SIDA, o se usa para suprimir la aparición de retinitis por citomegalovirus en infección por VIH avanzada con 100 o menos linfocitos CD4/mm³, y está aprobado como un producto farmacéutico.

55

Se ha informado de diversos efectos secundarios de agentes antivirales tales como ganciclovir, sin embargo, tales como trastorno hematopoyético, y su modo de uso ha sido muy limitado como se ha descrito anteriormente.

60

El efecto secundario de aparición más frecuente y que requiere más atención entre los efectos secundarios del ganciclovir es los trastornos sanguíneos asociados con la supresión de médula ósea, en los que los números de leucocitos, eritrocitos y plaquetas se reducen de forma anómala. Los síntomas tempranos incluyen fiebre, dolor de garganta, inactividad anómala y tendencia al sangrado tal como sangrado debajo de la piel. En algunos casos,

65

puede provocar anomalía en el sistema psiconeurótico, dando como resultado cefalea, mareos, insomnio, dificultad al pensar, sensación de ansiedad o similares.

5 Además, se ha presentado teratogénesis, mutagenicidad y carcinogenicidad en experimentos animales, y por lo tanto no puede usarse durante el embarazo.

10 Además, aunque se cree que el uso de ganciclovir en varios casos de infección por HCMV congénita es eficaz en la reducción de la aparición de efectos posteriores neurológicos y en la mejora de la progresión de la pérdida de audición (Documento No de Patente 10), los problemas de supresión de la médula ósea, teratogénesis o carcinogenicidad como efectos secundarios de ganciclovir aún requieren suficiente y cuidadosa consideración.

15 El valganciclovir es éster de L-valina de ganciclovir que se convierte a ganciclovir con esterasas intestinales y hepáticas después de la administración oral. En consecuencia, su mecanismo de acción y efectos secundarios son iguales que los de ganciclovir y por lo tanto está asociado con los problemas de supresión de la médula ósea, teratogénesis y carcinogenicidad. En Japón, el valganciclovir está aprobado como un fármaco terapéutico para retinitis por citomegalovirus en estados de inmunodeficiencia, principalmente SIDA.

20 Al mismo tiempo, el foscarnet es un análogo de ácido pirofosfórico y suprime la proliferación del HCMV actuando directamente en el sitio de unión a ácido pirofosfórico de la ADN polimerasa para inhibir la ADN polimerasa. También es eficaz contra HCMV resistente a ganciclovir. Los principales efectos secundarios incluyen sensación de mareo, anemia, aumento de la creatinina en suero, vómitos, hipomagnesemia, hipocalemia, sensación anómala y similares. En particular, se produce frecuentemente choque y daño renal y por lo tanto requiere administración cuidadosa. En Japón, el uso del foscarnet está permitido solamente en pacientes que se ha diagnosticado de forma decisiva que tienen retinitis por HCMV o pacientes altamente y clínicamente sospechosos de retinitis por HCMV entre los
25 pacientes con SIDA, y no debe usarse para el fin de prevenir la infección (Documento No de Patente 8).

30 Por lo tanto, se desea en gran medida el desarrollo de un fármaco capaz de prevenir la aparición de diversas enfermedades debido al HCMV anteriormente descrito o aliviar los síntomas del mismo sin ningún efecto secundario. En estas circunstancias, se han llevado a cabo desarrollos clínicos de dos anticuerpos anti HCMV, en los que uno es anticuerpo anti HCMV "C23 (también denominado TI-23 en el momento del desarrollo)" descrito en el Documento de Patente 3 que es un anticuerpo que reconoce la región AD2 de la glucoproteína gB, y el otro es un anticuerpo anti HCMV "SDZ MSL 109" descrito en el Documento de Patente 4 que es un anticuerpo monoclonal que reconoce la glucoproteína gH en la superficie del HCMV. Particularmente, el desarrollo del C23 se abandonó durante la
35 investigación a pesar de su alta actividad neutralizante, es decir concentración inhibitoria al 50 % de 0,5 µg/ml como se determinó por el método de placas (Documento No de Patente 11).

40 Por el momento, se ha realizado intensamente desarrollo de vacunas de HCMV pero aún no está disponible ninguna vacuna que pueda soportar el uso clínico. Se ha desarrollado recientemente una formulación de gamma globulina de alta titulación anti CMV derivada de ser humano, que está aprobada en los Estados Unidos para su uso para prevenir la aparición de infección por HCMV asociada con trasplante de riñón. Sin embargo, ya que una formulación de gamma globulina de alta titulación anti CMV es una preparación de sangre derivada de ser humano, tiene diversos problemas. Por ejemplo, una mezcla de gamma globulina derivada de seres humanos da como resultado variaciones entre lotes significativas en la actividad, baja actividad y aporte limitado, así como constantes riesgos
45 tales como contaminación de patógenos o virus patógenos desconocidos.

50 En consecuencia, ya que puede esperarse que un anticuerpo monoclonal (en lo sucesivo en el presente documento, en ocasiones denominado "anticuerpo anti HCMV") que se une con HCMV y neutraliza la infecciosidad del mismo (es decir, que aniquila la actividad biológica del mismo) sea un fármaco profiláctico o terapéutico para diversas afecciones patológicas provocadas por el HCMV, es útil, por ejemplo, con respecto a estrategia de prevención o tratamiento contra diversas enfermedades provocadas por el HCMV en un paciente con una afección de inmunodeficiencia.

55 Específicamente, un anticuerpo anti HCMV derivado de ser humano que tiene fuerte afinidad y alta capacidad neutralizante contra HCMV para aniquilar la actividad HCMV para evitar la aparición de las enfermedades o aliviar los síntomas y que no provoca ninguna reacción alérgica parece ser eficaz para administrar como un llamado "fármaco de anticuerpo".

60 Sin embargo, los anticuerpos inhibidores de HCMV presentados hasta la fecha (por ejemplo, Documentos de Patente 1, 2, 3, 4 y 5) han sido insuficientes con respecto a afinidad, capacidad neutralizante y similares contra HCMV, y por lo tanto no se espera que bloqueen suficientemente las bioactividades de HCMV para evitar la aparición de diversas enfermedades provocadas por el HCMV o para aliviar los síntomas de las mismas.

65 Por lo tanto, se desea en gran medida el desarrollo de un anticuerpo anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que es un anticuerpo monoclonal humano que no reconoce o responde a una sustancia ajena, que tiene excelente afinidad, especificidad y capacidad neutralizante para HCMV, y que puede esperarse su uso como un fármaco profiláctico o terapéutico.

Recientemente, para suprimir la proliferación de HCMV *in vivo*, se han mencionado no solamente la actividad neutralizante sino también la importancia de bloquear la infección de célula a célula (Documentos No de Patente 12 y 13), y por lo tanto ha habido una gran necesidad de un anticuerpo anti HCMV que también tenga una actividad para inhibir la infección célula a célula.

Adicionalmente, el Documento US 2009/0004198 A1 (Nakajima *et al.*) describe un anticuerpo monoclonal humano que se une con citomegalovirus humano y su parte de unión a antígeno.

Documentos de la técnica anterior

Documentos de patente

Documento de Patente 1: Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Nº 8-502403

Documento de Patente 2: Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Nº 8-506325

Documento de Patente 3: WO87/03602

Documento de Patente 4: WO93/021952

Documento de Patente 5: WO2007/094423

Documentos no de patente

Documento No de Patente 1: Davison, A. J. *et al.*, The human cytomegalovirus genome revisited: comparison with the chimpanzee cytomegalovirus genome. *J. Gen. Virol.*, 2003; 84: p 17-28

Documento No de Patente 2: Dolan, A. *et al.*, Genetic content of wild-type human cytomegalovirus. *J. Gen. Virol.*, 2004; 85: p 1301-1312

Documento No de Patente 3: Keiko TAYA, Discussion of Infection: Cytomegalovirus infection, *Infectious Diseases Weekly Report Japan*. 2003; Week 15:1 0-14

Documento No de Patente 4: Griffiths, P. D., The treatment of cytomegalovirus infection. *J. Anti. Chemo.*, 2002; 49: p 243-253

Documento No de Patente 5: Demmler, G. J., Congenital cytomegalovirus infection and disease. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 1999; 10: p 195-200

Documento No de Patente 6: Freitas, V. R. *et al.*, Activity of 9-(1,3-dihydroxy-2-Propoxymethyl)guanine compared with that of acyclovir against human, monkey, and rodent cytomegaloviruses. *Anti. Agent Chemo.*, 1985; 28: p 240-245

Documento No de Patente 7: Prospecto para el agente quimioterapéutico anti citomegalovirus, Denosina para infusión intravenosa, 500 mg, formulación de ganciclovir, Mitsubishi Tanabe Pharma (revisado en octubre de 2007)

Documento No de Patente 8: Prospecto para agente antiviral para inyección en gotas, Foscavir, 24 mg/ml, inyección de foscarnet sódico hidratado, AstraZeneca (revisado en junio de 2007)

Documento No de Patente 9: Prospecto para agente quimioterapéutico anti citomegalovirus, comprimido Valixa (4500 mg), formulación de clorhidrato de valganciclovir, Mitsubishi Tanabe Pharma (revisado en octubre de 2007)

Documento No de Patente 10: Kimberlin, D. W. *et al.*, Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system; randomized, controlled trial. *J. Pediatr.*, 2003; 143: 16-25

Documento No de Patente 11: Masuho, T., *et al*, Human monoclonal antibodies neutralizing human cytomegalovirus. *J. Gen. Virol*, 1987; 68: p 1457-1461

Documento No de Patente 12: Navarro, D. *et al.*, Glycoprotein B of human cytomegalovirus promotes virion penetration into cells, transmission of infection from cell to cell, and fusion of infected cells, *Virology*, 1993; 197: p 143-158

Documento No de Patente 13: Ohizumi, Y., Neutralizing mechanism of two human monoclonal antibodies against human cytomegalovirus glycoprotein 130/55. *J. Gen. Virol.*, 1992; 73: p 2705-2707

Sumario de la invención

Problemas para resolver por la invención

Por lo tanto, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que se une específicamente con HCMV y que inhibe suficientemente la bioactividad del mismo parece ser útil contra diversas enfermedades provocadas por el HCMV desde una perspectiva de estrategia de tratamiento o prevención.

En la actualidad, la mayoría de los fármacos de anticuerpos que están aprobados como productos farmacéuticos tienen que administrarse en una gran cantidad de varios mg a varios cientos de mg por día y son caros. Muchos de los productos biofarmacéuticos que están disponibles en el mercado hasta la fecha distintos de los productos farmacéuticos de anticuerpos tienen que administrarse de varias decenas de μg a 1 mg por día. En comparación, las dosificaciones diarias de productos farmacéuticos de anticuerpos varían en gran medida de aproximadamente 10 a 1000 veces el producto biofarmacéutico convencional. El HCMV conduce a diversas enfermedades, y los tratamientos de estas enfermedades tienen problemas importantes tales como mayor actividad, menor dosis terapéutica y mantener el coste de tratamiento bajo, considerar el posible efecto en el neonato, niño y una mujer

embarazada. En otras palabras, no se desea cualquier fármaco de anticuerpo sino uno con alta bioactividad, que es más útil con más afinidad excelente y mayor capacidad neutralizante como un producto farmacéutico con respecto a gastos de cuidados sanitarios.

5 Aunque la cantidad de producción de los productos farmacéuticos de anticuerpos necesaria está creciendo en gran medida, las instalaciones de producción son insuficientes a nivel global. En estas circunstancias, se desea un anticuerpo monoclonal anti HCMV humano con mayor afinidad y capacidad neutralizante ya que un anticuerpo con excelente afinidad y capacidad neutralizante puede ejercer efectos con menos cantidad. Lo que es más, ya que el HCMV es fundamentalmente infeccioso para tipos generales de tejidos y células en cuerpos (Sinzger, C. *et al.*, Curr Top Microbiol Immunol., 2008; 325: p 63-83), es importante que el anticuerpo anti HCMV ejerza efectos clínicos que
10 tengan una actividad neutralizante eficaz para cualquiera de célula fibroblástica, célula epitelial y célula endotelial como una célula hospedadora para infectar.

15 Dada la forma de proliferación de la infección por HCMV *in vivo*, es muy necesario un anticuerpo anti HCMV que no solamente tenga capacidad neutralizante sino que también tenga capacidad de bloqueo de la infección de célula a célula. Además, a la vista de la eficacia y seguridad como un producto farmacéutico, se desea la provisión de una composición farmacéutica que comprenda un anticuerpo monoclonal derivado de ser humano o un fragmento de unión a antígeno del mismo que tenga alta capacidad neutralizante y capacidad de bloqueo de infección de célula a célula frente a HCMV que provoca diversas patologías.

20 Medios para resolver los problemas

Para adquirir el anticuerpo anteriormente descrito, los presentes inventores han realizado estudios intensos y han tenido éxito con ingenio en la obtención de un anticuerpo monoclonal humano que reconoce específicamente un epítipo discontinuo no indicado previamente presente en la región AD1 de la glucoproteína gB del HCMV, que
25 también tiene alta capacidad neutralizante y alta capacidad de bloqueo de infección de célula a célula, consiguiendo de este modo la presente invención.

30 Por lo tanto, la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal anti HCMV o un fragmento de unión del mismo, ADN (polinucleótido) que codifica el anticuerpo o el fragmento de unión, un vector que contiene el ADN, y una célula hospedadora que contiene el vector descrito en las reivindicaciones.

La divulgación describe

35 [1] Un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une con la región AD1 de la glucoproteína gB de citomegalovirus humano (HCMV), y que reconoce, como un epítipo, una secuencia discontinua que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 25, la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 26 y la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 27 presente en la región AD1.

40 [2] Un anticuerpo monoclonal que se une específicamente con la región AD1 de la glucoproteína gB de citomegalovirus humano (HCMV) y que es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma, en el que

(i) la región variable de la cadena pesada comprende:

45 (a) una secuencia de aminoácidos de CDR1 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 13 y una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 13;

50 (b) una secuencia de aminoácidos de CDR2 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 14 y una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 14; y

55 (c) una secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 15, una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 15, y la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 22, y

(ii) la región variable de la cadena ligera comprende:

60 (a) una secuencia de aminoácidos de CDR1 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16 y una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16;

65 (b) una secuencia de aminoácidos de CDR2 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17 y una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17; y

(c) una secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18 y una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

5 [3] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con [2] anterior, que se une específicamente con un epítipo que comprende dos o más secuencias discontinuas presentes en regiones de una secuencia de aminoácidos (SEC ID N°: 23) que consiste en los restos de aminoácidos continuos en las posiciones 549-580 y una secuencia de aminoácidos (SEC ID N°: 24) que consiste en los restos de aminoácidos continuos en las posiciones 596-640 de la glucoproteína gB de HCMV.

10 [4] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con [2] anterior, que reconoce, como un epítipo, una secuencia discontinua que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 25, la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 26 y la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 27 en la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV.

15 [5] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con uno de [3] y [4] anterior, comprendiendo el anticuerpo:

(i)

20 (a) una secuencia de aminoácidos de CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 13

(b) una secuencia de aminoácidos de CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 14; y

25 (c) una secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 22, y

(ii)

30 (a) una secuencia de aminoácidos de CDR1 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16

(b) una secuencia de aminoácidos de CDR2 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17; y

35 (c) una secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18.

[6] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con [5] anterior, comprendiendo el anticuerpo:

(i)

40 (a) una secuencia de aminoácidos de CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 13

(b) una secuencia de aminoácidos de CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 14; y

45 (c) una secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 15, y

(ii)

50 (a) una secuencia de aminoácidos de CDR1 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16

(b) una secuencia de aminoácidos de CDR2 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17; y

55 (c) una secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18.

[7] el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con [2] anterior, que comprende:

60 (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10, una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno o a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10, o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10; y

65 (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12, una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12, o

una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.

[8] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con [7] anterior, que comprende:

- (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10; y
- (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.

[9] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con [2] anterior, que comprende:

- (a) una cadena pesada (cadena H) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6, una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6, o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6; y
- (b) una cadena ligera (cadena L) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8, una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8, o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8.

[10] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con [9] anterior, que comprende:

- (a) una cadena pesada (cadena H) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6; y
- (b) una cadena ligera (cadena L) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8.

[11] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de [1]-[10] anterior, en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano.

[12] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de [1]-[11] anterior, en el que la clase (subclase) del anticuerpo es IgG1 (λ).

[13] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de [1]-[12] anterior, cuya concentración inhibidora al 50 % para la formación de placas es de 0,05 $\mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 0,3 nM) o menos para la cepa de laboratorio de HCMV (AD169) en presencia de una célula de fibroblasto humano.

[14] El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de [1]-[13] anterior, que tiene capacidad de bloqueo de la infección de célula a célula del 50 % o mayor a 0,2 $\mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 1,3 nM) o menos en una línea celular de fibroblastos humanos (MRC-5) infectada con la cepa de laboratorio de HCMV (AD169).

[15] Una composición farmacéutica para prevenir o tratar una enfermedad relacionada con citomegalovirus humano (HCMV), que comprende el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con uno cualquiera de [1]-[14] anterior y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[16] La composición farmacéutica de acuerdo con [15] anterior, en la que la enfermedad relacionada con HCMV es (a) neumonía intersticial, retinitis, gastroenteritis o encefalitis provocada por reactivación del HCMV en un estado de inmunodeficiencia, (b) infección por CMV congénita debido a transmisión de la infección de HCMV de una mujer embarazada a un feto, (c) aborto, mortinato o muerte poco después del nacimiento provocado por la infección por CMV congénita anteriormente descrita, (d) bajo peso al nacer, hepatoesplenomegalia, ictericia, púrpura trombocitopénica, microcefalia, trastorno del desarrollo mental, retardo del desarrollo intelectual, coriorretinitis o alteración de la audición en el caso de supervivencia a través de la infección por CMV congénita anteriormente descrita; o (e) anomalía de la función hepática, neumonía intersticial o mononucleosis que está provocada por infección por HCMV durante el periodo neonatal o la infancia.

[17] Un ácido nucleico que codifica un anticuerpo monoclonal anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente con la región AD1 de la glucoproteína gB del HCMV y que es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma, en el que el ácido nucleico aislado se selecciona de ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13-18 y 22, y ácidos nucleicos que hibridan con los mismos en condiciones altamente rigurosas.

[18] Un vector que incorpora un ácido nucleico de acuerdo con [17] anterior.

[19] Una célula hospedadora que incorpora el vector de acuerdo con [18] anterior.

[20] Un método para producir el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con uno cualquiera de [1]-[14] anterior, que comprende una etapa de cultivar la célula hospedadora de acuerdo con [19] anterior.

60 Efectos de la invención

Un anticuerpo anti HCMV de la presente invención, en particular, un anticuerpo que se une específicamente con la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV, o un fragmento de unión a antígeno del mismo puede unirse específicamente con HCMV que es causante de diversas enfermedades, por ejemplo, en un estado de inmunodeficiencia, y destruir (neutralizar) la bioactividad de HCMV, ejerciendo de esta manera una capacidad neutralizante excelente contra HCMV. Además, una realización en la que el anticuerpo anti AD1 de glucoproteína gB

de HCMV de la presente invención es un anticuerpo monoclonal humano es ventajosa porque no tiene inmunogenicidad y porque no produce respuesta inmunitaria.

5 Una realización del anticuerpo anti HCMV de la presente invención tiene alta capacidad de bloqueo de la infección de célula a célula o actividad inhibidora de la infección de célula a célula contra HCMV. A la vista del modo de propagación de la infección de HCMV *in vivo*, es ventajoso que el anticuerpo anti HCMV no solamente tenga capacidad neutralizante sino que también tenga capacidad de bloqueo de la infección de célula a célula.

10 Un anticuerpo anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención tiene alta capacidad neutralizante y actividad inhibidora de la propagación de la infección contra HCMV. Ya que un anticuerpo monoclonal humano no tiene inmunogenicidad, es probable que sea útil como un fármaco profiláctico o terapéutico para diversas enfermedades provocadas por HCMV, por ejemplo: (a) enfermedades tales como la neumonía intersticial, retinitis, gastroenteritis, encefalitis y similares debido a la reactivación de HCMV en estados de inmunodeficiencia tales como SIDA, cáncer, después del trasplante de órganos, después de trasplante de médula ósea, y después de hemodiálisis; (b) infección por CMV congénita debido a la transmisión de infección por HCMV de una mujer embarazada a un feto; (c) aborto, mortinato y muerte poco después del nacimiento provocados por la infección por CMV congénita anteriormente descrita; (d) bajo peso al nacer, hepatoesplenomegalia, ictericia, púrpura trombocitopénica, microcefalia, trastorno del desarrollo mental, retardo del desarrollo intelectual, coriorretinitis y alteración de la audición en el caso de supervivencia a través de la infección por CMV congénita descrita anteriormente; y (e) anomalía de la función hepática, neumonía intersticial y mononucleosis debidas a la infección por HCMV durante el periodo neonatal o la infancia (Documentos No de Patente 3, 4 y 5).

Además, una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo monoclonal humano particularmente preferible de la presente invención es eficaz con una cantidad extremadamente pequeña,

25 Recientemente, se han realizado estudios para un anticuerpo anti HCMV contra diversos antígenos de superficie distintos de glucoproteína gB, por ejemplo, gH, gL o similares. Sin embargo, dadas las circunstancias mencionadas en (1)-(3) posteriores, un anticuerpo que se une específicamente con glucoproteína gB, particularmente la región AD1 de la misma, y que tiene alta actividad neutralizante, como el anticuerpo de la presente invención, es altamente útil como un fármaco profiláctico o terapéutico para la infección por HCMV.

35 (1) Para suprimir la proliferación viral tal como HCMV *in vivo*, se ha observado la importancia no solamente de la actividad neutralizante sino también del bloqueo de la infección de célula a célula (Documentos No de Patente 12 y 13). Mientras tanto, estudios de glucoproteína gB recientes muestran que gB desempeña un papel importante en la entrada de partículas virales en células y la infección de célula a célula (Isaacson, M. K. *et al*, Human cytomegalovirus glycoprotein B is required for virus entry and cell-to-cell spread but not for virion attachment, assembly, or egress. *J. Virology*, 2009; 83: p 3891-3903). Por lo tanto, es muy probable que un anticuerpo contra gB también contribuya a la inhibición de la infección de célula a célula.

40 (2) Entre la glucoproteína gB esencial para la infección por HCMV, la región AD1 es necesaria para las funciones y la formación de la conformación de gB (Qadri, I. *et al*, Assembly of conformational-dependent neutralizing domains on glycoprotein B of human cytomegalovirus. *J. GeaVirol*, 1992; 73: p 2913-2921; y Britt, WJ. *et al*, Antigenic domain is required for oligomerization of human cytomegalovirus glycoprotein B. *J. Virol.*, 2005; 79: p 4066-4079), y también se conoce como una parte con menos mutación de una cepa de virus aislada clínicamente. Por lo tanto, un anticuerpo contra AD1 posiblemente tenga un amplio espectro.

45 (3) Un anticuerpo de AD1 que reconoce epítomos discontinuos por toda una región más larga en gB en comparación con un anticuerpo contra la región AD2, tiene mayor especificidad y por lo tanto parece que tiene menos posibilidades de provocar efectos secundarios inesperados por reactividad cruzada con otra molécula biológica.

Breve descripción de los dibujos

50 La Figura 1 es un diagrama de flujo que muestra un procedimiento para separar un clon celular productor de anticuerpos para producir un anticuerpo anti HCMV de acuerdo con la presente invención.

La Figura 2 muestra la evaluación de las capacidades de secuencias de 16 restos de aminoácidos que forman EV2038 CDR-H3 para unirse con AD1, cuando se someten a sustituciones de aminoácidos no conservativas.

55 La Figura 3 muestra la evaluación de las capacidades de la secuencia para unirse con AD1, cuando se somete a sustituciones de aminoácidos conservativas en las posiciones 121, 123, 124 y 126 de la cadena H de EV2038.

La Figura 4 muestra la evolución de las capacidades de la secuencia para unirse con AD1 cuando se sustituye prolina en la posición 125 de la cadena H de EV2038 con todos los aminoácidos distintos de prolina y arginina.

60 La Figura 5 muestra la evaluación de las capacidades de la secuencia para unirse con AD1 cuando se somete a sustituciones de aminoácidos conservativas de los restos de aminoácidos entre los aminoácidos que forman EV2038 CDR-H3 cuyas capacidades de unión con AD1 no se redujeron cuando se sometió a las sustituciones de aminoácidos no conservativas mostradas en la Figura 2.

65 La Figura 6 muestra la evaluación de las capacidades de unión de variantes con AD1. Se preparó un total de cuatro tipos de variantes por sustitución simultánea de dos o cuatro de los restos de aminoácidos que mostraron capacidades de unión reducidas con AD1 tras las sustituciones de aminoácidos no conservativas entre los aminoácidos que forman EV2038 CDR-H3 distintas de prolina en la posición 125 (concretamente, un total de cuatro

restos en las posiciones 121, 123, 124 y 126) (productos con dos aminoácidos sustituidos: I124V/G126A e I124V/G126S, productos con cuatro aminoácidos sustituidos: L121I/W123Y/I124V/G126A y L121I/W123Y/I124V/G126S).

La Figura 7 muestra la evaluación de las capacidades de unión de variantes con AD1. Se preparó y se sometió a la evaluación una de cada una de las variantes de delección e inserción (E122del y G126_D127insE) para los restos de aminoácidos en las posiciones 121, 123, 124 y 126 (se excluyó prolina en la posición 325), es decir, cuatro restos en total, en los aminoácidos que formaban EV2038 CDR-H3, las sustituciones de aminoácidos no conservativas que mostraron capacidades de unión reducidas con AD1.

La Figura 8 muestra la evaluación de la capacidad de unión de AD1 de una variante que tiene mutación en el resto de aminoácido 79° de la región EV2038 CDR-H2.

La Figura 9(A) muestra una vista de clones de mutantes con región AD1 de glucoproteína gB suprimida usados para analizar regiones de epítomos, mientras que la Figura 9(B) es una vista que muestra resultados del análisis de transferencia de Western usando estos mutantes de delección.

La Figura 10(A) muestra resultados de mapeo de epítomos de EV2038 usando una matriz peptídica. La Figura 10(B) muestra los resultados anteriormente mencionados del análisis junto con la secuencia de aminoácidos de la glucoproteína gB, así como resultados de un análisis usando un mutante de delección de EV2038 y secuencia epitópica previamente indicada de ITC52.

La Figura 11 es una gráfica que muestra los resultados de la evaluación de la actividad neutralizante de un anticuerpo anti HCMV de la presente invención. La Figura 11(A) es una gráfica que muestra las actividades neutralizantes de un anticuerpo monoclonal humano (hIgG) como un control negativo que no tiene especificidad por HCMV y EV2001 como un anticuerpo anti AD1 (desvelado en el Documento de Patente 5), contra citomegalovirus humano (cepa AD169) en presencia de un complemento; la Figura 11(B) es una gráfica que muestra las actividades neutralizantes de hIgG y anticuerpos monoclonales anti HCMV (EV2038 y HCMV16), contra citomegalovirus humano (cepa AD169) en presencia de un complemento; la Figura 11(C) es una gráfica que muestra las actividades neutralizantes de hIgG como un control negativo y EV2001, contra citomegalovirus humano (cepa AD169) en ausencia de un complemento; y la Figura 11(D) muestra las actividades neutralizantes de hIgG y anticuerpos monoclonales anti HCMV (EV2038 y HCMV 16), contra citomegalovirus humano (cepa AD169) en ausencia de un complemento.

Realización para llevar a cabo la invención

1. Anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención

De acuerdo con una realización de la presente invención, se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente con la glucoproteína gB de citomegalovirus humano (HCMV) y que es capaz de neutralizar la bioactividad del mismo. De acuerdo con una realización más específica, se proporciona un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente con un epítopo discontinuo presente en la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV y que es capaz de neutralizar la bioactividad de la proteína.

La "glucoproteína gB de citomegalovirus humano (HCMV)" (o "glucoproteína gB de HCMV" o "glucoproteína gB de HCMV") es una de las glucoproteínas principales que forman la envoltura de HCMV, que se sabe que contribuye a la entrada de partículas virales en células, fusión celular y la infección de célula por un virus. La secuencia de aminoácidos de la glucoproteína gB de HCMV (secuencia de aminoácidos de la cepa AD169 como una cepa representativa del virus de HCMV) está disponible como la secuencia de aminoácidos (SEC ID N°: 137) de la proteína del N° de Referencia: P06473 de una base de datos de secuencias disponible al público (Swiss-Prot).

La "región AD1 de glucoproteína gB de citomegalovirus humano (HCMV)" o "región AD1 de glucoproteína gB de HCMV" se refieren a una región que consiste en restos de aminoácidos continuos en las posiciones 552-635 de la secuencia de aminoácidos de la glucoproteína gB de HCMV (Wagner *et al.*, Journal of Virology, Vol. 66, N° 9, Sept. 1992, p. 5290-5297).

En el presente documento, el término "epítopo" se usa con un significado general en este campo y se refiere a una estructura parcial pequeña de una molécula de antígeno como un compañero de unión de un anticuerpo (Iwanami Biological Dictionary, 4ª Ed. (1ª Ed. publicada en 1996)).

De acuerdo con una realización aún más específica de la invención, existe un epítopo discontinuo presente en la región AD1 en la secuencia de aminoácidos de los restos de aminoácidos continuos en las posiciones 549-580 (SEC ID N°: 23) y la secuencia de aminoácidos de los restos de aminoácidos continuos en las posiciones 596-640 (SEC ID N°: 24) de la glucoproteína gB de citomegalovirus humano (HCMV). Aún más específicamente, el epítopo discontinuo consiste en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 25, la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 26 y la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 27.

De acuerdo con una realización, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención incluye:

- (a) una cadena pesada (cadena H) que contiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6; y
(b) una cadena ligera (cadena L) que contiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8, donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une específicamente con la glucoproteína gB de citomegalovirus humano y es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma.

5 Como alternativa, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención incluye:

- (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que contiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10; y
(b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que contiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12,

10 en el que se une específicamente con la glucoproteína gB de citomegalovirus humano y es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma.

15 El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la presente invención se une específicamente con la glucoproteína gB de citomegalovirus humano y es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma, en el que

(i) las secuencias de aminoácidos de CDR (Región Determinante de Complementariedad) 1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada incluyen:

- 20 (a) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 13;
(b) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 14; y
(c) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 15, respectivamente, y

25 (ii) las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera incluyen:

- (a) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16;
(b) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17; y
(c) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18, respectivamente.

30 Un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo también comprende un equivalente funcional del anticuerpo anteriormente descrito o fragmento de unión a antígeno, que se une específicamente con la glucoproteína gB de citomegalovirus humano y es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma. La descripción desvela

35 (a) una cadena pesada (cadena H) mostrada por una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6, o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6; y

40 (b) una cadena ligera (cadena L) mostrada por una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8, o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8.

45 Como alternativa, un equivalente funcional del anticuerpo anteriormente descrito o fragmento de unión a antígeno desvelado en la descripción también incluye:

(a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10, o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10; y

50 (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12, o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o más con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.

55 La descripción describe un equivalente funcional del anticuerpo anteriormente descrito o fragmento de unión a antígeno que incluye además:

60 (i)

(a) CDR1 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en secuencias de aminoácidos que tienen delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 13,

65 (b) CDR2 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en secuencias de aminoácidos que tienen delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 14, y

(c) CDR3 de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en secuencias de aminoácidos que tienen delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 15 y la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 22, y

(ii)

(a) CDR1 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en secuencias de aminoácidos que tienen delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16,

(b) CDR2 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en secuencias de aminoácidos que tienen delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17, y

(c) CDR3 de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en secuencias de aminoácidos que tienen delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de cualquiera de estas mutaciones para de uno a varios restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18.

El límite superior del número de mutaciones contenido en la secuencia de aminoácidos del equivalente funcional anteriormente descrito puede determinarse basándose en si el equivalente puede unirse específicamente con la glucoproteína gB de HCMV y es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma. La actividad neutralizante de HCMV puede evaluarse, por ejemplo, de acuerdo con métodos descritos en los Ejemplos 9 y 10 posteriores. La capacidad para bloquear la infección de célula a célula puede evaluarse de acuerdo con un método descrito en el Ejemplo 11 posterior.

El término "anticuerpo" como se usa en el presente documento se refiere a una molécula de inmunoglobulina que consiste en cuatro cadenas polipeptídicas, es decir, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L), que están conectadas entre sí mediante enlaces disulfuro. Un anticuerpo monoclonal de acuerdo con la presente invención también consiste en una molécula de inmunoglobulina que contiene dos de cada una de las cadenas ligeras (cadenas L) y cadenas pesadas (cadenas H). Cada una de las cadenas H consiste en una región variable de cadena H (denominada en ocasiones "HCVR" o "V_H") y una región constante de cadena H (la región constante de cadena H consiste en tres dominios, que pueden denominarse en ocasiones "C_{H1}", "C_{H2}" y "C_{H3}" (denominados colectivamente C_H)). Cada una de las cadenas L consiste en una región variable de cadena L (denominada en ocasiones "LCVR" o "V_L") y una región constante de cadena L (la región constante de cadena L consiste en un único dominio, que puede en ocasiones denominarse "C_L").

En particular, HCVR y LCVR son importantes porque son responsables de la especificidad de unión de un anticuerpo. Ya que un anticuerpo interactúa con un antígeno diana principalmente mediante los restos de aminoácidos de LCVR y HCVR, la secuencia de aminoácidos dentro de la región variable varía en gran medida entre diversos anticuerpos en comparación con la secuencia fuera de la región variable. HCVR y LCVR pueden clasificarse además en una región llamada región marco conservada (FR) y una región hipervariable denominada región determinante de complementariedad (CDR), que son más constantes entre diversos anticuerpos. HCVR y LCVR consisten cada una en tres CDR y cuatro FR, que se alinean secuencialmente en el orden de FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4 del extremo amino terminal al extremo carboxilo terminal.

La expresión "fragmento de unión a antígeno" (o simplemente "fragmento de anticuerpo") de un anticuerpo se refiere a un fragmento de uno o más anticuerpos capaces de unirse específicamente con un antígeno (por ejemplo, HCMV). En este caso, este fragmento debería contener un péptido que tuviera una secuencia de aminoácidos mínima que se uniera específicamente con el antígeno. Además, también se incluyen en los "fragmentos de unión a antígeno" un anticuerpo monocatenario (scFV), un antígeno biespecífico, un antígeno poliespecífico y similares que tienen la región variable o la región determinante de complementariedad del anticuerpo que se une específicamente con el antígeno. En el presente documento, para mayor simplicidad, "un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno" puede denominarse simplemente un "anticuerpo".

Un "anticuerpo capaz de neutralizar la bioactividad de HCMV" se refiere a un anticuerpo que inhibe la bioactividad del HCMV uniéndose con HCMV o una célula infectada por HCMV.

La "bioactividad de HCMV" típica incluye, pero sin limitación, actividades de HCMV que provocan las siguientes enfermedades (a)-(e) ejemplificadas a continuación, e incluye actividades de HCMV que inducen diversas enfermedades provocadas por la acción del HCMV activado:

(a) diversas enfermedades tales como neumonía intersticial, retinitis, gastroenteritis o encefalitis provocadas por la reactivación del HCMV en un estado de inmunodeficiencia tal como SIDA, cáncer, después del trasplante de órganos, después del trasplante de médula ósea o después de hemodiálisis;

(b) infección por CMV congénita debida a la transmisión de la infección por HCMV de una mujer embarazada a un feto;

(c) aborto, mortinato o muerte poco después del nacimiento provocados por la infección por CMV congénita anteriormente descrita;

(d) bajo peso al nacer, hepatoesplenomegalia, ictericia, púrpura trombocitopénica, microcefalia, trastorno del desarrollo mental, retardo del desarrollo intelectual, coriorretinitis o alteración de la audición en el caso de supervivencia a través de la infección por CMV congénita descrita anteriormente; o

(e) anomalía de la función hepática, neumonía intersticial o mononucleosis que está provocada por la infección por HCMV durante el periodo neonatal o la infancia (Documentos No de Patente 3, 4 y 5).

La expresión “enfermedad provocada por HCMV” como se usa en el presente documento incluye, además de otras enfermedades, una enfermedad que se ha descubierto o parece que está provocada por que un sujeto diana que padece esa enfermedad tiene HCMV como la causa de las afecciones patológicas de esa enfermedad o como una causa del empeoramiento de esa enfermedad. Por lo tanto, las enfermedades provocadas por la bioactividad de HCMV son aquellas cuyos síntomas y/o progresión se espera que se alivien por la inhibición de la bioactividad de HCMV. Los síntomas de dichas enfermedades pueden aliviarse o tratarse, por ejemplo, usando el anticuerpo anti HCMV anteriormente descrito. Específicamente, la enfermedad anteriormente mencionada puede demostrarse aumentando el nivel de anticuerpo anti HCMV en el fluido biológico del sujeto diana que padece esa enfermedad (por ejemplo, aumentando el nivel de anticuerpo anti HCMV en el suero, plasma o líquido sinovial del sujeto diana).

Las expresiones tales como “efecto inhibitor”, “inhibición”, “supresión” y “capaz de inhibir” como se usa en el presente documento se refieren a reducir la bioactividad resultante del antígeno (HCMV) en aproximadamente 5-100 %, preferentemente 10-100 %, más preferentemente 20-100 %, más preferentemente 30-100 %, más preferentemente 40-100 %, más preferentemente 50-100 %, más preferentemente 60-100 %, más preferentemente 70-100 % y aún más preferentemente 80-100 %.

Ya que la secuencia de aminoácidos de la región variable es responsable de la mayoría de la interacción de anticuerpo-antígeno, un anticuerpo recombinante que replica una propiedad de un anticuerpo de origen natural particular puede expresarse construyendo un vector de expresión que contiene una secuencia de la región variable o una secuencia del resto de CDR derivado del anticuerpo de origen natural particular, injertado en una región constante o una secuencia marco conservada derivada de un anticuerpo diferente que tiene una propiedad diferente.

En consecuencia, para rehacer un anticuerpo recombinante intacto que tiene la misma característica de unión que el anticuerpo original, no existe la necesidad de obtener la secuencia completa del anticuerpo particular. La secuencia de la región variable o el resto de CDR de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo pueden ser suficientes para este fin.

SEC ID N°: 13, 14 y 15 representan secuencias de aminoácidos correspondientes a CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada, respectivamente. SEC ID N°: 16, 17 y 18 son secuencias de aminoácidos correspondientes a CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera, respectivamente. Por lo tanto, el anticuerpo de la presente invención tiene CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera correspondiente a SEC ID N°: 13, 14, 15, 16, 17 y 18, respectivamente. Sin embargo, en la presente divulgación, CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera pueden no corresponder necesariamente a SEC ID N°: 13, 14, 15, 16, 17 y 18, respectivamente, siempre que el anticuerpo monoclonal se una específicamente con HCMV y sea capaz de neutralizar la bioactividad del mismo. CDR3 de la cadena pesada de la presente divulgación, en particular, puede ser una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 22. Además, la secuencia de CDR puede ser una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios (específicamente, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 o 1) restos de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 13, 14, 15, 16, 17 y 18, siempre que tenga la actividad neutralizante anteriormente descrita.

De acuerdo con la presente divulgación, la secuencia de aminoácidos distinta de CDR no está particularmente limitada, y un anticuerpo denominado con injertos de CDR en el que la secuencia de aminoácidos distinta de CDR deriva de otro anticuerpo, en particular, un anticuerpo de otra especie, también está abarcado por la presente invención. La secuencia de aminoácidos distinta de CDR es preferentemente un anticuerpo derivado de ser humano, pero si es necesario, la región marco conservada (FR) puede incluir delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios (siendo el número específico el mismo que se ha mencionado anteriormente) restos de aminoácidos. Dichos anticuerpos pueden prepararse de acuerdo con un método conocido (Riechmann L, *et al.*, Reshaping human antibodies for therapy. Nature, 332: 323-327, 1988). De acuerdo con la presente invención, un anticuerpo humano completo es, por supuesto, favorable.

De acuerdo con la presente divulgación, la delección, la delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para uno o más restos de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos de una proteína de la presente invención significa que la delección, sustitución, inserción y adición de uno o varios restos de aminoácidos están presentes en una cualquiera o más posiciones de la misma secuencia de aminoácidos, en la que dos o más de la delección, sustitución, inserción y adición pueden producirse simultáneamente.

Los aminoácidos que forman proteínas de origen natural pueden clasificarse de acuerdo con las propiedades de sus cadenas laterales. Por ejemplo, los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen propiedades similares incluyen aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina, triptófano), aminoácidos básicos (lisina, arginina, histidina), aminoácidos ácidos (ácido aspártico, ácido glutámico), aminoácidos neutros (serina, treonina, asparagina, glutamina), aminoácidos que tienen una cadena de hidrocarburo (alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina) y otros (glicina, metionina, cisteína).

Los restos de aminoácidos mutuamente reemplazables incluyendo aminoácidos no nativos también pueden clasificarse, por ejemplo, de la siguiente manera, en la que los restos de aminoácidos en el mismo grupo pueden ser mutuamente reemplazables entre sí. Grupo A: leucina, isoleucina, norleucina, valina, norvalina, alanina, ácido 2-aminobutanoico, metionina, o-metilserina, *t*-butilglicina, *t*-butilalanina, ciclohexilalanina; Grupo B: ácido aspártico, ácido glutámico, ácido isoaspártico, ácido isoglutámico, ácido 2-aminoadípico, ácido 2-aminosubérico; Grupo C: asparagina, glutamina; Grupo D: lisina, arginina, ornitina, ácido 2,4-diaminobutanoico, ácido 2,3-diaminopropiónico; Grupo E: prolina, 3-hidroxiprolina, 4-hidroxiprolina; Grupo F: serina, treonina, homoserina; y Grupo G: fenilalanina, tirosina, triptófano.

De acuerdo con la presente divulgación, los anticuerpos más preferibles incluyen (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) mostrada por: la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10; una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios (específicamente, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 o 1) restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10; o una secuencia de aminoácidos que tiene identidad del 95 % o mayor (preferentemente, 96 % o mayor, 97 % o mayor, 98 % o mayor, 99 % o mayor o 99,5 % o mayor) con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10 y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) mostrada por: la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12; una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones de uno a varios (siendo el número específico el mismo que se ha mencionado anteriormente) restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos que tiene identidad del 95 % o más (siendo el porcentaje específico el mismo que se ha mencionado anteriormente) con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.

Aquí, la identidad de una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos puede determinarse empleando el algoritmo BLAST de Karlin y Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 872264-2268, 1990; Proc Natl Acad Sci USA 90: 5873, 1993). Se han desarrollado programas llamados BLASTN y BLASTX basándose en el algoritmo de BLAST (Altschul SF, *et al*: J Mol Biol 215: 403, 1990). Para analizar una secuencia de nucleótidos usando BLASTN, los parámetros se ajustan, por ejemplo, a puntuación = 100 y longitud de palabra = 12. Para analizar una secuencia de aminoácidos usando BLASTX, los parámetros se ajustan, por ejemplo, a puntuación = 50 y longitud de palabra = 3. En el caso de usar programas BLAST y BLAST con Huecos, se usan los parámetros por defecto para cada programa.

De acuerdo con la presente invención, un anticuerpo aún más preferible incluye (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) representada por la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10 y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) representada por la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.

De acuerdo con la presente divulgación, un anticuerpo aún más preferible incluye (a) una cadena pesada (cadena H) mostrada por: la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 6; una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios (siendo el número específico el mismo que se ha mencionado anteriormente) restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 6; o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o mayor (siendo el porcentaje específico el mismo que se ha mencionado anteriormente) con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 6 y (b) una cadena ligera (cadena L) mostrada por: la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 8; una secuencia de aminoácidos que tiene delección, sustitución, inserción, adición o una combinación de dos o más de estas mutaciones para de uno a varios (siendo el número específico el mismo que se ha mencionado anteriormente) restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 8; o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 95 % o mayor (siendo el porcentaje específico el mismo que se ha mencionado anteriormente) con la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 8.

El anticuerpo más preferible de acuerdo con la presente invención es un anticuerpo monoclonal humano completo que incluye una cadena pesada (cadena H) representada por la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 6 y una cadena ligera (cadena L) representada por la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 8. Además, la clase (subclase) de un anticuerpo preferible de la invención es IgG1 (λ).

El anticuerpo anti HCMV anteriormente descrito o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención se une específicamente con HCMV causante de diversas enfermedades, neutraliza la bioactividad del mismo, y tiene una capacidad de neutralización mucho mayor que la de un anticuerpo anti HCMV convencional.

La expresión “se une específicamente con” como se usa en el presente documento significa que reconoce y se une con un antígeno predeterminado.

Típicamente, una constante de disociación (valor Kd) entre HCMV (especialmente, HCMV humano) y un anticuerpo de la invención es preferentemente 1×10^{-7} M o menos, más preferentemente 1×10^{-8} M o menos, aún más preferentemente 1×10^{-9} M o menos, y más preferentemente 1×10^{-10} M o menos. Una constante de disociación entre un anticuerpo y HCMV puede determinarse de acuerdo con un método conocido. Por ejemplo, un anticuerpo anti HCMV inmovilizado en una microplaca puede usarse para la determinación usando un analizador de interacción de proteínas tal como BIACORET100 (marca registrada).

La capacidad neutralizante de un anticuerpo anti HCMV puede evaluarse determinando una velocidad de bloqueo de la infección o una velocidad de bloqueo de formación de placas por inmunotinción. Específicamente, una cepa de HCMV típica tal como la cepa AD169 y la cepa Towne se pone en contacto con diversos niveles de anticuerpos anti HCMV durante un tiempo predeterminado antes de inocularla en un sistema de cultivo celular infectable. Posteriormente, se inoculan en células. Veinticuatro horas después de la infección, el número de células infectadas por HCMV puede contarse por inmunotinción para determinar la velocidad de bloqueo de la infección, o el número de placas formadas 5-6 días después de la infección puede contarse para determinar la velocidad de bloqueo de las mismas, determinando de esta manera la actividad neutralizante del anticuerpo anti HCMV.

Un anticuerpo anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención tiene aproximadamente 50 % de capacidad de bloqueo de formación de placas, es decir, una actividad neutralizante contra la cepa AD169, preferentemente a $1 \mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 7 nM) o menor, más preferentemente a $0,1 \mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 0,7 nM) o menor, aún más preferentemente a $0,05 \mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 0,3 nM) o menor y más preferentemente aproximadamente a $0,03 \mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 0,2 nM) o menor.

Además, como una capacidad de bloqueo de la infección de célula a célula, un efecto inhibitorio para la infección de célula a célula puede evaluarse cultivando una célula infectada por HCMV durante un tiempo predeterminado y añadiendo después diversos niveles de anticuerpos anti HCMV a ese sistema de cultivo celular.

Un anticuerpo anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención tiene 50 % o mayor de capacidad de bloqueo de infección de célula a célula a una concentración final de preferentemente $2 \mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 13 nM) o menor, más preferentemente a $0,5 \mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 3 nM) o menor, y aún más preferentemente a $0,2 \mu\text{g/ml}$ (aproximadamente 0,13 nM) o menor.

Un anticuerpo de la presente invención puede ser un anticuerpo monoclonal humano recombinante, un anticuerpo monoclonal (incluyendo anticuerpo quimérico y anticuerpo humanizado) o un fragmento de unión a antígeno del mismo que puede unirse específicamente con HCMV y es capaz de neutralizar la bioactividad del mismo, que puede obtenerse de acuerdo con una técnica bien conocida en este campo basándose en un anticuerpo de longitud completa, un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una secuencia de aminoácidos de una región variable de SEC ID N°: 6, 8, 10 o 12, y una secuencia de aminoácidos de una región determinante de complementariedad (CDR) representada por una cualquiera de SEC ID N°: 13-18. Estos anticuerpos quedan dentro del alcance técnico de la presente invención.

Por ejemplo, se escinden secuencias señal de cadenas pesadas y ligeras en el transcurso de la maduración de proteínas, y por lo tanto no contribuyen a la propiedad del anticuerpo final. Para añadir la secuencia que falta, puede combinarse una secuencia de ADNc clonada con un oligonucleótido sintético por ligamiento o amplificación por PCR.

Como alternativa, la región variable completa puede sintetizarse combinando un conjunto de oligonucleótidos solapantes cortos por amplificación por PCR, preparando de este modo un clon completamente artificial de la región variable.

2. Ácido nucleico que codifica anticuerpos o similares de la presente invención

De acuerdo con otra realización de la presente invención, se proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo monoclonal anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente con HCMV y que es capaz de neutralizar la bioactividad del mismo, en el que el ácido nucleico se selecciona de ácidos nucleicos que codifican una secuencia de aminoácidos del grupo que consiste en SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13-18 y 22 y ácidos nucleicos que hibridan con estos ácidos nucleicos en condiciones altamente rigurosas.

Preferentemente, el ácido nucleico anteriormente descrito es ADN o ARN, y más preferentemente ADN.

Un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo monoclonal anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une con HCMV y que es capaz de neutralizar la bioactividad del mismo, que tiene alta identidad con un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEC ID N°: 2,

4, 6, 8, 10, 12, 13-18 y 22 también está abarcado por la presente divulgación. La expresión “que tiene alta identidad” como se usa en el presente documento se refiere a identidad de secuencia que es suficiente para hibridar con una secuencia de ácido nucleico predeterminada en condiciones altamente rigurosas, lo que significa, por ejemplo, identidad del 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o mayor.

Las “condiciones altamente rigurosas” significan, por ejemplo, condiciones de SSC 5 x, solución de Denhardt 5 x, SDS 0,5 % y formamida al 50 % a 50 °C (véase, por ejemplo, J. Sambrook *et al.*, Molecular Cloning, A Laboratory Manual 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989), en particular, la sección 11.45 “Conditions for Hybridization of Oligonucleotide Probes”). En estas condiciones, se espera que una mayor temperatura proporcione eficazmente a un polinucleótido (por ejemplo, ADN) mayor identidad. Parece haber, sin embargo, múltiples factores que influyen en la rigurosidad de la hibridación tales como temperatura, concentración de la sonda, longitud de la sonda, fuerza iónica, tiempo y concentración salina, y los expertos en la materia deberían ser capaces de seleccionar apropiadamente estos factores para conseguir una rigurosidad similar.

Los ejemplos de los ácidos nucleicos desvelados en el presente documento sometidos a hibridación en las condiciones altamente rigurosas anteriormente descritas incluyen ácidos nucleicos que tienen identidad de, por ejemplo, el 70 % o mayor, 80 % o mayor, 90 % o mayor, 95 % o mayor, 97 % o mayor o 99 % o mayor con un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13-18 y 22.

La identidad de una secuencia de nucleótidos puede determinarse utilizando el algoritmo de búsqueda de identidad anteriormente descrito (Proa Nati. Acad. Sci. USA 872264-2268, 1990; Proc Nati Acad Sci USA 90: 5873, 1993).

Un ácido nucleico preferible de acuerdo con la presente invención es ADN que codifica ambas secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 10 y 12, y más preferentemente ADN que codifica ambas secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 6 y 8. Un ácido nucleico aún más preferible es ADN que codifica ambas secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 2 y 4.

Un ácido nucleico aún más preferible es un ácido nucleico que contiene ambos ácidos nucleicos de SEC ID N°: 5 y 7, y un ácido nucleico aún más preferible es un ácido nucleico que contiene ambos ácidos nucleicos de SEC ID N°: 1 y 3.

3. Vector, célula hospedadora y método para preparar un anticuerpo de la invención

La presente invención también se refiere a un vector que incorpora el ácido nucleico anteriormente descrito, una célula hospedadora a la que se ha introducido el vector, y un método para preparar un anticuerpo usando los mismos.

Un anticuerpo de la presente invención también puede prepararse como un anticuerpo humano recombinante de acuerdo con un método conocido (véase Nature, 312: 643, 1984, Nature, 321: 522, 1986, etc.). Por ejemplo, un anticuerpo de la presente invención puede prepararse cultivando una célula hospedadora a la que se ha introducido un vector de la invención, y purificando el anticuerpo producido del sobrenadante de cultivo o similares. Más específicamente, un anticuerpo puede prepararse insertando ADNc que codifican V_H y V_L en vectores de expresión de células animales que contienen genes que codifican C_H de anticuerpo humano y/o C_L de anticuerpo humano preparados de la misma célula o diferentes células humanas para construir un vector de expresión de anticuerpo humano e introducir el vector en una célula animal para expresión.

Los vectores en los que se han incorporado ácidos nucleicos que codifican V_H o V_L del anticuerpo de la presente invención no están necesariamente limitados, pero son preferentemente vectores usados en general para la expresión de un gen de una proteína o similares, y particularmente un vector o un vector de alta expresión que es adecuado para la expresión de un gen de anticuerpo. Los ejemplos preferibles incluyen vectores que contienen un promotor de EF y/o un potenciador de CMV. En general, se preparan vectores de expresión que incorporan cada uno un ácido nucleico que codifica V_H o V_L y se usan para cotransfectar una célula hospedadora, pero los ácidos nucleicos también pueden incorporarse en un único vector de expresión.

La célula hospedadora para introducir el vector de expresión no está necesariamente limitada, pero es preferentemente una célula que se usa en general para la expresión de un gen de proteína o similares, y particularmente una célula que es adecuada para la expresión de un gen del anticuerpo. Los ejemplos incluyen una bacteria (*E. coli*, etc.), actinomicetos, una levadura, una célula de insecto (SF9, etc.), y una célula de mamífero (COS-1, CHO, célula de mieloma o similares).

Para producir a escala industrial un anticuerpo recombinante, se utiliza en general una cepa celular animal recombinante tal como la cepa celular CHO que es altamente y establemente productivo del anticuerpo. Pueden emplearse métodos de amplificación y exploración de genes conocidos para preparación, clonación y alta expresión de dicha cepa celular recombinante (por ejemplo, véase Omasa T.: J. Biosci. Bioeng., 94, 600-605, 2002, etc.).

Aparte de un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, la presente invención también comprende un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención. Los ejemplos de fragmentos de unión a antígeno incluyen Fab (fragmento de unión a antígeno), Fab' y F(ab')₂. Los ejemplos de los obtenidos uniendo los fragmentos activos del anticuerpo mediante un enlazador o similares incluyen un anticuerpo monocatenario (Fv monocatenario: scFv) y un anticuerpo estabilizado por disulfuro (Fv estabilizado por disulfuro: dsFv). Un ejemplo de un péptido que contiene un fragmento activo del anticuerpo incluye un péptido que contiene CDR. Estos pueden producirse de acuerdo con un método conocido tal como un método en el que el anticuerpo de la presente invención se trata con una enzima proteolítica apropiada o una técnica de recombinación génica.

La purificación del anticuerpo puede llevarse a cabo usando una técnica de purificación conocida tal como método de precipitación por adición de sal, filtración en gel, cromatografía de intercambio iónico o cromatografía de afinidad.

Además, los genes de V_H y V_L pueden redistribuirse artificialmente para expresar un anticuerpo scFv diversificado (Fragmento monocatenario de región variable) como una proteína de fusión de fagos por una técnica de presentación de anticuerpos en fagos recientemente desarrollada en la que un anticuerpo recombinante se expresa en una superficie de un fago por una técnica de ingeniería genética, obteniendo de esta manera un anticuerpo específico. Esta técnica se aprecia mucho por ser capaz de escapar al sistema inmunitario y además como una técnica para preparar un anticuerpo humanizado como una alternativa al método de fusión celular. Un anticuerpo específico o un fragmento de unión a antígeno del mismo preparado usando esta técnica con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13-18 y 22 del presente documento pertenece al alcance técnico de la presente divulgación.

Además, un anticuerpo obtenido aplicando la técnica de Potelligent recientemente desarrollada en la que la actividad de ADCC de un anticuerpo se mejora ampliamente modificando el resto de la cadena de azúcar del anticuerpo puede aplicarse a un anticuerpo de la presente invención (véase Niwa R., *et al*, Clin. Cancer Res., 10, 6248-6255 (2004)) y un anticuerpo obtenido aplicando la técnica Complegent que mejora la actividad de CDC a un anticuerpo de la presente invención (véase Kanda S., *et al*, Glycobiology, 17,104-118 (2007)) también quedan dentro del alcance técnico de la presente invención.

Un anticuerpo se prepara en general obteniendo un anticuerpo policlonal o un anticuerpo monoclonal utilizando un animal experimental tal como un ratón, un conejo, una cabra o similares. Ya que dicho anticuerpo tiene una secuencia que es característica de la especie de animal usada, se reconocería como una sustancia ajena por el sistema inmunitario humano si se administrara directamente, lo que puede dar como resultado una respuesta humana anti anticuerpo animal (en otras palabras, se produce un anticuerpo contra un anticuerpo).

Puede obtenerse un anticuerpo monoclonal anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención a partir de una célula productora de anticuerpos derivada de sangre de un ser humano sano, que es un anticuerpo humano completo. Cuando este anticuerpo humano completo se administra a un ser humano como un fármaco de anticuerpo, no tiene inmunogenicidad y por lo tanto no debería mostrar respuesta inmunitaria.

Ya que un anticuerpo monoclonal anti HCMV de la presente invención tiene una mayor capacidad neutralizante que la de un anticuerpo monoclonal anti HCMV convencional, puede esperarse un nivel similar del efecto terapéutico con menos dosificación.

En lo sucesivo en el presente documento, se describirá un procedimiento para obtener un anticuerpo monoclonal anti HCMV y un fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la presente invención, pero un procedimiento para obtener un anticuerpo o similares de la presente invención no debería limitarse a estas descripciones y resulta evidente que cualquier modificación que se realice en general en la técnica puede llevarse a cabo.

Un anticuerpo monoclonal anti HCMV y un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención pueden obtenerse: separando un clon celular que produce el anticuerpo de sangre de un ser humano sano a través de varias etapas, recogiendo el anticuerpo del sobrenadante de cultivo del clon celular productor de anticuerpo; y llevando a cabo purificación de afinidad para el anticuerpo obtenido.

1) Separación del clon celular que produce anticuerpo humano completo contra HCMV

Se separan linfocitos B de sangre humana sana para inducir la proliferación de los linfocitos B. Se conoce en sí mismo un método para inducir la proliferación, y puede llevarse a cabo, por ejemplo, por un método de transformación usando "virus de Epstein-Barr (virus EB)" (en lo sucesivo en el presente documento, denominado VEB) como un factor inductor de cáncer (D. Kozbor *et al.*).

Específicamente, el linfocito B anteriormente mencionado se infecta con VEB para inducir la proliferación, y las células proliferadas se usan como una biblioteca de células productoras de anticuerpo.

2) Recogida de anticuerpo monoclonal de biblioteca de células productoras de anticuerpo

Puede recogerse un anticuerpo monoclonal de células inducidas por proliferación de acuerdo con un método bien conocido usado habitualmente para la preparación de un anticuerpo monoclonal.

A partir de la biblioteca de células productoras de anticuerpo anteriormente descritas, se clasifica un clon de linfocito que produce un anticuerpo que se une con HCMV, y el anticuerpo se retira del sobrenadante de cultivo del mismo. Específicamente, se selecciona una población celular (clones) que produce un anticuerpo de unión a HCMV de la biblioteca de células productoras de anticuerpo anteriormente descritas por el método de dilución limitante.

Para detectar un clon que se une con HCMV, se emplea preferentemente ELISA usando un antígeno derivado de HCMV y un anticuerpo de ratón anti IgG humano marcado.

Repitiendo el cultivo y la exploración de la población de células positivas para anticuerpo seleccionadas, puede obtenerse una población celular (clones) que produce solamente el anticuerpo de interés.

Se muestra en la Figura 1 un diagrama de flujo que indica las etapas hasta la separación de un clon de una célula productora de anticuerpo.

3) Purificación de afinidad usando proteína A o G

Para purificar el anticuerpo anti HCMV, puede hacerse proliferar la célula seleccionada en un frasco rotatorio, un matraz de Agitación de 2 l, u otro sistema de cultivo.

El sobrenadante de cultivo resultante se filtra para concentrarlo y después se somete a cromatografía de afinidad con proteína A o proteína G-sepharose (GE Healthcare) o similares, purificando de este modo la proteína. El tampón puede reemplazarse con PBS para determinar la concentración por DO_{280} o preferentemente por análisis con nefelómetro.

El isotipo puede examinarse por un método específico para el antígeno de isotipo.

Ya que el anticuerpo anti HCMV obtenido de esta manera es un anticuerpo humano completo preparado a partir de un linfocito B sensibilizado en un cuerpo humano, la probabilidad de provocar respuesta inmunitaria contra el anticuerpo es baja.

Esta preparación de un clon celular productor de anticuerpo también se caracteriza por el uso de virus EB que está activo en infección e inducción de proliferación del linfocito B.

Las ventajas del método de virus EB son que puede prepararse un anticuerpo natural realizado en un cuerpo humano y que puede obtenerse un anticuerpo con alta afinidad. Por ejemplo, se ha descubierto que un anticuerpo humano contra HCMV tiene una afinidad que es aproximadamente 10-100 veces mayor que la de un anticuerpo preparado por inmunización artificial de un ratón.

Una población de linfocitos B que ha proliferado por infección por virus EB puede ser una biblioteca de células productoras de anticuerpo.

Un clon celular productor de anticuerpos específico puede separarse de esta biblioteca para obtener un anticuerpo humano.

4. Composición farmacéutica que contiene anticuerpo de la invención

A continuación, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para prevenir o tratar una enfermedad asociada con citomegalovirus humano (HCMV), que comprende el anticuerpo anteriormente descrito o un sitio de unión a antígeno del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Ya que un anticuerpo anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención tiene mayor capacidad neutralizante contra HCMV que la de un anticuerpo convencional anti HCMV, es útil como un fármaco profiláctico o terapéutico para una enfermedad relacionada con HCMV (diversas enfermedades provocadas por HCMV). Una enfermedad provocada por HCMV es una enfermedad cuyos síntomas y/o progresión se espera que se alivien por la inhibición de la actividad de HCMV.

La expresión "enfermedad relacionada con HCMV" como se usa en el presente documento comprende, además de otras enfermedades, una enfermedad que se ha descubierto que está o que parece que está provocada por que un sujeto diana que padece esa enfermedad tiene HCMV como la causa de las afecciones patológicas de esa enfermedad o como una causa de empeoramiento de esa enfermedad. En otras palabras, ya que un anticuerpo anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención tiene una alta capacidad

neutralizante contra HCMV, puede esperarse como un fármaco profiláctico o terapéutico para diversas enfermedades provocadas por HCMV, por ejemplo: (a) enfermedades tales como neumonía intersticial, retinitis, gastroenteritis, encefalitis y similares debido a la reactivación de HCMV en estados de inmunodeficiencia tales como SIDA, cáncer, después de trasplante de órganos, después de trasplante de médula ósea, después de hemodiálisis; (b) infección por CMV congénita debido a la transmisión de infección por HCMV de una mujer embarazada a un feto; (c) aborto, mortinato y muerte poco después del nacimiento provocados por la infección por CMV congénita anteriormente descrita; (d) bajo peso al nacer, hepatoesplenomegalia, ictericia, púrpura trombocitopénica, microcefalia, trastorno del desarrollo mental, retardo del desarrollo intelectual, coriorretinitis y alteración de la audición en el caso de supervivencia a través de la infección por CMV congénita anteriormente descrita; y (e) anomalía de la función hepática, neumonía intersticial y mononucleosis debido a infección por HCMV durante la periodo neonatal o la infancia (Documentos No de Patente 3, 4 y 5).

Un "vehículo aceptable como un producto farmacéutico" usado en el presente documento comprende cualquiera fisiológicamente adaptable o cualquier disolvente, medio de dispersión, recubrimiento, agente isotónico, retardante de la absorción y similares.

Los ejemplos de vehículos aceptables como productos farmacéuticos incluyen uno o más, o una combinación de agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares. Para uso como un agente inyectable, o similares, la composición contiene preferentemente un regulador de pH o un agente isotónico, por ejemplo, azúcar o polialcohol tal como manitol y sorbitol o cloruro sódico. Un vehículo aceptable como un producto farmacéutico puede contener además una cantidad pequeña de sustancia adyuvante para potenciar la propiedad conservativa o eficacia del anticuerpo o el resto de anticuerpo tal como un agente humectante, un emulsionante, un agente antiséptico, un tampón, un estabilizador o similares.

Una composición de la presente invención puede prepararse en diversas formas de dosificación. Los ejemplos de dichas composiciones incluyen formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas tales como una solución (por ejemplo, una solución inyectable e infundible), una dispersión, una suspensión, un comprimido, una cápsula, una gragea, una píldora, polvo, un liposoma, un supositorio y similares. La forma preferible difiere dependiendo del modo de administración pretendido y el tratamiento aplicado. Una composición preferible en general es en una forma de solución inyectable o infundible tal como una composición similar a las usadas para inmunizar de forma pasiva a un ser humano con otro anticuerpo. Un modo de administración preferible es parenteral (por ejemplo, intravenoso, subcutáneo, intraperitoneal o intramuscular). De acuerdo con una realización preferible, el anticuerpo se administra por infusión intravenosa o inyección intravenosa. De acuerdo con otra realización preferible, el anticuerpo se administra por inyección intramuscular o inyección subcutánea.

Un anticuerpo y un fragmento de anticuerpo de acuerdo con la presente invención pueden incorporarse en una composición farmacéutica adecuada para administración parenteral. Cuando se usa un único tipo de anticuerpo o resto de anticuerpo, este se prepara preferentemente como una formulación inyectable que contiene el anticuerpo para 0,1-250 mg/ml. Por otro lado, cuando se usan múltiples tipos de anticuerpos como una mezcla, se preparan preferentemente como una formulación inyectable que contiene el anticuerpo para 0,001-100 mg/ml. La proporción de mezcla de los múltiples tipos de anticuerpos puede determinarse en consecuencia.

Una formulación inyectable puede ser un producto obtenido disolviendo el componente eficaz en un líquido o un producto liofilizado del componente eficaz, que se coloca en un vial de sílex u ocre, una ampolla o una jeringa precargada. El tampón puede ser L-histidina (1-50 mM) a pH 5,0-7,0 (óptimamente pH 6,0), y óptimamente L-histidina 5-10 mM. Los ejemplos de otros tampones adecuados incluyen, pero sin limitación, succinato sódico, citrato sódico, fosfato sódico o fosfato potásico. Para alterar una presión osmótica de una solución a una concentración de 0-300 mM (óptimamente 150 mM en el caso de una forma de dosificación líquida), puede usarse cloruro sódico. La forma de dosificación liofilizada puede contener un crioprotector, principalmente 0-10 % (óptimamente 0,5-5,0 %) de sacarosa. Otros crioprotectores apropiados incluyen manitol, trehalosa y lactosa. La forma de dosificación liofilizada puede contener una carga, principalmente 1-10 % (óptimamente 2-4 %) de manitol. Para las formas de dosificación tanto líquida como liofilizada, puede usarse un estabilizador, principalmente L-metionina 1-50 mM (óptimamente 5-10 mM). Otros estabilizadores apropiados incluyen glicina, arginina y polisorbato 80 y similares. En el caso de polisorbato 80, puede estar contenido en 0-0,05 % (óptimamente 0,005-0,01 %). Otros tensioactivos incluyen, pero sin limitación, polisorbato 20 y tensioactivo BRIJ.

Esta composición farmacéutica debería ser en general estéril y estable en las condiciones de producción y almacenamiento. Esta composición puede formularse en otra estructura ordenada que es apropiada para una solución, una microemulsión, una dispersión, un liposoma o una alta concentración de fármaco. Puede prepararse una solución inyectable estéril mezclando una cantidad requerida de compuesto activo (es decir, el anticuerpo o el resto del anticuerpo) con un disolvente apropiado y, si es necesario, con uno cualquiera de o en combinación con los componentes anteriormente descritos, y sometiendo después el resultante a esterilización por filtración. En general, se prepara una dispersión mezclando el compuesto activo con un medio de dispersión básico y un vehículo estéril que contiene otros componentes necesarios seleccionados entre los componentes anteriormente enumerados. Un método preferible para preparar una formulación de polvo estéril usada para preparar una solución inyectable estéril comprende someter la solución filtrada estéril anteriormente descrita a liofilización al vacío y secado por

pulverización, obteniendo de este modo una composición que contiene cualquier otro componente deseado así como el polvo de componente activo. Puede mantenerse una fluidez apropiada de la solución usando, por ejemplo, un agente de recubrimiento tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partículas requerido en el caso de la dispersión, o usando un tensioactivo. Puede conseguirse absorción de larga duración de la composición inyectable añadiendo un agente que puede retardar la absorción, por ejemplo, monoestearato o gelatina a la composición.

La composición farmacéutica de la invención también puede contener un compuesto activo complementario. De acuerdo con una realización, un anticuerpo o un resto de anticuerpo de la presente invención se formula junto con uno o más fármacos terapéuticos adicionales que son útiles para tratar una enfermedad provocada por el HCMV, o se administra con dicho otro fármaco terapéutico. Por ejemplo, un anticuerpo anti HCMV o un resto de anticuerpo de la presente invención pueden formularse junto con uno o más anticuerpos adicionales que se unen con otra diana (por ejemplo, un anticuerpo que se une con otro sitio de unión de HCMV), o se administra de forma simultánea con dicho otro anticuerpo. Además, pueden usarse uno o más anticuerpos de la presente invención combinando dos o más tipos de los fármacos terapéuticos anteriormente descritos. Dicha terapia combinada puede utilizar provechosamente dosis menores de los fármacos terapéuticos administrados y por lo tanto puede evitarse una posible toxicidad o complicación asociada con diversas terapias individuales.

Aquí, las relaciones entre los nucleótidos o las secuencias de aminoácidos con los números de secuencia mencionados en la presente memoria descriptiva son las siguientes.

SEC ID N°: 1 representa una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena H de un anticuerpo contra la región AD1 de la glucoproteína gB del HCMV (en lo sucesivo en el presente documento, "anticuerpo anti AD1") (EV2038) con una secuencia señal.

SEC ID N°: 2 representa una secuencia de aminoácidos de una cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) con una secuencia señal.

SEC ID N°: 3 representa una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) con una secuencia señal.

SEC ID N°: 4 representa una secuencia de aminoácidos de una cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) con una secuencia señal.

SEC ID N°: 5 representa una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) sin una secuencia señal.

SEC ID N°: 6 representa una secuencia de aminoácidos de una cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) sin una secuencia señal.

SEC ID N°: 7 representa una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) sin una secuencia señal.

SEC ID N°: 8 representa una secuencia de aminoácidos de una cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) sin una secuencia señal.

SEC ID N°: 9 representa una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 10 representa una secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 11 representa una secuencia de nucleótidos que codifica una región variable de cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 12 representa una secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 13 representa una secuencia de aminoácidos de una CDR1 de cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 14 representa una secuencia de aminoácidos de una CDR2 de cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 15 representa una secuencia de aminoácidos de una CDR3 de cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 16 representa una secuencia de aminoácidos de una CDR1 de cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 17 representa una secuencia de aminoácidos de una CDR2 de cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 18 representa una secuencia de aminoácidos de una CDR3 de cadena L de un anticuerpo anti AD1 (EV2038).

SEC ID N°: 19 representa una secuencia de nucleótidos del cebador 38 Hind-S usada para producir una variante de CDR-H3 de EV2038 en un ejemplo de trabajo.

SEC ID N°: 20 representa una secuencia de nucleótidos del cebador 38 Not-A usada para producir una variante de CDR-H3 de EV2038 en un ejemplo de trabajo.

SEC ID N°: 21 representa una secuencia de nucleótidos de un cebador para verificar una secuencia de nucleótidos usada para producir una variante de CDR-H3 de EV2038 en un ejemplo de trabajo.

SEC ID N°: 22 representa una secuencia de aminoácidos consenso en la secuencia de aminoácidos de CDR-H3 de un anticuerpo anti AD1.

SEC ID N°: 23 representa una secuencia de aminoácidos que tiene restos de aminoácidos en las posiciones 549-

- 580 de la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV, que se ha identificado como una región en la que existe epítipo por una técnica de mutación de delección descrita en el ejemplo.
- SEC ID N°: 24 representa una secuencia de aminoácidos que tiene restos de aminoácidos en las posiciones 596-640 de la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV, que se ha identificado como una región en la que existe epítipo por una técnica de mutación de delección descrita en el ejemplo.
- 5 SEC ID N°: 25 representa una secuencia de aminoácidos que tiene restos de aminoácidos en las posiciones 549-560 de la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV, que se ha identificado como una región epitópica por una técnica de matriz de péptidos descrita en el ejemplo.
- SEC ID N°: 26 representa una secuencia de aminoácidos que tiene restos de aminoácidos en las posiciones 569-576 de la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV, que se ha identificado como una región epitópica por una técnica de matriz de péptidos descrita en el ejemplo.
- 10 SEC ID N°: 27 representa una secuencia de aminoácidos que tiene restos de aminoácidos en las posiciones 625-632 de la región AD1 de la glucoproteína gB de HCMV, que se ha identificado como una región epitópica por una técnica de matriz de péptidos descrita en el ejemplo.
- 15 SEC ID N°: 28 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido valina (V) con lisina (K) en la posición 117 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 29 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido treonina (T) con triptófano (W) en la posición 118 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV203S) de la presente divulgación.
- 20 SEC ID N°: 30 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido arginina (R) con valina (V) en la posición 119 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 31 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido ácido aspártico (D) con isoleucina (I) en la posición 120 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 25 SEC ID N°: 32 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido leucina (L) con ácido glutámico (E) en la posición 121 en la secuencia de aminoácidos de la cadena de H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 30 SEC ID N°: 33 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido ácido glutámico (E) con leucina (L) en la posición 122 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 34 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido triptófano (W) con treonina (T) en la posición 123 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 35 SEC ID N°: 35 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido isoleucina (I) con ácido aspártico (D) en la posición 124 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 36 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con arginina (R) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 40 SEC ID N°: 37 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido glicina (G) con fenilalanina (F) en la posición 126 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 45 SEC ID N°: 38 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido ácido aspártico (D) con isoleucina (I) en la posición 127 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 39 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido tirosina (Y) con asparagina (N) en la posición 128 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 50 SEC ID N°: 40 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido tirosina (Y) con asparagina (N) en la posición 129 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 41 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido metionina (M) con glutamina (Q) en la posición 130 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 55 SEC ID N°: 42 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido ácido aspártico (D) con isoleucina (I) en la posición 131 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 60 SEC ID N°: 43 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido valina (V) con lisina (K) en la posición 132 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 44 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido leucina (L) con isoleucina (I) en la posición 121 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 65 SEC ID N°: 45 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido leucina (L) con

- leucina (L) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 5 SEC ID N°: 68 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con valina (V) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 69 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con serina (S) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 10 SEC ID N°: 70 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con treonina (T) en la posición. 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 71 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con asparagina (N) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 15 SEC ID N°: 72 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con glutamina (Q) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 73 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con ácido aspártico (D) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 20 SEC ID N°: 74 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con ácido glutámico (E) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 75 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con lisina (K) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 25 SEC ID N°: 76 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con histidina (H) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 30 SEC ID N°: 77 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con cisteína (C) en la posición en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 78 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con metionina (M) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 35 SEC ID N°: 79 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con tirosina (Y) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 80 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con triptófano (W) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 40 SEC ID N°: 81 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido prolina (P) con fenilalanina (F) en la posición 125 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 45 SEC ID N°: 82 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido valina (V) con leucina (L) en la posición 117 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 83 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido valina (V) con isoleucina (I) en la posición 117 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 50 SEC ID N°: 84 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido treonina (T) con serina (S) en la posición 118 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 85 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido treonina (T) con lisina (K) en la posición 118 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 55 SEC ID N°: 86 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido arginina (R) con lisina (K) en la posición 119 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 60 SEC ID N°: 87 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido arginina (R) con treonina (T) en la posición 119 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- SEC ID N°: 88 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido ácido aspártico (D) con ácido glutámico (E) en la posición 120 en la secuencia de aminoácidos de la cadena H de un anticuerpo anti AD1 (EV2038) de la presente divulgación.
- 65 SEC ID N°: 89 representa una secuencia de aminoácidos de un mutante en el que se ha sustituido ácido aspártico

(EV2038) de la presente divulgación.

SEC ID N°: 111 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 1 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

5 SEC ID N°: 112 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 2 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 113 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 3 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

10 SEC ID N°: 114 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 4 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 115 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 5 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

15 SEC ID N°: 116 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 6 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 117 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 7 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 118 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 8 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 119 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 9 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

20 SEC ID N°: 120 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 10 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 121 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 11 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

25 SEC ID N°: 122 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 12 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 123 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 13 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

30 SEC ID N°: 124 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 14 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 125 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 15 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 126 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 16 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

35 SEC ID N°: 127 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 17 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 128 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 18 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

40 SEC ID N°: 129 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 19 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 130 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 20 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

45 SEC ID N°: 131 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 21 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 132 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 22 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 133 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 23 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 134 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 24 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

50 SEC ID N°: 135 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 25 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

SEC ID N°: 136 representa una secuencia de aminoácidos de un péptido sintético (Péptido 26 en la Tabla 5) preparado y usado en el Ejemplo 8.

55 SEC ID N°: 137 representa una secuencia de aminoácidos de la glucoproteína gB del citomegalovirus humano (HCMV) (Swiss-Prot: P06473).

Aquí, las relaciones entre las secuencias de nucleótidos o las secuencias de aminoácidos que aparecen en los Ejemplos 1-6 de la presente solicitud y los números de secuencia son como se muestran en la Tabla 1 a continuación.

60

Tabla 1

| | | Con secuencia señal | Sin secuencia señal | Región variable | CDR1 | CDR2 | CDR3 |
|----------|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------|------|------|------|
| Cadena H | Nº de secuencia de nucleótidos | 1 | 5 | 9 | - | - | - |
| | Nº de secuencia de aminoácidos | 2 | 6 | 10 | 13 | 14 | 15 |
| Cadena L | Nº de secuencia de nucleótidos | 3 | 7 | 11 | - | - | - |
| | Nº de secuencia de aminoácidos | 4 | 8 | 12 | 16 | 17 | 18 |

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá más específicamente por medio de ejemplos, aunque la presente invención no debería limitarse de ninguna manera a estos ejemplos.

A no ser que se indique de otro modo, los procedimientos usados en los ejemplos pueden referirse en Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Tercera Edición) (Sambrook *et al.*, Cold Spring Harbour Laboratory Press, 2001).

Ejemplos

Ejemplo 1. Separación de clon celular que produce anticuerpo humano completo contra HCMV

Se muestra en la Figura 1 un diagrama de flujo de etapas para la separación de un clon de célula productora de anticuerpo.

Se separó linfocito B de sangre periférica humana cuyo nivel de anticuerpo anti HCMV en suero es alto, y se infectó con VEB. La célula infectada se sembró en una placa de 96 pocillos. Después de aproximadamente 3 semanas de cultivo, se realizó exploración con respecto a un anticuerpo anti HCMV en el sobrenadante de cultivo (exploración primaria). La exploración se realizó por el método de ELISA usando una placa de 96 pocillos recubierta con HCMV-AD1 fusionada con GST o HCMV-AD2 fusionada con GST, dirigiéndose a anticuerpos para los epítomos neutralizantes principales AD1 y AD2 de HCMV (J. Virol., 65, 138-146 (1991), J. Gen. Virol., 73, 2375-2383 (1992), J. Virol., 66, 5290-5297 (1992), J. Virol., 67, 703-710 (1993)). Las células en cada pocillo cuya producción de anticuerpo anti HCMV se había confirmado se diluyeron, y se sembraron en una nueva placa de 96 pocillos. Después de aproximadamente 3 semanas de cultivo, se realizó exploración secundaria con respecto a producción de anticuerpo anti HCMV. Se sembraron células en los pocillos positivos para anticuerpo resultantes en una nueva placa de 96 pocillos a 1-30 células/pocillo. Como resultado de esta manipulación de clonación por cultivo de dilución limitante, se obtuvo un clon celular productor de un anticuerpo de interés.

Ejemplo 2. Identificación de isotipo y subclase de anticuerpo

El sobrenadante de cultivo del clon celular productor de anticuerpo separado se usó para identificar el isotipo del anticuerpo producido por el método de ELISA (referencia bibliográfica: véase Curr Protoc Immunol. May 2001; Capítulo 2: Unidad 2.2). Para ELISA, se usaron una placa de 96 pocillos recubierta con HCMV-AD1 o AD2 fusionada con GST y un anticuerpo específico para cada uno de los isotipos y las subclases como un anticuerpo secundario. Los resultados del isotipo y la subclase del anticuerpo anti HCMV resultante se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

| Número de anticuerpo | Antígeno diana | Subclase |
|----------------------|----------------|----------------|
| EV2038 | AD1 | IgG1 λ |

Ejemplo 3. Clonación de ADN que codifica anticuerpo anti HCMV

Se obtuvo ADNc de ARN total de la célula productora de anticuerpo por transcripción inversa usando cebadores oligo dT y se usó como un molde en un método de PCR para amplificar el gen de anticuerpo. Los cebadores usados para PCR se diseñaron basándose en la base de datos de ADNc que codifican cadenas H y L de anticuerpo IgG humano. Para amplificar ADNc de cadena H y ADNc de cadena L de longitud completa, los cebadores 5' y 3' terminal tuvieron un sitio de inicio de la traducción y un sitio de terminación de la traducción, respectivamente.

Ejemplo 4. Determinación de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo basándose en la secuencia de nucleótidos

Se insertaron ADNc de las cadenas H y L de anticuerpo amplificadas por el método de PCR en un vector plasmídico para identificar cada una de las secuencias de nucleótidos con el secuenciador ABI. A partir de las secuencias de nucleótidos resultantes, se determinaron la secuencia señal y las secuencias de aminoácidos de las cadenas H y L del anticuerpo.

Además, se analizó la región determinante de complementariedad (CDR) del anticuerpo de acuerdo con el método de Kabat (www.bioinf.org.uk:Dr.Andrew.C.R.Martin's.Group, Antibodies: General Information). Las secuencias de CDR del anticuerpo anti HCMV resultante (EV2038) son de las SEC ID N°: 13-18. Específicamente, las secuencias de aminoácidos de CDR1 de cadena H, CDR2 de cadena H, CDR3 de cadena H, CDR1 de cadena L, CDR2 de cadena L y CDR3 de cadena L de EV2038 son de las SEC ID N°: 13, 14, 15, 16, 17 y 18, respectivamente.

Para examinar la similitud con anticuerpos monoclonales que se habían indicado previamente como anticuerpos de AD1, las secuencias de CDR de EV2038 se compararon con anticuerpos cuyas secuencias de aminoácidos de las regiones variables se habían registrado en GenBank o similares. Cada tipo de secuencias de CDR de anticuerpos de AD1 derivados de ser humano o ratón se identificó por el método de Kabat, y se comparó con la secuencia de CDR identificada de forma similar de EV2038. En la Tabla 3, se determinó la homología (%) de CDR individuales basándose en el número de restos de aminoácidos de la diana para comparación (denominador) y el número de restos de aminoácidos cuyas posiciones y los tipos que corresponden a los de EV2038 en el resto de CDR (numerador). El total (%) se determinó sumando los números de restos de aminoácidos como el denominador y los números de restos de aminoácidos como el numerador obtenido por la comparación de CDR individual, es decir, obteniendo homología total (%) del número total resultante de restos de aminoácidos del denominador y el numerador. Como puede apreciarse a partir de la Tabla 3, EV2038 no tiene alta homología con anticuerpos de AD1 conocidos, lo que muestra que hay una gran diferencia en las secuencias de CDR de los anticuerpos de AD1 previamente presentados.

Tabla 3

| Anticuerpo | N° de Referencia (HCVR/LCVR) | Fuente | Homología de CDR de cadena H (%) | | | Homología de CDR de cadena L (%) | | | Total (%) |
|------------|---------------------------------|------------|-------------------------------------|------|------|-------------------------------------|------|------|--------------|
| | | | CDR1 | CDR2 | CDR3 | CDR1 | CDR2 | CDR3 | |
| ITC63B | L26539/L26540 | Ser humano | 20 | 24 | 32 | 31 | 57 | 27 | 31 |
| ITC52 | L26537/L26538 | Ser humano | 40 | 24 | 39 | 23 | 14 | 9 | 25 |
| ITC48 | L26535/L26536 | Ser humano | 80 | 56 | 6 | 24 | 29 | 9 | 29 |
| ITC39 | L26533/L26534 | Ser humano | 20 | 24 | 25 | 38 | 43 | 36 | 30 |
| ITC33 | L26531/L26532 | Ser humano | 20 | 24 | 25 | 50 | 43 | 18 | 30 |
| 7-17 | U39898/U39901 | Ratón | 20 | 35 | 25 | 25 | 29 | 18 | 26 |
| 27-156 | U39899/U39902 | Ratón | 40 | 24 | 25 | 35 | 29 | 9 | 26 |
| 27-287 | U39900/U39903 | Ratón | 20 | 24 | 19 | 27 | 14 | 9 | 20 |
| EV2001 | * | Ser humano | 20 | 24 | 19 | 25 | 43 | 9 | 22 |

*Referencia: documento WO2007/094423

Ejemplo 5. Evaluación de si el gen de anticuerpo resultante codifica o no anticuerpo anti HCMV

Los ADNc resultantes de cadena H y cadena L se insertaron cada uno en vectores de expresión y después se introdujeron simultáneamente en una célula 293T. La transferencia génica se realizó con Lipofectamine (Invitrogen) y reactivo PLUS (Invitrogen) en las condiciones recomendadas por el fabricante (Catálogo Invitrogen: Cat. N° 18324-111, Cat. N° 18324-012 o Cat. N° 18324-020). Dos días después, se recogió sobrenadante de cultivo y se sometió al método de ELISA usando una placa de 96 pocillos recubierta con anticuerpo anti IgG humano y HCMV-AD1 fusionada con GST para evaluar si el anticuerpo en el sobrenadante de cultivo es un anticuerpo IgG humano y si se

une con HCMV-AD1.

Ejemplo 6. Producción de proteína de anticuerpo

- 5 El plásmido que expresaba anticuerpo anti HCMV resultante se introdujo en una célula CHO. Se realizó transferencia génica empleando el mismo método que las células 293T anteriormente descritas. Se realizó cultivo en presencia de un marcador de selección para obtener un clon de células CHO que producía constantemente el anticuerpo.
- 10 La misma célula CHO que produjo de forma estable el anticuerpo se cultivó en un medio sin suero, y se recogió el sobrenadante de cultivo. Este sobrenadante de cultivo se añadió a una columna de Proteína A y se sometió a purificación de afinidad para obtener un anticuerpo purificado. La columna usada fue una columna preempacutada de rProteína A FF HiTrap (GE Healthcare), mientras que las condiciones de purificación fueron las recomendadas por el fabricante de la columna. Después de la purificación, la propiedad de unión con HCMV-AD1 o HCMV-AD2 del anticuerpo se verificó por ELISA. Además, la cadena H del anticuerpo de aproximadamente 50 kDa y la cadena L del anticuerpo de aproximadamente 25 kDa se verificaron por SDS-PAGE.

Ejemplo 7. Preparación de variantes y actividades de unión de las mismas

- 20 Para estudiar secuencias de aminoácidos que influyen en la propiedad del anticuerpo de la presente invención o el fragmento de unión del mismo, se estudia en particular la región CDR-H3 (aminoácidos 117-132). Aquí, los números de los restos de aminoácidos de CDR-H3 se numeran secuencialmente comenzando desde el extremo N terminal (metionina) de la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada incluyendo la secuencia señal de SEC ID N°: 2.
- 25 Entre tanto, los aminoácidos que constituyen proteínas en la naturaleza pueden agruparse de acuerdo con las propiedades de sus cadenas laterales. Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen la misma propiedad incluyen aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina, triptófano), aminoácidos básicos (lisina, arginina, histidina), aminoácidos ácidos (ácido aspártico, ácido glutámico), aminoácidos neutros (serina, treonina, asparagina, glutamina), aminoácidos que tienen una cadena de hidrocarburo (alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina) y otros (glicina, metionina, cisteína).

En esta sección, la expresión "sustitución de aminoácidos conservativa" se refiere a la sustitución entre aminoácidos con propiedades similares, es decir, sustitución de aminoácidos principalmente entre los aminoácidos que pertenecen al mismo grupo mencionado anteriormente. Se cree que dicha sustitución no tiene una influencia significativa o cambio en la propiedad de la proteína original. Por otro lado, la expresión "sustitución de aminoácidos no conservativa" difiere de la sustitución anterior porque se refiere a sustitución con un aminoácido cuya propiedad difiere en gran medida de la del aminoácido original.

(1) Preparación de variantes de CDR-H3 de EV2038

- 40 Para los 16 restos de aminoácidos que constituyen CDR-H3 de EV2038, cada uno de ellos se sometió a sustitución de aminoácidos no conservativa por método de PCR de 2 etapas para preparar variantes (V117K, T118W, R119V, D1201, L121E, E122L, W123T, I124D, P125R, G126F, D127I, Y128N, Y129N, M130Q, D131I y V132K). En primer lugar, la primera mitad del fragmento génico se obtuvo con un par de 38Hind-S (CACCAAGCTTTGTGCAAGAACATGAAGCATC: SEC ID N°: 19) y un cebador inverso para el sitio de sustitución y la segunda mitad del fragmento génico se obtuvo con un par de un cebador directo para el sitio de sustitución y 38Not-A (ATAAGAATGCGCCGCGCCGTCGCACTCATTTACC: SEC ID N°: 20). Se realizó una segunda PCR usando estos como moldes para obtener un gen de anticuerpo variante de longitud completa. Posteriormente, el gen de anticuerpo se procesó con la enzima de restricción NotI para producir extremos adherentes y después se insertó en un plásmido productor de anticuerpo. La secuencia de nucleótidos de cada variante se verificó usando un cebador para verificar una secuencia de nucleótidos (ACCAGACATAATAGCTGACAG: SEC ID N°: 21) con el Analizador Genético 3130 (ABI) de acuerdo con un protocolo sugerido.

(2) Demostración de la expresión de anticuerpo de variantes de CDR-H3 de EV2038

- 55 El plásmido variante resultante (cadena H) y el plásmido original de la cadena L se cotransfirieron a célula CHO de acuerdo con el protocolo sugerido de Lipofectamine LTX (Invitrogen). Cuarenta y ocho horas después, se recogió el sobrenadante de cultivo. Se permitió que los sobrenadantes de cultivo diluidos en serie reaccionaran con anticuerpos anti IgG humano de fase sólida (0,25 µg/pocillo) en Placa Immuno (Maxi sorp, Nunc) a temperatura ambiente durante una hora. Como un anticuerpo secundario, se permitió que antiinmunoglobulina G gamma y antiinmunoglobulina G humana lambda (MBL) reaccionaran a temperatura ambiente durante 11 horas. Se añadieron cincuenta µl/ml de Sure Blue (MPL) que contenía sustrato TMB como un agente productor de color, se dejó que reposara a temperatura ambiente durante 30 minutos, y después se añadió una cantidad igual de ácido fosfórico 1,5 M para determinar la absorción a una longitud de onda de 450 nm usando un lector de microplacas (680XR, BIO-RAD). La verificación de la presencia o ausencia y cuantificación del anticuerpo se realizaron basándose en la absorbancia de las cadenas gamma y lambda.

(3) Evaluación de la capacidad de unión de variantes de EV2038 CDR-H3 con AD1 por ELISA

Se permitió que un anticuerpo ajustado a una concentración de 1 µg/ml basándose en la cadena lambda reaccionara en serie de diluciones con 5 µg/ml de AD1 en fase sólida en Placa Immuno (Poly sorp, Nunc). Posteriormente, se llevó a cabo un ELISA como se ha descrito anteriormente. Las capacidades de unión de las variantes con antígeno AD1 se evaluaron por las absorbancias a 450 nm de las variantes resultantes y EV2038 (original). Como resultado, la sustitución de aminoácido no conservativa de los restos 121-126 de EV2038 CDR-H3 excepto el resto 122 redujo significativamente la capacidad de unión con AD1, y por lo tanto se sugirió que estos restos eran importantes como paratopos de AD1 (Figura 2).

(4) Preparación de variantes de EV2038 CDR-H3 (2)

Entre los cinco restos de aminoácidos cuyas capacidades de unión con AD1 se redujeron tras la sustitución de aminoácidos no conservativa, los cuatros restos de aminoácidos 121, 123, 124 y 126 se sustituyeron con aminoácidos con propiedades similares. Se usaron cinco tipos de aminoácidos para cada resto. Específicamente, se prepararon variantes mostradas en la Figura 3. La prolina en la posición 125 se sustituyó con todos los aminoácidos naturales distintos del aminoácido original (Figura 4). Las variantes se prepararon como se ha descrito anteriormente.

(5) Evaluación de las capacidades de unión de las variantes de CDR-H3 de EV2038 con AD1 por ELISA

Se permitió que un anticuerpo ajustado a una concentración de 1 µg/ml basándose en la cadena lambda reaccionara en serie de diluciones con 5 µg/ml de AD1 en fase sólida en Placa Immuno (Poly sorp, Kunc). Posteriormente, se llevó a cabo un ELISA como se ha descrito anteriormente para evaluar las capacidades de unión de las variantes con AD1. Con respecto a los aminoácidos en las posiciones 121, 123, 124 y 126, la mayoría de las sustituciones de aminoácidos por aminoácidos conservativos mantuvieron las capacidades de unión con AD1 (Figura 3). Sin embargo, la prolina en la posición 125 no tuvo capacidad de unión con AD1 tras la sustitución con cualquier otro aminoácido natural (19 tipos) (Figura 4). Por lo tanto, en CDR-H3 de EV2038 de acuerdo con la presente invención, se ha mostrado que la prolina en la posición 125 es un aminoácido necesario para la propiedad de unión a AD1 del anticuerpo.

(6) Preparación de variantes de CDR-H3 de EV2038 (3)

También se llevó a cabo una sustitución de aminoácidos conservativa para los restos de aminoácidos cuyas capacidades de unión con AD1 no se reducían tras la sustitución de aminoácidos no conservativa (total de 11 restos en las posiciones 117-120, 122 y 127-132) de acuerdo con el mismo método para realizar la evaluación de las capacidades de unión con AD1. Como resultado, se descubrió que las variantes con sustitución de aminoácidos conservativa en esta región (V117L, V117I, T118S, T118K, R119K, R119T, D120E, D120A, E122D, E122A, D127E, D127A, Y128F, Y128W, Y129F, Y129W, M130F, M130I, D131E, D131A, V132Y y V132S) conservaban las capacidades de unión con AD1, como sustitución de aminoácidos no conservativa (Figura 5).

(7) Preparación de variantes de CDR-H3 de EV2038 (4)

Se preparó un total de cuatro tipos de variantes por sustitución simultánea de dos o cuatro restos de aminoácidos entre los restos de aminoácidos cuyas capacidades de unión con AD1 se redujeron tras la sustitución de aminoácidos no conservativa distinta de prolina en la posición 125 (un total de cuatro restos en las posiciones 121, 123, 124 y 126) (productos con dos aminoácidos sustituidos: 1124V/G126A y 1124V/G126S, productos con 4 aminoácidos sustituidos: L12HAV123Y/I124V/G126A y L121I/W123Y/H24V/G126S) para evaluar sus capacidades de unión con AD1. Como resultado, se descubrió que todas estas variantes multisustituidas conservaban las capacidades de unión con AD1 (Figura 6).

(8) Preparación de variantes de CDR-H3 de EV2038 (5)

Se preparó una de cada una de las variantes suprimidas e insertadas (E122del, y G126_D127insE) dirigiéndose a los restos de aminoácidos cuyas capacidades de unión con AD1 se redujeron tras una sustitución de aminoácidos no conservativa distinta de prolina en la posición 125 (total de cuatro restos en las posiciones 121, 123, 124 y 126) para evaluar sus capacidades de unión con AD1. Como resultado, las capacidades de unión con AD1 se eliminaron completamente tanto para E122del como para G126_D127insE. Por lo tanto, se sugirió que el número de restos de aminoácidos en este sitio (posiciones 121-126) (6 restos) era importante para la unión con AD1 (Figura 7).

En resumen, una secuencia de aminoácidos de EV2038 CDR-H3 puede ser la siguiente secuencia consenso.

$X_n X_n X_n X_0 X_1 X_n X_2 X_3 P X_4 X_n X_n X_n X_n X_n$ (SEC ID N°:22)
 en la que, X_n = cualquier aminoácido natural
 X_1 = L, I, V, F o A
 X_2 = W, Y o F

X₃ = I, V, L o M
X₄ = G, S, A o T

(9) Preparación de variantes de CDR-H2 de EV2038

5 Para estudiar si una sustitución conservativa distinta de CDR-H3 tiene influencia en la capacidad de unión con AD1, se preparó una variante en la que N79 situado en CDR-H2 de EV2038 se alteraba a N79Q de acuerdo con el mismo método para preparar otras variantes para evaluar la capacidad de unión con AD1. A partir de los resultados, también se ha demostrado que la capacidad de unión con AD1 no se elimina en la variante que tiene N79 en CDR-
10 H2 alterado a N79Q (Figura 8).

Los números de secuencia de las secuencias de aminoácidos de cadenas H (incluyendo secuencia señal) de las variantes preparadas en esta sección se enumeran en la Tabla 4.

15 Tabla 4

| Nombre de la variante | SEC ID N° | Nombre de la variante | SEC ID N° | Nombre de la variante | SEC ID N° |
|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|-------------------------|-----------|
| VH7K | 28 | I124 A | 58 | D120E | 88 |
| T118W | 29 | G126P | 59 | D120A | 89 |
| R119V | 30 | G126A | 60 | E122D | 90 |
| D120I | 31 | G126S | 6J | E122A | 91 |
| L121E | 32 | G126N | 62 | D127E | 92 |
| E122L | 33 | G126T | 63 | D127A | 93 |
| W123T | 34 | P125G | 64 | Y128F | 94 |
| I124D | 35 | P125I | 65 | Y128W | 95 |
| P125R | 36 | P125A | 66 | Y129F | 96 |
| G126F | 37 | P125L | 67 | Y129W | 97 |
| D127I | 38 | P125V | 68 | M130F | 98 |
| Y128N | 39 | P125S | 69 | M130I | 99 |
| Y129N | 40 | P125T | 70 | D131E | 100 |
| M130Q | 41 | P125N | 71 | D131A | 101 |
| D131I | 42 | P125Q | 72 | V132Y | 102 |
| V132K | 43 | P125D | 73 | V132S | 103 |
| L121I | 44 | P125E | 74 | I124V/G126A | 104 |
| L121V | 45 | P125K | 75 | I124V/G126S | 105 |
| L121A | 46 | P125H | 76 | L12137W123Y/I124V/G126A | 106 |
| L121F | 47 | P125C | 77 | L121I/W123Y/I124V/G126S | 107 |
| L121P | 48 | P125M | 78 | E122del | 108 |
| W123Y | 49 | P125Y | 79 | G126 D127insE | 109 |
| W123F | 50 | P125W | 80 | N79Q | 110 |
| W123P | 51 | P125F | 81 | | |
| W123L | 52 | V117L | 82 | | |
| W123I | 53 | V117I | 83 | | |
| I124L | 54 | T118S | 84 | | |
| I124M | 55 | T118K | 85 | | |
| I124P | 56 | R119K | 86 | | |
| I124V | 57 | R119T | 87 | | |

Ejemplo 8. Mapeo de epítomos de anticuerpo anti AD1 de HCMV

Para determinar el sitio de la glucoproteína gB con el que se unen estos anticuerpos de AD1, se introdujo un vector de expresión clonado con AD1 de gB de HCMV con mutación de delección por el método de PCR para preparar una serie de mutantes de *E. coli* que expresan proteínas que tienen diversos sitios suprimidos en AD1. Estos mutantes de *E. coli* se cultivaron y se indujeron para expresión. A continuación, se llevó a cabo análisis de transferencia de Western convencional usando el lisado celular como un antígeno. Se seleccionaron como controles EV2038 y dos tipos de variantes con diferentes sitios de sustitución que tienen capacidades de unión con AD1. Una de las variantes seleccionadas fue una forma con sustitución de aminoácido conservativa I124V que se sometió a sustitución del resto de isoleucina en la posición 124 (uno de los sitios cuya actividad de unión a AD1 no se ha reconocido tras la sustitución de aminoácidos no conservativa) cadena arriba de la estructura de bucle de CDR-H3 (Shirai, H., *et al*, FEBS Letters, 1996; 399: p 1-8). La otra fue una forma con sustitución de aminoácido no conservativa V132K que se sometió a sustitución de la valina en la posición 132 en la raíz de la estructura de bucle de CDR-H3.

EV2038, I124V y V132K se unen todos a los números de clones N° 0, N° 12, N° 13, N° 14, N° 15 y N° 19, mientras que se descubrió que EV2038 y las variantes del mismo tenían todos epítomos entre los restos de aminoácidos 549-580 (SCVTINQTSVKVLRDMNVKE3PGRCYSRPVVI: SEC ID N°: 23) y 596-640 (EDNEILLGNHRTEECQLPSLKIFIAGNSAYEYVDYLFKRMIDLSS: SEC ID N°: 24) (Figuras 9 y 10). Aquí, la secuencia de aminoácidos de gB de la cepa de HCMV AD169 como el antígeno se numera comenzando desde el codón de inicio, es decir, metionina, con referencia a la secuencia del número de Referencia P06473.

Además, el epítomo se determinó de forma más específica para EV2038 con una matriz peptídica. Se sintetizaron veintiséis tipos de péptidos desplazando cuatro restos a la vez en un péptido de 12 restos dentro de una serie de los restos de aminoácidos 548-641 (Tabla 5). Cada péptido tiene su extremo C terminal unido a la superficie de la membrana de celulosa derivatizada para síntesis en fase sólida como un punto individual de 3,7 mm x 3,7 mm (método de SPOT, Sigma Genosys). El péptido con el que se une EV2038 se determinó por síntesis de transferencia puntual convencional. EV2038 se unía con los números de péptidos 3, 7, 8, 21 y 22 (Figura 10) y se determinó que los epítomos eran restos de aminoácidos 549-560 (SCVTINQTSVKV: SEC ID N°: 25), restos de aminoácidos 569-576 (SPGRCYSR: SEC ID N°: 26) y restos de aminoácidos 625-632 (YEYVDYLF: SEC ID N°: 27).

Con respecto a los anticuerpos que reconocen la región AD1, se han presentado ITC52 y similares que reconocen un epítomo discontinuo de restos de aminoácidos 570-579 y 606-619 (documento WO93/21952 y J. Virol, 67; p 703-710 (1993)). Sin embargo, aparte de los restos de aminoácidos 569-576 (SPGRCYSR: SEC ID N°: 26), al menos dos de los restos de secuencia epitópica no se han indicado previamente, lo que muestra que EV2038 es un anticuerpo que reconoce una secuencia discontinua que difiere de la previamente indicada para anticuerpos de AD1 (Figura 10).

Con respecto a anticuerpos que reconocen la región AD1, se han indicado ITC52 y similares que reconocen un epítomo discontinuo de los restos de aminoácidos 570-579 y 606-619 (documento WO93/21952 y J. Virol, 67; p 703-710 (1993)). Sin embargo, aparte de los restos de aminoácidos 569-576 (SPGRCYSR: SEC ID N°: 26), al menos dos de los restos de secuencia epitópica no se han indicado previamente, lo que muestra que EV2038 es un anticuerpo que reconoce una secuencia discontinua que difiere de las previamente indicadas para anticuerpos de AD1 (Figura 10).

Tabla 5

| Número de péptido | Secuencia de aminoácidos | SEC ID N° |
|-------------------|--------------------------|-----------|
| 1 | MGDVLGLASCVT | 111 |
| 2 | LGLASCVTINQT | 112 |
| 3 | SCVTINQTSVKV | 113 |
| 4 | INQTSVKVLRDM | 114 |
| 5 | SVKVL RDMNVKE | 115 |
| 6 | LRDMNVKESPGR | 116 |
| 7 | NVKESPGRCYSR | 117 |
| 8 | SPGRCYSRPWI | 118 |
| 9 | CYSRPWIFNFA | 119 |
| 10 | PVVIFNFANSSY | 120 |
| 11 | FNFANSSYVQYG | 121 |
| 12 | NSSYVQYGQLGE | 122 |
| 13 | VQYGQLGEDNEI | 123 |

| Número de péptido | Secuencia de aminoácidos | SEC ID N° |
|-------------------|--------------------------|-----------|
| 14 | QLGEDNEILLGN | 124 |
| 15 | DNEILLGNHRTE | 125 |
| 16 | LLGNHRTEECQL | 126 |
| 17 | HRTEECQLPSLK | 127 |
| 18 | ECQLPSLKIFIA | 128 |
| 19 | PSLKIFIAGNSA | 129 |
| 20 | IFIAGNSAYEYV | 130 |
| 21 | GNSAYEYVDYLF | 131 |
| 22 | YEYVDYLFKRFMI | 132 |
| 23 | DYLFKRFMIDLSS | 133 |
| 24 | KRFMIDLSSISTV | 134 |
| 25 | DLSSISTVDSMI | 135 |
| 26 | ISTVDSMIALDI | 136 |

Ejemplo 9. Evaluación de la actividad neutralizante

(1) Inmunotinción

5 Para evaluar la eficacia del anticuerpo anti HCMV (EV2038), se determinó la actividad neutralizante. La actividad neutralizante se evaluó como una tasa de bloqueo, por el anticuerpo, de infección por HCMV (cepa AD169) en una célula fibroblástica normal derivada de pulmón de feto humano (MRC-5: Riken BRC N° RCB0211). El procedimiento siguió el método de Abai *et al* (Journal of Immunological Methods 322 2007 82-93). Brevemente, el procedimiento fue el siguiente. Se añadió complemento (5 %) a la solución de virus y el anticuerpo purificado y se dejó durante una hora. Después, se usó el resultante para inocular la célula MRC-5 (37 °C, 1 hora). La célula se lavó dos veces, se cultivó durante 20 horas, y después se detectó IE1, es decir proteína inmediata-temprana de HCMV, mediante tinción inmunofluorescente. Se contaron las células infectadas por HCMV con software de análisis de imágenes Image J (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

15 La Figura 11 muestra los resultados de la evaluación de la actividad neutralizante del anticuerpo anti HCMV. Se usó como control negativo un anticuerpo monoclonal humano (hIgG) que no tiene especificidad por HCMV mientras que se usó como un control positivo un anticuerpo monoclonal de ratón (nombre del clon HCMV16, AbD serotec: 2470-5437) que se une con glucoproteína H (gH), es decir, uno de los epítomos neutralizantes de HCMV. La velocidad de bloqueo de infección por HCMV de cada anticuerpo se indicó en un porcentaje con respecto a la velocidad de bloqueo de infección obtenida tras la adición de una concentración igual de hIgG. La concentración de inhibición al 50 % (CI₅₀) tras la adición del complemento fue de 0,58 µg/ml para EV2038, lo que demuestra que tiene una actividad neutralizante eficaz a una concentración menor que EV2001. En ausencia del complemento, no se obtuvo actividad neutralizante eficaz para EV2001 mientras que la CI₅₀ de EV2038 fue de 0,57 µg/ml, lo que demuestra que tiene actividad neutralizante igual al caso en que haya presencia del complemento (Tabla 6).

Tabla 6

| Nombre de anticuerpo | Antígeno diana | CI ₅₀ (µg/ml) | |
|----------------------|----------------|--------------------------|------|
| | | Cp+ | Cp- |
| hIgG | - | n.d. | n.d. |
| EV200T | AD1 | 3,08 | n.d. |
| EV2038 | AD1 | 0,58 | 0,57 |
| HCMV16 | gH | 0,87 | 2,15 |

n.d.: no determinado

30 (2) Método de placas

EV2038 que mostraba alta actividad neutralizante tras la evaluación anteriormente descrita se evaluó adicionalmente con respecto a su actividad de bloqueo de la infección por un método de placas (Masuho, Y, *et al.*, J. Gen. Virol., 1987; 68: p 1457-1461). Como cepas de virus, se usaron cepas de laboratorio de HCMV típicas AD169, Towne, Davis y Merlin así como cepas de HCMV clínicamente aisladas T-137 y MDU-1. El método se llevó a cabo brevemente de la siguiente manera. Se mezclaron una solución de virus de 50-100 UFP y un anticuerpo purificado diluido en serie a una concentración predeterminada, se incubaron a 37 °C durante una hora, y se usaron para inocular una célula fibroblástica (MRC-5) o una célula de epitelio pigmentado retiniano (ARPE-19) que se había

unilaminado en microplacas de 48 pocillos. Después de la inoculación, el resultante se incubó a 37 °C durante 2 horas y después se retiró el sobrenadante de cultivo. Después de lavar dos veces, el resultante se cultivó a 37 °C en un medio convencional que contenía FCS al 2 %. El cultivo se continuó con una cepa de laboratorio durante 5-6 días o con una cepa clínicamente aislada durante 10-12 días hasta que se confirmó claramente la formación de placas por muerte de las células infectadas por virus. Posteriormente, se añadió formalina al 5 % para inmovilizar las células, y se realizó tinción con violeta cristal 0,025 %. Después de la tinción, el número de placas por pocillo se contó para calcular la velocidad de bloqueo de infección del anticuerpo anti HCMV.

La Tabla 7 son los resultados de la evaluación de la actividad neutralizante de EV2038 por el método de placas. Se usó como un control negativo un anticuerpo monoclonal humano (hlgG) que no tiene especificidad por HCMV, mientras que se usó como control positivo una formulación de inmunoglobulina de alta titulación anti CMV CytoGam (CSL Behring, globulina inmunitaria de Citomegalovirus CytoGam intravenosa, información de Prescripción (Revisado en Julio de 2008)) aprobada en los Estados Unidos para aplicar para la prevención del desarrollo de infección por HCMV asociada con trasplante de riñón.

Se ha indicado que el HCMV tiene un mecanismo de entrada diferente entre el modo de infección de una célula fibroblástica y los modos de infección de células epiteliales y endoteliales (Sinzger, C. *et al.*, Curr Top Microbiol Immunol., 2008; 325: p 63-83). En muchas de las cepas de laboratorio tipificadas por las cepas AD169 y Towne, se cree que la infecciosidad de células epiteliales y endoteliales se elimina mediante pase varias veces con células fibroblásticas (Dai Wang, *et al.*, J. Virol, 2005; 79: p 10330-10338). Por otro lado, el HCMV tiene de forma intrínseca infecciosidad de tejidos y tipos celulares amplios *in vivo* (Sinzger, C. *et al.*, Curr Top Microbiol Immunol., 2008; 325: p 63-83). Por lo tanto, para que un anticuerpo anti HCMV muestre un efecto clínico, puede ser importante que el anticuerpo tenga una actividad neutralizante eficaz tanto para el tipo celular de fibroblastos como para el tipo celular epitelial/endotelial que se usan como las células hospedadoras infectadas.

Se ha demostrado que los anticuerpos anti HCMV (EV2038) de la presente invención tenían CI_{50} de 0,012-0,037 $\mu\text{g/ml}$ para infección de una célula de fibroblastos con la cepa de laboratorio. Con la cepa clínicamente aislada (MDU-1) que conserva la infecciosidad para células epiteliales/endoteliales, la CI_{50} fue de 0,044 $\mu\text{g/ml}$ para infección de una célula fibroblástica y 0,040 $\mu\text{g/ml}$ para infección de células fibroblásticas y epiteliales, confirmando que tiene excelente actividad neutralizante igual tanto para tipo celular de fibroblastos como para tipos celulares epiteliales/endoteliales. Además, EV2038 era altamente activo contra la cepa AD169 aproximadamente 2000 veces en comparación con una formulación de inmunoglobulina de alta titulación anti CMV disponible en el mercado CytoGam, y altamente activa aproximadamente 20 veces en comparación con los valores indicados de C23 clínicamente desarrollado y demostrado (Masuho, Y. *et al.*, J. Gen. Virol, 1987; 68: p 1457-1461).

Tabla 7

| Nombre de anticuerpo | CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | | |
|----------------------|--------------------------------|--------|--------|--------|-----------------------------------|----------------------|------------------|
| | Cepa de laboratorio de HCMV | | | | Cepa clínicamente aislada de HCMV | | |
| | AD169 | Towne | Merlin | Davis | T-137 | MDU-1 | |
| | Célula fibroblástica | | | | Célula fibroblástica | Célula fibroblástica | Célula epitelial |
| hlgG | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 |
| EV2038 | 0,027 | 0,025 | 0,012 | 0,037 | 0,07 | 0,044 | 0,04 |
| | (0,18) | (0,17) | (0,08) | (0,25) | (0,47) | (0,29) | (0,27) |
| CytoGam | 57,6 | N.D. | N.D. | N.D. | 33 | 51 | 3,8 |

N.D.: no determinado

(En la tabla, los valores entre paréntesis son concentraciones molares (nM) calculadas considerando que el peso molecular del anticuerpo es de 150 kDa)

Ejemplo 10. Evaluación de la actividad neutralizante del anticuerpo variante EV2038

Se han seleccionado dos tipos de variantes con diferentes sitios de sustitución entre las variantes de EV2038 para evaluar las actividades neutralizantes de las mismas. Una fue una forma con sustitución de aminoácidos conservativa I124V que se sometió a sustitución del resto de isoleucina en la posición 124 (cadena arriba de la estructura de bucle de CDR-H3) cuya actividad de unión a AD1 no se reconoció tras la sustitución de aminoácidos no conservativa. La otra fue una forma con sustituciones de aminoácidos no conservativas V123K que se sometió a sustitución de valina en la posición 132 (en la raíz de la estructura de CDR-H3) que tenía actividad de unión a AD1 igual a la forma original tras la sustitución de aminoácidos no conservativa. El procedimiento siguió el método anteriormente descrito de Abai *et al.* (Journal of Immunological Methods 322 2007 82-93). Se usó como un control negativo un anticuerpo monoclonal humano (hlgG) que no tiene especificidad para HCMV mientras que se usó como un control positivo un anticuerpo monoclonal de ratón (nombre del clon HCMV16, AbD serotec: 2470-5437) que se une con glucoproteína H (gH), es decir, uno de los epítomos neutralizantes de CMV, como un control positivo. La

velocidad de bloqueo de infección por HCMV de cada anticuerpo se indicó en porcentaje con respecto a la velocidad de bloqueo de infección obtenida tras la adición de una concentración igual de hlgG. La concentración de inhibición al 50 % (CI₅₀) fue de 0,45 µg/ml para I124V y 1,20 µg/ml para V132K, y se ha mostrado que ambas tienen casi la misma actividad que la de EV2038.

5

Ejemplo 11 – Evaluación de la capacidad de bloqueo de la infección de célula a célula

Además, como una evaluación de la eficacia de EV2038, se usó una célula fibroblástica normal derivada de pulmón de feto humano infectada por HCMV (MRC-5) para evaluar la actividad de bloqueo de la infección de célula a célula de EV2038. El método de evaluación se basó en el método de Navarro *et al.* (Virology. 1993; 197: p 143-158). Específicamente, se usó MRC-5 que se había infectado con HCMV (AD169) durante 24 horas, al que se añadió el anticuerpo en una serie de diluciones cuádruples comenzando a partir de 10 mg/ml (aproximadamente 67 nM). La célula se inmovilizó 6 días después de la infección y se detectó la proteína de expresión de infección temprana IE1 por inmunotinción. Las células infectadas por HCMV se contaron con el software de análisis de imágenes Image J. Como resultado, se ha descubierto que la adición de anticuerpo anti AD1 EV2038 a la célula infectada puede inhibir significativamente la infección de célula a célula del virus (Tabla 8).

10

15

En la tabla, (1) +++, (2) ++, (3) +, (4) ± y (5) - representan inhibición del 100-75 %, inhibición del 75-50 %, inhibición del 50-25 %, inhibición del 25-0 % y ningún efecto inhibitorio contra la propagación de la infección, respectivamente.

20

El informe de Navarro *et al.* (Virology. 1993; 197: p 143-158) ha mostrado un caso ejemplar en el que los anticuerpos con la mayor actividad (CH177-3, CH244-4, etc.) mostraron inhibición del 100-75 % a una concentración de 10 mg/ml. Con EV2038, sin embargo, puede verse una inhibición de la infección celular del 100-75 % a un intervalo de concentración de 10-0,63 µg/ml, y además efecto inhibitorio de la infección de célula a célula del 75-50 % a 0.16 µg/ml (1,07 nM).

25

Tabla 8

| | Concentración tras la adición (µg/ml) | | | | | | |
|--------|---------------------------------------|-----|------|------|------|------|-------------|
| | 10 | 2,5 | 0,63 | 0,18 | 0,04 | 0,01 | Sin adición |
| EV2038 | +++ | +++ | +++ | ++ | + | - | - |

30

A partir de las propiedades anteriormente descritas, un anticuerpo anti HCMV o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención parece proporcionar una nueva dimensión como un fármaco profiláctico o terapéutico para diversas enfermedades provocadas por HCMV, por ejemplo, enfermedades tales como neumonía intersticial, retinitis, gastroenteritis o encefalitis en un paciente con inmunodeficiencia, o la anomalía de la función hepática, neumonía intersticial o mononucleosis que se desarrolla debido a infección por HCMV durante el periodo neonatal o la infancia.

35

Hasta ahora, la presente invención se ha descrito específicamente de acuerdo con realizaciones específicas. Estas realizaciones, sin embargo, se proporcionan solamente para descripción y no son restrictivas. El alcance de la presente invención puede alterarse o modificarse de cualquier manera dentro de los requisitos del alcance de las reivindicaciones, que quedan dentro del alcance técnico de la presente invención.

40

Aplicabilidad industrial

Se espera que un anticuerpo anti HCMV de la presente invención y una composición farmacéutica que contenga el anticuerpo se usen como un fármaco profiláctico o terapéutico para diversas enfermedades provocadas por el HCMV, por ejemplo: (a) enfermedades tales como la neumonía intersticial, retinitis, gastroenteritis, encefalitis y similares provocadas por la reactivación del HCMV en estados de inmunodeficiencia tales como SIDA, cáncer, después del trasplante de órganos, después del trasplante de médula ósea, y después de hemodiálisis; (b) infección por CMV congénita debido a la transmisión de infección por HCMV de una mujer embarazada a un feto; (c) aborto, mortinato y muerte poco después del nacimiento provocados por la infección por CMV congénita anteriormente descrita; (d) bajo peso al nacer, hepatoesplenomegalia, ictericia, púrpura trombocitopénica, microcefalia, trastorno del desarrollo mental, retardo del desarrollo intelectual, coriorretinitis y alteración de la audición en el caso de supervivencia a través de la infección por CMV congénita anteriormente descrita; y (e) anomalía de la función hepática, neumonía intersticial y mononucleosis debido a infección por HCMV durante el periodo neonatal o la infancia.

55

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Evec incorporated

<120> Unión de anticuerpo monoclonal con secuencias epitópicas no contiguas específicas localizadas en la

60

región AD1 de la glucoproteína gB de citomegalovirus humano y sus fragmentos de unión a antígeno

<130> PCT10-0011

5 <150> JP 2009-89442
<151> 01-04-2009

<160> 137

10 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 1422

15 <212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 1
atgaagcatic tgtggttctt cctcctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctac agcagtgagg cgcaggactg ttgaagcctt cggagaccct gtcctcacc 120
tgcgctgtct atggtgggtc cttcagtggt tactactggg gctggatccg ccagccccc 180
gggaaggggc tggagtggat tggggaaatc aatcatagtg gaagcgcaa ctccaaccg 240
tccctcaaga gtcgagtcac catgtcagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
gtgagctctg tgaccgccgc ggacacggct gtgtatttct gtgcgagagt aacacgagat 360
ttggagtgga taccgggaga ctactacatg gacgtctggg gcaaagggac cacggtcacc 420
gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttcccc tggcaccctc ctccaagagc 480
acctctgggg gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg 540
acgggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtecta 600
cagtcctcag gactctattc cctcagcagc gtgggtgacc tgccctccag cagcttgggc 660
accagacct acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa 720
gttgagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgcccagc acctgaactc 780
ctgggggggac cgtcagctct cctcttcccc ccaaaaccca aggacacct catgatctcc 840
cggacccctg aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 900
ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcc aagacaagcc gcgggaggag 960
cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tcctgcacca ggactgggtg 1020
aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1080
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc 1140
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcnaagg ettotatccc 1200
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1260

cctcccgctg tggactccga cggtccttc ttectctaca gcaagctcac cgtggacaag 1320
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgcctcgtga tgcagaggg tctgcacaac 1380
cactacacgc agaagacct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1422

20 <210> 2
<211> 473

ES 2 539 751 T3

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1          5          10          15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20          25          30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35          40          45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50          55          60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65          70          75          80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85          90          95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
100          105          110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Tyr
115          120          125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
130          135          140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
145          150          155          160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
165          170          175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
180          185          190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
195          200          205

```

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

5

<210> 3
 <211> 708
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 3
 atggccgget tccctctect cctcaccetc ctcactcaet gtgcagggtc ctgggcccag 60
 tctgtgctga ctcagccacc ctcagcgtct gggacccccg ggcagagggt cagcatctct 120
 tgttctggaa gcctgtccaa catcggcact aattatgtat actggtacca gcaactccca 180
 ggaacggccc ccaaaactcct catctttaag aataatcagc ggcctcagg ggtccctgac 240
 cgattctctg gctccaagtc tggcacctca gcctccctgg ccatcagtgg cctccggtcc 300
 gaggatgagg ctgattatta ctgtgcagca tgggatgaca gcctgaatgg ttatgtcttc 360
 ggaactggga ccaaggtcac cgtcctaggt cagcccaagg ccaaccccac tgtcactctg 420
 ttcccgcct cctctgagga gctccaagcc aacaaggcca cactagtgtg tctgatcagt 480
 gacttctacc cgggagctgt gacagtggcc tgggaaggcag atggcagccc cgtcaaggcg 540
 ggagtggaga ccaccaaac cccaacacag agcaacaaca agtacgcggc cagcagctac 600
 ctgagcctga cgcocgagca gtggaagtc cacagaagct acagctgcca ggtcacacat 660
 gaagggagca cagtggagaa gacagtggcc cctacagaat gttcatag 708

10

<210> 4
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 4
Met Ala Gly Phe Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr His Cys Ala Gly
1 5 10 15

Ser Trp Ala Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr
20 25 30

Pro Gly Gln Arg Val Ser Ile Ser Cys Ser Gly Ser Leu Ser Asn Ile
35 40 45

Gly Thr Asn Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Phe Lys Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser
85 90 95

Gly Leu Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp
 100 105 110

Asp Ser Leu Asn Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val
 115 120 125

Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser
 130 135 140

Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser
 145 150 155 160

Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser
 165 170 175

Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn
 180 185 190

Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp
 195 200 205

Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr
 210 215 220

Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 225 230 235

<210> 5
 <211> 1365
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 5
 caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctggtgaagc ctteggagac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggggctggat ccgccagccc 120
 ccaggggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaagggc caactccaac 180
 ccgtccctca agagtcgagt caccatgtca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aaggtgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt tctgtgagag agtaaacaga 300
 gatttgagat ggataccggg agactactac atggacgtct ggggcaagg gaccacggtc 360
 accgtctcct cagcctccac caagggccca tcgggtcttc ccttggcacc ctctccaag 420
 agcaactctg ggggcacagc ggccttgggc tgccctggtca aggactactt ccccgaaccg 480
 gtgacgggtg cgtggaactc aggcgcctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc 540
 ctacagtcct caggactcta ttcctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 600
 ggcaoccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 660

ES 2 539 751 T3

aaagttaggc ccaaattcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa 720
ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgac 780
tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 840
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 900
gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 960
ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 1020
aaaaccatct ccaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1080
tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 1140
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1200
acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac 1260
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga gggctctgcac 1320
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga 1365

<210> 6
 <211> 454
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 6

ES 2 539 751 T3

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

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430

Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450

5

<210> 7
 <211> 651
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 7
 cagtctgtgc tgactcagcc acctcagcg totgggaccc ccgggcagag ggtcagcatc 60
 tcttgttctg gaagcctgtc caacatcggc actaattatg tatactggta ccagcaactc 120
 ccaggaacgg cccccaaact cctcatcttt aagaataatc agcggccctc aggggtccct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tggcctccgg 240
 tccgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgaa tggttatgtc 300
 ttcggaactg ggaccaaggt caccgtccta ggtcagccca aggccaacc cactgtcact 360
 ctgttcccgc cctcctctga ggagctccaa gccacaagg ccacactagt gtgtctgac 420
 agtgacttct acccgggagc tgtgacagtg gcctggaagg cagatggcag ccccgctcaag 480
 gcgggagtgg agaccaccaa accctccaaa cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540
 tacctgagcc tgacgccga gcagtgyaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcaca 600
 catgaagga gcaccgtgga gaagacagtg gccctacag aatgttcata g 651

10

<210> 8
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 8
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Ser Ile Ser Cys Ser Gly Ser Leu Ser Asn Ile Gly Thr Asn
 20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Phe Lys Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
 100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
 115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
 130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
 145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
 165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
 180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 9
 <211> 372
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 4
 caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctggtgaagc ctctggagac cctgtccctc 60
 acctgegetg tctatggtgg gtccttcagt ggttactact ggggctggat ccgccagccc 120
 ccagggaagg ggetggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaagcgc caactccaac 180
 ccgtccctca agagtcgagt caccatgtca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aaggtgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt tctgtgagag agtaaacaga 300
 gatttggagt ggataccogg agactactac atggacgtct ggggcaaagg gaccacggtc 360
 accgtctctc ca 372

10 <210> 10
 <211> 124

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Ser Ile Ser Cys Ser Gly Ser Leu Ser Asn Ile Gly Thr Asn
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Phe Lys Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 13
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 13
Gly Tyr Tyr Trp Gly
1 5

10

<210> 14
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 14
Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

20

<210> 15
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 15
Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Tyr Tyr Met Asp Val
1 5 10 15

25

<210> 16
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

30

<400> 16

Ser Gly Ser Leu Ser Asn Ile Gly Thr Asn Tyr Val Tyr
1 5 10

5 <210> 17
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 17
Lys Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

10 <210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 18
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Tyr Val
1 5 10

20 <210> 19
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> 38 Hind-S

<400> 19
 caccaagctt tgtgcaagaa catgaagcat c 31

30 <210> 20
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> 38 Not-A

<400> 20
 ataagaatgc ggccgcgccg tcgcactcat ttacc 35

40 <210> 21
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Cebador

<400> 21
 accagacata atagctgaca g 21

50 <210> 22
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Secuencia consenso

60 <220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(4)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa es Leu, He, Val, Phe o Ala

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7). . (7)
 <223> Xaa es Trp, Tyr o Phe

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa es He, Val, Leu o Met

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa es Gly, Ser, Ala o Thr

30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(16)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 22
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

35 <210> 23
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

40 <400> 23
Ser Cys Val Thr Ile Asn Gln Thr Ser Val Lys Val Leu Arg Asp Met
1 5 10 15

Asn Val Lys Glu Ser Pro Gly Arg Cys Tyr Ser Arg Pro Val Val Ile
20 25 30

45 <210> 24
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

50 <400> 24

ES 2 539 751 T3

Glu Asp Asn Glu Ile Leu Leu Gly Asn His Arg Thr Glu Glu Cys Gln
1 5 10 15

Leu Pro Ser Leu Lys Ile Phe Ile Ala Gly Asn Ser Ala Tyr Glu Tyr
20 25 30

Val Asp Tyr Leu Phe Lys Arg Met Ile Asp Leu Ser Ser
35 40 45

<210> 25

<211> 12

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

5

<400> 25

Ser Cys Val Thr Ile Asn Gln Thr Ser Val Lys Val
1 5 10

10

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

15

<400> 26

Ser Pro Gly Arg Cys Tyr Ser Arg
1 5

20

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 27

Tyr Glu Tyr Val Asp Tyr Leu Phe
1 5

25

<210> 28

<211> 473

<212> PRT

<213> Artificial

30

<220>

<223> V117K

<400> 28

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

35

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 29
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> T118W

<400> 29

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 30
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> R119V

<400> 30

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 31
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> D120I

<400> 31

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 32
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> L121E

<400> 32

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Glu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 33
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> E122L

<400> 33

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 34
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> W123T

<400> 34

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Thr Ile Pro Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 35
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124D

<400> 35

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 36
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125R

<400> 36

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Arg Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 37
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> G126F

<400> 37

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 38
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> D127I

<400> 38

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 39
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Y128N

<400> 39

5

10

ES 2 539 751 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 40
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Y129N

<400> 40

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

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

<210> 41
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> M130Q

<400> 41

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 42
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> D1311

<400> 42
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 43
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> V132K

<400> 43

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Lys Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 44
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> L121I

<400> 44

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 45
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> L121V

<400> 45

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

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

<210> 46
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> L121A

<400> 46

5

10

ES 2 539 751 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

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

<210> 47
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> L121F

<400> 47

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 48
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> L121P

<400> 48

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

ES 2 539 751 T3

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

<210> 49
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> W123Y

<400> 49
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 50
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> W123F

<400> 50

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 51
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> W123P

<400> 51

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 52

<211> 473

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> W123L

10 <400> 52

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 53
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> W123I

<400> 53

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 54
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124L

<400> 54

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 55
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124M

<400> 55

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 56
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124P

<400> 56
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Pro Pro Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 57
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124V

<400> 57

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 58
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124A

<400> 58

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 59
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> G126P

<400> 59

5

10

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

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

<210> 60
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> G126A

<400> 60

5

10

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 61
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> G126S

<400> 61
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Lau Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 62
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> G126N

<400> 62

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

ES 2 539 751 T3

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

<210> 63
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> G126T

<400> 63

5

10

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 64
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125G

<400> 64

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Gly Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 65
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125I

<400> 65

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

ES 2 539 751 T3

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 66
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125A

<400> 66

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 67
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125L

<400> 67

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 68
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125V

<400> 68

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 69
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> P125S

<400> 69

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 70
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125T

<400> 70

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 71
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125N

<400> 71

5

10

ES 2 539 751 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 72
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125Q

<400> 72

5

10

ES 2 539 751 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 73
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125D

<400> 73

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 74
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125E

<400> 74

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 75
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125K

<400> 75

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 76
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> P125H

<400> 76

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile His Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 77
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125C

<400> 77

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 78
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125M

<400> 78

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

ES 2 539 751 T3

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 79
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125Y

<400> 79

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Tyr Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 80
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125W

<400> 80

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 81
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> P125F

<400> 81

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 82
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> V117L

<400> 82

5

10

ES 2 539 751 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

ES 2 539 751 T3

Vai Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Leu Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Vai Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 83
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> V1171

<400> 83

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

ES 2 539 751 T3

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 84
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> T118S

<400> 84

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 85
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> T118K

<400> 85

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 86
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> R119K

<400> 86
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 87
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> R119T

<400> 87

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 88
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> D120E

<400> 88

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 89
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> D120A

<400> 89

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Ala Leu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 90
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> E122D

<400> 90

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

ES 2 539 751 T3

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

<210> 91
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> E122A

<400> 91

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 92
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> D127E

<400> 92

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 93
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> D127A

<400> 93

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Pro Gly Ala Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 94
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Y128F

<400> 94

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 95
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Y128W

<400> 95

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Trp
 115 120 125

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 96
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Y129F

<400> 96

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 97
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Y129W

10

<400> 97

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 98
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> M130F

<400> 98
 Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

ES 2 539 751 T3

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 99
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> M1301

<400> 99
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

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

<210> 100
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> D131E

<400> 100

5

10

ES 2 539 751 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 101
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> D131A

<400> 101

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

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

<210> 102
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> V132Y

<400> 102

5

10

ES 2 539 751 T3

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 103
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> V132S

<400> 103

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys
 20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe
 35 40 45

Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Ser Asn Pro
 65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85 90 95

Phe Ser Leu Lys Val Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 100 105 110

Phe Cys Ala Arg Val Thr Arg Asp Leu Glu Trp Ile Pro Gly Asp Tyr
 115 120 125

Tyr Met Asp Ser Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 104
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124V/G126A

<400> 104
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

5

10

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

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

<210> 105
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> I124V/G126S

<400> 105

5

10

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 106
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> L121I/W123Y/I124V/G126A

<400> 106
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 107
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> L121I/H123Y/I124V/G126S

<400> 107

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 108
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> E122del

10

<400> 108

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 275 280 285

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 305 310 315 320

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 109
 <211> 474
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> G126_D127insE

<400> 109

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

5

10

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

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

<210> 110
 <211> 473
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> N79Q

<400> 110

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 111
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 111
 Met Gly Asp Val Leu Gly Leu Ala Ser Cys Val Thr
 1 5 10

5

10

<210> 112
 <211> 12
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético
 10 <400> 112

Leu Gly Leu Ala Ser Cys Val Thr Ile Asn Gln Thr
1 5 10

 <210> 113
 <211> 12
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> Péptido sintético

 <400> 113

Ser Cys Val Thr Ile Asn Gln Thr Ser Val Lys Val
1 5 10
 25
 <210> 114
 <211> 12
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 114
 35
Ile Asn Gln Thr Ser Val Lys Val Leu Arg Asp Met
1 5 10

 <210> 115
 <211> 12
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético
 45 <400> 115

Ser Val Lys Val Leu Arg Asp Met Asn Val Lys Glu
1 5 10
 50
 <210> 116
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 116

Leu Arg Asp Met Asn Val Lys Glu Ser Pro Gly Arg
1 5 10

5
 <210> 117
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 117

Asn Val Lys Glu Ser Pro Gly Arg Cys Tyr Ser Arg
1 5 10

15
 <210> 118
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 118

Ser Pro Gly Arg Cys Tyr Ser Arg Pro Val Val Ile
1 5 10

25
 <210> 119
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 119

Cys Tyr Ser Arg Pro Val Val Ile Phe Asn Phe Ala
1 5 10

40
 <210> 120
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 120

Pro Val Val Ile Phe Asn Phe Ala Asn Ser Ser Tyr
1 5 10

50
 <210> 121
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55
 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 121

Phe Asn Phe Ala Asn Ser Ser Tyr Val Gln Tyr Gly
1 5 10

5

<210> 122
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Péptido sintético

15

<400> 122

Asn Ser Ser Tyr Val Gln Tyr Gly Gln Leu Gly Glu
1 5 10

20

<210> 123
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 123

Val Gln Tyr Gly Gln Leu Gly Glu Asp Asn Glu Ile
1 5 10

30

<210> 124
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 124

Gln Leu Gly Glu Asp Asn Glu Ile Leu Leu Gly Asn
1 5 10

40

<210> 125
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Péptido sintético

50

<400> 125

Asp Asn Glu Ile Leu Leu Gly Asn His Arg Thr Glu

1 5 10

55

<210> 126
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 126
Leu Leu Gly Asn His Arg Thr Glu Glu Cys Gln Leu
1 5 10

10 <210> 127
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 127
His Arg Thr Glu Glu Cys Gln Leu Pro Ser Leu Lys
1 5 10

20 <210> 128
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 128
Glu Cys Gln Leu Pro Ser Leu Lys Ile Phe Ile Ala
1 5 10

30 <210> 129
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Péptido sintético

40 <400> 129
Pro Ser Leu Lys Ile Phe Ile Ala Gly Asn Ser Ala
1 5 10

45 <210> 130
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 130
Ile Phe Ile Ala Gly Asn Ser Ala Tyr Glu Tyr Val
1 5 10

55 <210> 131
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 131
Gly Asn Ser Ala Tyr Glu Tyr Val Asp Tyr Leu Phe
1 5 10

5

<210> 132
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Péptido sintético

15

<400> 132
Tyr Glu Tyr Val Asp Tyr Leu Phe Lys Arg Met Ile
1 5 10

<210> 133
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Péptido sintético

25

<400> 133
Asp Tyr Leu Phe Lys Arg Met Ile Asp Leu Ser Ser
1 5 10

<210> 134
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Péptido sintético

35

<400> 134
Lys Arg Met Ile Asp Leu Ser Ser Ile Ser Thr Val
1 5 10

40

<210> 135
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 135
Asp Leu Ser Ser Ile Ser Thr Val Asp Ser Met Ile
1 5 10

50

<210> 136
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 136

Ile Ser Thr Val Asp Ser Met Ile Ala Leu Asp Ile
1 5 10

5

<210> 137
 <211> 906
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

10

<300>
 <308> Swiss-Prot/P06473
 <309> 01-01-1988
 <313> (1)..(906)

15

<400> 137

Met Glu Ser Arg Ile Trp Cys Leu Val Val Cys Val Asn Leu Cys Ile
1 5 10 15

Val Cys Leu Gly Ala Ala Val Ser Ser Ser Thr Ser His Ala Thr
20 25 30

Ser Ser Thr His Asn Gly Ser His Thr Ser Arg Thr Thr Ser Ala Gln
35 40 45

Thr Arg Ser Val Tyr Ser Gln His Val Thr Ser Ser Glu Ala Val Ser
50 55 60

His Arg Ala Asn Glu Thr Ile Tyr Asn Thr Thr Leu Lys Tyr Gly Asp
65 70 75 80

Val Val Gly Val Asn Thr Thr Lys Tyr Pro Tyr Arg Val Cys Ser Met
85 90 95

Ala Gln Gly Thr Asp Leu Ile Arg Phe Glu Arg Asn Ile Ile Cys Thr
100 105 110

Ser Met Lys Pro Ile Asn Glu Asp Leu Asp Glu Gly Ile Met Val Val
 115 120 125

Tyr Lys Arg Asn Ile Val Ala His Thr Phe Lys Val Arg Val Tyr Gln
 130 135 140

Lys Val Leu Thr Phe Arg Arg Ser Tyr Ala Tyr Ile Tyr Thr Thr Tyr
 145 150 155 160

Leu Leu Gly Ser Asn Thr Glu Tyr Val Ala Pro Pro Met Trp Glu Ile
 165 170 175

His His Ile Asn Lys Phe Ala Gln Cys Tyr Ser Ser Tyr Ser Arg Val
 180 185 190

Ile Gly Gly Thr Val Phe Val Ala Tyr His Arg Asp Ser Tyr Glu Asn
 195 200 205

Lys Thr Met Gln Leu Ile Pro Asp Asp Tyr Ser Asn Thr His Ser Thr
 210 215 220

Arg Tyr Val Thr Val Lys Asp Gln Trp His Ser Arg Gly Ser Thr Trp
 225 230 235 240

Leu Tyr Arg Glu Thr Cys Asn Leu Asn Cys Met Leu Thr Ile Thr Thr
 245 250 255

Ala Arg Ser Lys Tyr Pro Tyr His Phe Phe Ala Thr Ser Thr Gly Asp
 260 265 270

Val Val Tyr Ile Ser Pro Phe Tyr Asn Gly Thr Asn Arg Asn Ala Ser
 275 280 285

Tyr Phe Gly Glu Asn Ala Asp Lys Phe Phe Ile Phe Pro Asn Tyr Thr
 290 295 300

Ile Val Ser Asp Phe Gly Arg Pro Asn Ala Ala Pro Glu Thr His Arg
 305 310 315 320

Leu Val Ala Phe Leu Glu Arg Ala Asp Ser Val Ile Ser Trp Asp Ile
 325 330 335

Gln Asp Glu Lys Asn Val Thr Cys Gln Leu Thr Phe Trp Glu Ala Ser
 340 345 350

Glu Arg Thr Ile Arg Ser Glu Ala Glu Asp Ser Tyr His Phe Ser Ser
 355 360 365

Ala Lys Met Thr Ala Thr Phe Leu Ser Lys Lys Gln Glu Val Asn Met
 370 375 380

Ser Asp Ser Ala Leu Asp Cys Val Arg Asp Glu Ala Ile Asn Lys Leu
 385 390 395 400

Gln Gln Ile Phe Asn Thr Ser Tyr Asn Gln Thr Tyr Glu Lys Tyr Gly
 405 410 415

Asn Val Ser Val Phe Glu Thr Ser Gly Gly Leu Val Val Phe Trp Gln
 420 425 430

Gly Ile Lys Gln Lys Ser Leu Val Glu Leu Glu Arg Leu Ala Asn Arg
 435 440 445

Ser Ser Leu Asn Ile Thr His Arg Thr Arg Arg Ser Thr Ser Asp Asn
 450 455 460

Asn Thr Thr His Leu Ser Ser Met Glu Ser Val His Asn Leu Val Tyr
 465 470 475 480

Ala Gln Leu Gln Phe Thr Tyr Asp Thr Leu Arg Gly Tyr Ile Asn Arg
 485 490 495

Ala Leu Ala Gln Ile Ala Glu Ala Trp Cys Val Asp Gln Arg Arg Thr
 500 505 510

Leu Glu Val Phe Lys Glu Leu Ser Lys Ile Asn Pro Ser Ala Ile Leu
 515 520 525

Ser Ala Ile Tyr Asn Lys Pro Ile Ala Ala Arg Phe Met Gly Asp Val
 530 535 540

Leu Gly Leu Ala Ser Cys Val Thr Ile Asn Gln Thr Ser Val Lys Val
 545 550 555 560

Leu Arg Asp Met Asn Val Lys Glu Ser Pro Gly Arg Cys Tyr Ser Arg
 565 570 575

Pro Val Val Ile Phe Asn Phe Ala Asn Ser Ser Tyr Val Gln Tyr Gly
 580 585 590

Gln Leu Gly Glu Asp Asn Glu Ile Leu Leu Gly Asn His Arg Thr Glu
 595 600 605

Glu Cys Gln Leu Pro Ser Leu Lys Ile Phe Ile Ala Gly Asn Ser Ala
 610 615 620

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

885

890

895

Leu Lys Asp Ser Asp Glu Glu Glu Asn Val
900 905

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que se une específicamente con la glucoproteína gB de citomegalovirus humano y es capaz de neutralizar la bioactividad de la misma, en el que
- (i) las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena pesada incluyen:
 (a) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 13;
 (b) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 14: y
 (c) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 15, respectivamente, y
- 10 (ii) las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la cadena ligera incluyen:
 (a) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16;
 (b) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17: y
 (c) la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18, respectivamente.
- 15 2. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:
- (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que incluye la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10; y
 (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que incluye la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.
- 20 3. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende:
- (a) una cadena pesada (cadena H) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 2 o 6; y
 (b) una cadena ligera (cadena L) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 4 u 8.
- 25 4. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende:
- (a) una cadena pesada (cadena H) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 6; y
 (b) una cadena ligera (cadena L) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 8.
- 30 5. El anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la subclase del anticuerpo es IgG1 λ .
- 35 6. Una composición farmacéutica, que comprende el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
7. Un vector que incorpora un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10 y un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.
- 40 8. Una célula hospedadora que incorpora el vector de acuerdo con la reivindicación 7.
9. Una célula hospedadora que incorpora un vector que comprende un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 10 y un vector que comprende un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 12.
- 45 10. Un método para producir el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende una etapa de cultivar la célula hospedadora de acuerdo con la reivindicación 8 o 9.

Fig. 1

Sangre periférica

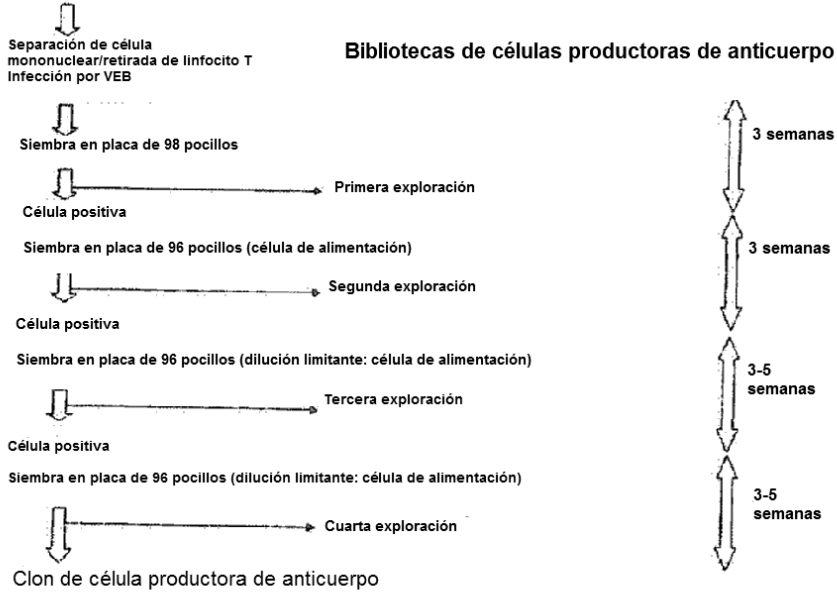


Fig. 2

| Número de serie | Nombre de la variante | Valor de DO (450 nm) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | original | 1,999 |
| 2 | V117K | 1,282 |
| 3 | T118W | 1,947 |
| 4 | R119V | 2,022 |
| 5 | D120I | 1,598 |
| 6 | L121E | 0,072 |
| 7 | E122L | 1,975 |
| 8 | W123T | 0,129 |
| 9 | I124D | 0,044 |
| 10 | P125R | 0,069 |
| 11 | G126F | 0,054 |
| 12 | D127I | 1,867 |
| 13 | Y128N | 1,809 |
| 14 | Y129N | 2,051 |
| 15 | M130Q | 2,051 |
| 16 | D131I | 2,222 |
| 17 | V132K | 2,928 |

Fig. 3

| Número de serie | Nombre de la variante | Valor de DO (450 nm) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | original | 1,986 |
| 2 | L121 | I 1,724 |
| 3 | | V 1,299 |
| 4 | | A 0,305 |
| 5 | | F 0,476 |
| 6 | | P 0,181 |
| 7 | | Y 1,043 |
| 8 | W123 | F 0,506 |
| 9 | | P 0,044 |
| 10 | | L 0,076 |
| 11 | I 0,075 | |
| 12 | H24 | L 1,419 |
| 13 | | M 0,516 |
| 14 | | P 0,044 |
| 15 | | V 2,032 |
| 16 | A 0,071 | |
| 17 | G126 | P 0,053 |
| 18 | | A 1,781 |
| 19 | | S 1,855 |
| 20 | | N 0,060 |
| 21 | | T 1,194 |

Fig. 4

| Número de serie | Nombre de la variante | Valor de DO (450 nm) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | original (P125) | 2,04 |
| 2 | P125 | G 0,053 |
| 3 | | I 0,053 |
| 4 | | A 0,080 |
| 5 | | L 0,053 |
| 6 | | V 0,058 |
| 7 | | S 0,066 |
| 8 | | T 0,054 |
| 9 | | N 0,046 |
| 10 | | Q 0,152 |
| 11 | | D 0,050 |
| 12 | | E 0,088 |
| 13 | | K 0,048 |
| 14 | | H 0,052 |
| 15 | | C 0,050 |
| 16 | | M 0,047 |
| 17 | | Y 0,047 |
| 18 | | W 0,048 |
| 19 | | F 0,049 |

Fig. 5

| Número de serie | Nombre de la variante | Valor de DO (450 nm) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | original | 2,086 |
| 2 | V117 | L 1,937 |
| 3 | | I 1,96 |
| 4 | T118 | S 2,147 |
| 5 | | K 2,081 |
| 6 | R119 | K 2,034 |
| 7 | | T 1,855 |
| 8 | D120 | E 1,667 |
| 9 | | A 1,653 |
| 10 | E122 | D 2,135 |
| 11 | | A 1,969 |
| 12 | D127 | E 2,101 |
| 13 | | A 1,941 |
| 14 | Y128 | F 1,946 |
| 15 | | W 1,644 |
| 16 | Y129 | F 1,933 |
| 17 | | W 1,96 |
| 18 | M130 | F 2,034 |
| 19 | | I 2,056 |
| 20 | D131 | E 2,092 |
| 21 | | A 2,114 |
| 22 | V132 | Y 2,217 |
| 23 | | S 2,151 |

Fig. 6

| Número de serie | Nombre de la variante | Valor de DO (450 nm) |
|-----------------|-------------------------|----------------------|
| 1 | original | 2,163 |
| 2 | I124V/G126A | 1,685 |
| 3 | I124V/G126S | 1,723 |
| 4 | L121I/W123Y/I124V/G126A | 1,079 |
| 5 | L121I/W123Y/I124V/G126S | 0,25 |

Fig. 7

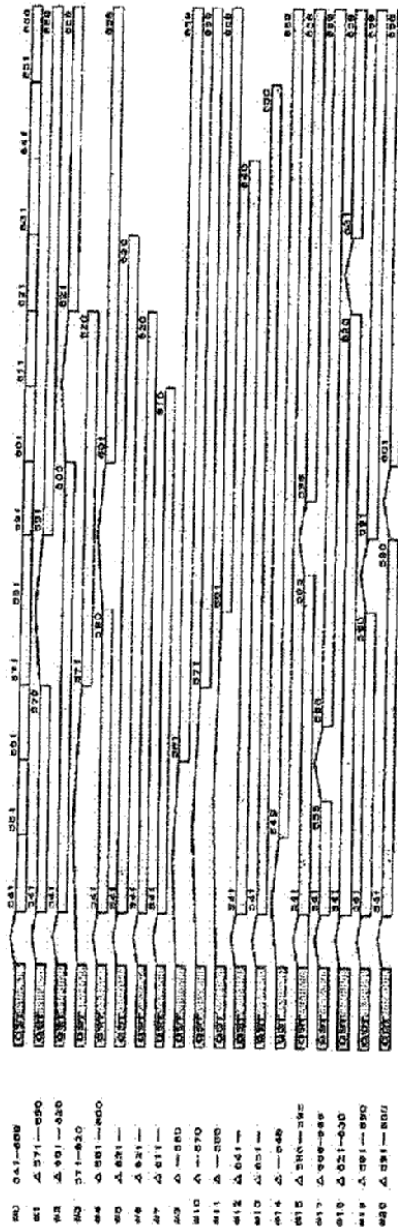
| Número de serie | Nombre de la variante | Valor de DO (450 nm) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | original | 2,141 |
| 2 | E122del | 0,047 |
| 3 | G126_D127insE | 0,048 |

Fig. 8

| Número de serie | Nombre de la variante | Valor de DO (450 nm) |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 1 | N79 | 1,996 |
| 2 | N79Q | 1,869 |

Fig. 9

(A) Mutante de delección



(B) Análisis de transferencia de Western

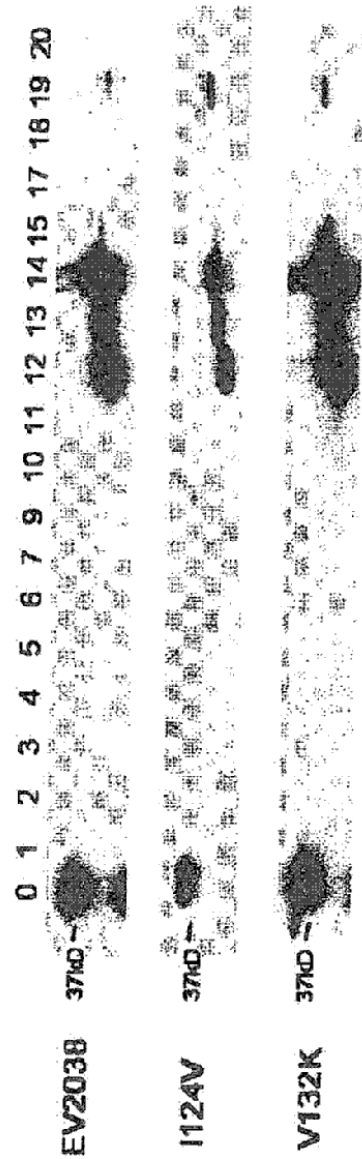


Fig. 10

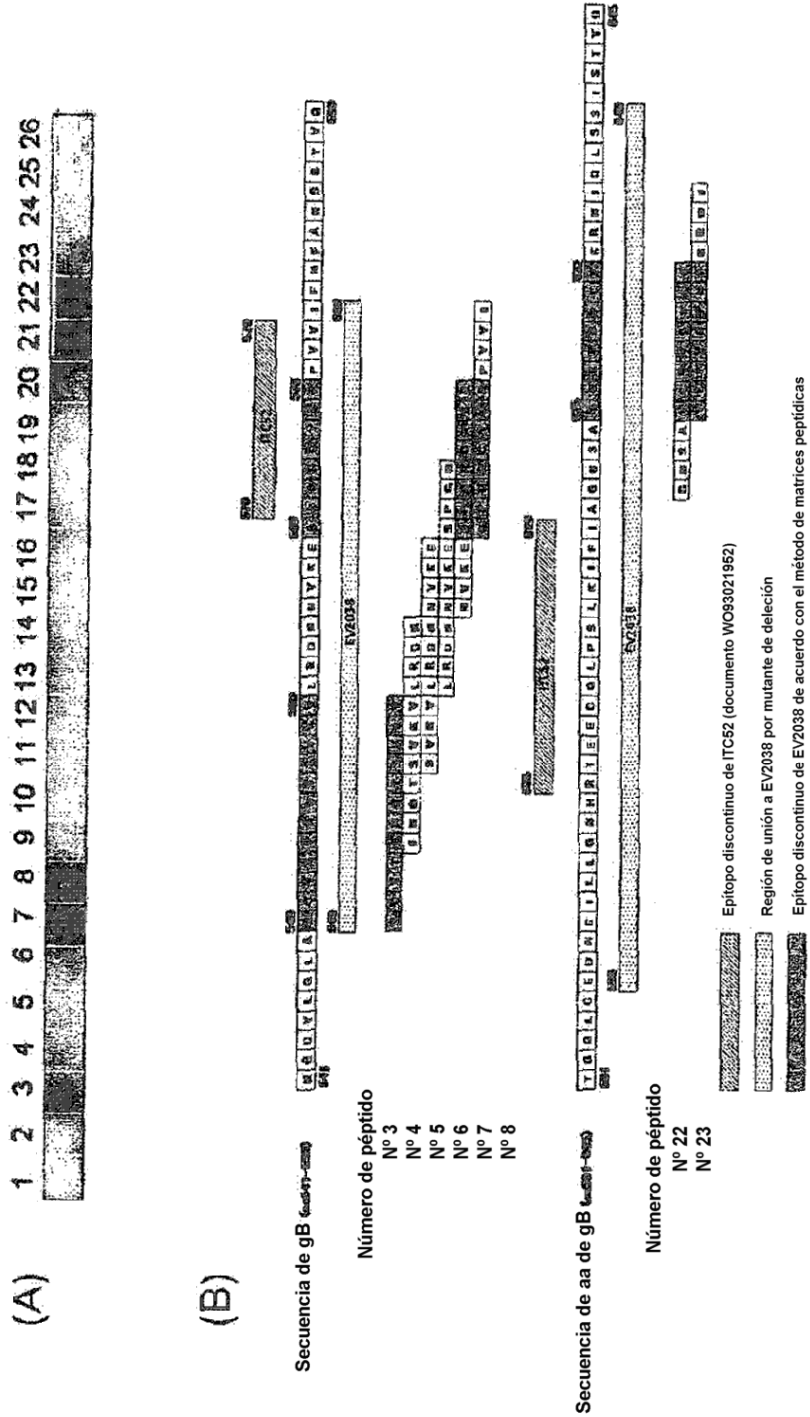


Fig. 11

